

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA VEGETAL



Tese

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS EM PLANTAS JOVENS DE *Jatropha curcas* L.  
SUBMETIDAS À ESTROBILURINA E ALAGAMENTO.**

**Anderson Augusto Schock**

Pelotas, 2015

**ANDERSON AUGUSTO SCHOCK**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS EM PLANTAS JOVENS DE *Jatropha curcas* L.  
SUBMETIDAS À ESTROBILURINA E ALAGAMENTO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin

Co-Orientador: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes

Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Emanuela Garbin Martinazzo

PELOTAS

Rio Grande do Sul – Brasil  
Fevereiro de 2015

Dados de catalogação na fonte:  
Ubirajara Buddin Cruz - CRB 10/901  
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

S363r

Schock, Anderson Augusto

Respostas fisiológicas em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. submetidas à estrobilurina e alagamento / Anderson Augusto Schock. – 66f. : il. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2015. – Orientador Marcos Antonio Bacarin ; coorientadores Dario Munt de Moraes, Emanuela Garbin Martinazzo.

1.Fisiologia vegetal. 2.*Jatropha curcas* L. 3.Pinhão manso. 4.Pilaclostrobina. 5.Hipóxia. 6.Fluorescência da clorofila. 7.Trocas gasosas. I.Bacarin, Marcos Antonio. II.Moraes, Dario Munt de. III.Martinazo, Emanuela Garbin. IV.Título.

CDD: 571.2

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin (Presidente)

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Diolina Moura Silva

Prof. Dr. José Antonio Peters

Prof. Dr. José Donizeti Alves

## **AGRADECIMENTOS**

Sou infinitamente grato a Deus por toda sua bondade e misericórdia que tem me permitido alcançar meus objetivos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida durante o transcorrer do curso.

A Universidade Federal de Pelotas, em especial o Departamento de Botânica e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV).

Também sou muito grato ao professor Dr. Marcos Antonio Bacarin, por toda a paciência e compreensão ao longo desta jornada e em especial por toda sua dedicação e profissionalismo na tarefa de educador/orientador.

Aos meus Pais Beloni e Valmir por todos os genes a mim transmitidos e por sempre me apoiarem nas minhas caminhadas, amo muito vocês.

A Vó Amália, *in memoriam*, por todo amor, carinho e principalmente pelo exemplo de vida e ensinamentos transmitidos.

A minha namorada Daiane Tereza Silva pelo companheirismo e tudo mais que tem representado para mim ao longo de todo esse tempo que estamos juntos, você é muito especial.

Aos colegas, amigos/irmãos Cristina Moll Hüther, Davi Silva Dalberto e Alícia Kleinowski por todo carinho, amizade e ajuda, fundamentais a superação de muitos desafios, bem como a realização desta obra.

Aos demais colegas do laboratório de metabolismo vegetal, pelo convívio, amizade e auxílio na condução dos experimentos, em especial Emanuela Martinazzo e Marcio Farias.

Aos amigos Rudinei “baxinho” e Serginho “tartaruga”, por toda amizade e companheirismo.

Aos “Toca” em especial ao Edison Lucas, Vinicius Pazzini, Leonardo Diel, Julio Vinuesa, Guilherme Tavares e Daiane Silva pela amizade, infinitos diálogos filosóficos e auxílio na manutenção da “Toca do Rei”.

Aos demais professores, colegas e funcionários do PPGFV, pela amizade ensinamentos e apoio recebido.

E por fim, a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

*Neste mundo de batalhas, mais que a derrota ou a vitória,  
é o regozijo da alma por ser bom combatente.*

## RESUMO:

SCHOCK, Anderson Augusto. **Respostas fisiológicas em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. submetidas à estrobilurina e alagamento.** 2015. 66p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.

A pesquisa foi desenvolvida em dois experimentos com o objetivo de verificar o efeito da aplicação de piraclostrobina na mitigação do estresse causado pelo alagamento em plantas jovens de *Jatropha curcas* L.. Ambos os experimentos foram desenvolvidos na Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Município de Capão do Leão, RS. Foram utilizadas sementes de *Jatropha curcas* L. (pinhão manso) oriundas do município de Janaúba- MG. A semeadura foi realizada em vasos plásticos com capacidade de 5 L, dispostos em espaçamento 50 x 50 cm, contendo uma mistura de solo com areia (proporção 2:1). O primeiro experimento consistiu em testar a influência da piraclostrobina sobre a fluorescência transiente da clorofila, trocas gasosas, curvas de resposta fotossintética, atividade da enzima redutase do nitrato e níveis de nitrogênio foliar. Para isso foram instalados quatro tratamentos com piraclostrobina com as seguintes quantidades de ingrediente ativo (i.a.) por litro de calda: T1 – 0 g i.a. L<sup>-1</sup>, T2 - 0,05 g i.a. L<sup>-1</sup>, T3 - 0,10 g i.a. L<sup>-1</sup>, T4 - 0,20 g i.a. L<sup>-1</sup>. Como fonte de piraclostrobina foi utilizado o fungicida Comet® (250 g i.a. L<sup>-1</sup>). As plantas receberam duas aplicações nas referidas doses, a primeira aos 30 dias após a emergência e a segunda cinco dias após. Constatou-se que as diferentes concentrações de piraclostrobina ocasionaram respostas fisiológicas diferentes às plantas ao longo do experimento. Observou-se efeitos positivos nos índices de performance fotossintética nas plantas que receberam a piraclostrobina e as taxas assimilatórias líquidas aumentaram respectivamente com o aumento das concentrações. Por outro lado apenas a concentração 0,1 g i.a. L<sup>-1</sup> demonstrou correlação positiva nos índices de clorofila. O segundo experimento consistiu em testar a eficiência da aplicação de piraclostrobina na superação do estresse hipóxico causado pelo alagamento. Para tal foram avaliados os índices de fluorescência transiente da clorofila, trocas gasosas e parâmetros biométricos. Este ensaio foi constituído por quatro tratamentos nas seguintes condições: T1- normóxia sem piraclostrobina; T2- normóxia com piraclostrobina (0,1 g i.a. L<sup>-1</sup>); T3- hipóxia sem piraclostrobina e T4- hipóxia com piraclostrobina (0,1 g i.a. L<sup>-1</sup>). Os resultados demonstram que a condição de hipóxia reduziu o crescimento das plantas, proporcionando também uma série de outros efeitos fisiológicos negativos que prejudicaram o fluxo de elétrons na cadeia transportadora de elétrons cloroplastídica e também as trocas gasosas às plantas jovens de *Jatropha curcas* L.. Contudo, a aplicação de piraclostrobina causou menor redução dos índices de clorofila e biomassa e também proporcionou atraso dos efeitos negativos do estresse na cadeia transportadora de elétrons cloroplastídica. Diante do exposto pode-se dizer que os processos fisiológicos da *Jatropha curcas* L. respondem diferentemente às concentrações de piraclostrobina ao longo do tempo. Assim sendo, os resultados deste experimento podem fundamentar futuros estudos na utilização da piraclostrobina como uma alternativa à superação de estresses abióticos.

**Palavras-chave:** *Jatropha curcas* L., piraclostrobina, hipóxia, fluorescência da clorofila, trocas gasosas, pinhão manso.

## ABSTRACT

SCHOCK, Anderson Augusto. **Physiological responses in young plants of *Jatropha curcas* L. submitted to strobilurin and flooding**. 2015. 66p. Thesis (Doctorate in Plant Physiology) Thesis (Doctoral) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.

The research was conducted in two experiments in order to verify the application of pyraclostrobin effect in mitigating the stress caused by flooding in young plants of *Jatropha curcas* L. (physic nut). Both experiments were conducted at Federal University of Pelotas, Campus Capão do Leão, City Capão do Leão, RS. *Jatropha curcas* L. seeds were used originated in the city of Janaúba- MG. The seeds were sown in plastic pots with 5 L capacity, arranged in spaced 50 x 50 cm, containing a soil mixture with sand (proportion 2: 1). The first experiment is to test the influence of pyraclostrobin on transient chlorophyll fluorescence, gas exchange, photosynthetic response curves reductase activity of the enzyme nitrate and leaf nitrogen levels. To this were four treatments with pyraclostrobin at the following amount of active ingredient (ai) per liter of water: T1 – 0 g i.a. L<sup>-1</sup>, T2 - 0,05 g i.a. L<sup>-1</sup>, T3 - 0,10 i.a. g L<sup>-1</sup>, T4 - 0,20 g i.a. L<sup>-1</sup>. As pyraclostrobin source was used COMET® fungicide (250 g ai L<sup>-1</sup>). Plants take two applications in these doses, the first at 30 days after emergence and the second five days. It was found that the different concentrations of pyraclostrobin caused different physiological responses to plants throughout the experiment. We observed positive effects on rates of photosynthetic performance on plants supplied pyraclostrobin and net assimilatory rates increased respectively with increasing concentrations. In contrast, only concentration 0.1 g ai L<sup>-1</sup> showed a positive correlation chlorophyll indices. The second experiment is to test the pyraclostrobin application efficiency in overcoming the hypoxic stress caused by flooding. To this end we evaluated the transient fluorescence of chlorophyll indices, gas exchange and biometric parameters. This test consisted of four treatments as follows: T1 normoxia without pyraclostrobin; T2 normoxia with pyraclostrobin (0.1 g ai L<sup>-1</sup>); T3-T4 hypoxia without pyraclostrobin and hypoxia with pyraclostrobin (0.1 g ai L<sup>-1</sup>). The results demonstrate that hypoxia condition reduces plant growth, also provided a number of other negative physiological effects that hindered the flow of electrons in the electron transport chain cloroplastídica and also gas exchange in young plants of *Jatropha curcas* L. However, the application of pyraclostrobin caused less reduction in chlorophyll contents and biomass and also caused a delay of the negative effects of stress on the conveyor chain cloroplastídica electrons. Given the above it can be said that the physiological processes of *Jatropha curcas* L. respond differently to pyraclostrobin concentrations over time. Therefore, the results of this experiment can support future studies on the use of pyraclostrobin as an alternative to overcome abiotic stresses.

**Keywords:** *Jatropha curcas* L., pyraclostrobin, hypoxia, chlorophyll fluorescence, gas exchange, physic nut.

## SUMARIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	9
EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE PIRACLOSTROBINA NOS PROCESSOS FOTOSSINTÉTICOS DE PLANTAS JOVENS DE <i>Jatropha curcas</i> L.....	13
INTRODUÇÃO .....	13
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS.....	18
DISCUSSÃO .....	28
CONCLUSÃO .....	32
INFLUÊNCIAS DA PIRACLOSTROBINA SOBRE OS PROCESSOS FISIOLÓGICOS DE PLANTAS JOVENS DE <i>Jatropha curcas</i> L. EM CONDIÇÃO DE ALAGAMENTO.	33
INTRODUÇÃO .....	33
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO .....	47
CONCLUSÕES .....	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	55
REFERÊNCIAS.....	56

## INTRODUÇÃO GERAL

A insustentabilidade da exigência na utilização de combustíveis fósseis é amplamente reconhecida devida à sua possibilidade de exaustão e o envolvimento destes e seus derivados na contaminação do ambiente. Este fato tem instigado o desenvolvimento de inúmeras pesquisas para o desenvolvimento de combustíveis renováveis com neutralidade de carbono, na tentativa de atenuar a problemática de forma sistemática, assim promovendo a sustentabilidade ambiental e econômica (SORATE e BHALE, 2015).

Dentro desta proposta o governo brasileiro instaurou a Lei Federal de nº. 11.097, que obrigava a adição de 5% de biodiesel ao óleo diesel comercializado a partir de 2010, servindo de base para a criação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) em 2004. Com a proposta de colocar o Brasil entre as potências mundiais na produção de energias renováveis, o governo regulamentou o aumento de 5% para 7% a adição de biodiesel ao diesel comercializado até 1º de novembro de 2014. No mesmo sentido, visou-se o preceito de sustentabilidade promovendo a inclusão do pequeno agricultor no mercado de energia renovável.

Para a idealização desta proposta tem se investigado, através de pesquisas, resultados que possam auxiliar no aumento da produtividade e no aproveitamento de áreas com restrições agricultáveis (ABRAMOVAY e MAGALHÃES, 2007; CASTRO et al. 2008; COELHO e GERALD, 2013). Assim sendo, grande número de espécies oleaginosas estão sendo estudadas a fim de desenvolver estratégias de cultivo e beneficiamento dos produtos, objetivando otimizar a relação custo/benefício na produção de óleos vegetais para produção de biodiesel.

Neste contexto, *Jatropha curcas* L. (pinhão manso), é tida como melhor candidata para a produção de biodiesel no futuro, considerando a qualidade e quantidade do óleo contido na semente e também por sua adaptabilidade a diferentes ambientes (SACHS, 2010), sendo que já tem grande aceitabilidade em sistemas de produção em muitos países (SALÉ, 2008; KURMA e SHARMA, 2008).

Embora esta espécie seja estudada a mais de três décadas (SOARES, 2010), ainda encontram-se pouca informações sobre sua fisiologia, em especial, sob ação de insumos agrícolas, como bactericidas e fungicidas, indispensáveis a viabilidade de certas produções (DALLAGNOL et al., 2006), notadamente em países de clima

tropical e temperado como o Brasil, onde as flutuações climáticas são favoráveis ao desenvolvimento e a propagação de agentes patológicos.

Temperatura e umidade elevadas durante a fase inicial de desenvolvimento dos vegetais pode ampliar a ação indesejada de microrganismos e outros agentes biológicos, desta forma inviabilizando o cultivo de certas espécies vegetais em determinadas áreas que apresentem essas características, podendo diminuir grandemente o espaço físico viável à agricultura (KIMATI et al., 2005).

Pensando nisto, empresas do ramo de defensivos agroquímicos começaram a desenvolver inúmeras pesquisas a fim de solucionar este problema. Em 1992, as empresas ICI e BASF, patentearam, respectivamente, a azoxistrobina e o kresoxim-methyl, primeiros produtos sintéticos a base de estrobilurina-A, substância antifúngica pertencente ao grupo dos  $\beta$ -methoxyacrilatos (BARLETT et al., 2002; AMARO, 2011). A comercialização destes produtos iniciou em 1996 para o controle de *Erysiphe graminis* em cereais na Europa (CHIN et al., 2001) abrindo espaço para que mais tarde outros grupos de fungicidas fossem desenvolvidos e inseridos no mercado.

A ação antifúngica das estrobilurinas ocorre através da inibição da respiração mitocondrial, principal processo para produção de energia em organismos heterotróficos (NELSON e COX, 2010). O princípio ativo liga-se ao centro  $Q_0$  da coenzima Q (Ciclo Q), também conhecido como citocromo  $b_{566}$ , interrompendo o fluxo de elétrons através da cadeia de transporte, inviabilizando a síntese de ATP, levando o fungo à morte devido à insuficiência energética.

Muitos grupos de fungicidas disponíveis no mercado apresentam mecanismos semelhantes de ação contra patógenos, contudo, fungicidas contendo estrobilurinas tem merecido grande atenção atualmente, pois além da ampla abrangência espectral e da alta eficiência no controle de doenças (BALARDIN, 2002), estudos demonstram que o produto tem proporcionado alterações no metabolismo das plantas, desenvolvendo características positivas ao desenvolvimento das mesmas, mesmo na ausência de patógenos.

Assim sendo, o produto tem proporcionado: crescimento das mudas em altura e diâmetro, incremento na área foliar, aumento da massa da matéria seca, aumento no teor de clorofila e proteínas, incremento na assimilação de nitrogênio via enzima redutase do nitrato, diminuição no ponto de compensação de  $CO_2$ , diminuição da síntese de etileno e atraso na senescência, que conseqüentemente repercutem no

rendimento das culturas de trigo (WU e TIEDEMANN, 2001), soja (AUGUSTI et al., 2010; FAGAN et al., 2010; TSUMANUMA et al., 2010; BALARDIN et al., 2011), batata (LOPES, 2011), pepino (AMARO, 2011) e bananeira (LIMA et al., 2012).

Partindo do pressuposto que há muitas semelhanças nos processos fisiológicos no reino vegetal e muitas características repetem-se mesmo entre espécies distintas, estas alterações metabólicas proporcionadas pela estrobirulina poderiam ocorrer também em *J. curcas* L.. Desta forma, poderia aumentar a produtividade e auxiliar na manutenção do crescimento em condições de estresse, como por exemplo, a hipóxia, haja visto que o Brasil possui cerca de 28 milhões de hectares de solos aluviais e hidromórficos sujeitos a encharcamentos (MAGALHÃES et al., 2005).

Para muitas plantas o alagamento é altamente desfavorável ao crescimento e desenvolvimento, pois desencadeia uma série de processos que influenciam nas características físico-químicas e biológicas do solo alterando suas concentrações de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, induzindo a respiração anaeróbica nas raízes e acarretando muitos efeitos fisiológicos negativos para o desenvolvimento das plantas (KOZLOWSKI e PALLARDY, 1997; ITO et al., 1999; CAUDLE e MARICLE, 2012).

Quando a respiração aeróbica cessa nas raízes, imediatamente ocorre uma queda nos níveis de energia (ATP) e, como consequência, há uma redução na absorção e transporte de íons. Esta condição também implica na diminuição da condutância estomática e conseqüentemente numa menor taxa fotossintética, devido ao fechamento estomático, outra resposta à hipóxia (LIAO e LIN, 2001; CENTRITO, 2003; CAUDLE e MARICLE, 2012).

A limitação da atividade fotossintética em períodos de hipóxia relativamente curtos pode ocorrer devido à baixa concentração interna de CO<sub>2</sub> nas folhas (ASHRAF, 2003). Para períodos relativamente longos de hipóxia as limitações da fotossíntese, que não ocorrem por razões estomáticas, estão fortemente associadas às alterações nas enzimas do ciclo de Calvin e na degradação dos pigmentos fotossintéticos, que são diretamente relacionados ao decréscimo na eficiência carboxilativa e ao rendimento quântico aparente das plantas sob esta condição (PEZESHKI, 1994).

Levando em consideração a correlação negativa entre os efeitos causados pelo estresse hipóxico e os efeitos fisiológicos proporcionados pela ação da estrobilurina, a aplicação do produto poderia aumentar a produtividade da espécie e

permitir seu cultivo em áreas que possuam restrições agricultáveis devido ao encharcamento temporário.

Atualmente, diversas técnicas experimentais são utilizadas para investigar, em diferentes níveis, as reações fisiológicas das plantas frente a todas essas problemáticas. Estas técnicas envolvem análises sobre o comportamento fotossintético e enzimático, permitindo previsões referentes ao desempenho das plantas, que comumente se refletem na sua produtividade (BÜRLING et al., 2013; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2013).

Desta forma, pesquisas que investiguem a ação de estrobilurinas sobre *J. curcas* L. e a possibilidade de introdução desta espécie em ambientes previamente desfavoráveis, são de suma importância ao desenvolvimento tecnológico e energético do país.

Os objetivos deste trabalho foram verificar os efeitos da aplicação de piraclostrobina sobre o comportamento fisiológico de plantas jovens de *Jatropha curcas* L. e a possível atenuação dos efeitos negativos do alagamento na fase inicial de desenvolvimento da espécie através da aplicação foliar de piraclostrobina.

## CAPÍTULO I

### EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE PIRACLOSTROBINA NOS PROCESSOS FOTOSSINTÉTICOS DE PLANTAS JOVENS DE *Jatropha curcas* L..

