

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

MARCOS THIAGO GAUDIO GOMES

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
MARACUJAZEIRO (*Passiflora edulis* SIMS) AO DÉFICIT
HÍDRICO**

VITÓRIA

2011

MARCOS THIAGO GAUDIO GOMES

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
MARACUJAZEIRO (*Passiflora edulis* Sims) AO DÉFICIT
HÍDRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. DSc. Antelmo Ralph Falqueto

Co-orientador: Prof^a. DSc. Diolina Moura Silva

VITÓRIA

2011

G633r Gomes, Marcos Thiago Gaudio, 1980-
Respostas ecofisiológicas e bioquímicas do maracujazeiro
(*Passiflora edulis* SIMS) ao déficit hídrico / Marcos Thiago
Gaudio Gomes. – 2011.
70 f. : il.

Orientador: Antelmo Ralph Falqueto.

Co-Orientador: Diolina Moura Silva.

Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.

1. Maracujá. 2. Fluorescência. 3. Ecofisiologia. I. Falqueto,
Antelmo Ralph, 1979-. II. Silva, Diolina Moura. III. Universidade
Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e
Naturais. IV. Título.

CDU: 57

MARCOS THIAGO GAUDIO GOMES

RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
MARACUJAZEIRO (*Passiflora edulis* Sims) AO DÉFICIT HÍDRICO

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

Aprovada em 28 de fevereiro de 2011.

Comissão Examinadora:

Professor Doutor Antelmo Ralph Falqueto – Universidade Federal do Espírito Santo.
Professor Orientador.

Professora Doutora Diolina Moura Silva – Universidade Federal do Espírito Santo.
Professora Co-Orientadora.

Professora Doutora Maria do Carmo Pimentel Batitucci – Universidade Federal do Espírito Santo.

Professora Doutora Ângela Pierre Vitória - Universidade Estadual do Norte Fluminense.

Às comunidades de pequenos produtores do Espírito Santo. Que este trabalho possa ser útil e que possa trazer benefícios à vida cotidiana.

AGRADECIMENTOS

A Antelmo Falqueto pela parceria que construímos com empenho e alegria. Por acreditar, por deixar, e por tecer comigo esta dissertação.

À professora Diolina Silva pela força, pela coragem, pela palavra franca, pela seriedade, pelo cuidado e pelo carinho!

À professora Maria do Carmo Batitucci pela generosidade, pela disponibilidade, pelo carinho, pelo sorriso sempre aberto e pela delicadeza com que contribuiu para a construção deste trabalho.

À professora Angela Vitória pela acolhida à primeira vista, por sua sensibilidade e pelo carinho dedicado à leitura deste trabalho.

A Anny e Magda amigas para qualquer hora, ao mesmo tempo tão ocupadas e tão disponíveis. Obrigado por compartilhar cada caminho desta trilha.

Aos amigos do Núcleo de Estudos da Fotossíntese (NEF), Priscilla (pequeno pedaço de amor), Renata, Joilton, Léo, Vinícius, Evelline e Maísa por me acolherem nessa família, pelas infinitas risadas e pela amizade que construímos para além das fronteiras da UFES.

Ao laboratório da professora Maria do Carmo, em especial a Irany, por toda paciência e colaboração.

Aos meus amigos da turma de mestrado, que sofreram e riram junto comigo durante toda essa caminhada. De vocês fico com o mais importante, a amizade.

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) por todo ensinamento, tanto acadêmico quanto de vida.

À secretaria do PPGBV, em especial ao Ricardo Celestino (Mosca fina) pelo companheirismo e amizade construídos.

À Beth pelo bom humor e por me manter vivo com seu cafezinho de todos os dias.

À UFES, MCT, CNPQ e ao Departamento de Biologia pelo apoio.

Ao laboratório do Professor Fábio da Matta da Universidade Federal de Viçosa.

À Banda Casaca pela amizade, pela paciência e pela compreensão nos momentos em que estive ausente.

Aos amigos da Barra do Jucu (que são muitos) em especial a Tico, Rodrigo, Musquito, Barriga, Dandan, Moara e Cláudia, pela compreensão e por me fazerem rir em momentos difíceis.

A toda minha família. A minha mãe Leila, pelo amor e por sempre ter acreditado em minhas escolhas. Ao meu pai Marcos, pelo apoio e pelo carinho. Aos meus irmãos Vinícius e Gizele, pela parceria de uma vida. A Tio Sidnei e Tia Leni, meus segundos pais, por terem sempre apostado em mim, pelos almoços na pensão e pelo cuidado incondicional.

Ao Aguinaldo, pela garra, pela fibra, pela solidariedade, pela amizade e por todos os ensinamentos. A Alba, por me acolher, pela alegria e pelo cuidado.

A Hugo, Zara, Lívia, Lele e Lala, por estarem sempre por perto, pela bagunça, diversão, pelos omeletes, ... por me adotarem nesta grande família.

A Dani, minha amada, companheira, eterna amiga, pelo chamego de todos os dias. Sem você nada disso seria possível. Agradeço por dividir sua vida comigo e por me ajudar a construir a minha. Faltam palavras para descrever minha gratidão e meu amor por você.

*“Eu canto as coisa visive
Do meu querido sertão.
Canto as fulô e os abróio
Com toda coisas daqui:
Pra toda parte que eu óio
Vejo um verso se buli.
Se as vez andando no vale
Atrás de curá meus males
Quero repará pra serra,
Assim que eu óio pra cima,
Vejo um diluve de rima
Caindo inriba da terra.
Mas tudo é rima rastêra
De fruta de jatobá,
De fôia de gamelêra
E fulô de trapiá”*

Patativa do Assaré

RESUMO

Esse estudo objetivou investigar, em regime de casa de vegetação, o desempenho fisiológico de duas cultivares (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims., submetidas à deficiência hídrica e posterior recuperação. Os parâmetros analisados foram: potencial hídrico (ψ_w), fluorescência transiente (teste JIP) e modulada da clorofila *a*, teor de clorofila, atividade da catalase, peroxidase e determinação da peroxidação lipídica pelo conteúdo de MDA (malondialdeído). Sessenta dias após a germinação, o déficit hídrico foi iniciado pela supressão total da água por 11 dias e seguido por 6 dias de reidratação. As duas cultivares apresentaram um comportamento semelhante de redução do ψ_w com o avanço da supressão hídrica e recuperação com a reidratação. Entretanto, a cultivar FB200 mostrou-se mais susceptível ao déficit hídrico comprovado por uma maior queda de seus valores em todos os parâmetros analisados e por um maior aumento dos níveis de peroxidação lipídica. FB300 apresentou uma maior plasticidade fisiológica para tolerar a imposição da supressão hídrica, confirmada pelo menor declínio dos valores na maioria dos parâmetros analisados e pelo menor tempo necessário para sua recuperação ao nível do controle.

Palavras-chave: Déficit hídrico. Enzimas antioxidantes. Fluorescência da clorofila *a*. Malondialdeído. Maracujá.

ABSTRACT

This study aimed to investigate, on a greenhouse, the physiological performance of two cultivars (FB300 and FB200) of passion fruit *Passiflora edulis* Sims. subjected to water stress and to recovery during rehydration. The parameters analyzed were: water potential (ψ_w), transient (JIP test) and modulated chlorophyll *a* fluorescence, chlorophyll contents, antioxidant activity of catalase and peroxidase enzymes, determination of lipid peroxidation by malondialdehyde (MDA) contents. After 60 days of growth, water stress was initiated by total suppression of water for 11 days and followed by 6 days rehydration. Both cultivars showed a similar behavior of ψ_w decreasing during water suppression and recovery in rehydration. However, the FB200 cultivar proved to be more susceptible to water stress evidenced by a greater drop in its values in all analyzed parameters and by a larger increase in the levels of lipid peroxidation. FB300 showed a greater physiological plasticity to tolerate the imposition of water suppression confirmed by a smaller decline in the values in the most of the parameters analysed and by the shortest time needed for its recovery to the level of control.

Keywords: Passion fruit. Water Deficit. Fluorescence of chlorophyll *a*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Potencial hídrico (ψ_w) de duas cultivares do maracujazeiro, *Passiflora edulis* Sims. (cvs. FB300 e FB200) submetidas ao déficit hídrico..... 29

Figura 2 - Imagens dos maracujazeiros *Passiflora edulis* Sims, a dois dias (A) e onze dias (B) de déficit hídrico e quatro dias de reidratação (C), mantidos em condições de casa de vegetação.

..... 29

Figura 3 - Índice de clorofila (SPAD) de duas cultivares do Maracujá *Passiflora edulis* Sims. (FB300 e FB200) submetidas ao déficit hídrico..... 30

Figura 3 - Cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* (curva OJIP) de folhas adaptadas ao escuro de plantas de *Passiflora edulis* Sims, cultivares FB 100 e FB 200. 33

Figura 4 - Diferença das curvas OJIP (ΔV_t) entre controle (dia anterior ao início de tratamento) e tratamento (déficit hídrico) 34

Figura 5 - Mudanças na curva da fluorescência transiente da clorofila *a* normalizada entre F_0 e F_K expresso como W_{OK} ($W_{OK} = (F_t - F_0) / (F_K - F_0)$). $\Delta W_{OK} = (W_{OK} \text{ dos tratamentos}) - (W_{OK} \text{ do controle})$ 36

Figura 6 - Mudanças na curva da fluorescência transiente da clorofila *a* normalizada entre F_0 e F_J expresso como W_{OJ} ($W_{OJ} = (F_t - F_0) / (F_J - F_0)$). $\Delta W_{OJ} = (W_{OJ} \text{ dos tratamentos}) - (W_{OJ} \text{ do controle})$ 38

Figura 7 - Fluxos específicos da fluorescência da clorofila *a* de acordo com o teste JIP.....41

Figura 9 - Parâmetros da fluorescência da clorofila *a* em resposta ao período de déficit hídrico e recuperação em plantas de maracujazeiro.43

Figura 10 - Parâmetros da fluorescência da clorofila *a* em resposta ao período de déficit hídrico e recuperação em plantas de maracujazeiro.45

Figura 11 - Parâmetro da fluorescência da clorofila *a* em resposta ao período de déficit hídrico e recuperação em plantas de maracujazeiro.....46

Figura 12 - Índice de desempenho (PI_{ABS}) e ($PI_{ABS,TOTAL}$) de duas cultivares (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims submetidas ao período de déficit hídrico e recuperação por reidratação. 48

Figura 13 - Produtividade quântica efetiva do fotossistema II, (F_V/F_M); Taxa de transporte de elétrons, (ETR); Coeficiente extinção fotoquímico [$qP = (F_M' - F_S)/(F_M' - F_0')$]; Eficiência fotoquímica atual do FS II [$\phi_{PSII} = (F_M' - F_S)/F_M'$] de duas cultivares (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims submetidas ao período de déficit hídrico e recuperação por reidratação..... 51

Figura 14 - Atividade das enzimas catalase e peroxidase e concentração de malondialdeído em duas cultivares (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims, submetidas ao período de déficit hídrico e recuperação..... 54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL.....	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO	21
3.2 EXPERIMENTO	22
3.3 METODOLOGIA PROPOSTA	23
3.3.1 <i>Potencial hídrico foliar (ψ_w)</i>	23
3.3.2 <i>Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente ou polifásica (O-J-I-P)</i>	23
3.3.2.1 Avaliação da banda L e K da fluorescência transiente ou polifásica (O-J-I-P).....	23
3.3.2.2 Parâmetros do teste JIP.....	24
3.3.3 <i>Análise da Fluorescência da clorofila a com pulso modulado</i>	25
3.3.4 <i>Atividade de enzimas antioxidantes</i>	25
3.3.4.1 Extração Protéica.....	26
3.3.4.2 Dosagem da Atividade da Peroxidase (EC.1.11.1.11)	26
3.3.4.3 Dosagem da Atividade da catalase (EC.1.11.1.6.).....	26
3.3.5 <i>Conteúdo de Malondialdeído (MDA)</i>	27
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 POTENCIAL HÍDRICO.....	28
5.2 ÍNDICE DE CLOROFILA	30
5.3 FLUORESCÊNCIA TRANSIENTE DA CLOROFILA A	32
5.4 PARÂMETROS DO TEST-JIP	39
5.5 PARAMETROS DA FLUORESCÊNCIA MODULADA DA CLOROFILA A.....	49
5.6 ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDEOS.....	52
6 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

O estresse hídrico é um dos principais fatores que influenciam o crescimento e produtividade das plantas, principalmente em regiões áridas e semi-áridas onde a precipitação varia ano após ano (YODANOV *et al.*, 2000; SOUZA *et al.*, 2004; GONZÁLES *et al.*, 2009). Sob condições de déficit hídrico, uma variedade de processos fisiológicos, como, por exemplo, captura da radiação solar, condutância estomática, transpiração, transporte de elétrons, fotossíntese e respiração, é afetada, retardando o crescimento e reduzindo a produtividade agrícola (QING *et al.*, 2001; LAWLOR & CORNIC, 2002; PARRY *et al.*, 2002; LIU & HUANG, 2008; HSIAO *et al.*, 2010).

Alterações estruturais e funcionais do aparato fotossintético de plantas submetidas ao estresse hídrico podem ser estimadas com alto grau de confiabilidade mediante técnicas modernas para a detecção dos sinais da fluorescência da clorofila *a*. Essas técnicas têm permitido um grande avanço na aquisição de conhecimentos à cerca dos processos fotoquímicos e dos fenômenos não-fotoquímicos que ocorrem nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos (KRAUSE & WEIS, 1991).

Nos últimos anos, a análise da fluorescência da clorofila *a* tem sido usada como uma ferramenta extremamente eficiente em pesquisas com espécies de importância agrônômica, como arroz (JIANG *et al.*, 2002) e trigo (MEHTA *et al.*, 2010) por permitir o monitoramento do estado fisiológico das plantas de maneira não-destrutiva. Não obstante, sua aplicação estende-se também às frutíferas, como no mamoeiro (FONTES *et al.*, 2002; FALQUETO *et al.*, 2003), coqueiro (MARINHO *et al.*, 2005), macieira (ZANANDREA *et al.*, 2006), tangerineira (CRUZ *et al.*, 2009) e abacaxi (VIEIRA, 2010). No estudo da tolerância ou da sensibilidade ao déficit hídrico em diferentes espécies e genótipos de plantas, a fluorescência da clorofila *a* tem sido amplamente usada (GONÇALVES *et al.*, 2010; OUKARROUM *et al.*, 2009) visto ser a fotossíntese

e o crescimento das plantas os processos centrais a serem afetados pela supressão hídrica (SILVA, 2010).

Van Heerdeen *et al* (2007) observaram que a supressão hídrica reduz a atividade da Rubisco, assimilação de CO₂ e a eficiência do FSII em plantas de deserto. Analogamente, Silva *et al* (2010) verificaram uma redução da atividade do FSII em Pinhão manso submetida o déficit hídrico e sua relação com o estresse oxidativo. Da mesma forma, diversos outros autores correlacionaram a diminuição da capacidade fotoquímica do FSII, o que está diretamente relacionado à atividade fotossintética, com o avanço do déficit hídrico (LIBERATO *et al.*, 2006; OUKARROUM *et al.*, 2007, 2009; EFEOGLU *et al.*, 2009; GONÇALVES *et al.*, 2009).

A ocorrência de espécies reativas de oxigênio (EROs) é um processo natural durante o ciclo de vida das plantas, principalmente no processo fotossintético e metabolismo aeróbico (ZHU *et al.*, 1997). Estas moléculas altamente reativas podem ser constituídas de um átomo ou um grupo de átomos, com elétrons não pareados na sua última camada eletrônica (RICE-EVANS *et al.*, 1991). Sob baixas concentrações, as EROS podem atuar como moléculas sinalizadoras de processos das plantas como, por exemplo, o afrouxamento da parede celular e processos de alongamento celular, bem como atuarem em alguns processos de defesa contra patógenos (SCHOPFER, 2001; RODRÍGUEZ *et al.*, 2002; POSPÍSIL, 2009).

Entretanto, uma produção excessiva de EROs em plantas sob estresse pode danificar componentes celulares. Quando as plantas são sujeitas às condições de déficit hídrico, sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio, como o superóxido (O₂^{•-}), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radicais hidroxila (OH[•]) aumenta, o que, freqüentemente, resulta em sérios danos em nível subcelular, como a oxidação de lipídeos, proteínas e ácidos nucléicos (SMIRNOFF, 1993; AHMED *et al.*, 2002; MITTLER, 2002; COSTA *et al.*, 2005; FOYER & NOCTOR, 2005).

Quando as plantas estão submetidas a altos níveis de EROs, o processo de peroxidação lipídica pode ocorrer tanto nas membranas celulares, como de suas organelas, o que não só afetam diretamente o funcionamento celular normal, mas também, agravam o estresse oxidativo através de radicais derivados de lipídeos (MONTILLET *et al.*, 2005). A peroxidação lipídica é considerada como sendo um dos processos mais danosos que ocorrem em todos os seres vivos. Danos à membrana celular podem ser utilizados para determinar os níveis de destruição lipídica sob diferentes estresses. Produtos como, por exemplo, malondialdeído (MDA) formados pelo processo de degradação lipídica reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBA) formando substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) que podem ser quantificados e relacionados à peroxidação lipídica (HEATH, 1968).

Entretanto, para minimizar esses efeitos oxidativos, as plantas desenvolveram um complexo sistema antioxidante composto por substâncias antioxidantes de baixo peso molecular (glutathione, ascorbato e carotenóides) e enzimas como as superóxido dismutase (SOD), glutathione redutase (GR), a catalase (CAT) e peroxidases, (POX) (NOCTOR & FOYER, 1998; COSTA *et al.*, 2005).

As atividades destas enzimas estão fortemente correlacionadas com alterações em processos fisiológicos, como a respiração e a fotossíntese, e portanto, apresentam-se como potenciais indicadores de comprometimentos da atividade metabólica frente a estresses de origem abiótica (MACFARLANE, 2002). Jadoski *et al.* (2005), estudando o comportamento fisiológico e bioquímico de pimenteira submetida ao déficit hídrico mostraram que a atividade da peroxidase foi um eficiente indicador dos efeitos de estresse hídrico. Por conseguinte, estudos sugeriram uma forte correlação entre aquisição de tolerância ao estresse abiótico e a presença de um eficiente sistema enzimático antioxidante em variedades de trigo, tomate, arroz, e sorgo (SAIRAM *et al.*, 2002; MITTOVA *et al.*, 2002; VAIDYANATHAN *et al.*, 2003; COSTA *et al.*, 2005). Entretanto não foram encontrados estudos de enzimas antioxidantes no maracujazeiro sob estresse hídrico, concluindo dessa forma,

que mais pesquisas que contemplem mecanismos antioxidantes enzimáticos fazem-se necessárias a essa fruteira.

Dentre as frutíferas mais cultivadas no Brasil, o maracujá destaca-se estando entre as nove principais fruteiras comercializadas no país. Sendo assim, o Brasil destaca-se como seu maior produtor (FERNANDES, 2006; IBGE, 2008). Entretanto, nos últimos anos, a produção de maracujá no Brasil foi insuficiente para abastecer o mercado interno, necessitando da importação de polpa para abastecer a indústria de suco nacional (COSTA & COSTA, 2005; FERRAZ & LOT, 2007; NOGUEIRA *et al.*, 2009).

No Espírito Santo a cadeia do agronegócio do maracujá vem crescendo de norte a sul do estado, em razão de diversos fatores como: boas condições edafoclimáticas, surgimento de parques agroindustriais instalados principalmente na região norte e sul e parcerias do governo do Estado incentivando o surgimento de pólos da fruticultura. Esse crescimento é também favorecido pela tendência de expansão do mercado mundial da polpa e suco proveniente dessa espécie (COSTA *et al.*, 2008).

Estudos têm mostrado que uma das maiores limitações da cultura do maracujazeiro é o clima, sendo responsável por grandes variações no seu ciclo produtivo em diferentes localidades e épocas do ano. De acordo com Stenzel (2002) e Costa *et al* (2008), a disponibilidade de água tem se mostrado um fator limitante na produção desta cultura.

De acordo com Borges *et al* (2006), a liderança na produção do maracujá não tem refletido grandes avanços no que tange a produção de novos híbridos mais resistentes. Nos últimos anos novos materiais genéticos de maracujá foram lançados e cultivados para fins econômicos no Espírito Santo, entretanto, para muitos deles, pouco se sabe a respeito de sua adaptabilidade às condições edafoclimáticas características do norte de Espírito Santo que apresenta elevadas temperaturas e um longo período de escassez de água no solo (Figura1).

Muitos dos estudos realizados com maracujá são direcionados, sobretudo, às técnicas de cultivo visando melhor produtividade, ao controle eficaz de pragas e doenças, ao desenvolvimento de tecnologias de pós-colheita e elaboração de produtos derivados da casca e das sementes dos frutos (BORÉM, 2001; MELETTI *et al.*, 2005). Um estudo que avalie o nível de tolerância de variedades de maracujá, bem como os mecanismos ecofisiológicos envolvidos na aquisição de tolerância ao estresse hídrico nos possibilitaria selecionar materiais genéticos que, potencialmente, apresentariam maior sucesso de cultivo em regiões com períodos secos como a região norte do estado do Espírito Santo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar as respostas ecofisiológicas e bioquímicas de duas cultivares de maracujá (FB300 e FB200) submetido ao déficit hídrico durante o crescimento vegetativo.

2.2. Objetivos específicos

- 2.2.1. Verificar o impacto do déficit hídrico sobre a fluorescência da clorofila *a*;
- 2.2.2. Relacionar a atividade das enzimas de estresse oxidativo e a produção da fluorescência da clorofila *a* em condição de supressão hídrica.

- 2.2.3. Determinar a intensidade crítica do estresse hídrico que resulta em alterações significativas nos parâmetros bioquímicos e biofísicos avaliados para os diferentes materiais vegetais.
- 2.2.4. Averiguar o impacto do déficit hídrico sobre a produção de estresse oxidativo;
- 2.2.5. Relacionar a atividade fotoquímica do fotossistema II com o estresse oxidativo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e condições de cultivo

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória/ES. Foram utilizadas plantas do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims), cv. Maguary (FB300) e Yellow Master (FB200), cultivadas amplamente pelos agricultores no norte do Estado do Espírito Santo. Mudas com 30 dias de idade foram fornecidas pelo viveiro Sobradinho, localizado no município de Sooretama, ES.

Um arranjo inteiramente casualizado com 40 plantas foi utilizado para cada cultivar. Cada planta foi cultivada em um pote plástico (11 L) contendo como substrato uma mistura de terra, areia e substrato floral na proporção 3:2:1. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, com temperatura e luminosidade controladas. As mudas foram irrigadas diariamente, mantendo-se o nível de água do solo próximo à capacidade de campo até o início do tratamento.

3.2 Experimento

Após duas semanas de aclimatização, as plantas foram induzidas aos tratamentos, que consistiram em dois regimes hídricos: condição de controle e suspensão total da irrigação. Avaliações do potencial hídrico foliar (ψ_w), fluorescência da clorofila *a* (fluorescência transiente, teste JIP e fluorescência modulada), índice de clorofila (SPAD), concentração de malondialdeído (MDA) e atividade de enzimas antioxidantes foram feitas a cada dois dias, visando verificar o comportamento ecofisiológico e bioquímico das plantas no decorrer da supressão hídrica.

Todas as avaliações foram realizadas em folhas jovens completamente expandidas (terceiro ou quarto nó a contar do ápice para a base da planta), sempre nas primeiras horas da manhã, para evitar os efeitos inibitórios das altas temperaturas e luminosidades sobre as reações fotossintéticas. As folhas utilizadas para as medidas de Ψ_w e fotossintéticas foram coletadas, acondicionadas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a -80°C . O conteúdo de MDA foi dosado em parceria com o Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa/MG).