#### INTRODUÇÃO

A partir do processo de industrialização a utilização de energia aumentou consideravelmente, priorizando o uso de matrizes fósseis como o carvão mineral e o petróleo na geração de energia (POMPELLI et al., 2011). A consequente possibilidade de esgotamento das reservas fósseis e a crescente preocupação com o meio ambiente preconizaram a busca por fontes alternativas de energia em todo mundo, inclusive no Brasil (MOTA et al., 2009).

São muitas as fontes de energia alternativa, entre elas os biocombustíveis, que, por serem de caráter renovável, colocam a produção de biomassa e o desenvolvimento de novos insumos em destaque, na substituição dos derivados de petróleo (SUAREZ et al., 2007).

O biodiesel, uma mistura de alquilésteres de cadeia linear, obtida da transesterificação dos triglicerídeos de óleos e gorduras com álcoois de cadeia curta, (LOBO et al., 2009), tem recebido atualmente muita atenção dos pesquisadores, pois é um ótimo substituinte dos combustíveis derivados de petróleo, especialmente o óleo diesel (SILVA e FREITAS, 2008; SACHS, 2010).

Muitas espécies oleaginosas são estudadas para industrialização (CÂMARA e HEIFFIG, 2006) e já estão na fase de desenvolvimento estratégico de cultivo e beneficiamento de seus produtos, objetivando otimizar a relação custo/benefício na produção de óleos vegetais para biodiesel.

Entre as espécies vegetais e a participação na produção mundial de óleo para produções de biodiesel estão: a colza (84%), o girassol (13%), a palma (1%) ,a soja e outras (2%) (DENG et al., 2011). Contudo, o uso de óleos comestíveis para a

produção de biodiesel tem causado inúmeras controvérsias nos países em desenvolvimento, pois não apresenta grande viabilidade tendo em vista a escassez e a crise alimentar mundial (SUAREZ et al., 2009). Portanto, a utilização de óleos não comestíveis, como o de *J. curcas* L., são considerados recursos bastantes favoráveis (YANG et al., 2010; DENG et al., 2010).

A *J. curcas* L. (pinhão manso) apresenta muitos outros atributos positivos à produção de biodiesel, pois além de ser perene podendo produzir desde os dois até os 50 anos, tem rápido crescimento e fácil propagação, podendo auxiliar na recuperação de solos degradados e ciclagem de nutrientes. Além disso, possui elevado teor de óleo na semente (até 60%) e seus subprodutos (torta de semente e glicerina) apresentam ampla aplicabilidade industrial (KOH e GHAZI, 2011; MOFIJUR et al., 2012).

Contudo, esta espécie ainda é considerada uma espécie bastante rústica (BRASILEIRO, 2012) e carece de muitas informações sobre processos fisiológicos que tangenciam seu desenvolvimento. Assim, estudos que busquem melhor entendimento sobre a fisiologia da espécie, bem como, alternativas que possam melhorar seu desenvolvimento são extremamente necessários.

Atualmente, a aplicação exógena de produtos para aprimorar a produtividade em muitas culturas, tem aumentado consideravelmente, como é o caso da aplicação de piraclostrobina (LIMA et al., 2012; LANZA et al., 2013). Entre outros efeitos, a utilização de piraclostrobina tem promovido, em algumas culturas, o aumento da atividade da redutase do nitrato, enzima catalizadora na redução do nitrato a nitrito, contribuindo com o aumento da assimilação de nitrogênio, resultando em maiores teores de clorofila e proteínas totais (LIMA et al., 2012).

A piraclostrobina também tem promovido o aumento na fotossíntese líquida, devido à diminuição no ponto de compensação de CO<sub>2</sub>, e atraso da senescência foliar, e função do decréscimo na produção de etileno e ao aumento da eficiência do sistema antioxidante, protegendo a planta de espécies reativas de oxigênio (LIMA et al., 2012). Todos estes fatores têm contribuído para o incremento em altura, diâmetro, área foliar e longevidade vital das plantas, podendo refletir no aumento da produtividade em: trigo (WU e TIEDEMANN, 2001), soja (AUGUSTI et al., 2010; TSUMANUMA et al., 2010; BALARDIN et al., 2011), batata (LOPES, 2011), pepino (AMARO, 2011) e bananeira (LIMA et al., 2012).

Assim sendo, o presente experimento teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de diferentes doses de piraclostrobina sobre o comportamento fotossintético das plantas jovens de *Jatropha curcas* L. através da análise do índice de clorofila, da fluorescência transiente da clorofila, das trocas gasosas, da atividade da enzima redutase do nitrato e do teor de nitrogênio total nas folhas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi conduzido na Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Município de Capão do Leão, RS. Foram utilizadas sementes de *Jatropha curcas* L. (pinhão manso) oriundas do município de Janaúba-MG (gentilmente cedidas pela Prof<sup>a</sup>. Diolina Moura Silva – Universidade Federal do Espírito Santo).

A semeadura foi realizada em 28 de novembro de 2013 em vasos plásticos com capacidade de 5 L, contendo uma mistura de solo com areia (proporção 2:1) e dispostos em espaçamento 50 x 50 cm, em uma área experimental em condições normais de campo. Aos 30 dias após a emergência (DAE), sessenta vasos contendo uma planta cada, do mesmo porte, tendo em média cinco folhas, foram selecionadas para o experimento.

O experimento constituiu-se em quatro tratamentos com 15 plantas cada: testemunha, sem aplicação de piraclostrobina (i.a.) (T1), aplicação foliar de 0,05 g i.a. L<sup>-1</sup> de calda (T2), 0,1 g i.a. L<sup>-1</sup> (T3) e 0,2 g i.a. L<sup>-1</sup> (T4). Como fonte de piraclostrobina, foi utilizado o fungicida Comet® (250 g/L). As plantas receberam duas aplicações nas referidas concentrações de piraclostrobina, a primeira aos 30 dias após a emergência e a segunda cinco dias após a primeira aplicação.

O aferimento dos parâmetros índice de clorofila, fluorescência transiente OJIP e trocas gasosas foram feitos na primeira folha jovem completamente expandida, entre às 09:00 e 11:00 horas da manhã e realizadas no 2º, 9º, 16º e 23º dia após a segunda aplicação do produto (DAAP), totalizando quatro determinações. As análises da atividade da redutase do nitrato e nitrogênio total foram realizadas ao final do experimento (58 DAE).

Os índices de clorofila foram determinados utilizando-se um medidor portátil de clorofila modelo CL-01 (Hansatech Instruments Ltda., King's Lynn Norfolk, UK) conforme descrito por Cassol et al., (2008).

Para a fluorescência transiente OJIP, as folhas foram previamente adaptadas ao escuro por 60 minutos, utilizando um fluorômetro portátil, modelo Handy-PEA (Hansatech Instruments, King's Lynn, Norfolk, UK), após o período de escuro um flash de  $3.400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  foi aplicado para a indução da fluorescência transiente OJIP. As intensidades de fluorescência transiente foram medidas entre 50  $\mu\text{s}$  (fluorescência inicial –  $F_0$ ) e 1 s; obtidos os valores da fluorescência transiente, foram calculados os parâmetros do Teste JIP com base na proposição de Strasser e colaboradores (STRASSER e STRASSER, 1995; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008).

Para as trocas gasosas utilizou-se um analisador portátil a infra-vermelho de  $\text{CO}_2$ , modelo LI-6400XT (LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA), com densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativo de  $1.200 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e concentração de  $\text{CO}_2$  no interior da câmara de  $380 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$ . As variáveis utilizadas foram: taxa assimilatória líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); e concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ , Pa); eficiência de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A/C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ); taxa transpiratória ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e eficiência de uso da água ( $EUA$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ ).

Aos 15 dias após a segunda aplicação de piraclostrobina, foram realizadas curvas de resposta da atividade fotossintética ( $A$ ) em função da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativo ( $I$ ). As determinações foram realizadas na primeira folha jovem completamente expandida de quatro plantas por tratamento, utilizando-se um analisador portátil a infravermelho de  $\text{CO}_2$ , modelo LI-6400XT (LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA), com concentração de  $380 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$  no interior da câmara. A densidade de fluxo de fótons variou de 0 e  $1.500 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A respiração no escuro foi considerada quando a densidade de fluxo de fótons foi igual zero. Os valores de respiração na luz foram obtidos a partir do ajuste linear entre  $A$  e  $I$ , utilizando-se dos valores de 0 a  $80 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e o rendimento quântico aparente a partir da declividade da reta (CRILL, 1977).

No mesmo período foi determinada também a curva de resposta fotossintética em função da variação da pressão parcial intercelular de  $\text{CO}_2$ . As medidas foram

iniciadas a partir da concentração de CO<sub>2</sub> no ar de 400 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> com diminuição gradual até 50 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> e, então, aumento gradual até 1.500 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>. O CO<sub>2</sub> foi injetado no circuito aberto de ar do medidor portátil de fotossíntese, LI-6400XT por um sistema automático de injeção de CO<sub>2</sub>. A densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativo foi mantida em 1.500 μmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Para determinação da atividade da redutase do nitrato foram incubados 0,5 gramas de massa fresca foliar em 20 mL de meio de reação, constituído de 10 mL de tampão fosfato 0,1 M pH 7,5, 2 mL de KNO<sub>3</sub> 0,1 M, 8 mL de propanol 1% (v/v) e 5 gotas de Triton X 100 0,1 % a 30°C, em banho Maria com agitador na ausência de luz por 30 minutos.

Posteriormente foi retirado do 0,5 mL do meio de incubação e colocados em tubos de ensaio onde foram adicionados 3,9 mL de água, 0,3 mL de sulfanilamida 1% (p/v) dissolvida em HCl 3 N, 0,3 mL de dicloreto de N-(1-naftil)-etilenodiamina 0,02 % (p/v). Este procedimento foi baseado na metodologia proposta por Jaworski (1971), as leituras foram realizadas a 540 nm.

Para a quantificação de nitrogênio total, as folhas foram secas em estufa de ventilação forçada a temperatura de 65 ± 2°C por quatro dias, posteriormente moídas em moinho de facas tipos Willey e padronizadas com peneira de 10 *mesh*, sendo posteriormente submetidas a digestão sulfúrica. A concentração de N-amoniacoal foi determinada conforme descrito por Cataldo et al. (1975).

O delineamento do experimento foi o inteiramente casualizado sendo a unidade experimental constituída de uma planta por vaso. Para trocas gasosas, índice de clorofila e nitrogênio total e atividade da redutase do nitrato foram utilizados seis unidades experimentais. Após a análise de variância, quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p < 0,05). Para os parâmetros de fluorescência foram utilizadas 10 plantas e os dados foram normalizados em relação aos respectivos controles.

## RESULTADOS

### *Índice de clorofila*

Os valores dos índices de clorofila (IC) estão apresentados na Tabela 1, na qual se verifica que após a segunda aplicação da piraclostrobina o IC variou entre os tratamentos, sendo que o único tratamento que apresentou valores mais altos que a testemunha (T1) para esta variável foi o T3 (0,1 g i.a. L<sup>-1</sup>). Esta diferença chegou a 24% aos 23 dias após a segunda aplicação de piraclostrobina, demonstrando efeito benéfico desta concentração de piraclostrobina no incremento deste pigmento.

Tabela 01 - Índice de clorofila, expresso em unidade relativa, de folhas de plantas jovens totalmente expandidas de *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobina, em função dos dias, após a segunda aplicação

Tratamento (g i.a. L <sup>-1</sup> )	Índice de clorofila (unidade relativa)			
	Dias após a aplicação da segunda dose de piraclostrobina			
	2	9	16	23
0,00 (T1)	10,26 ± 1,07 ab	10,30 ± 0,65 a	10,11 ± 0,37 ab	9,86 ± 0,64 b
0,05 (T2)	12,27 ± 0,76 a	9,83 ± 0,61 ab	9,65 ± 0,20 ab	9,33 ± 0,48 b
0,10 (T3)	9,91 ± 0,69 ab	10,75 ± 0,31 a	11,55 ± 0,87 a	12,35 ± 0,70 a
0,20 (T4)	8,48 ± 0,59 b	7,88 ± 0,65 b	8,65 ± 0,51 b	9,16 ± 0,61 b

Letras iguais no mesmo dia não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%, dentro de cada coluna (média ± erro padrão da média, n = 6).

### *Fluorescência da clorofila a: cinética de emissão de fluorescência e Teste JIP*

Os quatro tratamentos exibiram típica curva transiente OJIP da fluorescência da clorofila a nas quatro datas de avaliação (Figura 1). Na primeira determinação (2 DAAP) o T4 apresentou leve redução na área complementar total normalizada acima da curva OJIP, demonstrada pelo aumento da fluorescência, enquanto os demais tratamentos permaneceram semelhantes à testemunha (Figura 1A). Aos nove DAAP todos os tratamentos apresentaram mesmos valores para estas variáveis (Figura 1B). Contudo, nas determinações realizadas aos 16 e 23 DAAP, houve alteração desses parâmetros em T4. Este tratamento (0,2 g i.a. L<sup>-1</sup>) apresentou maiores valores de fluorescência da clorofila a partir do passo "J" (Figura 1C e D) causando redução na área complementar total normalizada acima da curva OJIP.

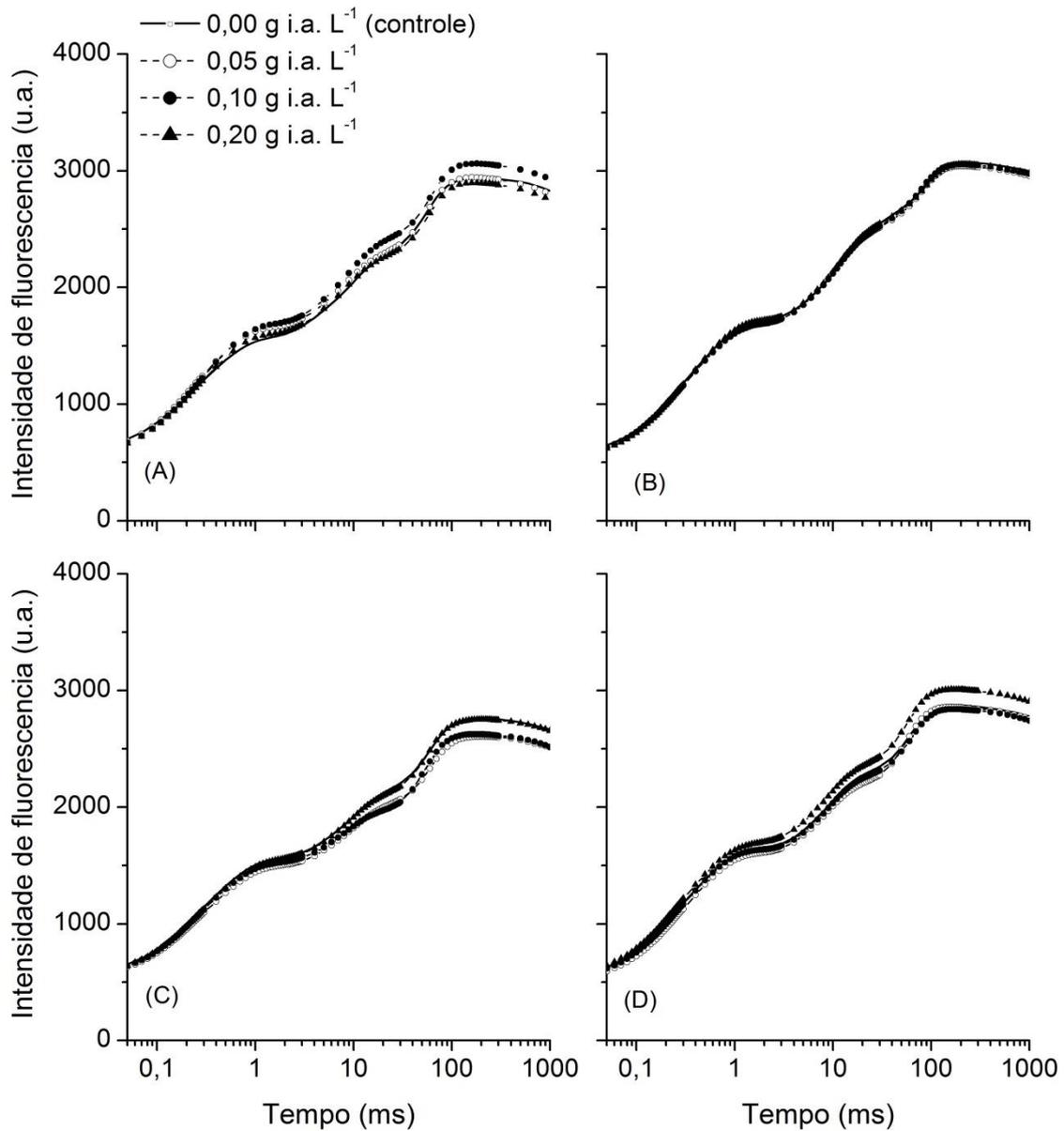


Figura 01: Intensidade de fluorescência da clorofila *a*, obtida em plantas jovens de *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobin, em função dos dias após a segunda aplicação. A, B, C, D (2, 9, 16 e 23 DAAP). T1 - 0,0 g i.a. L<sup>-1</sup> (linha sólida), T2 - 0,05 g i.a. L<sup>-1</sup> (- -○- -), T3 - 0,10 g i.a. L<sup>-1</sup> (- -●- -), T4 - 0,20 g i.a. L<sup>-1</sup> (- -▲- -). (n = 10).

Quanto aos parâmetros do Teste JIP, não foram verificadas diferenças expressivas entre os tratamentos aos dois e nove DAAP (Figura 2A e B), porém aos 16 DAAP o T3 (0,1 i.a. g L<sup>-1</sup>) apresentou maior redução dos aceptores finais do lado acceptor de elétrons do fotossistema I (FSI) em  $t = 0$  ( $RE_0/RC$ ), aumento no rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI por fóton absorvido ( $\phi_{R0}$ ), aumento da eficiência com que um elétron pode se mover dos aceptores de elétrons dos intersistemas reduzido para reduzir os aceptores finais do FSI ( $\delta_{R0}$ ) e no índices de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI ( $PI_{total}$ ). Entretanto, aos 23 DAAP, tais efeitos foram observados para o T2 (0,05 g i.a. L<sup>-1</sup>) (Figura 2 D).

O tratamento T2 (0,05 i.a. g L<sup>-1</sup>) aos 23 DAAP apresentou aumento do rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI por fóton absorvido ( $\phi_{R0}$ ), na eficiência com que um elétron pode se mover dos aceptores de elétrons dos intersistemas reduzido para reduzir os aceptores finais do FSI ( $\delta_{R0}$ ) e no índice de performance total e no índice de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI,  $PI_{abs}$  e  $PI_{total}$  respectivamente.