Quando o potencial hídrico foliar atingiu valores críticos (aproximadamente $-3,0\text{ MPa}$), realizou-se a reidratação dos vasos por meio de regas manuais diárias, com o objetivo de avaliar a capacidade de recuperação de cada material genético por meio das mesmas avaliações fisiológicas e bioquímicas supracitadas. Esta metodologia objetivou a simulação dos efeitos de uma estiagem prolongada nas condições de campo, quando a água dos reservatórios utilizada para a irrigação cessa.

3.3 Metodologia Proposta

3.3.1 Potencial hídrico foliar (ψ_w)

O potencial hídrico foliar (ψ_w) foi medido usando uma bomba de pressão de acordo com Scholander *et al* (1965).

3.3.2 Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente ou polifásica (O-J-I-P)

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi determinada utilizando-se um fluorômetro portátil HandyPEA (Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). Previamente às leituras, as folhas foram adaptadas ao escuro (uso de cliques foliares) durante 20 minutos, período suficiente para a oxidação completa do sistema fotossintético. Logo após, as folhas foram submetidas a um flash de luz saturante $3000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{S}^{-1}$, com duração de 1 s, conforme metodologia seguida por Tsimili-Michael & Strasser (2008).

Para cada tratamento (controle = irrigação próxima da capacidade de campo; déficit hídrico = supressão total da irrigação) a fluorescência transiente OJIP foi analisada de acordo com o teste JIP (STRASSER & STRASSER, 1995) e seus parâmetros analisados através do software Biolyzer (Laboratório de Bioenergética, Universidade de Genebra, Suíça).

3.3.2.1 Avaliação da banda L e K da fluorescência transiente ou polifásica (O-J-I-P)

As curvas da fluorescência transiente OJIP foram normalizadas como: a) Fluorescência variável relativa entre os pontos O (50 μs) e K (300 μs) [$V_{OK} = (F_t - F_0) / (F_K - F_0)$]; b) Fluorescência variável relativa entre os pontos O (50 μs) e J (2 ms) [$V_{OJ} = (F_t - F_0) / (F_J - F_0)$]. Obtida a fluorescência variável (V_t ,

V_{OK} e V_{OJ}), calculou-se as diferenças cinéticas entre as plantas submetidas ao estresse e as plantas controle ($\Delta V = V_{\text{tratamento}} - V_{\text{controle}}$), sendo possível identificar nestas curvas as bandas L (aproximadamente a 150 μs) e K (aproximadamente a 300 μs).

3.3.2.2 Parâmetros do teste JIP

1) A produtividade ou taxas de fluxos de energia: Produção quântica máxima do Fotossistema II, $\phi P_o = TR_o/ABS = (F_M - F_o)/F_M = 1 - (F_o/F_M = F_v/F_m$; Probabilidade de um éxciton capturado, mover um elétron para além da quinona a reduzida, $\psi E_o = ET_o/TR_o = 1 - V_j$; Probabilidade que um fóton tem de mover um elétron para além da quinona a reduzida, $\phi E_o = \phi P_o \cdot \psi_o = (TR_o/ABS) \cdot (ET_o/TR_o) = ET_o/ABS = (1 - F_o/F_M) \cdot (1 - V_j)$; Probabilidade na qual um elétron transportado do intersistema reduza o acceptor final de elétrons do lado acceptor do fotossistema I, $\delta R_o = RE_o/ET_o = (1 - V_i)/(1 - V_j)$; Eficiência na qual um exciton capturado move um elétron de Q_A até o acceptor final de elétrons do fotossistema I, $\rho R_o = RE_o/TR_o = \psi E_o \cdot \delta R_o$; produtividade quântica máxima de deexcitação não fotoquímica, $[\phi D_o = DI_o/ABS = 1 - \phi P_o = F_o/F_M]$; Produtividade quântica para a redução do acceptor final do fotossistema I por fóton absorvido $\phi R_o = RE_o/ABS = \phi P_o \cdot \psi E_o \cdot \delta R_o$.

2) Fluxos específicos: o fluxo específico de absorção de energia luminosa, ABS/RC , pode ser calculado a partir do número total de fótons absorvidos pelas moléculas de todos os RCs dividido pelo número total de RC ativos, representando o tamanho real da antena de um centro de reação ativo; o fluxo específico de captura de energia de excitação, TR_o/RC , ou taxa de captura máxima do FSII, trata-se da taxa máxima com que a energia de excitação é capturada pelo RC resultando na redução de Q_A ($Q_A^+ \xrightarrow{e^-} Q_A^-$); o fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas da antena, DI_o/RC , representa a razão da dissipação total de energia de excitação não capturada nos RCs pelo número de RCs ativos; o transporte de elétrons

excitados, ET_0/RC , considera a reoxidação de Q_A^- através da cadeia de elétrons por RCs ativos e inativos.

3) Os índices de performance fotossintética: Da excitação até a redução dos aceptores de elétrons do intersistema, estabelecido pela equação $PI_{ABS} = [\gamma RC/(1-\gamma RC)] \cdot [\phi P_0/(1-\phi P_0)] \cdot [\psi E_0/(1-\psi E_0)]$; a partir da excitação para a redução dos aceptores finais do FSI, $PI_{ABS,total} = [\gamma RC/(1-\gamma RC)] \cdot [\phi P_0/(1-\phi P_0)] \cdot [\psi E_0/(1-\psi E_0)] \cdot [\delta R_0/(1-\delta R_0)]$.

3.3.3 Análise da Fluorescência da clorofila a com pulso modulado

Os parâmetros da fluorescência modulada da clorofila a foram medidos usando um fluorômetro portátil FMS-2 (Hansatech Instruments Ltd, King's Lynn, Northfolk, UK). Foram realizadas medidas da fluorescência atual: Produtividade quântica efetiva do fotossistema II, (F_V/F_M); Taxa de transporte de elétrons, (ETR); Coeficiente de extinção fotoquímico [$qP = (F_M' - F_S)/(F_M' - F_0')$]; Eficiência fotoquímica atual do FS II [$\phi_{PSII} = (F_M' - F_S)/F_M'$]. A utilização destes parâmetros permitiu a obtenção de informações sobre o comportamento efetivo dos fotossistemas.

3.3.4 Atividade de enzimas antioxidantes

A coleta das folhas de *Passiflora edulis* SIMS, cultivares FB 200 e FB 300 para as análises bioquímicas foi realizada pela manhã, após a aferição do potencial hídrico. As folhas foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C para análises posteriores.

3.3.4.1 Extração Protéica

Para obtenção do extrato enzimático, duzentos miligramas de tecido foliar foram macerados em N₂ líquido com polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) e homogeneizado em 4 mL de solução de extração contendo tampão de fosfato de potássio 200 mM (pH 6,8), EDTA 10 mM e ácido ascórbico 100 mM. O homogeneizado foi centrifugação a 13.000 g por 12 minutos, a 4°C (PEIXOTO et al., 1999). O sobrenadante foi utilizado para a atividade das enzimas antioxidantes e quantificação das proteínas.

3.3.4.2 Dosagem da Atividade da Peroxidase (EC.1.11.1.11)

A atividade da enzima peroxidase do ascorbato (E.C. 1.11.1.11) foi determinada pela adição de 0,05 mL de extrato enzimático bruto a 3,95 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 200 mM, pH 7,0, ácido ascórbico 10 mM e H₂O₂ 0,1 mM (NAKANO; ASADA, 1981, modificado por KOSHIBA, 1993). O decréscimo na absorvância em 290 nm foi monitorado no primeiro minuto, em meio de reação incubado a 28 °C. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,8 mmol⁻¹L cm⁻¹ (NAKANO; ASADA, 1981) e expressa em μmol de ácido ascórbico min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

3.3.4.3 Dosagem da Atividade da catalase (EC.1.11.1.6.)

A atividade da enzima catalase (E.C. 1.11.1.6) foi determinada pela adição de 0,025 mL de extrato enzimático bruto a 3,975 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 200 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 250 mM (HAVIR; MCHALE, 1989). A atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm durante o primeiro minuto, em meio de reação incubado a 28°C. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de

extinção molar de $36 \text{ mmol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$ (ANDERSON et al., 1995) e expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

3.3.5 Conteúdo de Malondialdeído (MDA)

O conteúdo de MDA foi determinado por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito por Buege & Aust (1978). Duzentos miligramas de tecido foliar foram macerados em N_2 líquido acrescido de 20% de PVPP e homogeneizado em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g por 10 minutos. Duzentos e cinquenta microlitros do sobrenadante foram adicionados a 1 mL do meio de reação (0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (p/v) de TCA), incubando-se, em seguida, a 95°C , por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras foram determinadas no Elisa, a 535 nm e 600 nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malondialdeído (MDA), produto secundário do processo de peroxidação. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela seguinte equação:

$$[\text{MDA}] = (A_{535} - A_{600})/(\xi \cdot b),$$

Em que: ξ (coeficiente de extinção molar = $1,56 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$); b (comprimento ótico = 1). A peroxidação foi expressa em $\text{nmol de MDA g}^{-1}$ de matéria fresca.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi montado em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições por tratamento. Cada repetição foi composta por uma planta. Para as fontes de variação quantitativas, os dados das variáveis avaliadas foram analisados por meio do erro padrão, enquanto que para fontes de variação qualitativas, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o programa Assisat 7.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Potencial hídrico

A diminuição no potencial hídrico (ψ_w) foi bem evidente e similar em ambas as variedades após supressão hídrica (Figura 1). Entretanto, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas somente após 5 dias de total supressão hídrica, atingindo valores próximos a - 3,0 MPa no último dia (11º dia) em relação ao controle (- 0,4 MPa).

Esta diferença representa uma redução do ψ_w de, aproximadamente, seis vezes quando comparado às plantas controle, o que permitiu a visualização de murcha das folhas causada pela redução da disponibilidade hídrica (Figura 2). Após a reidratação, os valores do ψ_w das plantas submetidas ao déficit hídrico foram progressivamente retornando aos valores observados para as plantas controle.

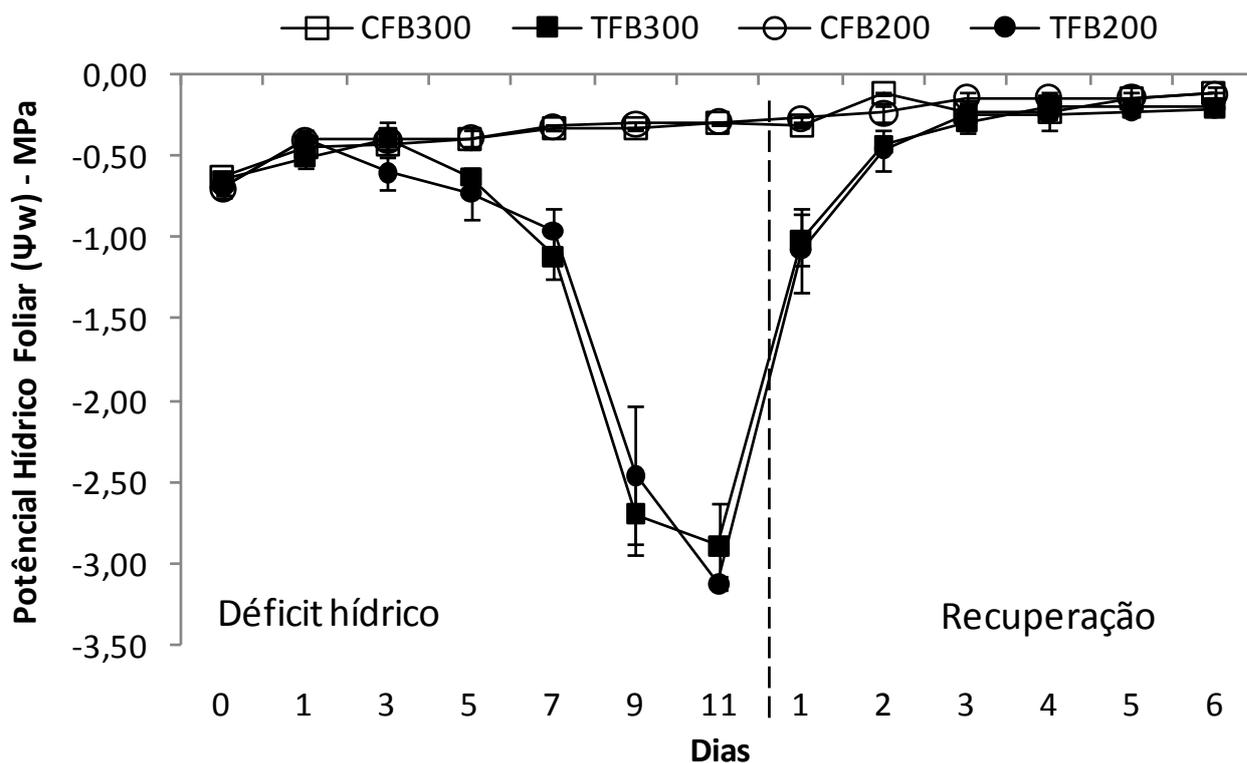


FIGURA 1 - Potencial hídrico (ψ_w) de duas cultivares do maracujazeiro, *Passiflora edulis* Sims. (cvs. FB300 e FB200) submetidas ao déficit hídrico. Quando o ψ_w atingiu valores negativos próximos a -3,0 MPa, as plantas foram reidratadas, possibilitando a avaliação da capacidade de recuperação. A linha vertical separa o período dos tratamentos. CFB – controle, TFB - tratamento. Os valores são médias (\pm erro padrão) de cinco plantas por tratamento.



FIGURA 2 - Imagens dos maracujazeiros *Passiflora edulis* Sims, submetidos a dois dias (A) e onze dias (B) de déficit hídrico e quatro dias de reidratação (C), mantidos em condições de casa de vegetação.

5.2 Índice de clorofila

As reduções no conteúdo hídrico dos tecidos foliares refletiram em alterações significativas ($p < 0,05$) no teor de clorofila (índice SPAD) em ambas as cultivares (Figura 3). As diferenças entre controle e tratamento foram expressivas a partir do 5º dia até o 11º dia de supressão hídrica em FB300 quando, então, as plantas foram reidratadas (Figura 3A). A cultivar FB200 apresentou diferença estatística apenas no 5º e 7º dia de supressão hídrica e no 1º dia de reidratação (Figura 3B).

As clorofilas são os principais pigmentos responsáveis pela absorção da luz na fotossíntese. Dessa forma, elas são responsáveis pela conversão da energia luminosa em energia química, resultando em compostos altamente energéticos como o ATP e NADPH. O teor da clorofila pode ser influenciado tanto por fatores abióticos como bióticos, estando intimamente relacionado com a atividade fotossintética dos vegetais (TAIZ & ZEIGER, 2009).

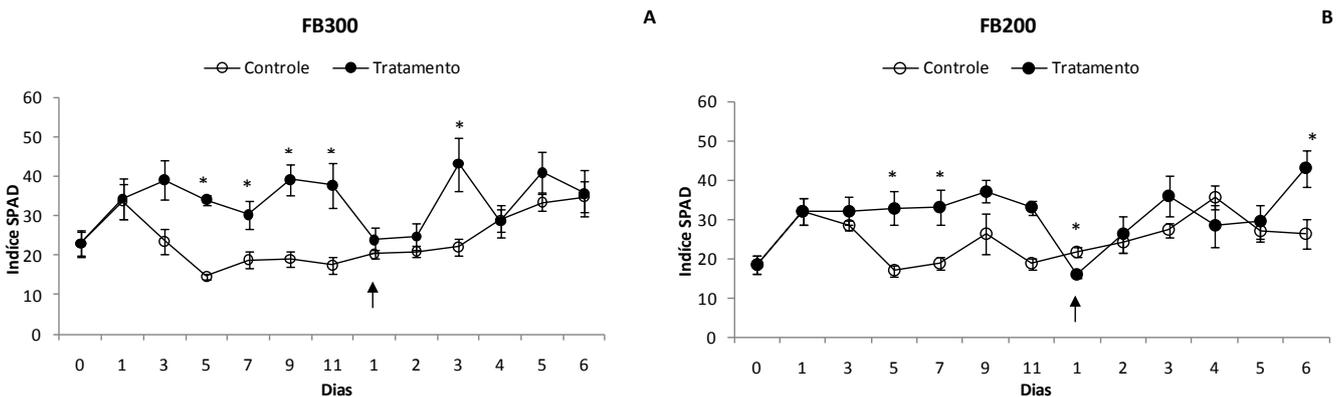


FIGURA 3 - Índice de clorofila (índice SPAD) de duas cultivares do Maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims. FB300 (A) e FB200 (B) submetidas ao déficit hídrico. A seta indica o início do período de recuperação. Os asteriscos indicam diferença estatística entre controle e tratamento (Tukey 5%). Os valores são médias (\pm erro padrão) de cinco plantas por tratamento.

É sabido que o déficit hídrico afeta o conteúdo de clorofila em muitas culturas como trigo, (SARKER *et al.*, 1999), amendoim, (ARUNYANARK *et al.*, 2008), cana-de-açúcar, (SILVA *et al.*, 2007) e limão, (JESUS *et al.*, 2008). Sendo assim, sugere-se que esse pigmento pode estar envolvido em processos de tolerância ao déficit hídrico. Rong-hua *et al* (2006) mostraram, em estudo com cevada, que o uso do teor estimado de clorofila (índice SPAD) pode ser eficaz na avaliação das diferenças entre genótipos tolerantes e suscetíveis ao déficit hídrico.

Entretanto, alguns autores chamam atenção para o fato do índice SPAD não ser uma medida muito precisa, pois diferenças como, por exemplo, espessura foliar, sombreamento no momento da medida, hora da medida podem influenciar nos valores desse índice.

Arunyanark *et al* (2008), avaliando a tolerância ao déficit hídrico em genótipos de amendoim, encontraram uma forte correlação ($r= 0,67$ a $0,93$, $p < 0,01$) entre as medidas SPAD e a densidade de clorofilas. Essa medida indireta do índice SPAD como densidade de clorofila também foi obtida por Nageswara Rao *et al* (2001). Por conseguinte, a habilidade em manter a densidade de clorofilas frente ao déficit hídrico foi relacionada a mecanismos de tolerância a esse tipo de estresse em cevada (THIS *et al.*, 2000) e batata (VAN DER MESCHT *et al.*, 2000).

No presente estudo, aumentos significativos no índice de clorofila foram observados em ambas as cultivares durante o período de supressão hídrica. Sugere-se que esse aumento no índice de clorofila reflita um aumento da densidade desse pigmento nos tecidos foliares, o qual foi acompanhado pela redução do ψ_w , e, conseqüentemente, pela diminuição do volume celular.

Assim, considerando que as duas cultivares foram submetidas às mesmas condições de supressão hídrica, a diferença observada nos valores do índice de clorofila, a qual foi mais relevante para a cultivar FB300 (Figura 3A), pode ser explicada pela possível diferença na densidade de clorofilas entre as cultivares, uma vez que os valores do ψ_w não diferiram entre elas (Figura 1).

5.3 Fluorescência transiente da clorofila a

As curvas apresentaram um aumento polifásico característico, com os sinais de fluorescência aumentando desde um nível O (F_0) até um nível máximo (F_M), com níveis intermediários J e I bem definidos, demonstrando que todas as amostras foram fotossinteticamente ativas (Figura 4).

Nas curvas OJIP da fluorescência transiente da clorofila a, foram visualizadas três fases distintas: A fase O-J é caracterizada pela redução fotoquímica do acceptor primário de elétrons, Quinona A (Q_A), dos centros de reação do FSII (STRASSER et al., 1995; LAZAR, 2004). A fase J-I corresponde à excitação do FSII até a redução da plastoquinona. A fase I-P reflete a transferência dos elétrons até o lado acceptor do FSI (OUKARROUM et al., 2009; YUSUF et al., 2010).

Para melhor comparar o comportamento polifásico das curvas OJIP, foi feita uma normalização dos valores da fluorescência entre F_0 e F_M expressa como fluorescência variável relativa, $V_t = (F_t - F_0)/(F_M - F_0)$ (TSIMILLI-MICHAEL, 2008). Esta normalização permite visualizar com clareza as diferenças das fases O-J, J-I e I-P entre os respectivos tratamentos. Em adição, a cinética da fluorescência, dada como ΔV_t , foi calculada como $\Delta V_t = V_t \text{ controle} - V_t \text{ tratamento}$ e apresentada na Figura 5.

No 1º dia de supressão hídrica, observou-se redução na fase I-P na cultivar FB200 (Figura 5B), sem diferenças claras em FB300 (Figura 5A). Porém, após 11 dias de supressão hídrica, a cultivar FB300 foi caracterizada por reduções expressivas nos valores de ΔV_t apenas na fase J-I (Figura 5C). Ao contrário, em FB200, a supressão hídrica por um período de 11 dias causou efeitos significativos em todas as fases da fluorescência OJIP (Figura 5D), dados os valores negativos da curva ΔV_t , mostrando maior sensibilidade desta cultivar às condições de deficiência hídrica.