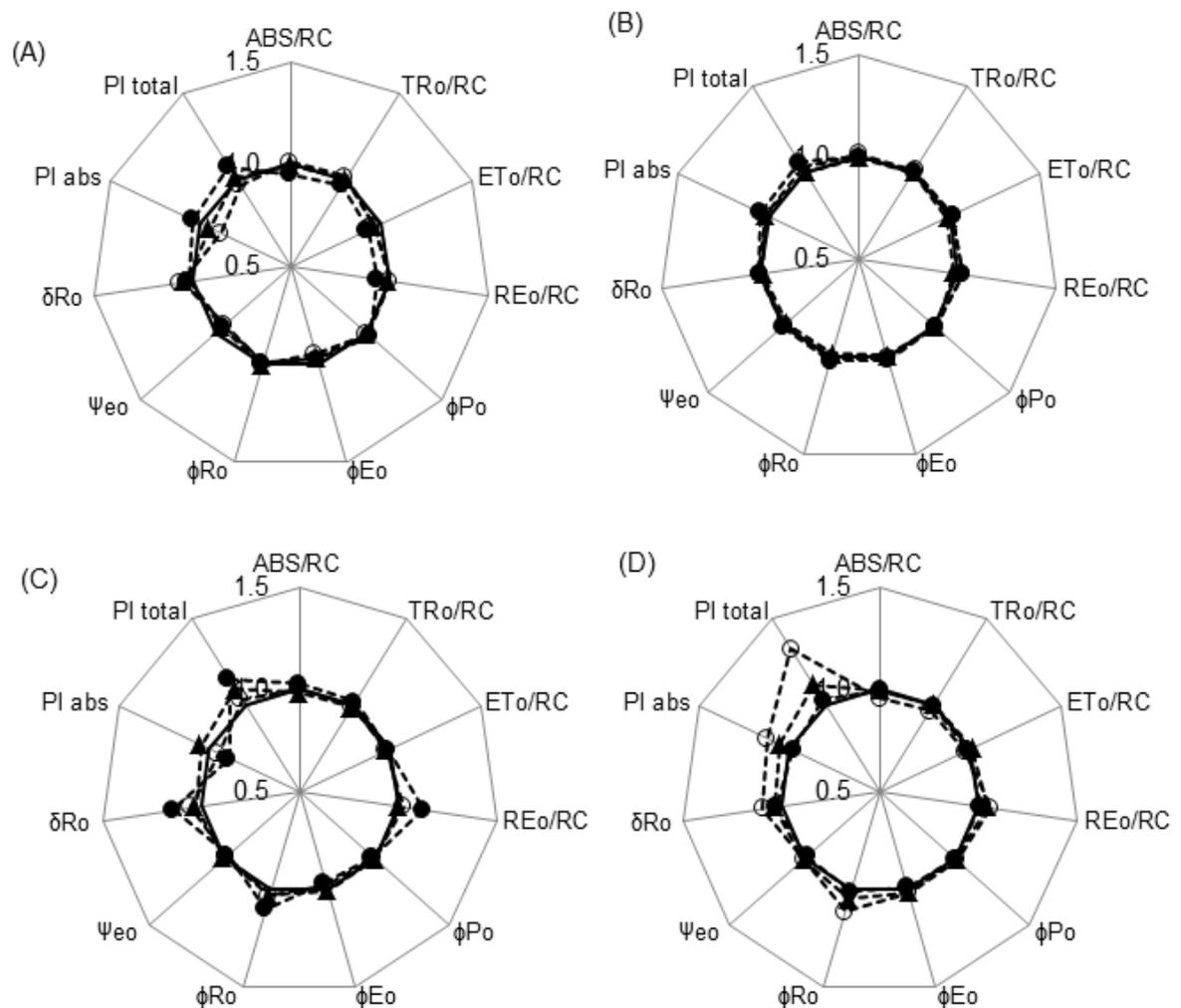


Figura 2: Parâmetros do Teste JIP, normalizado em relação à dose controle, obtidos a partir da fluorescência transiente OJIP das clorofilas de plantas jovens de *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobin, em função dos dias após a segunda aplicação. A, B, C, D (2, 9, 16 e 23 DAAP). T1 – 0,0 gi.a. L<sup>-1</sup> (linha sólida), T2 - 0,05 g i.a. L<sup>-1</sup> (- -○- -), T3 - 0,10 i.a. g L<sup>-1</sup> (- -●- -), T4 - 0,20 i.a. g L<sup>-1</sup> (- -▲- -). (n = 10).

### Trocas gasosas

Para a taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub>, a menor média em função do tempo, foi aos dois DAAP. Posteriormente, aos nove e 16 DAAP, esses valores se elevam consideravelmente, contudo, na última determinação (23 DAAP) o valor das médias das doses apresentaram decaída (Tabela 2). Quanto ao fator dose observou-se uma relação positiva da taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub>, em função do aumento da dose sendo que as doses 0,1 g L<sup>-1</sup> (T3) e 0,2 g L<sup>-1</sup> (T4) apresentaram valores significativamente mais altos que a testemunha (T1) (Tabela 2). Em relação à condutância estomática (g<sub>s</sub>) não houve diferença significativa para as médias em função do tempo nem para o fator dose entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 2 - Taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub>, expressa em μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, em *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobina, em função dos dias, após a segunda aplicação

Tratamento (g i.a. L <sup>-1</sup> )	Dias após a aplicação da segunda dose de piraclostrobina				Média fator dose
	2	9	16	23	
0,00 (T1)	13,10 ± 1,27	16,43 ± 0,61	15,38 ± 1,13	14,70 ± 0,91	14,90 ± 0,52 B*
0,05 (T2)	13,13 ± 1,18	17,51 ± 0,66	16,14 ± 0,86	17,62 ± 1,40	16,10 ± 0,64 AB
0,10 (T3)	17,55 ± 0,76	19,08 ± 0,15	17,28 ± 0,66	16,49 ± 1,12	17,59 ± 0,40 A
0,20 (T4)	15,23 ± 1,43	18,32 ± 0,59	20,36 ± 1,43	17,38 ± 1,25	17,82 ± 0,68 A
Média fator coleta	14,75 ± 0,67 b	17,84 ± 0,33 a	17,29 ± 0,63 a	16,55 ± 0,60 ab	

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna. (média ± erro padrão da média, n = 6).

Tabela 3 - Condutância estomática, expressa em mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> em *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobina, em função dos dias, após a segunda aplicação

Tratamento (g i.a. L <sup>-1</sup> )	Dias após a aplicação da segunda dose de piraclostrobina				Média fator dose
	2	9	16	23	
0,00 (T1)	0,48 ± 0,05	0,49 ± 0,02	0,64 ± 0,02	0,50 ± 0,06	0,53 ± 0,02 A*
0,05 (T2)	0,54 ± 0,05	0,52 ± 0,04	0,52 ± 0,08	0,58 ± 0,06	0,55 ± 0,02 A
0,10 (T3)	0,68 ± 0,02	0,55 ± 0,02	0,57 ± 0,03	0,49 ± 0,04	0,57 ± 0,02 A
0,20 (T4)	0,64 ± 0,04	0,51 ± 0,02	0,62 ± 0,05	0,48 ± 0,06	0,56 ± 0,02 A
Média fator coleta	0,58 ± 0,02 a*	0,52 ± 0,01 a	0,59 ± 0,02 a	0,56 ± 0,02 a	

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna. (média a ± erro padrão da média, n = 6).

O fator coleta (dias após a aplicação da piraclostrobina) influenciou a concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) que na primeira determinação apresenta média menor que as demais, sendo constada a relação inversa entre a dose de piraclostrobina e a concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) (Tabela 4).

Tabela 4 - Concentração interna de CO<sub>2</sub>, expressa em Pa, em *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobina, em função dos dias, após a segunda aplicação

Tratamento (g i.a. L <sup>-1</sup> )	Dias após a aplicação da segunda dose de piraclostrobina				Média fator dose
	2	9	16	23	
0,00 (T1)	30,36 ± 0,64	29,26 ± 0,24	30,72 ± 0,39	29,80 ± 0,37	30,04 ± 0,23 A <sup>*</sup>
0,05 (T2)	30,75 ± 0,36	28,88 ± 0,47	29,00 ± 0,57	29,29 ± 0,47	29,48 ± 0,27 AB
0,10 (T3)	29,86 ± 0,30	28,47 ± 0,30	29,16 ± 0,35	28,98 ± 0,35	29,12 ± 0,19 B
0,20 (T4)	30,60 ± 0,44	28,44 ± 0,16	28,17 ± 0,38	28,21 ± 0,43	28,86 ± 0,27 B
Média fator coleta	30,39 ± 0,21 a	28,76 ± 0,16 b	29,26 ± 0,28 b	29,07 ± 0,22 b	

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna. (média ± erro padrão da média, n = 6).

No que se refere às médias de eficiência de assimilação de CO<sub>2</sub> (A/C<sub>i</sub>), em função do tempo, verificou-se comportamento semelhante ao da concentração interna de CO<sub>2</sub>, sendo o menor valor foi quantificado na primeira determinação. Porém, para o fator doses o comportamento foi inverso, as maiores doses resultaram em maior eficiência de assimilação de CO<sub>2</sub> (A/C<sub>i</sub>) sendo que as doses 0,10 g i.a. L<sup>-1</sup> (T3) e 0,20 g i.a. L<sup>-1</sup> (T4) foram significativamente maiores que a testemunha (T1) (Tabela 5).

Tabela 5 - Eficiência de assimilação de CO<sub>2</sub>, expressa em μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>, em *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobina, em função dos dias, após a segunda aplicação

Tratamento (g i.a. L <sup>-1</sup> )	Dias após a aplicação da segunda dose de piraclostrobina				Média fator dose
	2	9	16	23	
0,00 (T1)	0,43 ± 0,04	0,56 ± 0,02	0,50 ± 0,04	0,49 ± 0,02	0,49 ± 0,01 B <sup>†</sup>
0,05 (T2)	0,43 ± 0,04	0,60 ± 0,03	0,55 ± 0,02	0,60 ± 0,05	0,54 ± 0,02 AB
0,10 (T3)	0,58 ± 0,03	0,67 ± 0,01	0,59 ± 0,02	0,57 ± 0,04	0,60 ± 0,01 A
0,20 (T4)	0,50 ± 0,05	0,64 ± 0,02	0,72 ± 0,05	0,61 ± 0,04	0,62 ± 0,02 A
Média fator coleta	0,48 ± 0,02 b	0,62 ± 0,01 a	0,59 ± 0,02 a	0,57 ± 0,02 a	

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna. (média ± erro padrão da média, n = 6).

Para a taxa transpiratória ( $E$ ), o fator tempo ocasionou uma oscilação nos valores médios sem padrão específico, contudo, para o fator dose verificou-se um padrão ascendente em função do aumento da dose, fato este que influenciou nos valores significativamente mais elevados para o T3 e T4 em relação à testemunha (T1) (Tabela 6). Enquanto que para a eficiência de uso da água ( $EUA$ ) o fator tempo ocasionou variação não tendenciosa nos valores médios, porém num plano inverso ao da transpiração. Todavia, o fator dose não foi influente para a eficiência de uso da água (Tabela 7).

Tabela 6 - Taxa transpiratória expressa em  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobina, em função dos dias, após a segunda aplicação

Tratamento (g i.a. L <sup>-1</sup> )	Dias após a aplicação da segunda dose de piraclostrobina				Média fator dose
	2	9	16	23	
0,00 (T1)	7,35 ± 0,40	5,66 ± 0,1	7,56 ± 0,18	6,73 ± 0,49	6,83 ± 0,23 B*
0,05 (T2)	7,94 ± 0,46	6,19 ± 0,3	7,34 ± 0,71	7,57 ± 0,46	7,26 ± 0,27 AB
0,10 (T3)	9,29 ± 0,12	6,73 ± 0,1	8,33 ± 0,21	7,09 ± 0,33	7,86 ± 0,23 A
0,20 (T4)	9,06 ± 0,24	6,53 ± 0,1	9,08 ± 0,40	7,06 ± 0,59	7,93 ± 0,31 A
Média fator coleta	8,41 ± 0,23 a	6,28 ± 0,13 c	8,08 ± 0,25 a	7,11 ± 0,23 b	

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna. (média ± erro padrão da média, n = 6).

Tabela 7 - Eficiência de uso da água, expressa em  $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ , em *J. curcas* submetidas a diferentes doses de piraclostrobina, em função dos dias, após a segunda aplicação

Tratamento (g i.a. L <sup>-1</sup> )	Dias após a aplicação da segunda dose de piraclostrobina				Média fator dose
	2	9	16	23	
0,00 (T1)	1,79 ± 0,18	2,91 ± 0,09	2,03 ± 0,14	2,21 ± 0,08	2,24 ± 0,11 A*
0,05 (T2)	1,65 ± 0,10	2,86 ± 0,17	2,25 ± 0,13	2,33 ± 0,13	2,27 ± 0,11 A
0,10 (T3)	1,89 ± 0,09	2,84 ± 0,08	2,08 ± 0,09	2,32 ± 0,10	2,28 ± 0,09 A
0,20 (T4)	1,67 ± 0,12	2,80 ± 0,05	2,24 ± 0,10	2,49 ± 0,08	2,30 ± 0,10 A
Média fator coleta	1,75 ± 0,06 c	2,85 ± 0,05 a	2,15 ± 0,06 b	2,34 ± 0,05 b	

\* médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5%, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna. (média ± erro padrão da média, n = 6).

*Curvas de resposta da taxa fotossintética à densidade de fluxo de fótons e a concentração interna de CO<sub>2</sub>*

Os dados obtidos a partir das curvas de resposta da taxa fotossintética à densidade de fluxo de fótons estão expostos na Tabela 8. Verificou-se que a aplicação da piraclostrobina não teve influência nas taxas respiratórias nem no rendimento quântico das plantas, quando expostas a diferentes fluxos de fótons. Entretanto, a dose 0,20 g i.a. L<sup>-1</sup> ocasionou redução na taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> máxima (A<sub>max</sub>) e este tratamento (T4) apresentou media 14% menor que a testemunha (T1).

Em relação às curvas de resposta da taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> em função da concentração interna de CO<sub>2</sub>, não foram identificadas diferenças marcantes entre os tratamentos (Figura 3).

Tabela 8 - Parâmetros do metabolismo primário de plantas jovens de *J. curcas* sobre diferentes níveis de irradiância aos 15 dias após a segunda aplicação de piraclostrobina

Parâmetros	Dose de piraclostrobina (g i.a. L <sup>-1</sup> )			
	0,00	0,05	0,10	0,20
Taxa assimilatória líquida de CO <sub>2</sub> máxima (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	21,94 ± 0,82 a*	20,28 ± 0,49 ab	21,61 ± 0,77 ab	18,85 ± 0,58 b
Respiração no escuro (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	-2,16 ± 0,11 <sup>ns</sup>	-2,21 ± 0,28	-2,17 ± 0,03	-1,94 ± 0,05
Respiração na luz (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	-2,06 ± 0,12 <sup>ns</sup>	-1,97 ± 0,18	-2,02 ± 0,04	-1,79 ± 0,04
Rendimento quântico aparente (μmol CO <sub>2</sub> μmol fótons <sup>-1</sup> )	0,056 ± 0,001 <sup>ns</sup>	0,057 ± 0,002	0,055 ± 0,002	0,054 ± 0,001

\*médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, na linha, pelo Teste Tukey a 5% (média ± erro padrão da média, n = 4). (ns= não significativo).

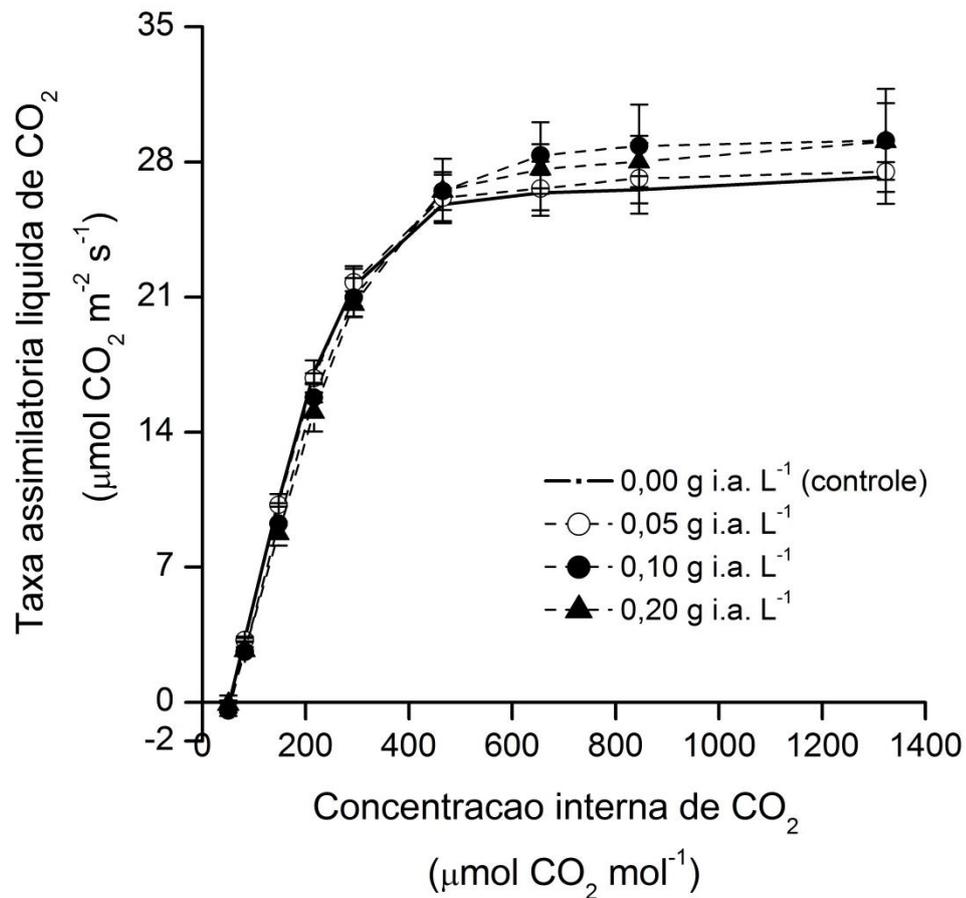


Figura 3: Taxa assimilatória líquida em resposta a concentração interna de CO<sub>2</sub> em plantas jovens de *J. curcas* sob irradiância constante de 1.500 μmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>, aos 15 dias após a segunda aplicação de piraclostrobina. T1 – 0,00 g i.a. L<sup>-1</sup> (linha sólida), T2 - 0,05 g i.a. L<sup>-1</sup> (- -○- -), T3 - 0,10 g i.a. L<sup>-1</sup> (- -●- -), T4 - 0,20 g i.a. L<sup>-1</sup> (- -▲- -).

#### *Atividade da redutase do nitrato e teor de nitrogênio nas folhas.*

A partir dos dados observados verificou-se que a aplicação de piraclostrobina influenciou na redução da atividade da enzima redutase do nitrato em plantas jovens de *J. curcas*. Como pode ser observado na Figura 4 A os tratamentos 0,10 g i.a. L<sup>-1</sup> (T3) e 0,20 g i.a. L<sup>-1</sup> (T4) apresentam valores significativamente menores que a testemunha. Todavia, o teor de nitrogênio nas folhas que foi semelhante para todos os tratamentos (Figura 4B).