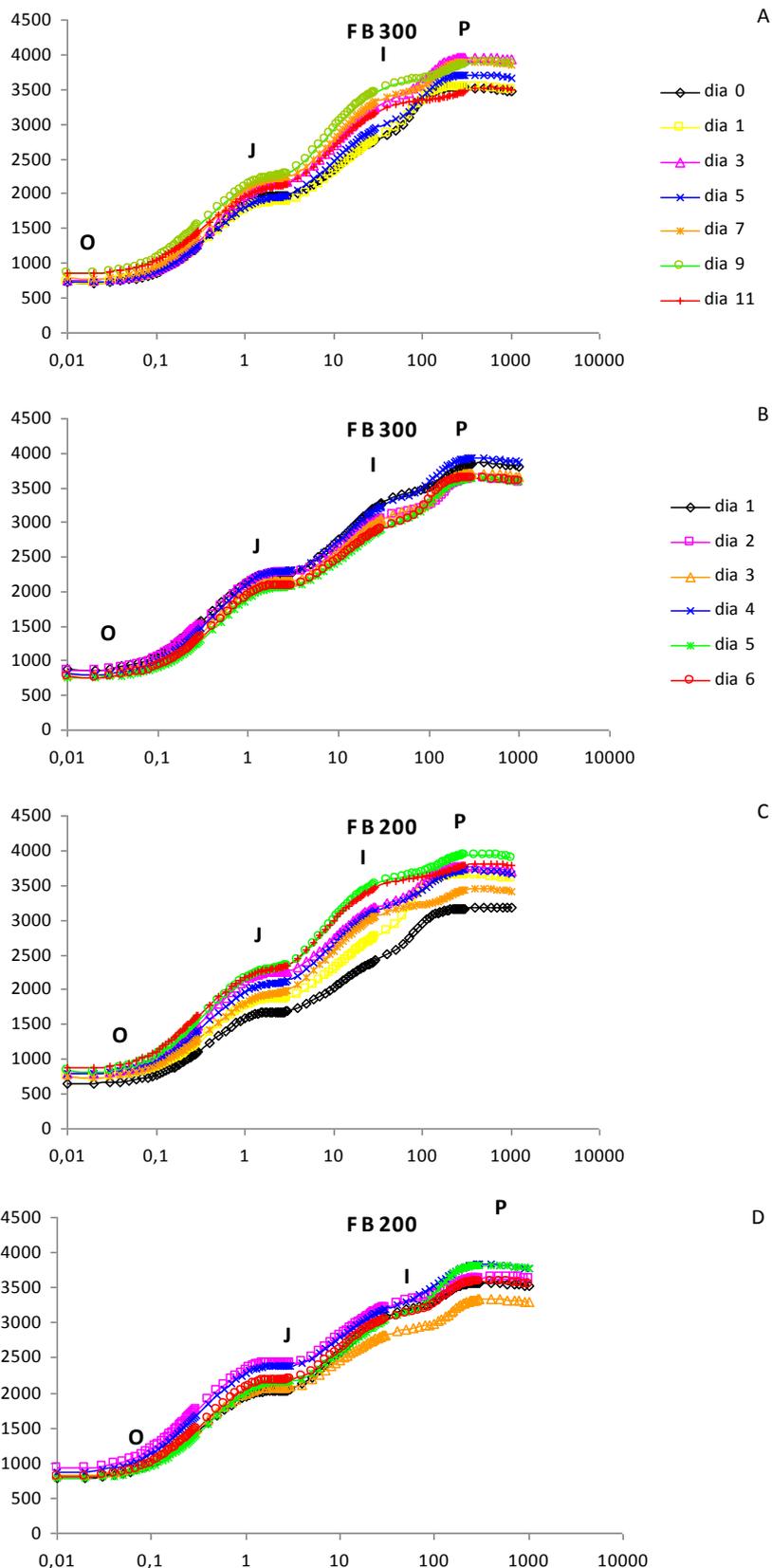


FIGURA 4 - Cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* (curva OJIP) de folhas adaptadas ao escuro de plantas de *Passiflora edulis* Sims, cultivares FB 300 período de déficit hídrico (A) e reidratação (B); FB 200 período de déficit hídrico (C) e reidratação (D). O eixo horizontal apresenta o tempo (ms) em escala logarítmica e as letras O, J, I e P sinalizam o momento em que cada ponto ocorre na curva (50 μ s, 2ms, 30ms e 300ms, respectivamente). As médias são referentes a 10 medidas independentes. Dia zero = dia anterior ao início do tratamento; Seqüência de dias 1,3,5,7,9,11 = período de déficit hídrico. Seqüência de dias 1,2,3,4,5,6: período de recuperação.

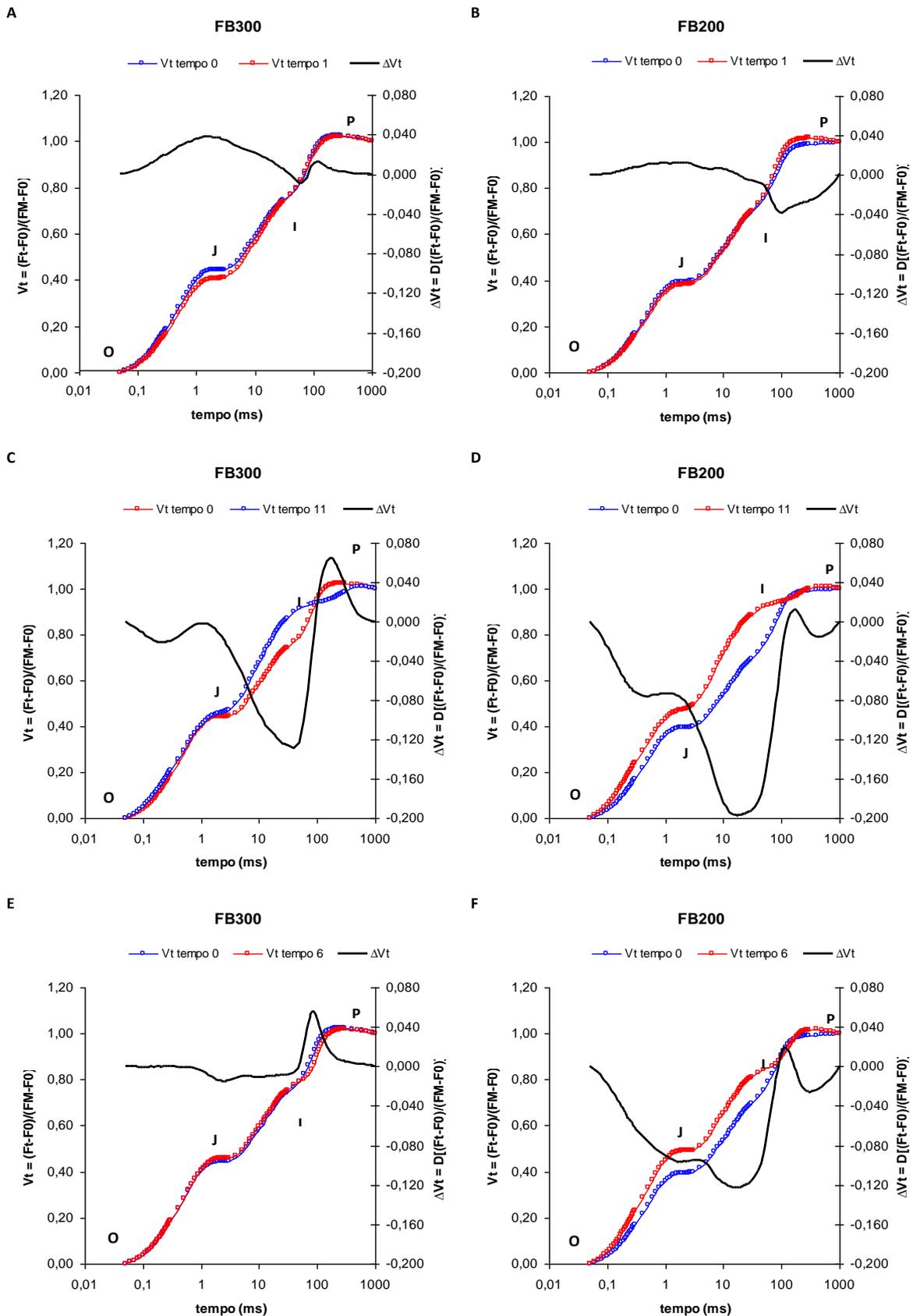


FIGURA 5 - Diferença das curvas OJIP (ΔV_t) entre controle (ultimo dia antes do déficit hídrico) e tratamento (déficit hídrico). O eixo horizontal apresenta o tempo (ms) em escala logarítmica. E as letras O, J, I e P sinalizam o momento em que cada ponto ocorre na curva. FB300: 1^o dia (A) e ultimo dia de déficit hídrico(C) e ultimo dia de reidratação (E). FB200: 1^o dia (B) e ultimo dia de déficit hídrico(D) e ultimo dia de reidratação (F) As médias são referentes a 10 medidas independentes.

Após 6 dias de reidratação, observou-se total recuperação nos valores de ΔV_t na cultivar FB300 (Figura 5E), com um aumento na eficiência de transferência dos elétrons até o lado acceptor do FSI, evidenciado por meio de um aumento positivo na curva ΔV_t na fase I-P, (Figura 5E). Porém, em FB200, foi observada uma recuperação de aproximadamente 50% nos valores de ΔV_t para a fase J-I. Entretanto, o período de reidratação das plantas não foi suficiente para a recuperação total, ou mesmo parcial, dos valores de ΔV_t para as fases O-J e I-P, o que demonstra menor capacidade desta cultivar em reduzir fotoquimicamente Q_A e de transferir elétrons para o lado acceptor do FSI, respectivamente (Figura 5F).

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi também duplamente normalizada entre F_0 (0,05 ms) e F_K (0,3 ms) e expressa como $Wo_k (F_t - F_0)/(F_k - F_0)$ de acordo com Oukarroum *et al* (2007). Subsequentemente, o controle (medida feita antes da imposição do déficit hídrico) teve seus valores subtraídos dos resultados obtidos das plantas submetidas aos tratamentos (déficit hídrico e recuperação), gerando, então, o ΔWo_k (Figura 6). Essa diferença nos dados transientes permite a visualização da banda L. Um aumento positivo das curvas L está relacionado com uma diminuição da conectividade energética entre as unidades do FSII (STRASSER & STIRBET, 1998).

Neste estudo, as respostas da banda L para as plantas submetidas ao déficit hídrico e reidratação diferiram entre as cultivares estudadas. Em FB300, a diminuição da conectividade energética entre as unidades do FSII foi visível a partir do 5º dia após supressão hídrica (Figura 6A) e se recuperou no 5º dia de reidratação (Figura 6B).

FB200 apresentou um aumento positivo na banda L já a partir do 3º dia de déficit hídrico, atingindo valores de amplitude máximos no 11º dia (Figura 5C). Além disso, esta cultivar apresentou valores de desconectividade maiores (0,070) do que os de FB300 (0,050) aos 11º dia de total supressão hídrica. O processo de recuperação, por meio da reidratação das plantas, mostrou-se de forma mais efetiva em FB300, uma vez que os valores da banda

L de todos os dias de reidratação permaneceram positivos em FB200 (Figura 6D).

Resultados semelhantes foram observados em cultivares de cevada, submetidas ao déficit hídrico e recuperação (OUKARROUM *et al.*, 2007). Analogamente aos resultados obtidos para FB300, após o período de reidratação, os valores de ΔW_{OK} (banda L) se recuperaram totalmente nas cultivares de cevada, refletindo um aumento da conectividade entre as unidades do FSII. Segundo Strasser *et al* (2004), essa recuperação de ΔW_{OK} pode estar ligada a um aumento da tolerância das plantas ao déficit hídrico, visto que, uma alta conectividade entre as unidades do FSII resulta numa utilização mais eficiente da energia de excitação e maior estabilidade do sistema.

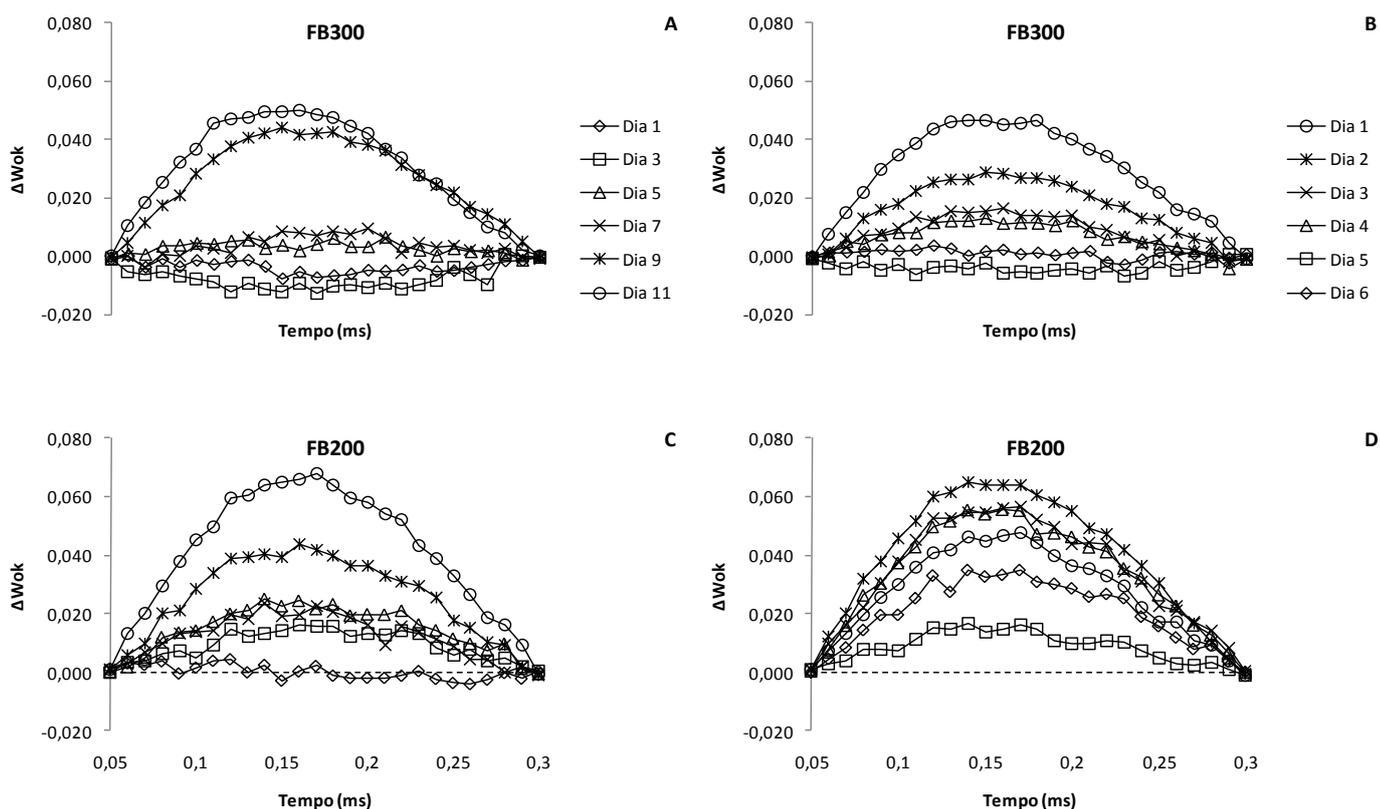


FIGURA 6 - Mudanças na curva da fluorescência transiente da clorofila a normalizada entre F_0 e F_K expresso como W_{OK} ($W_{OK} = (F_t - F_0) / (F_K - F_0)$). $\Delta W_{OK} = (W_{OK} \text{ dos tratamentos}) - (W_{OK} \text{ do controle})$. Dias 1, 3, 5, 7, 9 e 11 = período de déficit hídrico – FB300 (A) e FB200 (C). Dias seguidos 1, 2, 3, 4, 5, 6: período de recuperação por reidratação – FB300 (B) e FB200 (D).