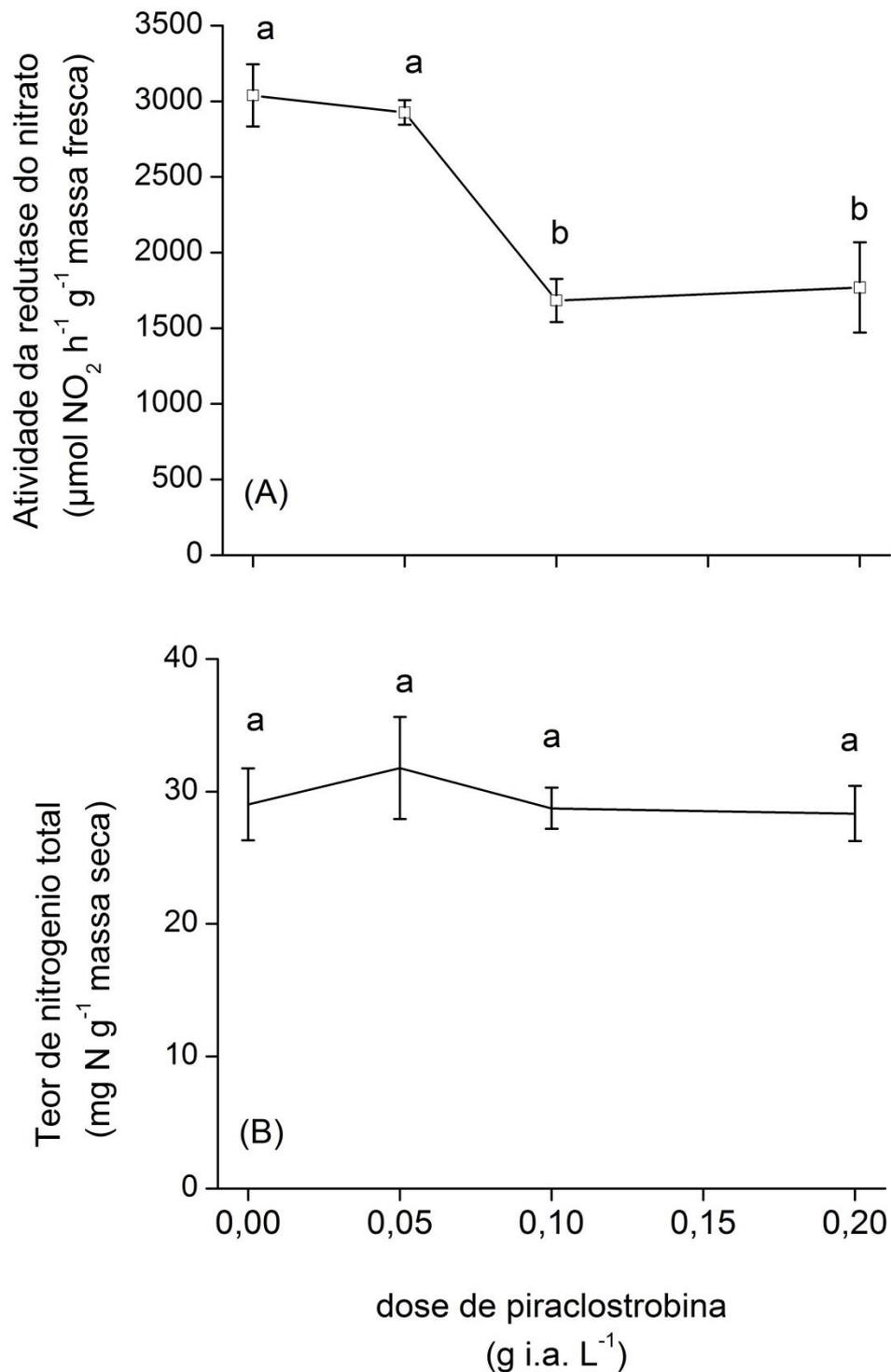


Figura 4: Atividade da redutase do nitrato (A) (expressa em  $\mu\text{mol NO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  massa fresca de folhas) e teores de nitrogênio total em folhas (B) (expressa em  $\text{mg N g}^{-1}$  massa seca de folhas) em plantas jovens de *J. curcas* em função das concentrações de piraclostrobina aos 24 dias após a segunda aplicação de piraclostrobina. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% ( $n = 6$ ).

## DISCUSSÃO

O índice de clorofila é um parâmetro que estima a quantidade de clorofila na área amostral, estes pigmentos são constantemente reciclados para manter o funcionamento dos complexos coletores de luz nos cloroplastos e tem estreita relação com a quantidade de nitrogênio na planta (AMARO, 2011; ANANTHI et al., 2013).

Em muitas espécies a piraclostrobina tem elevado os índices de clorofila, devido ao aumento da assimilação de nitrogênio em função do aumento na atividade da enzima redutase do nitrato ocasionada pelo produto (KÖEHLE et al., 1994; LOPES, 2011; AMARO, 2011; LIMA et al., 2012; ANANTHI et al., 2013). Contudo, o incremento do índice de clorofila ao longo deste experimento nas plantas submetidas ao tratamento em T3 (0,1 g i.a. L<sup>-1</sup>), pode estar associado a retranslocação de nitrogênio entre as folhas mais velhas e as folhas analisadas (CANCELLIER et al., 2013).

Além desta capacidade de retranslocação de substâncias entre os órgão durante o desenvolvimento vegetal (CANCELLIER et al., 2013), muitos outros fatores são de suma importância para a manutenção homeostática das mesmas, principalmente no que tange sua principal característica biológica, a autotrofia (SELOSSE e ROY, 2009). Assim sendo, frente às variações ambientais, as plantas desenvolvem finos mecanismos de controle entre a fotossíntese e a respiração, mantendo compensatoriamente ajustados o efeito redox nos fatores que envolvem o metabolismo primário.

Desta forma análises dos parâmetros distintos que identifiquem variações nos processos fotossintéticos, como a fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas, permitem elaborar um panorama fisiológico comportamental destes indivíduos frente a determinadas alterações no ambiente e que muitas vezes configuram fator estressante.

Proposto por Strasser e colaboradores (2004) a análise da fluorescência transiente OJIP, permite avaliar o comportamento do fluxo de elétrons nas cadeias transportadoras de elétrons nos tilacóides através das seguintes inferências: no passo O a fluorescência mínima; na fase OJ a redução de Q<sub>A</sub>; na fase JI a redução de Q<sub>B</sub>, do pool de plastoquinona (PQ), do citocromo b<sub>6</sub>f e da plastocianina, ambos conhecidos como transportadores de elétrons do intersistema; e na fase IP a

redução da ferridoxina e  $\text{NADP}^+$ , receptores finais de elétrons no lado acceptor do FSI.

Alterações entre os passos 'J' e 'I', verificadas entre os tratamentos ao longo deste experimento podem ser devidas ao desbalanço no fluxo de elétrons de  $Q_A$  para  $Q_B$  possivelmente ocasionados por problemas no ciclo de oxirredução envolvendo os aceptores de elétrons do intersistema e do FSI. Desta forma, a redução da área complementar total normalizada acima da curva OJIP em T4 (0,20 g i.a.  $\text{L}^{-1}$ ), na segunda metade do período experimental, foi principalmente pelo aumento da fluorescência no passo 'P' (STRASSER et al., 2004),

A maior redução dos aceptores finais do lado acceptor de elétrons do FSI em  $t = 0$  ( $\text{RE}_0/\text{RC}$ ) na dose 0,10 g i.a.  $\text{L}^{-1}$  (T3) aos 16 DAAP proporcionou o aumentando no rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI por fóton absorvido ( $\phi_{\text{R}_0}$ ) e a eficiência com que um elétron pode se mover dos aceptores de elétrons dos intersistemas reduzido para reduzir os aceptores finais do FSI ( $\delta_{\text{R}_0}$ ), aumentando o índice de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI ( $\text{PI}_{\text{total}}$ ) (STRASSER et al., 2004). Entretanto, a influência desta dose no fluxo de elétrons na cadeia transportadora de elétrons nos tilacóides não foi constatada aos 23 DAAP.

Por outro lado, o aumento do índice de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI ( $\text{PI}_{\text{total}}$ ) para T4 (0,20 g i.a.  $\text{L}^{-1}$ ) aos 23 DAAP, foi devido ao aumentou do rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI por fóton absorvido ( $\phi_{\text{R}_0}$ ).

Também nesta mesma fase da pesquisa, as maiores alterações nos parâmetros de fluorescência foram ocasionadas pela dose 0,05 g i.a.  $\text{L}^{-1}$  (T2). Os dados demonstram que o aumento da atividade dos centros de reação em relação ao fluxo de absorção proporcionou o aumento no índice de performance total ( $\text{PI}_{\text{abs}}$ ). Além disso, o aumento da eficiência com que um elétron pode se mover dos aceptores de elétrons dos intersistemas reduzido para reduzir os aceptores finais do FSI ( $\delta_{\text{R}_0}$ ) e o aumentou o rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI por fóton absorvido ( $\phi_{\text{R}_0}$ ) também proporcionaram a este tratamento um índices de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI ( $\text{PI}_{\text{total}}$ ) bastante elevado.

Haja visto que índices de performance são importantes para o entendimento do comportamento do fluxo energético na cadeia de transporte de elétrons na

fotossíntese (YUSUF et al., 2010), acredita-se que a piraclostrobina participa diferentemente dos processos metabólicos vegetal tendo ação em função da concentração do produto nas soluções aplicadas ao longo do tempo.

Sendo os sistemas biológicos baseados em três fundamentos: o primeiro em função do objetivo que descreve o ganho que deve ser maximizado ou perda a ser minimizada; o segundo, relativo à variável de controle que muda o exercício na direção desejada, e o terceiro o conjunto de restrições que representam as condições ambientais e leis de conservação que limitam o sistema (MANZONI et al., 2013), pode-se dizer que o produto além de melhorar o fluxo de elétrons em determinadas situações, também não ocasiona danos aos aparatos fotossintéticos.

Além disso, o crescimento e desenvolvimento dos organismos vegetais depende da manutenção constante das estruturas dos fotossistemas (BORISOVA et al., 2012) e o arranjo contínuo no fluxo hidrológico do sistema solo-planta-atmosfera visando maximizar a absorção de carbono pelas folhas sem desperdício de água, otimizado o processos de carboxilação (McMURTRIE et al., 2008).

Neste sentido, o movimento estomático é considerado importante regulador das trocas gasosas e água entre a planta e o ambiente, influenciando nas variações da resistência a difusão de ambos (MANZONI et al., 2011; 2013).

Embora a piraclostrobina atue como moderador de estresses bióticos e abióticos participando na regulação do metabolismo de hormônios como o ácido abscísico, importante regulador da abertura e fechamento estomático (KÖEHLE et al., 2002; PACHECO et al., 2011), as concentrações utilizadas no presente experimento, não causaram alterações na condutância estomática das plantas jovens de *J. curcas* L. Como as alterações nesta variável geralmente influenciam nos demais parâmetros de trocas gasosas, estes resultados nos permitem inferir que esta espécie possui mecanismos eficientes para a regulação da eficiência do uso da água, indiferente às diferentes doses de piraclostrobina usadas nesta pesquisa.

Esta regulação pode estar associada à síntese de diferentes proteínas que atuam nos complexos denominados aquaporinas, que além de auxiliar nos controle hidrostático nas folhas, também influencia as trocas gasosas entre os diferentes órgãos das plantas e o ambiente (MAUREL et al., 2008; MARENCO e LOPES, 2009). Assim sendo, o aumento na taxa transpiratória, proporcional ao aumento da dose de piraclostrobina, pode estar relacionado há possíveis variações no déficit de

vapor nas cavidades subestomáticas (MATSUMOTO et al., 2005; MAUREL et al., 2008).

Geralmente há uma correlação positiva entre a condutância estomática e a concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ), (SAVVIDES et al., 2012), e da mesma forma, o aumento nas as taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> é acompanhado pelo aumento da taxa transpiratória (SANTIAGO e WRIGHT, 2007). Com base nestas proposições, pode-se dizer que a taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub>, em plantas jovens de *J. curcas*, aumenta como o aumento das doses de piraclostrobina e o fato das plantas manterem iguais o acesso de CO<sub>2</sub> ao mesofilo, mesmo sob diferentes doses de piraclostrobina, ocasionou maior consumo do  $C_i$ , por isso tanto a taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> quanto eficiência de assimilação de CO<sub>2</sub> são inversamente proporcionais à concentração interna de CO<sub>2</sub>.

Contudo, plantas sob diferentes doses de piraclostrobina respondem igualmente a variação na disponibilidade de CO<sub>2</sub> e na densidade de fluxo de fótons. As alterações destas variáveis não tiveram efeito sobre estes parâmetros, com uma única exceção. As plantas submetidas à dose de 0,2 g i.a. L<sup>-1</sup> (T4) começaram a apresentar comportamento distinto à elevação da densidade de fluxo de fótons a partir dos 400  $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  levando a redução de 14% na taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> máxima em comparação à testemunha.

Por outro lado, a redução da atividade da enzima redutase do nitrato em T3 (0,1 g i.a. L<sup>-1</sup>) pode ser devida a baixa disponibilidade do substrato nitrato (KAISER et al., 2002), que pode ter sido utilizado na síntese de clorofila, pois este tratamento apresentou altos índices de clorofila ao final da pesquisa. Já o a redução da atividade da enzima redutase do nitrato em T4 (0,2 g i.a. L<sup>-1</sup>) pode estar relacionada ao déficit de ferridoxina e/ou NADP(H) (LINDBLAD e GUERRERO, 1993) reduzidos, pois nesta fase da pesquisa este tratamento apresenta redução na área complementar total normalizada acima da curva OJIP especialmente devido ao aumento da fluorescência no passo "P".

Toda via, a relação entre as respostas fisiológicas e as diferentes dose de piraclostrobina na solução ao longo do experimento pode sugerir que o produto pode ser metabolizado pelas plantas em sua fase inicial de desenvolvimento proporcionando algumas vantagens ao metabolismo das mesmas.

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a aplicação de piraclostrobina na dose 0,10 g i.a. L<sup>-1</sup> promove incremento no índice de clorofila em plantas jovens de *Jatropha curcas* L..

As diferentes doses de piraclostrobina promovem comportamentos distintos no fluxo de elétrons na cadeia transportadora de elétrons cloroplastídica aumentando nos índices de performance.

A fase fotoquímica da fotossíntese, em detrimento dos processos de fixação do dióxido de carbono, tende a melhorar sob a aplicação de piraclostrobina, principalmente nas dose 0,10 i.a. g L<sup>-1</sup>. demonstrado pelo aumento da taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> concomitante com o aumento das doses de piraclostrobina.

## CAPÍTULO 2

### INFLUÊNCIAS DA PIRACLOSTROBINA SOBRE OS PROCESSOS FISIOLÓGICOS DE PLANTAS JOVENS DE *Jatropha curcas* L. EM CONDIÇÃO DE ALAGAMENTO.

#### INTRODUÇÃO

Os processos de industrialização e o crescente aumento populacional tem elevado consideravelmente o consumo energético, levando ao desenvolvimento de estratégias para mitigar os efeitos da crise do petróleo que há tempos tem regido a economia mundial (GONÇALVES e NOGUEIRA, 2007). Entre estas estratégias está o aumento na produção de biodiesel, que por ser de caráter renovável tem despertado grande interesse, especialmente em países importadores de combustíveis a base de petróleo (GONÇALVES e NOGUEIRA, 2007).

O biodiesel é definido pelo Programa Brasileiro de Biodiesel como um combustível obtido a partir de misturas, em diferentes proporções, de diesel fóssil e alquil ésteres de óleos vegetais ou de gorduras animais (PINTO et al., 2005), sendo que o uso de óleos vegetais como fonte de matéria prima tem aumentado consideravelmente.

Desta forma, grande número de espécies vegetais oleaginosas tem sido estudado para a produção de biodiesel (SANTOS, 2009; DENG et al., 2011). Entre estas a *Jatropha curcas* L. tem-se evidenciado por sua versatilidade, pois além de ser perene, ter rápido crescimento e fácil propagação, pode apresentar até 60 % de óleo de excelente qualidade em suas sementes (SACHS, 2010; GIMENO et al., 2012; MOFIJUR et al., 2012; VERMA et al., 2014).

Outro fator que agrega interesse em seu cultivo é o fato de que o óleo produzido por esta espécie, não é indicado para alimentação, devido a sua

toxicidade, o que exige sua produção da controvérsia que envolve a utilização de óleos comestíveis e a ocupação de áreas agricultáveis para produção de energia (Tiwari et al., 2007; YANG et al., 2010; DENG et al., 2010).

Embora em alguns países, como a Índia, grandes áreas são utilizadas para o plantio desta espécie (KURMA e SHARMA, 2008), no Brasil ainda poucas áreas são destinadas a esta cultura. Isso está relacionado à grande ocupação de áreas agricultáveis por outras monoculturas e também pelo fato de que, embora o Brasil possua um grande potencial de expansão de áreas para cultivo, boa parte dessa área, cerca de 28 milhões de hectares de solos, é aluvial e/ou hidromórfico, sujeito a encharcamento (MAGALHÃES et al., 2005).

Para muitas plantas essa condição é altamente desfavorável ao desenvolvimento, pois o excesso de água no solo desencadeia uma série de processos que influenciam as características físico-químicas e biológicas do solo, implicando em uma série de problemas ao metabolismo vegetal (HORCHANI et al., 2009). Estes problemas são originados, principalmente, pela depleção de oxigênio (hipóxia) que é causada pela dificuldade de difusão do gás em meio aquoso e pelo seu consumo em processos respiratórios tanto no metabolismo radicial das plantas quanto em organismos aeróbicos presentes na rizosfera (BALAKHNINA et al., 2012).

Desta forma diminuição da respiração celular nas raízes acompanha a queda dos níveis de  $O_2$  e conseqüentemente há uma drástica redução na disponibilidade de ATP para os processos metabólicos na planta. Em resposta a alteração na razão ATP/ADP, há o desencadeamento de uma cascata de sinalização, que culmina no aumento do fluxo glicolítico (Efeito Pasteur) nas raízes (MAGALHÃES et al., 2009) e também redução da atividade fotossintética nas folhas (CAUDLE e MARICLE, 2012).

Esta redução na atividade fotossintética é em resposta ao aumento da resistência às trocas gasosas pela diminuição da condutância estomática, devido ao fechamento dos estômatos (KOZLOWSKI e PALLARDY, 1979; ARRUDA et al., 2004). Se esta condição for prolongada, as limitações da fotossíntese aumentam, e passam a ser influenciadas também por alterações nas enzimas do ciclo de Calvin e pela degradação dos pigmentos fotossintéticos, causando decréscimo na eficiência carboxilativa e no rendimento quântico aparente das plantas (CAUDLE e MARICLE, 2012; POLACIK e MARICLE, 2013).

Outras conseqüências da hipóxia causada por alagamento são a diminuição do potencial redox do solo acarretando em limitações nutricionais e redução no

crescimento das plantas. Esta condição também aumenta da produção de etileno nas plantas causando-lhes alterações anatômicas, clorose foliar e indução prematura das mesmas, podendo em casos extremos a levar a planta a morte (KOZLOWSKI, 1997; PEZESHKI, 2001; MALIK et al., 2003; TIMPERIO et al., 2008; RYSER et al., 2011).

Frente a esse problema, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas para criar estratégias inovadoras que possam sanar o alto grau de nocividade imposto às plantas sujeitas a hipóxia, ocasionada por alagamento, com o intuito de ampliar as áreas agricultáveis e conseqüentemente aumentar a produção.

Estas propostas vão desde a engenharia genética para alterações na arquitetura das plantas, influenciando no desenvolvimento de tecidos específicos para o transporte de gases e na fisiologia, atuando na regulação da expressão e silenciamento de genes que codificam a síntese de enzimas como a piruvato descarboxilase e fitoreguladores como o etileno (QUIMIO et al., 2000; WANG e JIANG, 2007; BAILEY-SERRES et al., 2008; HINZ et al., 2010). Bem como a aplicação exógena de produtos que possam auxiliar na superação ao alagamento como é o caso da aplicação dos compostos nitrogenados (CARVALHO, 2012; LANZA et al., 2013).