A figura 7 mostra a banda K, obtida por meio da dupla normalização entre F_0 e F_J e expressa como $Wo_J = (F_t - F_0)/(F_J - F_0)$. A diferença entre o controle e os tratamentos foi determinada como ΔWo_J (YUSUF *et al.*, 2010). A banda K pode ser visualizada em plantas submetidas a estresse por altas temperaturas (LAZAR *et al.*, 1997; TÓTH *et al.*, 2005) e também por déficit hídrico (DE RONDE *et al.*, 2004; PINIOR *et al.*, 2005; OUKARROUM *et al.*, 2007).

A análise das bandas K fornece informações importantes à cerca do desbalanço entre os fluxos de elétrons do lado aceptor e doador do FSII, e pode, por isso, ser utilizada como um indicador específico de injúrias fisiológicas causadas pelo déficit hídrico no complexo de evolução do oxigênio (CEO) (STRASSER, 1997).

O déficit hídrico inativou o CEO em FB300 somente a partir do 7º dia de supressão hídrica (Figura 7A). Por outro lado, um comportamento bastante distinto foi observado em FB200, a qual, já a partir do 3º dia, mostrou um balanço desigual entre o lado doador e aceptor de elétrons do FSII (Figura 7C). Essa mesma variedade apresentou valores de ΔWo_J superiores a FB300 (0,070 e 0,050, respectivamente).

A partir do 4º dia de reidratação das plantas, valores negativos de ΔWo_J foram obtidos em FB300, o que corresponde a uma recuperação da atividade do CEO. Em FB200, essa recuperação ocorreu somente no 5º dia de reidratação das plantas, voltando a aumentar no 6º e último dia de reidratação. Esta característica foi peculiar a cultivar FB200 e pode ser um indicativo da amplitude da desordem fisiológica causada pelo déficit hídrico nesta cultivar, o que reforça os resultados descritos anteriormente, os quais inferem menor tolerância da cultivar ao déficit hídrico. Em adição, essa persistência dos valores positivos para a banda K no 6º dia de reidratação pode apontar um efeito resultante do déficit hídrico mais expressivo no lado doador do FSII (OUKARROUM *et al.*, 2007).

Strasser (1997), utilizando a fluorescência transiente da clorofila *a* para avaliar a atividade do lado doador do FSII, concluiu que a deficiência no fluxo de elétrons do lado doador para o centro de reação do FSII foi causada por inibições na transferência de elétrons do CEO para o doador secundário de elétrons, tirosina Z (Y_Z), a qual, por conseguinte, reduz o $P680^+$. Essa inibição na transferência de elétrons deve-se aos danos causados em nível de CEO, os quais comprometem as reações de oxidação da água e posterior liberação dos elétrons para Y_Z .

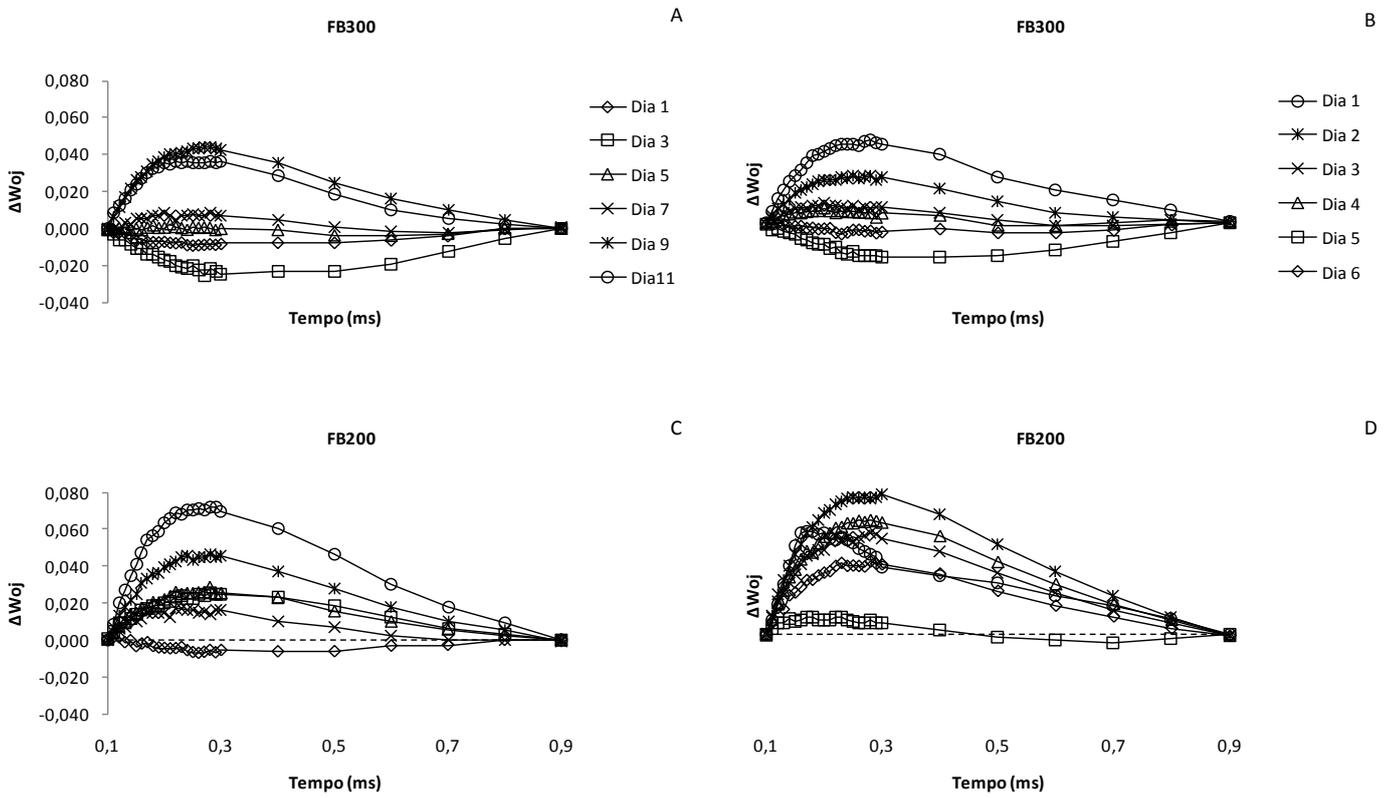


FIGURA 7 - Mudanças na curva da fluorescência transiente da clorofila *a* normalizada entre F_0 e F_J expresso como W_{Oj} ($W_{Oj} = (F_t - F_0) / (F_J - F_0)$). $\Delta W_{Oj} = (W_{Oj} \text{ dos tratamentos}) - (W_{Oj} \text{ do controle})$. Dias seguidos 1,3,5,7,9: período de déficit hídrico – FB300 (A) e FB200 (C). Dias seguidos 1,2,3,4,5,6: período de recuperação por reidratação – FB300 (B) e FB200 (D).

5.4 Parâmetros do test-JIP

Os fluxos específicos, obtidos por meio da análise JIP (teste JIP) também foram estudados e revelaram diferenças expressivas entre as cultivares submetidas ao déficit hídrico e recuperação.

Os fluxos específicos de absorção (ABS/RC), captura (TRo/RC), transporte (ETo/RC) e dissipação (DIo/RC) de energia variaram significativamente na cultivar FB200 em resposta ao déficit hídrico. Alterações pouco expressivas foram observadas em FB300 (Figura 8). Em FB200, diferenças significativas em ABS/RC e TRo/RC foram observadas após 11 e 7 dias do início da supressão hídrica, respectivamente (Figura 8B e D).

Após a reidratação das plantas, os valores de ABS/RC e TRo/RC permaneceram significativamente maiores nas plantas previamente submetidas à supressão hídrica, muito embora os valores absolutos desses dois parâmetros tenham reduzido (redução não significativa) no 4º dia de reidratação (Figura 8B e D). ET_0/RC variou pouco em FB200 frente ao déficit hídrico (Figura 8F).

Outro dado que sugere a maior sensibilidade da cultivar FB200 ao déficit hídrico foi o aumento crescente no fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas do sistema antena, DI_0/RC (Figura 8H). A partir do 11º dia de supressão hídrica, os valores de DI_0/RC foram significativamente maiores em FB200.

Analogamente aos resultados observados para as razões ABS/RC e TRo/RC, a reidratação das plantas não resultou em total recuperação dos valores de DI_0/RC (Figura 8H). Em FB300, aumentos de DI_0/RC decorrentes do déficit hídrico ocorreram após 9 dias de supressão hídrica. Porém, já no 1º dia de reidratação em diante, DI_0/RC foi similar ao das plantas controle (Figura 8G).

De acordo com Silva *et al* (2010), sob déficit hídrico, as plantas ativam mecanismos específicos para a dissipação da energia de excitação em excesso., o que eleva os valores da razão DI_0/RC . Elevados valores de DI_0/RC estão associados à ocorrência da fotoinibição. É válido ressaltar que processos fotoinibitórios estão relacionados também à reduções na eficiência máxima de captura de energia de excitação, ou F_V/F_M (DEMMIG & BJÖRKMAN, 1987). DI_0/RC indica a taxa de dissipação de energia de excitação em relação ao número de centros de reação ativos.

Neste sentido, os valores de DI_0/RC podem ser influenciados pela razão de centros de reação ativos e inativos. No presente estudo, os aumentos significativos de DI_0/RC observados em FB200 podem estar refletindo a inativação de centros de reação como resposta ao déficit hídrico, evidenciando, mais uma vez, a maior sensibilidade desta cultivar à deficiência hídrica.

A figura 9 apresenta as taxas de fluxo de energia: $\phi_{Po} = (TR_0/ABS) = (1 - (F_0/F_M) = F_V/F_M)$, a eficiência pela qual um fóton absorvido será capturado pelo centro de reação do fotossistema II; $(\psi_{E_0}) = ET_0/TR_0 = (1 - V_J)$, probabilidade de um elétron capturado ser transportado para além de Q_a^- ; $\phi_{E_0} = ET_0/ABS = [1 - (F_0/F_M)]$, produtividade quântica para transportar elétrons (FALQUETO *et al.*, 2010).

A partir do 9º dia de déficit hídrico, onde o ψ_w atingiu valores próximos de - 2,5 MPa, FB200 apresentou uma queda gradual em ϕ_{Po} em relação ao seu controle, recuperando esses valores somente no 5º dia após reidratação (Figura 8B). Em FB300, reduções significativas na eficiência quântica máxima do FSII entre os tratamentos também foram observadas (Figura 9A).