Sendo assim, o aumento das pesquisas envolvendo estrobilurina é de grande interesse, pois este princípio ativo tem proporcionado respostas positivas nas plantas em condições normais de desenvolvimento, mesmo sem infecção por patógenos, beneficiando os processos fisiológicos que podem resultar no aumento da produtividade.

A estrobilurina foi descoberta no início dos anos 80, quando se observou que uma substância pertencente ao grupo  $\beta$ -methoxyacrilatos, produzida pelo fungo *Strobiluros tenacellus* inibia o crescimento de outros fungos (KÖHLE et al., 1994; BARLETT et al., 2002). A partir desta descoberta muitos fungicidas foram desenvolvidos, entre eles a piraclostrobina (BASF) atualmente utilizado em ampla escala (BARLETT et al., 2002; MAHONEY e GILLARD, 2014) para controle de doenças fúngicas.

Abrangendo o controle de um amplo espectro de fungos, a piraclostrobina age inibindo a respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons pelo complexo citocrômico  $bc_1$ , entre o citocromo b e o citocromo  $c_1$ , no sítio  $Q_0$  (BARLETT et al., 2002). A interrupção no fluxo de elétrons entre os complexos na

membrana interna da mitocôndria impede a formação do gradiente de prótons transmembranar e conseqüentemente reduz a síntese de ATP (BRANDT et al., 1993) levando os fungos a morte por insuficiência energética.

Contudo, o aumento na utilização deste produto não está relacionado somente a sua eficiência na ação contra fungos, mas também a sua capacidade de proporcionar uma série de efeitos benéficos às plantas. Os mecanismos pelos quais a aplicação de piraclostrobina atua no metabolismo vegetal ainda não estão bem elucidados, porém os efeitos no estímulo do crescimento das plantas após a aplicação do produto é creditado a sua capacidade de estimular a síntese de óxido nítrico, importante sinalizador nos processos de crescimento e defesa das plantas (CONRATH et al., 2004, KANUNGO e JOSHI, 2014).

A piraclostrobina também estimula a síntese de citocinina e ácido abscísico (ABA) e proporciona um efeito análogo aos da auxina, bem com a redução na síntese de etileno (GROSSMANN e RETZLAFF, 1997). Desta forma os efeitos da aplicação de piraclostrobina tende a melhorar o crescimento e desenvolvimento das plantas através do tempo de permanência das folhas na planta, em função do balanço hormonal (KANUNGO e JOSHI, 2014) e também do incremento nos níveis de clorofila nas folhas, ambos envolvidos com o processo fotossintético.

A aplicação de piraclostrobina pode resultar em maior acúmulo de biomassa e aumento na produtividade, como observado em plantas de trigo (WU e TIEDEMANN, 2001), soja (TSUMANUMA et al., 2010; BALARDIN et al., 2011; HENRY et al., 2011; HILL et al., 2013), batata (LOPES, 2011), pepino (AMARO, 2011), milho (NELSON e MEINHARDT, 2011) e bananeira (LIMA et al., 2012).

Outro fator importante a ser considerado é que as respostas fisiológicas proporcionadas pela aplicação de piraclostrobina nas plantas também contrapõe os efeitos negativos impostos pela condição de hipóxia ocasionada por alagamento, como a clorose e abscisão de folhas, inibição da formação de primórdios foliares, redução na expansão foliar, redução das taxas fotossintéticas e conseqüentemente o tempo de vida das plantas (KOZLOWSKI, 1997; ARRUDA et al., 2004).

Desta forma este experimento teve como objetivo, verificar o efeito da aplicação de piraclostrobina sobre o aparato fotossintético e crescimento de plantas jovens de *Jatropha curcas* L. submetidas a condições de alagamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Município de Capão do Leão, RS. Foram utilizadas sementes de *Jatropha curcas* L. (pinhão manso) oriundas de Janaúba, MG (gentilmente cedidas pela Prof<sup>a</sup>. Diolina Moura Silva – Universidade Federal do Espírito Santo).

A semeadura foi realizada em 01 de fevereiro de 2014 em vasos plásticos com capacidade de 5 L, contendo uma mistura de solo com areia (proporção 2:1) e dispostos em espaçamento 50 x 50 cm em uma área experimental em condições normais de campo. Foram dispostas três sementes por vaso a profundidade de 5 cm, e 20 dias após a semeadura (DAS) foi feito desbaste deixando-se uma planta por vaso.

Trinta dias após a emergência (DAE), 30 plantas receberam a primeira aplicação de Comet®, como fonte de piraclostrobina na concentração de 0,10 g i.a. de piraclostrobina para 1 L de água, com pulverizador manual. Cinco dias após, ou seja, aos 35 DAE, estas mesmas plantas receberam a segunda aplicação de piraclostrobina. Os outros 30 vasos permaneceram sem aplicação de piraclostrobina.

Aos 36 DAE, (um dia após a segunda aplicação de piraclostrobina), 15 vasos de cada tratamento (com e sem piraclostrobina) foram submetidas ao alagamento para criar uma condição de hipóxia a estas plantas. O alagamento consistiu na manutenção de uma lâmina de água de aproximadamente 3 cm acima do nível do solo. Foram mantidas as mesmas quantidades de vasos sem alagamento, cuja humidade do solo foi mantida em condições normais de campo, com a utilização de um regador manual, os quais foram considerados o controle (condição normóxia).

Desta forma foram estabelecidos quatro tratamentos com 15 unidades experimentais cada: T1 - normóxia sem piraclostrobina; T2 - normóxia com piraclostrobina (0,1 g i.a. L<sup>-1</sup>); T3 - hipóxia sem piraclostrobina e T4 - hipóxia com piraclostrobina (0,1 g i.a. L<sup>-1</sup>).

O índice de clorofila e a fluorescência transiente da clorofila foram determinados aos quatro, oito, 12 e 16 dias após o início do alagamento (DAIA) e as trocas gasosas foram determinadas no primeiro, 4º, 12º e 16º DAIA. Foram utilizadas as primeiras folhas jovens, completamente expandidas, e as medidas realizadas entre 09:00 e 11:00 horas.

Os índices de clorofila foram determinados utilizando-se um medidor portátil de clorofila modelo CL-01 (Hansatech Instruments Ltda., King's Lynn Norfolk, UK), conforme descrito por Cassol et al., (2008).

Para a fluorescência transiente OJIP, as folhas foram previamente adaptadas ao escuro por 60 minutos, utilizando um fluorômetro portátil, modelo Handy-PEA (Hansatech Instruments, King's Lynn, Norfolk, UK); após o período de escuro um flash de  $3.400 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  foi aplicado para a indução da fluorescência transiente OJIP. As intensidades de fluorescência transiente foram medidas entre 50  $\mu\text{s}$  (fluorescência inicial –  $F_0$ ) e 1s; obtidos os valores da fluorescência transiente foram calculados os par\u00e2metros do Teste JIP, proposto por Strasser e colaboradores (STRASSER e STRASSER, 1995; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008).

Para as trocas gasosas, utilizou-se um analisador portátil a infravermelho de  $\text{CO}_2$ , modelo LI-6400XT (LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA), com densidade de fluxo de f\u00f3tons fotossinteticamente ativo de  $1.200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e concentra\u00e7\u00e3o de  $\text{CO}_2$  no interior da c\u00e2mara de  $380 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ . As vari\u00e1veis avaliadas foram: taxa assimilat\u00f3ria l\u00edquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); condut\u00e2ncia estom\u00e1tica ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); concentra\u00e7\u00e3o intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ); efici\u00eancia de assimila\u00e7\u00e3o de  $\text{CO}_2$  ( $A/C_i$ ); taxa transpirat\u00f3ria ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e efici\u00eancia do uso da \u00e1gua ( $EUA$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ ). Ao final do experimento, as plantas foram coletadas para an\u00e1lise de \u00e1rea foliar e massa seca das folhas, caules e ra\u00edzes.

A determina\u00e7\u00e3o da \u00e1rea foliar foi feita com medidor de \u00e1rea modelo LI-3100 (LI-COR Inc., Lincoln, NE USA), e expressa em cent\u00edmetros quadrados por planta. A m\u00e1teria seca foi obtida em balan\u00e7a anal\u00edtica ap\u00f3s a secagem em estufa de ventila\u00e7\u00e3o for\u00e7ada a temperatura de  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  por quatro dias. Os dados de \u00edndice de clorofila, \u00e1rea foliar e massa seca das partes da planta (raiz, caule e folhas) foram padronizados e os resultados expressos em redu\u00e7\u00e3o relativa em compara\u00e7\u00e3o com os respectivos controles (n\u00e3o alagados) utilizando a f\u00f3rmula proposta por Ghoulam et al., (2002). Os dados foram comparados entre os regimes h\u00eddricos dentro das condi\u00e7\u00f5es de aplica\u00e7\u00e3o da piraclostrobina. Sendo que as m\u00e9dias das redu\u00e7\u00f5es foram comparadas pelo teste Tukey.

Os dados de fluoresc\u00eancia foram normalizados de acordo com seus respectivos controles e para as trocas gasosas foi realizada estat\u00edstica descritiva sendo utilizados para an\u00e1lise o erro padr\u00e3o das m\u00e9dias.

## RESULTADOS

### *Índice de clorofila*

Os valores de percentagem de redução do índice de clorofila, em função dos dias após o início do alagamento e da aplicação de piraclostrobina estão apresentados na Figura 1. A hipóxia ocasionou redução nos índices de clorofila (IC), especialmente na segunda metade do experimento, porém a aplicação de piraclostrobina diminuiu consideravelmente a percentagem de redução do IC aos oito e 16 DAIA sendo que ao 16 DAIA foi 79,6% menor para as plantas com piraclostrobina.

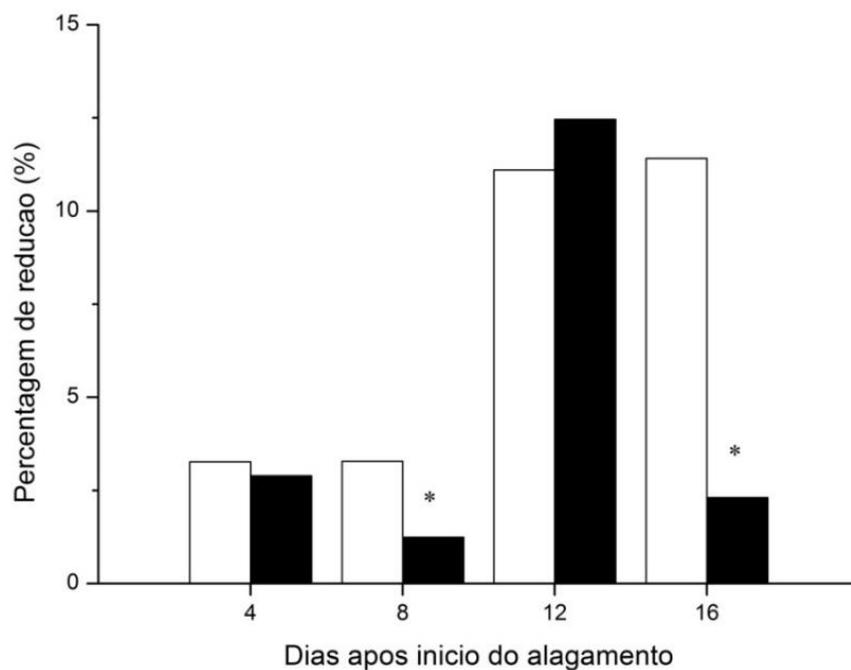


Figura 1: Percentagem de redução do índice de clorofila, em função da aplicação da piraclostrobina e dos dias após o início do alagamento (□ sem aplicação de piraclostrobina, ■ com aplicação de piraclostrobina). Asteriscos indicam diferenças estatísticas a  $P < 0,01$ .

### *Fluorescência da clorofila a*

As curvas de cinética de emissão de fluorescência da clorofila apresentaram um típico comportamento OJIP em todas as determinações, tendo sido os dados normalizados em relação ao tratamento controle (sem fungicida e sem alagamento) para os cálculos descritos pelo teste JIP.

Aos quatro dias após início do alagamento (DAIA), observou-se, nas plantas submetidas aos tratamentos com piraclostrobina associados (T4) ou não (T2) ao alagamento, a elevação do  $F_V/F_0$  (razão entre as reações luminosas e dissipação de energia) e o aumento de  $S_m$  (área complementar total normalizada acima da curva OJIP) (Figura 2A). Verificou-se também, nestes mesmos tratamentos, a redução em  $ABS/RC$  (fluxo de absorção por centro de reação) e maior taxa de redução dos aceptores finais do lado acceptor de elétrons do FSI em  $t = 0$  ( $RE_0/RC$ ). O índice de performance total ( $PI_{abs}$ ) e índice de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI ( $PI_{total}$ ) também foram bastante elevados nestes tratamentos nesta fase da pesquisa.

Por outro lado, as plantas sem piraclostrobina em condição de hipóxia apresentaram redução na área complementar total normalizada acima da curva OJIP ( $S_m$ ) e menor redução dos aceptores finais do lado acceptor de elétrons do FSI em  $t = 0$  ( $RE_0/RC$ ), bem como baixos índices de performance ( $PI_{abs}$  e  $PI_{total}$ ).

Na segunda determinação dos dados, aos oito DAIA (Figura 2B) os efeitos da hipóxia foram mais expressivos e a dissipação de energia por centro de reação ( $DI_0/RC$ ), mesmo no tratamento com piraclostrobina, foi maior que na testemunha.

Ambos os tratamentos em hipóxia (com e sem piraclostrobina) também apresentam menor redução dos aceptores finais do lado acceptor de elétrons do FSI em  $t = 0$  ( $RE_0/RC$ ), menor  $\phi_{R_0}$  (rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI por fóton absorvido) e menor  $\delta_{R_0}$  (eficiência com que um elétron pode se mover dos aceptores de elétrons dos intersistemas reduzidos para os aceptores finais do FSI) quando comparados com a testemunha.

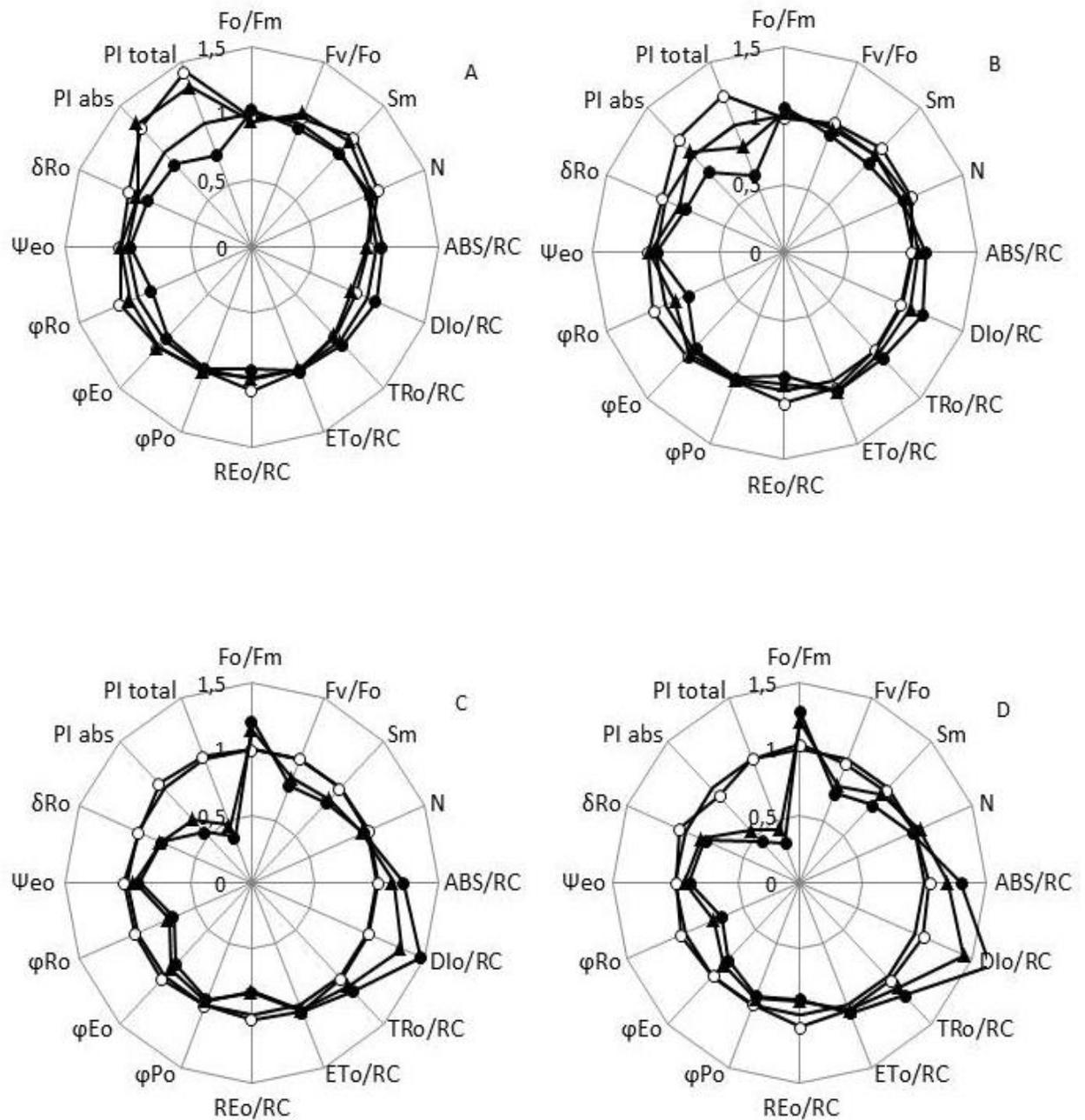


Figura 2: Parâmetros do Teste JIP, obtidos a partir da fluorescência transiente OJIP das clorofilas em plantas jovens de *J. curcas* L. obtidos aos quatro (A), oito (B), 12 (C) e 16 (D) dias após o início do alagamento. T1 (—○—) normóxia sem piraclostrobina, T2 (---○---) normóxia com piraclostrobina, T3 (—●—) em hipóxia e sem piraclostrobina, T4 (---▲---) em hipóxia e com piraclostrobina.

Contudo, no tratamento com piraclostrobina os efeitos do estresse hipóxico foram mais brandos permitindo que as plantas submetida ao tratamento T4 obtivesse  $PI_{abs}$  igual ao da testemunha e  $PI_{total}$  maior que o tratamento sem piraclostrobina na mesma condição hídrica de solo. Contudo, as plantas do tratamento T2 ainda mantiveram o fluxo ABS/RC (fluxo de absorção por centro de reação) menor e taxa de redução dos aceptores finais do lado acceptor de elétrons do FSI em  $t = 0$  ( $RE_0/RC$ ) maior que a testemunha. O índice de performance ( $PI_{abs}$ ) e índice de performance total ( $PI_{total}$ ) mantinham-se elevados, porém menores que na determinação anterior.

A partir dos 12 DAIA (Figura 2C) as plantas em normóxia com piraclostrobina (T2) apresentam valores para todos os parâmetros do Teste JIP analisados semelhantes aos da testemunha (T1-normóxia sem piraclostrobina), permanecendo inalterados até o final do experimento (Figuras 2D).

Ao final do experimento (16 DAIA) as plantas de ambos os tratamentos em hipóxia (T3 e T4) apresentavam grandes problemas no sistema de oxirredução da cadeia transportadora de elétrons, contudo tratamento com piraclostrobina (T4) ainda apresenta menor ABS/RC e  $DI_0/RC$  e consequentemente  $PI_{abs}$  e  $PI_{total}$  maiores que o tratamento em hipóxia sem piraclostrobina (T3).

### *Trocas gasosas*

Não se observou influência da aplicação de piraclostrobina nos parâmetros de trocas gasosas neste experimento, por outro lado, a condição hídrica do solo teve grande efeito sobre estes parâmetros (Figura 3).

Nos tratamentos em normóxia (T1 e T2) a taxa assimilatória líquida de  $CO_2$  ( $A$ ) e a eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) (Figura 3A e 3B) seguiram padrões semelhantes entre as determinações. Em ambos os tratamentos as médias de  $A$  e  $A/C_i$  elevaram-se até o 4º DAIA, permanecendo elevados até o final do experimento (16 DAIA). Nos tratamentos em hipóxia (T3 e T4), as médias destes parâmetros também se elevaram até 4 DAIA, porém, a partir desta determinação estas médias reduziram drasticamente, chegando a zero aos 16 DAIA.

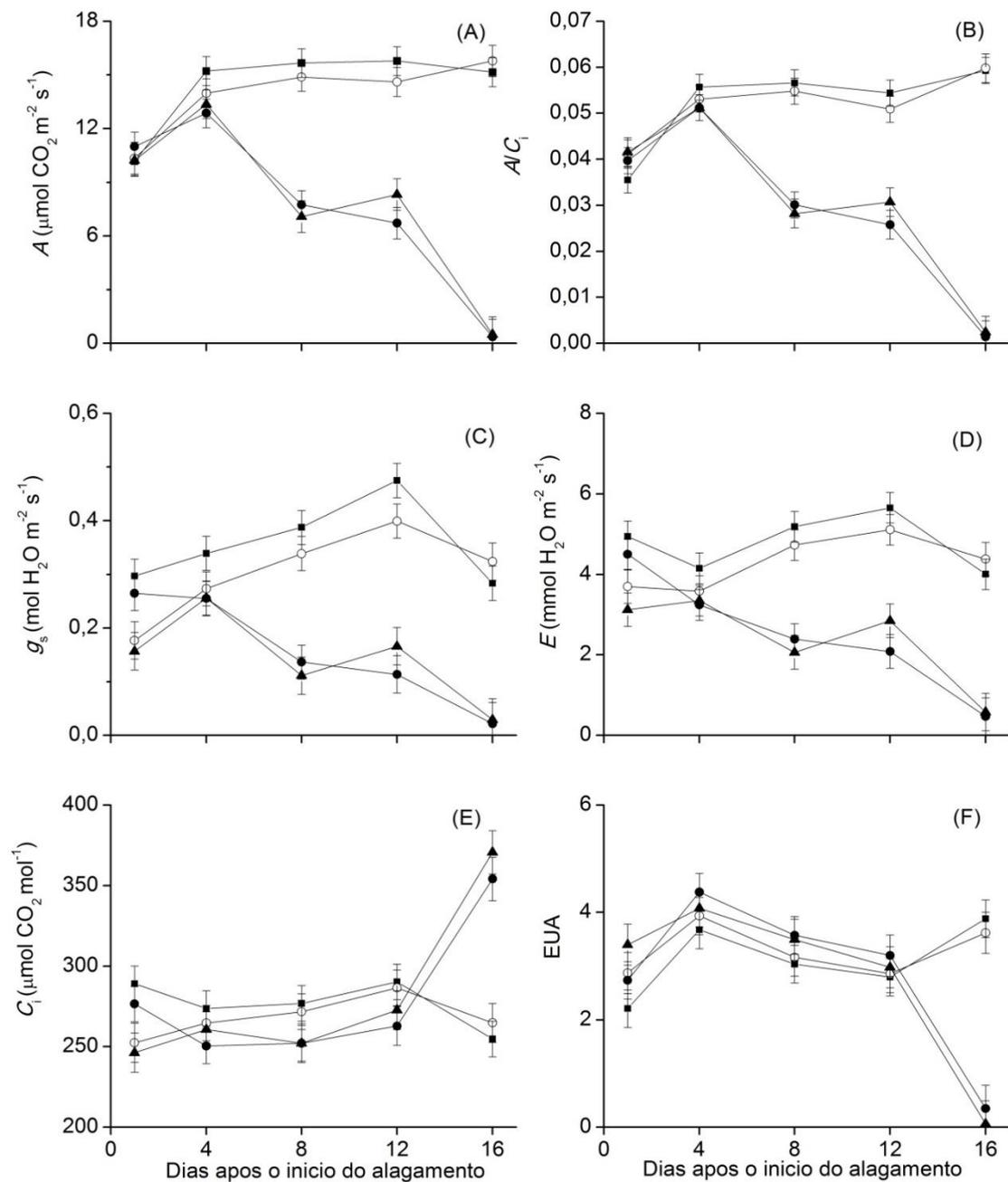


Figura 03: Taxa assimilatória líquida ( $A$ ), expressa em  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (A), eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ), expressa em  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (B), condutância estomática ( $g_s$ ), expressa em  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (C), taxa transpiratória, expressa em  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (D), concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ), expressa em  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  (E) e eficiência no uso da água (EUA), expressa em  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$  (F), em plantas jovens de *J. curcas* L. submetidas a diferentes tratamentos com piraclostrobina, associados ou não a diferentes regimes hídricos em função dos dias de alagamento. T1(--■--) normóxia sem piraclostrobina, T2(--○--) normóxia com piraclostrobina, T3(--●--) em hipóxia e sem piraclostrobina, T4(--▲--) em hipóxia e com piraclostrobina. Barra indica erro padrão da média. (n = 4).

Embora as médias de condutância estomática ( $g_s$ ) e taxa transpiratória ( $E$ ) (Figura 3C e 3D) não difiram até os quatro DAIA, após esta fase, os tratamentos em normóxia apresentam incremento na condutância estomática e na taxa transpiratória até os 12 DAIA. Em seguida tanto  $g_s$  quanto  $E$  voltam a ter médias equivalentes aos valores determinados do início do experimento. Entretanto, nos tratamentos em hipóxia esses parâmetros apresentaram queda expressiva a partir dos quatro DAIA chegando à zero no final do experimento.

Para a concentração intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ) e a eficiência no uso da água ( $EUA$ ) (Figura 3E e 3F) não foram identificadas diferenças entre os tratamentos até aos 12 DAIA. Apesar disso, aos 16 DAIA o  $C_i$  teve uma queda de cerca de 16 % nos tratamentos em normóxia e um aumento de cerca de 25% nos tratamentos em hipóxia. A eficiência no uso da água teve comportamento antagônico ao do  $C_i$  ao passo que as plantas em normóxia fixavam cerca de  $4 \mu\text{mol } CO_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2O$ , aos 16 DAIA, as plantas em hipóxia não tinham mais capacidade de fixar  $CO_2$ .

### *Crescimento*

Os resultados da análise biométrica, expressos em percentagem de redução (Figura 4), indicam que a aplicação de piraclostrobina não teve efeito sobre a área foliar, contudo, o produto influenciou significativamente no acúmulo de biomassa, tendo em vista que, as plantas sem piraclostrobina apresentaram percentual de redução significativamente superior para os valores de massa seca foliar, caulinar e radicial. Sendo assim, embora a hipóxia tenha exercido influência negativa no desenvolvimento da espécie, as plantas com a aplicação do produto demonstraram maior resistência ao estresse.

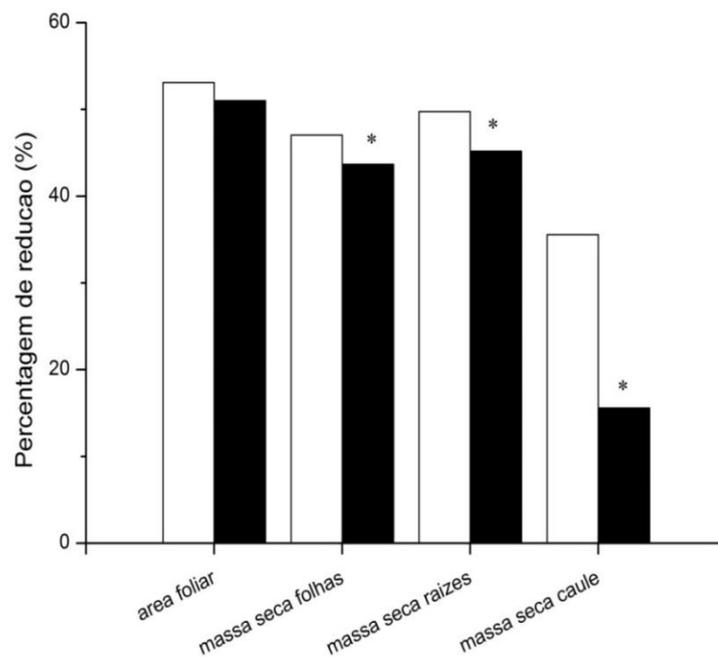


Figura 4: Percentagem de redução dos parâmetros de crescimento em função da aplicação da piraclostrobina e dos dias após o início do alagamento (□ sem aplicação de piraclostrobina, ■ com aplicação de piraclostrobina). Asteriscos indicam diferenças estatísticas a  $P < 0,01$ .

Observou-se maior crescimento nos caules das plantas com aplicação de piraclostrobina, quando comparadas com seus respectivos controles (Figura 5B e 5D). Embora a condição de hipóxia tenha induzido o desenvolvimento de lenticelas em ambos os tratamentos, nesta condição, as plantas com aplicação do produto, apresentam-se visualmente mais saudável quando comparadas com as plantas sem o produto (Figura 5C e 5D).

A condição de hipóxia também foi bastante influente para o sistema radicial das plantas. As plantas sob essa condição apresentaram intenso processo necrótico nas raízes, especialmente nas regiões mais jovens, principal área de entrada de água e nutrientes (Figura 6C e 6D). Por outro lado também foi observado o desenvolvimento de raízes adventícias nestas plantas (Figura 6E).

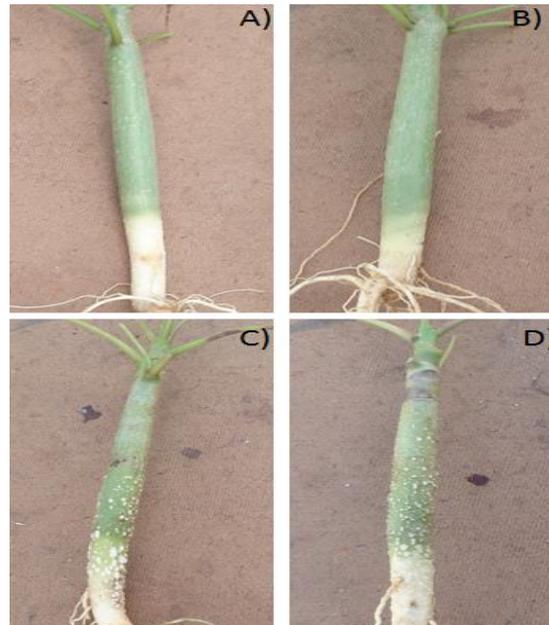


Figura 5: Imagens dos caules ao final do experimento. Imagens (A) T1 (normóxia sem piraclostrobina), (B) T2 (normóxia com piraclostrobina), (C) T3 (hipóxia sem piraclostrobina) e (D) T4 (hipóxia com piraclostrobina). Imagens (C) e (D) evidenciam a formação de grande quantidade de lenticelas.

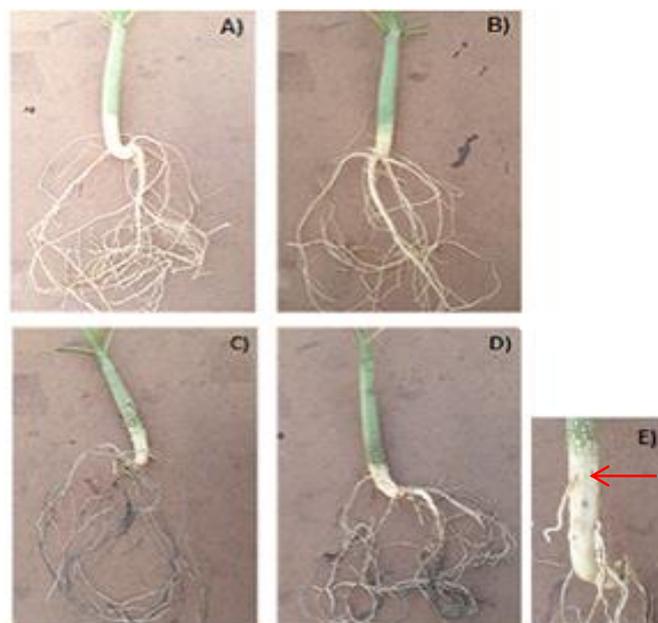


Figura 6: Imagens dos caules ao final do experimento evidenciando as condições das raízes. Imagens (A) T1 (normóxia sem piraclostrobina), (B) T2 (normóxia com piraclostrobina), (C) T3 (hipóxia sem piraclostrobina) e (D) T4 (hipóxia com piraclostrobina). Imagens (C) e (D) evidenciam as raízes em estágio necrótico avançado.

## DISCUSSÃO

O alagamento é um fator limitante para o crescimento da grande maioria das plantas superiores, especialmente em suas fases iniciais de desenvolvimento. A fisiologia dessas plantas depende, além de outras coisas, de um bom funcionamento do sistema radicular, sendo o oxigênio é indispensável ao bom funcionamento deste órgão (PEZESHKI , 1994; ROGGE et al., 1998; VERMA et al., 2014).

Em solos alagados a difusão de  $O_2$  é muito baixa, dificultando seu acesso às raízes (DANTAS et al., 2001). Como este gás é fundamental para a respiração celular, as taxas respiratórias vão diminuindo ao passo que o  $O_2$  é consumido, tanto na respiração das células vegetais, quando por demais organismos aeróbias presentes na rizosfera (BALAKHNINA et al., 2012).

Com a diminuição da taxa respiratória nas raízes, há redução na produção de ATP, conseqüentemente uma drástica queda nos níveis de energia disponível para os processos metabólicos nas raízes. A baixa na razão ATP/ADP também desencadeia uma cascata de sinalização desenvolvendo o processo de fermentação do piruvato, originando metabólitos fitotóxicos, como acetaldeídos e etanol, podendo causar a morte destes tecidos (HORCHANI et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2009).

Estes problemas causados às raízes vão originar a uma série sinais bioquímicos desencadeando respostas metabólicas em toda a planta. Uma das primeiras respostas é a resistência às trocas gasosas pela diminuição da condutância estomática, devido ao fechamento dos estômatos (KOZLOWSKI e PALLARDY, 1979; ARRUDA et al., 2004). Este déficit de  $CO_2$  reduz a eficiência de carboxilação e conseqüentemente reduz a atividade fotossintética nas folhas, sendo que a permanência nesta condição acaba também alterando o funcionamento do ciclo de Calvin (CAUDLE e MARICLE, 2012; POLACIK e MARICLE, 2013).

Na tentativa de manter a homeostase, as plantas desenvolvem estratégias que permitem a aquisição de energia e substrato, para processos fisiológicos de primeira ordem, a partir da degradação e reaproveitamento de estruturas pré-existentes. Desta forma são comuns que diferentes estresses ou diferentes níveis de um mesmo estresse acarretem diferentes níveis e velocidade de utilização destas propriedades.

Observou-se através da análise de percentagem de redução dos parâmetros de índice de clorofila e de crescimento que a aplicação de piraclostrobina

influenciou a manutenção dos valores de clorofila e no acúmulo de biomassa em plantas jovens de *J. curcas* L.. A ação da piraclostrobina sobre os índices de clorofila demonstra que sua atuação pode estar ligada a forma de absorção do produto pelas plantas. Segundo Reis e Bresolin (2007) a piraclostrobina permanece aderida a epiderme das folhas por um longo período através da interação com a cutícula, podendo ser solubilizada e absorvida pelas folhas através de variações de temperatura e humidade, reiniciando seu ciclo de ação sobre os processos fisiológicos da planta.

Embora aos 12 DAIA a condição de hipóxia tenha amentado o percentual de redução no índice de clorofila em ambos os tratamentos, aos 16 DAIA as plantas com piraclostrobina apresentaram percentual de redução quase 80 % menor que as plantas sem piraclostrobina. Isso pode demonstrar que o produto permanecer agindo por um longo período e que sua ação pode estar relacionada ao controle manutenção destes pigmentos através e sua resíntese e também da redução na produção e acúmulos de substâncias tóxicas que podem atuar na degradação das clorofilas (PEZESHKI et al., 1996; PEZESHKI, KOZLOWSKI, 1997 ; MAIN et al., 2011; MARTINAZZO et al., 2013; AIAMLA-OR et al., 2014).

Desta forma a ação da piraclostrobina acontece no interior das células ou até mesmo nos cloroplastos, pois as clorofilas são degradadas principalmente no estroma, contudo, em alguns casos ocorrem nos plastoglobulos, pequenas vesículas lipoproteicas formadas dentro dos cloroplastos a partir das membranas do tilacóide. Após a degradação, os esqueletos carbônicos originadas desta degradação podem ser reutilizadas para síntese de novas moléculas na mesma célula ou então nas células de outros órgãos mais jovens, através do translocamento destas substâncias via fluxo floemático (KAEWSUKSAENG, 2011; BORISOVA et al., 2012; ANANTHI et al., 2013; AIAMLA-OR et al., 2014).

Além de diminuir a percentagem de redução do índice de clorofila, a piraclostrobina também diminuiu o percentual de redução de biomassa nas plantas. Normalmente a hipóxia induzir a fermentação e também faz com que haja maior acúmulo de nitritos e sulfetos gerados por microrganismos na rizosfera (HORCHANI et al, 2009; EZIN et al., 2010). Estes fatores, além de restringir a formação de novas células, aceleram os processos necróticos dos tecidos, contribuindo aumentando o percentual de redução de biomassa nestes órgãos (ROGGE et al., 1998; VERMA et al., 2014).

Outra influencia do alagamento na maior redução de biomassa é a redução de absorção e transporte de íons através das raízes imposta pelo estresse, conseqüentemente há menor translocação à parte aérea, reduzindo a produção de fotoassimilados devido a complicações na fotossíntese e causando grandes limitações no crescimento das plantas (LIAO e LIN, 2001; HORCHANI et al, 2009; RYSER et al., 2011).

Embora ainda não se saiba exatamente como a piraclostrobina atua nos processos metabólicos, alguns trabalhos demonstram que ao reduzir temporariamente a respiração de manutenção (FAGAN et al., 2010), pode resultar em menor desperdício de energia e carbono que são utilizados no incremento de biomassa. Outro fator que pode ter diminuído o percentual de redução de biomassa nas plantas com piraclostrobina, é a capacidade do produto em estimular a síntese de óxido nítrico, citocinina e ácido abscísico (ABA), além de proporcionar efeitos análogos à auxina (CONRATH et al., 2004; KANUNGO e JOSHI, 2014).

O óxido nítrico importante sinalizador nos processos de crescimento e defesa das plantas (CONRATH et al., 2004; KANUNGO e JOSHI, 2014) e a auxina, juntamente com o ABA os principais reguladores de crescimento (TAIZ e ZEIGER, 2010). Assim, a significativa diferença no percentual de redução de biomassa parece refletir a manutenção dos balanços hormonais envolvidos na assimilação e particionamento de componentes estruturais, principalmente carbono e nitrogênio (EVANS, 1989; TAIZ e ZEIGER, 2010; KANUNGO e JOSHI, 2014).