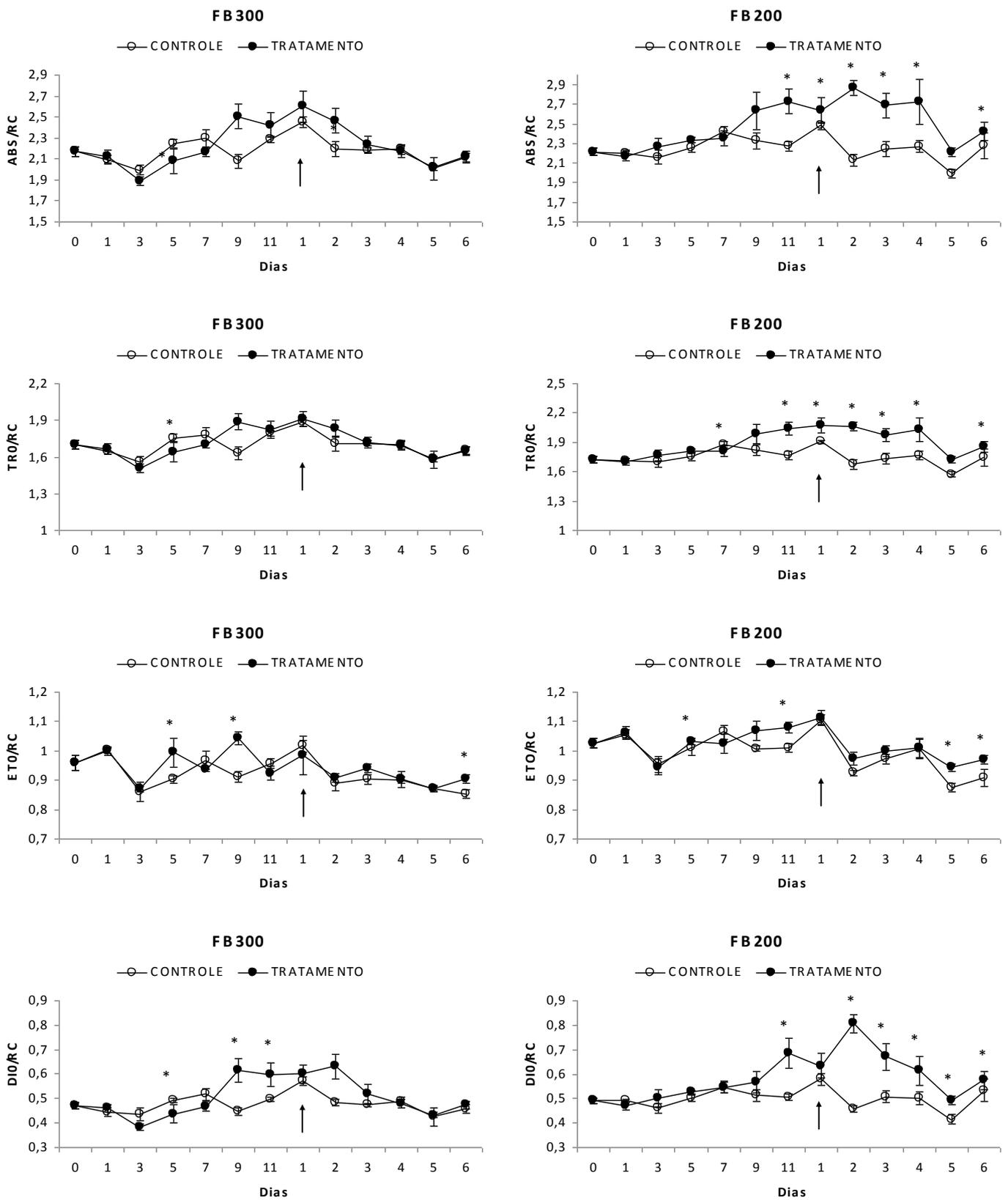


FIGURA 8 - Fluxos específicos da fluorescência da clorofila *a* de acordo com o teste OJIP. Absorção de energia luminosa, ABS/RC – (A) e (B); Captura de energia de excitação, TR₀/RC – (C) e (D); Transporte de energia de excitação, ET₀/RC – (E) e (F); Dissipação da energia ao nível das clorofilas da antena, DIO/RC – (G) e (H) em cultivares (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims irrigadas (controle) e submetidas a déficit hídrico (Tratamento). A seta indica o início da recuperação das plantas promovido pela reirrigação. O asterisco (*) indica que houve diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo período. Os valores são médias ± erro padrão (n=5).

Entretanto, a diminuição de ϕ_{Po} só foi significativa no último dia de déficit hídrico, quando as plantas apresentaram um ψ_w próximo a - 3,5 MPa. Além disso, a recuperação eficiência quântica máxima dessa cultivar ocorreu a partir do 3^o dia de reidratação, diferentemente da cultivar FB200, na qual observou-se uma recuperação total de ϕ_{Po} 5 dias após o início da reidratação das plantas.

Reduções na eficiência quântica máxima do FSII são características em eventos de déficit hídrico. Ennajeh *et al* (2009), trabalhando com cultivares de oliveiras tolerantes e sensíveis à seca, também encontrou um declínio de ϕ_{Po} à medida que o processo de supressão hídrica foi tornando-se mais severo. Reduções em ϕ_{Po} implicam na alteração da eficiência no processo de conversão fotoquímica, o que pode sugerir danos e possível inibição da atividade do FSII (RANJBARFORDOEI *et al.*, 2006).

Este parâmetro (ϕ_{Po}), associado ao fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas do sistema antena, DI_0/RC , tem sido utilizados para caracterizar eventos de fotoinibição em plantas. Neste estudo, essa inibição mostrou-se mais acentuada em FB200, uma vez que essa cultivar só se recuperou a partir do penúltimo dia de reidratação.

Quando as taxas de fluxo de energia ψ_{Eo} e ϕ_{Eo} (Figura 9), δ_{Ro} , ρ_{Ro} e ϕ_{Do} (Figura 10) e ϕ_{Ro} (Figura 11) foram comparadas entre tratamento e controle para as duas cultivares FB300 e FB200, de modo geral, reduções mais pronunciadas em todos os parâmetros foram evidentes na cultivar FB200. Além disso, uma característica marcante desta cultivar foi o tempo requerido para a recuperação total dos valores das taxas de fluxo de energia, o qual foi maior quando comparado àquele exigido pela cultivar FB300.

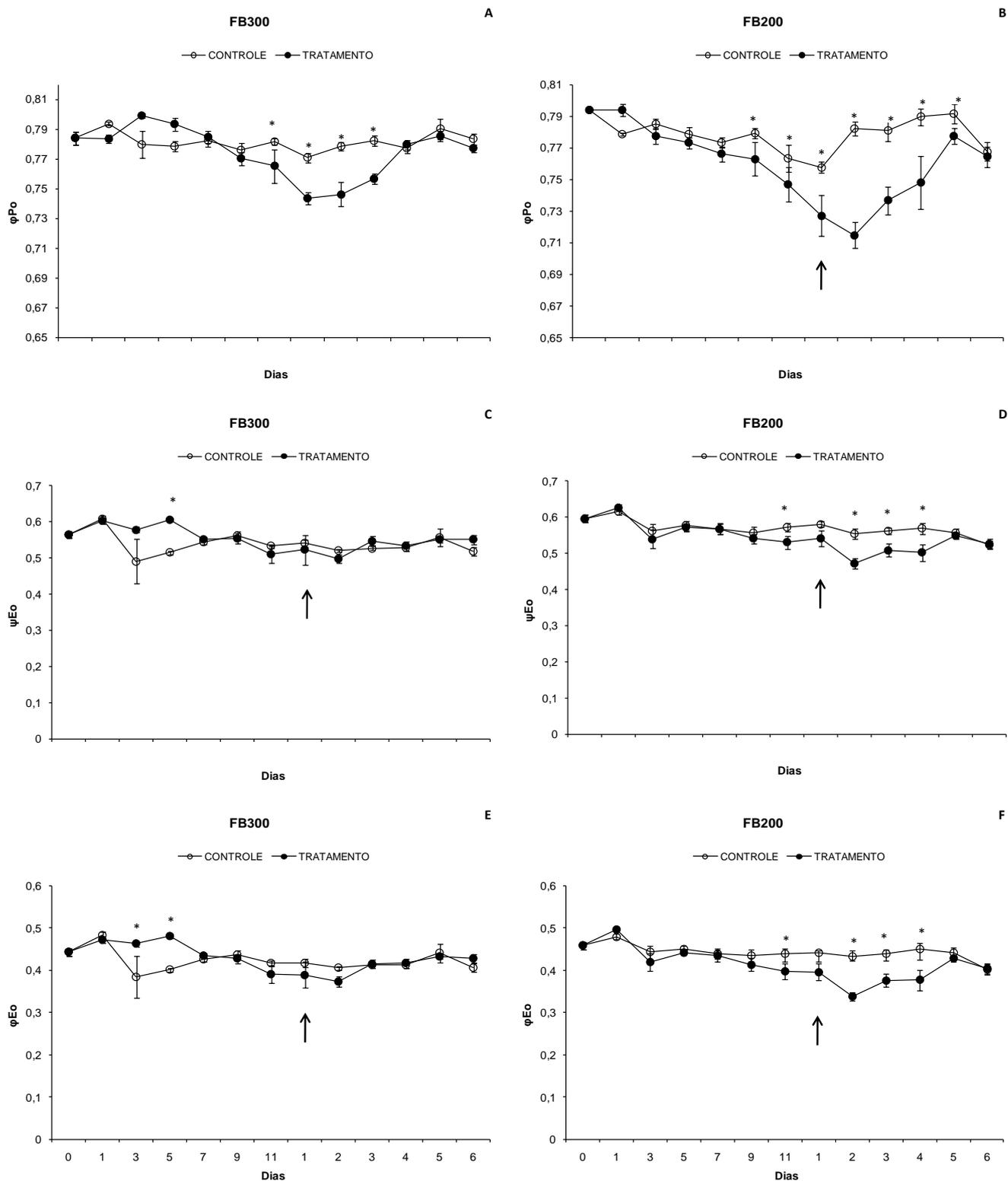


FIGURA 9 - Parâmetros da fluorescência da clorofila *a* em resposta a período de déficit hídrico e recuperação em plantas de maracujazeiro. Produção quântica máxima do Fossistema II, (ϕPo), Probabilidade de um elétron capturado ser transportado para além de Q_A , (ψEo), Probabilidade de um fóton absorvido mover um elétron para além de Q_A , (ϕEo) em plantas de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims., cvs. FB300 e FB200) submetidas a período de déficit hídrico e recuperação. As setas indicam o início da reidratação das plantas. Os asteriscos indicam diferença estatística (Tukey 5%). Os valores são médias (\pm erro padrão) para 5 plantas.

Esses parâmetros refletem, em conjunto, praticamente todo o processo fotoquímico das plantas, desde a captura dos elétrons no centro de reação do FSII com posterior redução de Q_A^- , seguindo para o intersistema até a redução dos aceptores finais do FSI. Dessa forma, de acordo com os resultados descritos, a cultivar FB200 mostrou uma menor tolerância fotoquímica ao déficit hídrico.

Dentre esses parâmetros, a produtividade quântica para a redução do acceptor final do FSI por fóton absorvido $\phi_{R0} = RE0/ABS = \phi_{P0} \cdot \psi_{E0} \cdot \delta_{R0}$, merece destaque por associar a ela três outros parâmetros: (1) a produtividade quântica máxima da fotoquímica primária (ϕ_{P0}), (2) a probabilidade de um elétron capturado ser transportado para além de Q_A^- (ψ_{E0}) e (3) a probabilidade de um elétron transportado do intersistema reduzir o acceptor final de elétrons do lado acceptor do FSI (δ_{R0}) (STRASSER *et al.*, 2004).