Associado a isso, a condição de hipóxia induziu alterações anatômicas como a formação de raízes adventícias e lenticelas, alternativas comuns experimentadas pelas plantas alagadas para tentar reduzir os efeitos do estresse. A formação de raízes adventícias decorre da interação de fatores existentes nos tecidos e da translocação de substâncias sintetizadas nas folhas e gemas em desenvolvimento sendo que, dentre esses fatores a composição mineral é de fundamental importância, devido a influencia no comportamento morfofisiológico (CUNHA et al., 2010). Estas raízes ficam expostas a ambiente com maior disponibilidade de oxigênio permitindo a aerobiose, bem como a absorção de água e nutrientes, aumentando a tolerância ao encharcamento (VODNIK et al. 2009).

As lenticelas são pequenas rupturas no tecido caulinar que permitem o contato entre as células parenquimáticas e o ambiente e são muito importantes já que o súber é um tecido altamente impermeável à água e aos gases. Como os

tecidos localizados abaixo dele, são tecidos vivos e metabolicamente ativos, em condições de alagamento essas estruturas podem ser muito importantes no intercâmbio de gases entre ambiente externo e interno.

Assim, as lenticelas auxiliam na liberação de compostos voláteis fitotóxicos e principalmente permitem o influxo de  $O_2$ . Desta forma o  $O_2$  pode difundir-se entre os órgãos e tecidos, auxiliando nos processos dependente de oxigênio, aumentando as chances de sobrevivência das plantas (KOZLOWSKI, 1997; VISSER E VOESENEK, 2004; BATISTA et al., 2008; MEDRI et al., 2007; XIAOLING et al., 2011).

A fluorescência da clorofila *a* é uma excelente forma de monitorar como está a estrutura e funcionalidade dos fotossistemas e através da demonstração de parâmetros e algoritmos específicos, pode-se fazer inferências sobre as condições impostas por diferentes estresses aos aparatos fotossintéticos (STRASSER et al., 2000; THOREN et al., 2010). Desta forma a análise da fluorescência da clorofila *a* realizada através do teste JIP demonstrou um comportamento distinto no fluxo de elétrons na cadeia transportadora de elétrons cloroplastídica em relação à metabolização da piraclostrobina. Os diferentes tratamentos apresentaram padrões diferentes de florescência ao longo do experimento demonstrando que o produto tem um pico de ação e seus efeitos vão diminuindo ao longo do tempo.

Na primeira determinação podemos observar uma grande influencia do produto sobre o movimento de elétrons através da cadeia transportadora de elétrons nos cloroplastos. As plantas que receberam piraclostrobina tiveram aumento na área complementar total normalizada acima da curva OJIP ( $S_m$ ) (T2 - normóxia com piraclostrobina), mesmo em condição de hipóxia (T4 - hipóxia com piraclostrobina) (STIRBET e GOVINDJEE, 2011). Este aumento é devido ao aumento do número de centros de reação ativos em relação aos complexos antena (ABS/RC) nestas plantas. Desta forma, maior parte da energia absorvida foi direcionada à cadeia transportadora de elétrons, diminuindo a dissipação de energia na forma não fotoquímica ( $DI_0/RC$ ) (STRASSER et al., 2004) e elevando em função disso, os índices de performance total ( $PI_{abs}$ ) nesta fase do experimento.

Verificou-se também que, independentemente da condição hídrica do solo, a piraclostrobina manteve muito próximos os parâmetros que se referem ao transporte de elétrons. Para estes tratamentos (normóxia com piraclostrobina e hipóxia com piraclostrobina) a piraclostrobina aumentou a capacidade na movimentação de elétrons do intersistema reduzidos para os aceptores finais do FSI ( $\bar{\delta}_{R0}$ ), isso

resultou em maior rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons no FSI ( $\phi_{R_0}$ ), nestas plantas, conseqüentemente elevou os índices de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI ( $PI_{total}$ ).

Desta forma a piraclostrobina parece ter proporcionado rearranjo nos aparatos fotossintéticos permitindo que mesmo em condição de hipóxia as plantas apresentassem  $PI_{abs}$  e  $PI_{total}$  cerca de 30% mais altos que a testemunha. Por outro lado, as plantas em hipóxia sem piraclostrobina apresentaram diminuição dos centros de reação ativos (ABS/RC) e conseqüentemente aumento na dissipação de energia por centro de reação ( $DI_0/RC$ ).

Desta forma os baixo rendimento quântico da redução dos aceptores finais de elétrons no FSI ( $\phi_{R_0}$ ) das plantas em hipóxia sem piraclostrobina (T4), também está relacionado ao aumento na dificuldade dos elétrons moverem-se do intersistema reduzido para os aceptores finais do FSI ( $\delta_{R_0}$ ). Esta condição causou redução de 26% no  $PI_{total}$  destas plantas, sendo que nesta mesma fase do experimento as plantas em hipóxia com piraclostrobina apresentavam  $PI_{total}$  29 % mais elevado que a testemunha (T1).

Aos oito DAIA a piraclostrobina começa de diminuir sua influencia no transporte de elétrons, contudo os  $PI_{abs}$  e  $PI_{total}$ , das plantas em normóxia com aplicação do produto, continuam mais altos que a testemunha. Entretanto, embora a diminuição de alguns parâmetros como  $\phi_{R_0}$  e  $\delta_{R_0}$  tenha causado a diminuição do  $PI_{total}$  nas plantas com piraclostrobina em hipóxia, estas ainda apresentam o  $PI_{total}$  27% maior que as plantas em hipóxia sem piraclostrobina. Estes dados podem indicar a influencia da piraclostrobina na manutenção da atividade dos centros de reação em relação a quantidade de energia absorvida, influenciando da distribuição de energia para redução dos aceptores finais de elétrons dos fotossistemas.

As plantas em hipóxia sem piraclostrobina apresentarem aumento de ABS/RC e da dissipação não fotoquímica desta energia por centro de reação ( $DI_0/RC$ ) e por isso nesta fase do experimento estas plantas apresentam  $PI_{abs}$  17% menor que a testemunha. Isso pode demonstrar a ação positiva indireta do produto no processo de oxirredução da cadeia transportadora de elétrons nos cloroplastos, pois nesta mesma fase do experimento as plantas na mesma condição hídrica de solo, porém com piraclostrobina apresentam  $PI_{abs}$  igual ao da testemunha.

Estas restrições ao fluxo de elétrons causada pela hipóxia às plantas sem piraclostrobina dificultou a redução dos aceptores finais de elétrons no lado acceptor

de elétrons do FSI por centro de reação no  $t = 0$  ( $RE_0/RC$ ) diminuído o  $\delta_{R0}$  e de  $\varphi_{R0}$ . Desta forma o índice de performance total, medindo a performance até os aceptores finais de elétrons do FSI ( $PI_{total}$ ) teve redução de 40% comprado com a testemunha.

No entanto o efeito da piraclostrobina sobre a manutenção no fluxo de elétrons foi diminuindo ao logo da pesquisa e aos 12 DAIA não se percebe mais a ação do produto nas plantas em normóxia. Como a condição de hipóxia reduz a velocidade dos processos metabólicos como um todo, possivelmente a metabolização da piraclostrobina acompanhe a velocidade desses processos. Desta forma as plantas com piraclostrobina demonstram um atraso nas respostas a hipóxia, mantendo a dissipação de energia na forma não fotoquímica ( $DI_0/RC$ ) cerca de 14% menor que nas plantas sem piraclostrobina.

Diante disso constata-se que a piraclostrobina tem ação sobre a cadeia transportadora de elétrons e que seu efeito é benéfico enquanto ativo na planta. Este tempo de ação em plantas jovens de *J. curcas* parece estar entre oito e 12 dias e sua velocidade de metabolização pode ser influenciada pelas demais condições metabólicas das plantas (BATISTA-SANTOS et al. 2011).

Entretanto, nos processos que envolvem as trocas gasosas a piraclostrobina não exerceu influencia sobre as plantas jovens de *J. curcas* e as plantas dentro das mesmas condições hídricas apresentaram médias muito similares para estas variáveis. Por outro lado, a condição de hipóxia foi bastante influente nestes parâmetros, desenvolvendo nas plantas características típicas a este tipo de estresse, como a inibição dos processos fotossintéticos como resposta ao fechamento estomático (CAUDLE e MARICLE, 2012).

Uma das primeiras respostas à hipóxia é a diminuição da condutância estomática ( $g_s$ ) que ocorre inicialmente pela diminuição da permeabilidade e condutividade hidráulica das raízes, devido ao baixo gradiente de difusão de  $O_2$  e pela perda da integridade das membranas em decorrência da ação das espécies reativas de oxigênio e pela acidificação do meio, influenciando diretamente nos processos necróticos das raízes (MIELKE et al., 2003; GREGÓRIO et al., 2006; ASSIS et al., 2014).

Assim, a regulação da condutância estomática ( $g_s$ ) é de suma importância no controle da transpiração ( $E$ ) e também a entrada de  $CO_2$  no interior das folhas. Desta forma, através da eficiência do uso da água ( $EUA$ ) a planta pode regular disponibilização de  $CO_2$  aos centros de carboxilação regulando através disso a

concentração de CO<sub>2</sub> no interior do mesofilo ( $C_i$ ) (GIMENO et al., 2012; KISSMANN et al., 2014; POLACIK e MARICLE, 2013; SANCLEMENTE et al., 2013).

As taxas transpiratórias seguem o mesmo padrão da condutância estomática e as plantas em normóxia apresentam uma diminuição nas médias destas variáveis ao final do experimento devido a uma menor abertura dos estômatos. Isso deve ter diminuído o influxo de CO<sub>2</sub> às câmaras subestomáticas, contudo as plantas estavam em plenas condições fisiológicas ao processo de carboxilação e valendo-se do aumento da eficiência no uso da água (EUA) elevaram sua eficiência de carboxilação e para isso utilizaram o CO<sub>2</sub> contido no interior do mesofilo comprovadamente pela expressiva redução nos níveis de  $C_i$  nestes tratamentos, nessa fase do experimento (GIMENO et al., 2012; KISSMANN et al., 2014; POLACIK e MARICLE, 2013; SANCLEMENTE et al., 2013).

Assim sendo, pode-se dizer que a regulação da condutância estomática ( $g_s$ ) através do fechamento estomático permite o ajuste na taxa transpiratória ( $E$ ) regulando desta forma a eficiência do uso da água (EUA) e a concentração interna de CO<sub>2</sub>. Porém, os estômatos são a principal via de entrada de CO<sub>2</sub> nas folhas, o fechamento estomático pode também reduzir consideravelmente o acesso de CO<sub>2</sub> ao mesofilo e a taxa assimilatória ( $A$ ) se torna dependente da concentração interna de CO<sub>2</sub> e do seu acesso aos sítios de carboxilação (MIELKE et al., 2003; KISSMANN et al., 2014; TOMÁS et al., 2014).

De outro modo, as plantas em condições de hipóxia embora mantivessem a eficiência no uso da água, e praticamente constantes os níveis de  $C_i$ , a queda na condutância estomática dificultou o influxo de CO<sub>2</sub> nas folhas reduzindo a eficiência de carboxilação até extinguir a taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub>, demonstrando que as plantas Jovens de *Jatropha curcas* são bastante sensíveis a períodos longos de alagamento (GIMENO et al., 2012; POLACIK e MARICLE, 2013; SANCLEMENTE et al., 2013).

Como em todos os organismos vivos, a homeostase depende da correlação entre muitos fatores bioquímicos. A falta ou excesso de algum componente em determinado sistema pode comprometer o funcionamento nos demais. Nas plantas a maior parte deste processo é dependente da energia produzida na fotossíntese e por isso a avaliação dos parâmetros fotossintéticos são muito importante para determinar as condições fisiológicas destes organismos.

## CONCLUSÕES

A condição de hipóxia prolongada é prejudicial aos processos fotossintéticos e ao desenvolvimento de plantas jovens de *Jatropha curcas* L..

A aplicação de piraclostrobina diminui o percentual de redução do índice de clorofila e biomassa em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. em condição de hipóxia.

A piraclostrobina atua na manutenção da cadeia transportadora de elétrons cloroplastídica, atenuando os efeitos da hipóxia, atrasando os efeitos negativos ocasionados pelo estresse.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Está pesquisa evidência que plantas jovens de *Jatropha curcas* L. não resistem à condição de hipóxia por períodos prolongados, contudo, desenvolvem lenticelas e raízes adventícias, fator que pode auxiliar na longevidade vital aumentando as chances de recuperação das plantas pós-estresse.

Também se constata que a aplicação de piraclostrobina em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. pode causar diferentes respostas metabólicas às plantas. As diferentes doses do produto participam diferentemente do metabolismo das plantas originando respostas diferentes.

Entre as dosagens testadas no primeiro experimento, 0,10 i.a. g L<sup>-1</sup> foi a que apresentou maior número de respostas consideradas positivas, capazes de melhorar o desenvolvimento e crescimento vegetal, como aumento nos índices de clorofila e taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub>.

Está mesma dosagem foi capaz de auxiliar na manutenção homeostática das plantas frente ao estresse hipóxico, conferindo as plantas menores percentagens de redução nos índices de clorofila e biomassa. A aplicação do produto também influenciou benéficamente no fluxo de elétrons nas cadeias transportadoras de elétrons cloroplastídicas e também atrasou mitigou os efeitos da hipóxia nestes processos.

Desta forma, compilação dos resultados deste trabalho, pode servir de base para outros estudos nesta área. Assim, estas informações podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias que auxiliem a utilização de áreas sujeitas ao alagamento temporário. Esta possibilidade tem como resultado a ampliação de áreas agricultáveis e conseqüentemente o aumento da produtividade.

## REFERÊNCIAS

- ABRAMOVAY, R.; MAGALHÃES, R., O acesso dos agricultores familiares aos mercados de biodiesel: parcerias entre empresas e movimentos sociais. **FEA-USP/Plural Consultorias**, São Paulo, 2007.
- AIAMLA-OR, S.; SHIGYO, M.; ITO, S.; YAMAUCHI, N. Involvement of chloroplast peroxidase on chlorophyll degradation in postharvest broccoli florets and its control by UV-B treatment. **Food Chemistry**, v.165, p.224-231, 2014.
- AMARO, A. C. E. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, cultivadas em ambiente protegido**. 2011. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO, São Paulo, SP, 2011.
- ANANTHI, K.; VIJAYARAGHAVAN, H.; KARUPPAIYA, M.; ANAND, T. Drought-induced Changes in Chlorophyll Stability Index, Relative Water Content and Yield of Cotton Genotypes. **Insight Botany**, v. 3, p. 1-5, 2013.
- ARRUDA, F. P.; BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de Pinhão Manso (*Jatropha curcas*) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 8, p. 789-799, 2004.
- ASHRAF, M. Relationships between leaf gas exchange characteristics and growth of differently adapted populations of Blue panicgrass (*Panicum antidotale* Retz.) under salinity or waterlogging. **Plant Science**, v. 165, p. 69-75, 2003.
- ASSIS, F. A. M. M. de; ARAÚJO CARNEIRO, J. G. de; PENCHEL, R. M.; CAMPOSTRINI, E.; LIMA THIEBAUT, J. T. de; BARROSO, D. G. Condutividade hidráulica de raiz e capacidade fotossintética de mudas clonais de eucalipto com indução de deformações radiculares. **Ciência Florestal**, v. 24, p. 277-287, 2014.
- AUGUSTI, G. R.; STEFANELO, M. S.; PÉS, M. P.; SARI, B. G.; RODRIGUES, J. S.; COSTA, I. F. D. da. **Aumento do teor de nitrito e da produtividade da soja (*Glycine max*) com a aplicação de fungicidas**. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 2010, Cruz Alta, RS. *Atas e Resumos*. Cruz Alta: FUNDACEP FECOTRIGO, v. 1, p. 155-158, 2010.
- BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. **Annual Review Plant Biology**, v. 59, p. 313-339, 2008.
- BALAKHNINA, T.; BENNICELLI, R.; STEPNIIEWSKA, Z.; STEPNIIEWSKI, W.; BORKOWSKA, A.; FOMINA I. Stress responses of spring rape plants to soil flooding. **International Agrophysics**, v. 26, p. 347-353, 2012.
- BALARDIN, R. S. **Doenças da Soja**. Santa Maria: Edição do Autor, 2002. 100p.

- BALARDIN, R. S.; SILVA, F. D. L. da; DEBONA, D.; CORTE, G. D.; FAVERA, D. D.; TORMEN, N. R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, p.1120-1126, 2011.
- BARLETT, D. W.; CLOUGH, J. M. ; GODFREY, C. R. A.; GODWIN, L. R.; HALL, A. A.; HEANEY, S. P.; MAUND, S. J. Understanding the strobilurin fungicides. **Pesticide Outlook**, v. 12, p. 143-146, 2001.
- BARLETT, D. W.; CLOUGH, J. M.; GODWIN, J. R.; HALL, A. A.; HAMER, M.; PARR-DOBRZANSKI, B. The strobilurin fungicides. **Pest Management Science**, v. 58, p. 649-662, 2002.
- BATISTA, C. U. N.; MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; MEDRI, C.; PIMENTA, J. A. Tolerância à inundação de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae): aspectos ecofisiológicos e morfoanatômicos. **Acta botânica brasílica**, v. 22, p. 91-98, 2008.
- BORISOVA, M. M. M.; KOZULEVA, M. A.; RUDENKO, N. N.; NAYDOV, I. A.; KLENINA, I. B.; IVANOV, B. N. Photosynthetic electron flow to oxygen and diffusion of hydrogen peroxide through the chloroplast envelope via aquaporins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, p. 1314-132, 2012.
- BRANDT, U.; HAASE, U.; SCHAEGER, H.; VON JAGOW, G. Species specificity and mechanism of action of strobilurins. **Dechema Monographien**, v. 129, p. 27-38, 1993.
- BRASILEIRO, B. G.; DIAS, D. C. F. dos S.; BHERING, M. C.; DIAS, L. A. dos S. Floral biology and characterization of seed germination in physic nut (*Jatropha curcas* L.) **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, p. 556-562, 2012.
- BUONASERA, K; LAMBREVA, M; REA, G; TOULOUPAKIS, E.; GIARDI, M. T. Technological applications of chlorophyll a fluorescence for the assessment of environmental pollutants **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, p. 1139-1151, 2011.
- BÜRLING, K.; CEROVIC, Z. G.; CORNIC, G.; DUCRUET, J. M.; NOGA, G.; HUNSCHE, M. Fluorescence-based sensing of drought-induced stress in the vegetative phase of four contrasting wheat genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 89, p. 51-59, 2013.
- CÂMARA, G. M. S.; HEIFFIG, L. S. **Agronegócio de Plantas Oleaginosas: Matérias-Primas para Biodiesel**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Dep. De Produção Vegetal, Piracicaba, São Paulo, 2006, 256 p..
- CANCELLIER, E. L.; SILVA, J.; SANTOS, M. M. D.; SIEBENEICHLER, S. C.; FIDELIS, R. R. Índices de clorofila em partes da planta de arroz de terras altas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, p. 199-206, 2013.

CARVALHO, P. A. de. **Metabolismos do nitrogênio e antioxidante em plantas jovens de seringueira (*Hevea spp.*) submetidas à baixa disponibilidade de oxigênio na presença de nitrato e/ou amônio.** 2012. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

CASSOL, D.; SILVA, F. S. P.; FALQUETO, A. R.; BACARIN, M. A. An evaluation of non-destructive methods to estimate total chlorophyll content. **Photosynthetica**, v. 46, p. 634-636, 2008.

CASTRO, C. M.; DEVIDE, A. C. P.; ANACLETO, A. H. Avaliação de acessos de pinhão manso em sistema de agricultura familiar. **Revista Tecnologia e Inovação Agropecuária**, p. 41-49, 2008.

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

CAUDLE, K. L.; MARICLE, B. R. Effects of flooding on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and oxygen stress in plants of varying flooding tolerance. **Transactions of the Kansas Academy of Science**, v. 115, p. 5-18, 2012.

CENTRITO, M.; LORETO, F.; CHARTZOULAKIS, K. The use of low [CO<sub>2</sub>] to estimate dissusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of saltstressed oline saplings. **Plant Cell and Environment**, v. 26, p. 585-594, 2003.

CHIN, K. M.; CHAVAILLAZ, D.; KAESBOHRER, M.; STAUB, T.; FELSENSTEIN, F. G. Characterizing resistance risk of *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* to strobilurins. **Crop Protection**, v. 20, p. 87-96, 2001.

COELHO, R. C. S.; GERALD, L. T. S. Viabilidade e interações do plantio consorciado de pinhão-manso e girassol. **Revista Agrogeoambiental**, v. 5, p. 91-106, 2013.

CONRATH, U.; AMOROSO, G.; KÖHLE, H.; SULTEMEYER, D. F. Non-invasive online detection of nitric oxide from plants and other organisms by mass spectroscopy. **Plant Journal**, v. 38, p. 1015-1022, 2004.

CRILL, P. A. The photosynthesis-light curve: a simple analog model. **Journal of Theoretical Biology**, v. 64, p. 503-516, 1977.

CUNHA, A. C. M. M., PAIVA, H. N.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 58, p.35, 2010.

DALLAGNOL, L. J.; NAVARINI, L.; UGALDE, M. G.; BALARDIN, R. S.; CATELAM, R. Utilização de Acibenzolar-S-Methyl para controle de doenças foliares da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 255-259, 2006.

DENG, X.; FANG, Z.; LIU, Y. H. Ultrasonic transesterification of *Jatropha curcas* L. oil to biodiesel by a two-step process. **Energy Conversion Management**, v. 51, p. 2802-2807, 2010.

DENG, X.; FANG, Z.; LIU, Y.; YU, C. L. Production of biodiesel from *Jatropha* oil catalyzed by nanosized solid. **Energy**, v. 36, p. 777-784, 2011.

EVANS, J. R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. **Oecologia**, v. 78, p. 9-19, 1989.

EZIN, V.; PENA, R. D. L.; AHANCHEDE, A. Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 22, p. 131-142, 2010.

FAGAN, E. B.; DOURADO NETO, D.; VIVIAN, R.; FRANCO, R. B.; YEDA, M. P.; MASSIGNAM, L. F.; OLIVEIRA, R. F. de; MARTINS, K. V. Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, v. 69, P. 771-777, 2010.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 990, p. 87-92, 1989.

GHOULAM, C.; FOURSY, A.; FARES, K. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, p. 39-50, 2002.

GIMENO, V.; SYVERTSEN, J. P.; SIMÓN, I.; NIEVES, M.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; MARTÍNEZA, V. GARCÍA-SÁNCHE, F. Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47-55, 2012.

GONÇALVES, M. A. B.; NOGUEIRA, R. G. O efeito estufa pode ser reduzido com a produção e a utilização do biodiesel? **Processos Químicos**, v. 1, p. 51-59, 2007.

GREGÓRIO, T. A.; GOBBO, L. G.; CARDOSO, J. F.; DEMUNER, V. G.; HEBLING, S. A. Efeito do alagamento sobre o crescimento inicial de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (Ipê-rosa). **Natureza Online**, v.6, p.91-98, 2006.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobirulin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pesticide Science**, v. 50, p. 11-20, 1997.

HILL, C. B.; BOWEN, C. R.; HARTMAN, G. L. Effect of Fungicide Application and Cultivar on Soybean Green Stem Disorder. **Plant Disease**, v. 97, p. 1212-1220. 2013.

HINZ, M.; WILSON, I. W.; YANG, J.; BUERSTENBINDER, K.; LLEWELLYN, D.; DENNIS, E. S.; DOLFERUS, R. Arabidopsis RAP2. 2: an ethylene response transcription factor that is important for hypoxia survival. **Plant Physiology**, v. 153, p. 757-772, 2010.

- HORCHANI, F.; KHAYATI, H.; RAYMOND, P.; BROUQUISSE, R.; ASCHI-SMITI, S. Contrasted effects of prolonged root hypoxia on tomato root and fruit (*Solanum lycopersicum*) metabolism. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, p. 313-318, 2009.
- ITO, O.; ELLA, E.; KAWANO, N;. Physiological basis of submergence tolerance in rainfed lowland rice ecosystem. **Field Crops Research**, v. 64, p. 75-90, 1999.
- JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 43, p. 1274-1279, 1971.
- JOSHI, J.; SHARMA, S.; GURUPRASAD, K. N. Foliar application of pyraclostrobin fungicide enhances the growth, rhizobial-nodule formation and nitrogenase activity in soybean (var. JS-335). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.114, 61-66, 2014.
- KAEWSUKSAENG, S. Chlorophyll degradation in horticultural crop. **Walailak Journal of Science and Technology**, v. 8, p. 9-19, 2011.
- KAISER, W. M.; WEINER, H.; KANDBINDER, A.; TSAI, C. B.; ROCKEL, P.; SONODA, M.; PLANCHET, E. Modulation of nitrate reductase: some new insights, an unusual case and a potentially important side reaction. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.875-882, 2002.
- KANUNGO, M.; JOSHI, J. Impact of Pyraclostrobin (F-500) on Crop Plants. **Plant Science Today**, v.1, p. 174-178, 2014.
- KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN, A. F.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia** 4. ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.
- KISSMANN, C.; VEIGA, E. B. da; EICHEMBERG, M. T.; HABERMANN, G. Morphological effects of flooding on (*Styrax pohlii*) and the dynamics of physiological responses during flooding and post-flooding conditions. **Aquatic Botany**, v. 119, p. 7-14, 2014.
- KOH, M. Y.; GHAZI, M. T. I. A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 2240-2251, 2011.
- KÖHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; GERHARD, M; KAISER, W.; GLAAB, J.; CONRATH, U.; SEEHAUS, K.; HERMS, S. Physiological effects of strobilurin fungicide F 500 on plants. **Biochemical Society Transactions**, v. 22, p. 65, 1994.
- KOZLOWSKI, T. T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, v. 1, p. 1-29, 1997.
- KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. Stomatal responses of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings during and after flooding. **Physiologia Plantarum**, v. 46, p. 155-158, 1979.

KOZLOWSKI, T. T.; PALARDY, S. G.; Physiology of wood plant. Academic Press, San Diego. 1997, 427p.

LANZA, L. N. M.; ROSSI, S. C.; SODEK, L. Adubação nitrogenada beneficia soja alagada. **Bragantia**, v. 72, p. 2-9, 2013.

LIMA, J. D. ; MORAES, W. da S.; SILVA, S. H. M. G. da Respostas fisiológicas em mudas de bananeira tratadas com estrobilurina, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 77-86, 2012.

LINDBLAD, P.; GUERRERO M.G. **Nitrogen fixation and nitrate reduction**. In Photosynthesis and Production in a Changing Environment: A Field and Laboratory Manual. Eds. D.O. Hall, J.M.O. Scurlock, H.R. Bolh ar-Nordenkampf, R.C. Leeg, 1993, p. 299-335.

LOPES, E. C. P. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no crescimento, produtividade e pós-colheita de batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 2011. Disserta o (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2011.

MAGALHÃES, P. C. M.; DE SOUZA, T. C.; PEREIRA, F. J; CASTRO, E. M. de; PARENTONI, S. N. **Avalia o das modifica es morfológicas radiculares durante os ciclos de sele o do milho Saracura tolerante a hipóxia**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, p. 1217-1981, 2009.

MAGALHÃES, P. C.; COELHO, C. H. M.; GAMA, E. E. G.; BORÉM, A. **Avalia o dos ciclos de sele o da variedade BRS 4154 – Saracura para tolerância ao encharcamento do solo**. Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 2005, 67p.

MAHONEY, K. J.; GILLARD, C. L. Plant health and yield of dry bean not affected by strobilurin fungicides under disease-free or simulated hail conditions. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 94, p. 1385-1389, 2014.

MAIN, R.; CHO, M. A.; MATHIEU, R.; O’KENNEDY, M. M.; RAMOELO, A.; KOCH, S. An investigation into robust spectral indices for leaf chlorophyll estimation. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 66, p. 751-761, 2011.

MALIK, A. I. T. D.; COLMER, H.; LAMBERS, Y. M. Schortemeyer. Aerenchyma formation and radial O<sub>2</sub> loss along adventitious roots of wheat with only the apical root portion exposed to O<sub>2</sub> deficiency. **Plant Cell Environ**, v. 26, p. 1713-1722, 2003.

MANZONI, S.; VICO, G.; PALMROTH, S.; PORPORATO, A.; KATUL, G. Optimization of stomatal conductance for maximum carbon gain under dynamic soil moisture. **Advances in Water Resources**, v. 62, p. 90-105, 2013.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. Fisiologia Vegetal. 3<sup>o</sup>. Vi osa: UFV/MG, 2009, 485p..

MARTINAZZO, E. G.; PERBONI, A. T.; OLIVEIRA, P. V. D.; BIANCHI, V. J.; BACARIN, M. A. Photosynthetic activity in japanese plum under water deficit and flooding. **Ciência Rural**, v. 43, p. 35-41, 2013.

MEDRI, M. E.; FERREIRA, A. C.; KOLB, R. M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; DAVANSO-FABRO, V. M.; MEDRI, C. Alterações morfoanatômicas em plantas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. submetidas ao alagamento. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 29, p. 15-22, 2007.

MIELKE, M. S., DE ALMEIDA, A. A. F., GOMES, F. P., AGUILAR, M. A. G., MANGABEIRA, P. A. O. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of (*Genipa americana*) seedlings to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 50, p. 221-231. 2003.

MOFIJUR, M.; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A.; HAZRAT, M. A.; LIAQUAT, A. M.; SHAHABUDDIN, M.; VARMAN, M. Prospects of biodiesel from *Jatropha* in Malaysia. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 5007-5020, 2012.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A. da; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da Glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, p. 639-648, 2009.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011, 1273p..

NELSON, K. A.; MEINHARDT, C. G. Foliar Boron and Pyraclostrobin Effects on Corn Yield. **Agronomy Journal**, v. 103, p. 1352-1358, 2011.

PACHECO, A. C.; CASTRO, P. R. C.; SOUZA, G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.) **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, p. 275-281, 2011.

PEZESHKI, S. R. Wetland plant responses to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany**, v. 46, p. 299-312, 2001.

PEZESHKI, S. R.; PARDUE, J. H.; DELAUNE, R. D. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and floodsensitive tree species under low soil redox conditions. **Tree Physiology**, v. 16, p. 453-458, 1996.

PEZESHKI, S.R.. **Plant response of flooding**. In: WILKINSON, R.E. & DEKKER, M. Plant-environment interactions, 1994, p.289-321.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L.; REZENDE, M. J.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. D. Biodiesel: an overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, p. 1313-1330, 2005.

POLACIK, K. A.; MARICLE, B. R. Effects of flooding on photosynthesis and root respiration in saltcedar (*Tamarix ramosissima*), an invasive riparian shrub. **Environmental and Experimental Botany**, v. 89, p. 19-27, 2013.

- POMPELLI, M. F.; OROZCO A. de J. J.; OLIVIERA, M. T. de; RODRIGUES, B. R. M.; BARBOSA, M. O.; SANTOS, M. G.; OLIVEIRA, A. F. M. de; ALMEIDA-CORTEZ, J. S. de Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis. **Agronomía Colombiana**, v. 29, p. 361-371, 2011.
- QUIMIO, C. A.; TORRIZO, L. B.; SETTER, T. L.; ELLIS, M.; GROVER, A.; ABRIGO, E. M.; DATTAL, S. K. Enhancement of submergence tolerance in transgenic rice overproducing pyruvate decarboxylase. **Journal of Plant Physiology**, v. 156, p. 516-521, 2000.
- REIS, E. M.; BRESOLIN, A. C. R. Fungicidas: aspectos gerais. **Revista Plantio Direto**, v. 97, 2007.
- ROGGE, G. D.; PIMENTA, J. A.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M. E.; COLLI, S.; ALVES, L. M. T. Metabolismo respiratório de raízes de espécies arbóreas tropicais submetidas à inundação. **Brazilian Journal of Botany**, v. 21, p. 153-158, 1998.
- RYSER, P. K.G.; COLLIN HARNEET, J. B. Restrições de resposta raiz para alagamento em *Alisma triviale*. **Solo Planta**, v.343, p.247-260, 2011.
- SACHS, G. Commodity prices and volatility: Old answers to new questions. **Global Economics Paper**, v. 194, p. 1-17, 2010.
- SALÉ, N. A. C. **Oportunidades e desafios para o comércio internacional de biocombustível da *Jatropha curcas* (pinhão-mansão) produzido em países em desenvolvimento**. 2008. Dissertação (Mestrado em Agronegócio) Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Centro de Estudos e Pesquisas em Agronegócios, Porto Alegre, 2008.
- SANCLEMENTE, M. A.; SCHAFFER, B.; GILC, P. M.; DAVIES, F. S.; CRANE, J. H. Leaf removal before flooding influences recovery of avocado (*Persea americana* Mill.) trees from flooding stress. **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 154-163, 2013.
- SANTIAGO, L. S.; WRIGHT, S. J. Leaf functional traits of tropical forest plants in relation to growth form. **Functional Ecology**, v. 21, p. 19-27, 2007.
- SANTOS, J. A. L. dos, **Reflexões sobre os impactos do programa nacional de produção e uso do biodiesel na produção do espaço rural brasileiro**. Anais V encontro de grupos de pesquisa "Agricultura, Desenvolvimento Regional e Transformações Sócio espaciais", UFSM, 2009.
- SAVVIDES, A.; FANOURLAKIS, D.; VAN IEPEREN, W. Co-ordination of hydraulic and stomatal conductances across light qualities in cucumber leaves. **Journal of Experimental Botany**, v.63, p.1135-1143, 2012.
- SELOSSE, M. A.; ROY M. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 64-70, 2009.
- SILVA, P. R. F. da; FREITAS T. F. S. de. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. **Ciência Rural**, v. 38, p. 843-851, 2008.

SOARES, B. O. - **Diversidade genética e genótipos de pinhão-manso por meio de RAPD e ISSR**- Dissertação de mestrado- Universidade Estadual de Montes Claros- Unimontes - 2010.

SORATE, K. A.; BHALE, P. V. Biodiesel properties and automotive system compatibility issues. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 777-798, 2015.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyllafluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal Photochemistry Photobiology. B: Biology**, v. 104, p. 236-257, 2011.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transient to address environmental questions: The JIP-test. In: MATHIS, P. (Ed.), **Photosynthesis: from light to biosphere, Kluwer Academic Publisher: Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1995, p. 977-980.**

STRASSER, R.J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: YUNUS, M.; PATHRE, U.; MOHANTY, P. (Eds.), **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation**. London: Taylor and Francis Press, 2000, p. 445-483.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the Chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou, C., Govindjee, (Eds.), **Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis**. Dordrecht: Springer - Verlag, , 2004, p. 321-362

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 104 drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. **Biochimica e Biophysica Acta**, v. 1797, p.1313-1326, 2010.

SUAREZ, P. A. Z.; SANTOS, A. L. F.; RODRIGUES, J. P. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los. **Química Nova**, v. 32, p. 768-775, 2009.

SUAREZ, P. A.; MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; WOLF, C. R. Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica. **Química nova**, v. 30, p. 667-676, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, Fifth Edition, Sinauer Associates. Sunderland, MA, 2010, 782 p..

THOREN, D.; THOREN, P.; SCHMIDHALTER, U. Influence of ambient light and temperature on laser-induced chlorophyll fluorescence measurements. **European Journal of Agronomy**, v.32, p.169-176, 2010.

TIMPERIO, A. M.; EGIDIA, M. G.; ZOLLA, L. Proteomics applied on plant abiotic stresses: Role of heat shock proteins (HSP). **Journal of Proteomics**, v. 71, p. 391-441, 2008.

TIWARI, A. K.; KUMAR, A.; RAHEMAN, H. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: an optimized process. **Biomass and Bioenergy**, v. 31, p. 569-575, 2007.

TOMÁS, M.; MEDRANO, H.; ESCALONA, J. M.; MARTORELL, S.; POU, A.; RIBAS-CARBÓ, M.; FLEXAS, J. Variability of water use efficiency in grapevines **Environmental and Experimental Botany**, v. 103, p. 148-157, 2014.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo assessment of plants vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host 91 plants. In: VARMA, A. (Ed.), **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**, 3rd edition Springer, Dordrecht, 2008, p. 679-703.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. The energy flux theory 35 years later: formulations and applications. **Photosynthesis Research**, v. 117, p. 289-320, 2013.

TSUMANUMA, G. M.; CARVALHO, S. J. P. de; FANCELLI, A. L.; BERNARDES, M. S.; RODRIGUES, M. A. T.; BEGLIOMINI, E. Crescimento de dois cultivares de soja submetidos a aplicações de herbicidas e fungicidas. **Revista Ceres**, v. 57, p. 742-750, 2010.

VERMA, K. K.; SINGH, M., GUPTA, R. K.; VERMA, C. L. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence, antioxidant enzymes, and growth responses of *Jatropha curcas* during soil flooding. **Turkish Journal of Botany**, v. 38, p. 130-140, 2014.

VISSER, E. J. W.; VOESENEK, L. A. C. J. Acclimation to soil flooding - sensing and signal-transduction. **Plant and Soil**, v. 254, p. 197-214, 2004.

WANG, K.; JIANG, Y. Waterlogging tolerance of Kentucky bluegrass cultivars. **Hort Science**, v. 42, p. 386-390, 2007.

WU, Y. X.; VON TIEDEMANN, A. Physiological effects of azoxystrobin and epoxiconazole on senescence and the oxidative status of wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 71, p. 1-10, 2001.

XIAOLING, L.; NING, L.; JIN, Y.; FUZHOU, Y.; FAJU, C.; FANGQING, C. Morphological and photosynthetic responses of riparian plant (*Distylium chinense*) seedlings to simulated Autumn and Winter flooding in Three Gorges Reservoir Region of the Yangtze River, China. **Acta Ecologica Sinica**, v. 31, p. 31-39, 2011.

YANG, C. Y.; DENG, X.; FANG, Z.; PENG, D. P.; Selection of high oil yield seed sources of *Jatropha curcas* L. for biodiesel production. **Biofuels**, v. 1, p. 705-717, 2010.

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

ZHU, X.G.; GOVINDJEE; BAKER, N.R.; STURLER, E.; ORT, D.R.; LONG, S.P. Chlorophyll *a* fluorescence induction kinetics in leaves predicted from a model describing each discrete step of excitation energy and electron transfer associated with photosystem II. **Planta**, v. 223, p. 114-133, 2005.