ϕ_{R0} reduziu gradativamente em ambas as cultivares (Figura 11A e B). Entretanto em FB300, após 2 dias de reidratação, os valores de ϕ_{R0} das submetidas ao déficit hídrico igualaram-se aos do controle (Figura 11A). Por outro lado, FB200 apresentou diferença significativa entre tratamento e controle durante quase todo o período de experimento e a recuperação foi observada somente a partir do 4º dia reidratação (Figura 11B). ϕ_{R0} (= RE0/ABS) e a fase I-P da curva OJIP estão relacionados à velocidade de redução do acceptor final de elétrons do FSI (SCHANSKER *et al.*, 2003).

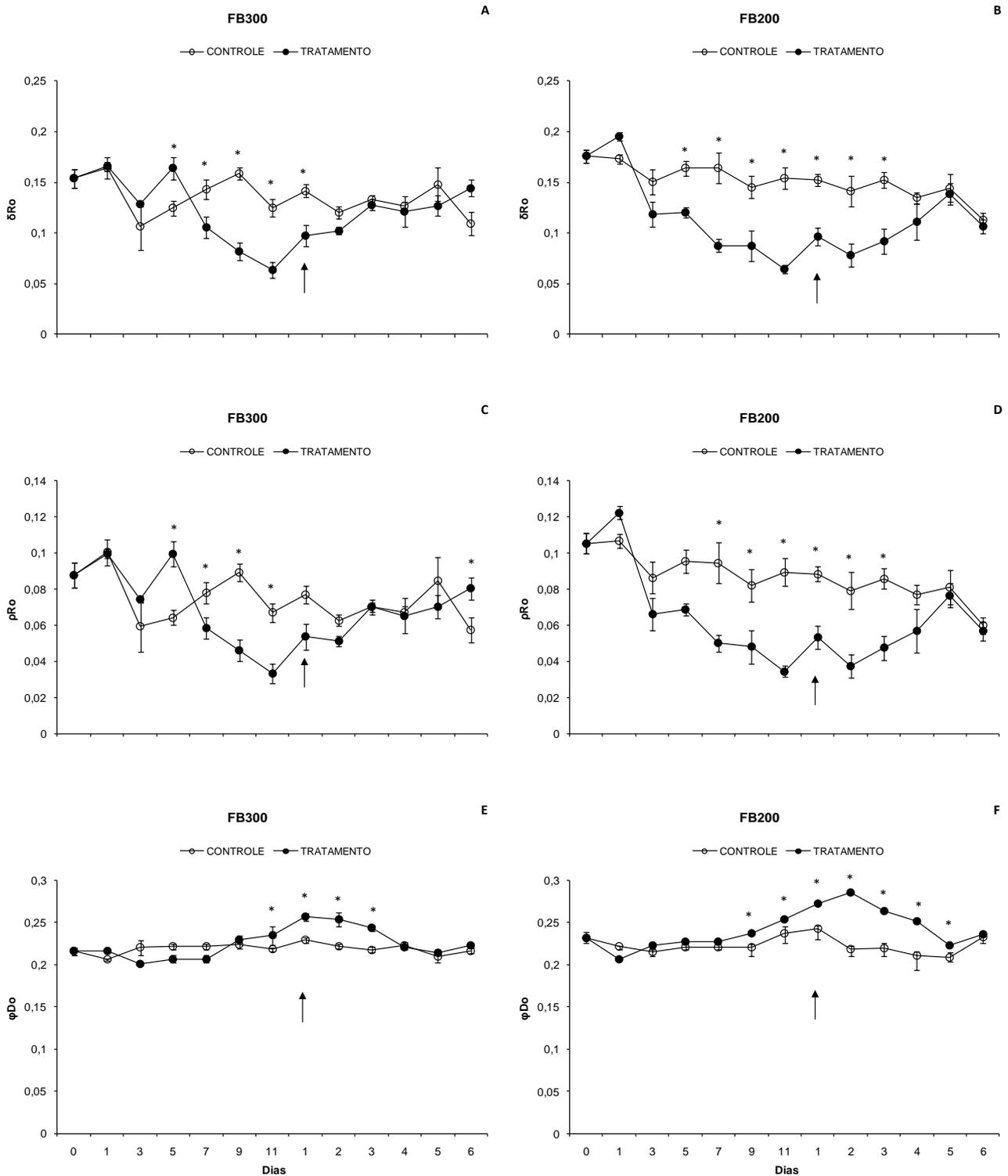


FIGURA 10 - Parâmetros da fluorescência da clorofila a em resposta ao período de déficit hídrico e recuperação em plantas de maracujá. Probabilidade de um elétron transportado do intersistema reduzir o aceptor final de elétrons do lado aceptor do fotossistema I, (δR_o). Eficiência na qual um exciton capturado move um elétron de Q_A até o aceptor final de elétrons do fotossistema I, (ρR_o). Produtividade quântica máxima de deexcitação não fotoquímica, (ϕD_o) em plantas de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims., cvs. FB300 e FB200) submetidas ao período de déficit hídrico e recuperação. As setas indicam o início da reidratação das plantas. Os asteriscos indicam diferença estatística (Tukey 5%). Os valores são médias (\pm erro padrão) para 5 plantas.

Inibições do lado acceptor de elétrons do FSI e conseqüente acúmulo de plastoquinona reduzida, foram descritos por Okarroum *et al* (2009) e Van Heerden *et al* (2007), ao avaliarem a tolerância de variedades de cevada e de espécies arbustivas ao déficit hídrico, respectivamente. Assim, os resultados descritos para a cultivar FB200 estão de acordo com os registrados por esses autores, como se pode observar nas figuras 6D e 11B, onde a redução de ϕ_{Ro} foi associada à total restrição da fase I-P, mesmo após a reidratação das plantas.

Este resultado pode, ainda, estar associado ao aparecimento da banda K (Figura 7C e D), uma vez que a fase I-P da curva OJIP remete a um desbalanço entre o lado doador e acceptor de elétrons do FSII (STRASSER, 1997). É válido ressaltar que a banda K surgiu nas duas cultivares estudadas. Porém, em FB200 os valores de ΔW_{OJ} não foram similares aos valores iniciais do período de experimento, mesmo após 6 dias de reidratação.

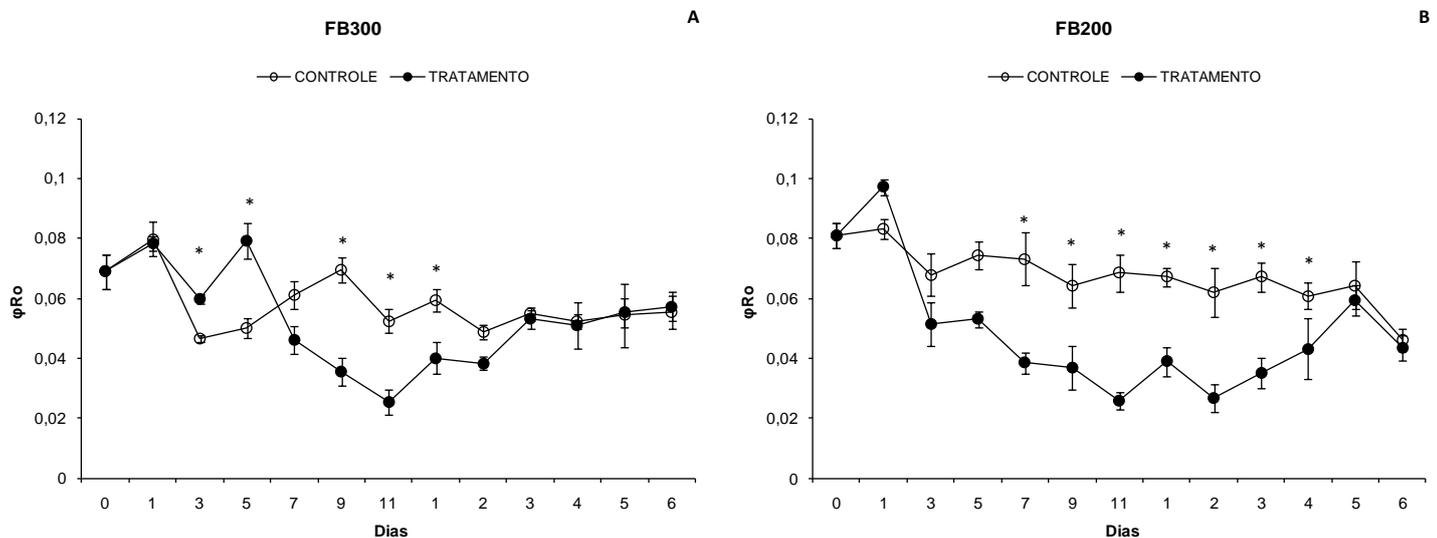


FIGURA 11 - Parâmetro da fluorescência da clorofila em resposta ao período de déficit hídrico e recuperação em plantas de maracujazeiro. Produtividade quântica para a redução do acceptor final do fotossistema I por fóton absorvido (ϕ_{Ro}) em plantas de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims., cvs. FB300 e FB200). As setas indicam o início da reidratação das plantas. Os asteriscos indicam diferença estatística (Tukey 5%). Os valores são médias (\pm erro padrão) para 5 plantas.

Outro parâmetro utilizado para analisar as respostas das cultivares do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims ao déficit hídrico e recuperação foi o índice de vitalidade ou PI (*performance index*). Trata-se de um parâmetro da fluorescência da clorofila que fornece informações à cerca da vitalidade das plantas (MEHTA *et al.*, 2010). O PI_{ABS} refere-se à conservação de energia de fótons absorvidos pelo FSII (ABS), captura da energia de excitação (TR) e conversão da excitação de energia para o transporte de elétrons (ET) do intersistema (STRASSER *et al.*, 2000).

No presente estudo, PI_{ABS} diferiu em resposta aos períodos de deficiência hídrica e reidratação nas duas cultivares estudadas (Figura 12). Em FB300 esse parâmetro praticamente teve seus valores recuperados em relação ao seu controle já no 1º dia de reidratação (Figura 12A). Por outro lado, FB200 mostrou valores estatisticamente distintos entre controle e tratamento durante quase todos os dias do experimento, persistindo mesmo após a reidratação das plantas (Figura 12B). Uma queda acentuada do PI_{ABS} também foi encontrada em espécies arbustivas desérticas sob supressão hídrica na medida em que os níveis de deficiência hídrica tornavam-se mais críticos (VAN HEERDEN, 2007).

O $PI_{ABS\ TOTAL}$ leva em consideração a conservação de energia de um fóton absorvido pelo FSII para redução dos aceptores finais do FSI. Segundo Strasser *et al* (2010), esse parâmetro vem sendo muito usado e discutido nas investigações de estresse bióticos e abióticos em plantas. Em ambas as cultivares, reduções significativas de $PI_{ABS\ TOTAL}$ foram observadas já nos primeiros 5 dias de déficit hídrico (Figura 12C e D).

Entretanto, FB300 recuperou-se totalmente a partir do 1º dia de reidratação (Figura 12C). Isso demonstrou que essa cultivar, quando submetida ao déficit hídrico, não sofreu danos irreversíveis ou mesmo alterações mais profundas com a desidratação, indicando, dessa forma, maior tolerância à supressão hídrica se comparada a FB200, na qual a manutenção de diferença estatística entre tratamento e controle até o final do experimento foi característica (Figura 12D). Segundo Yusuf *et al* (2010), o $PI_{ABS\ TOTAL}$ é um dos

parâmetros mais sensíveis do teste JIP, por incorporar diversos parâmetros que são avaliados na fluorescência rápida OJIP.

Dessa forma, segundo os dados dos PIs, a cultivar FB200 não se recuperou do estresse resultante da desidratação das plantas. Essa resposta é corroborada por resultados anteriores como ΔVt (Figura 5F), banda L (Figura 6D), banda K (Figura 7D) e DI_0/RC (Figura 8H), os quais, mesmo após 6 dias de reidratação, também não apresentaram uma recuperação total na cultivar FB200.

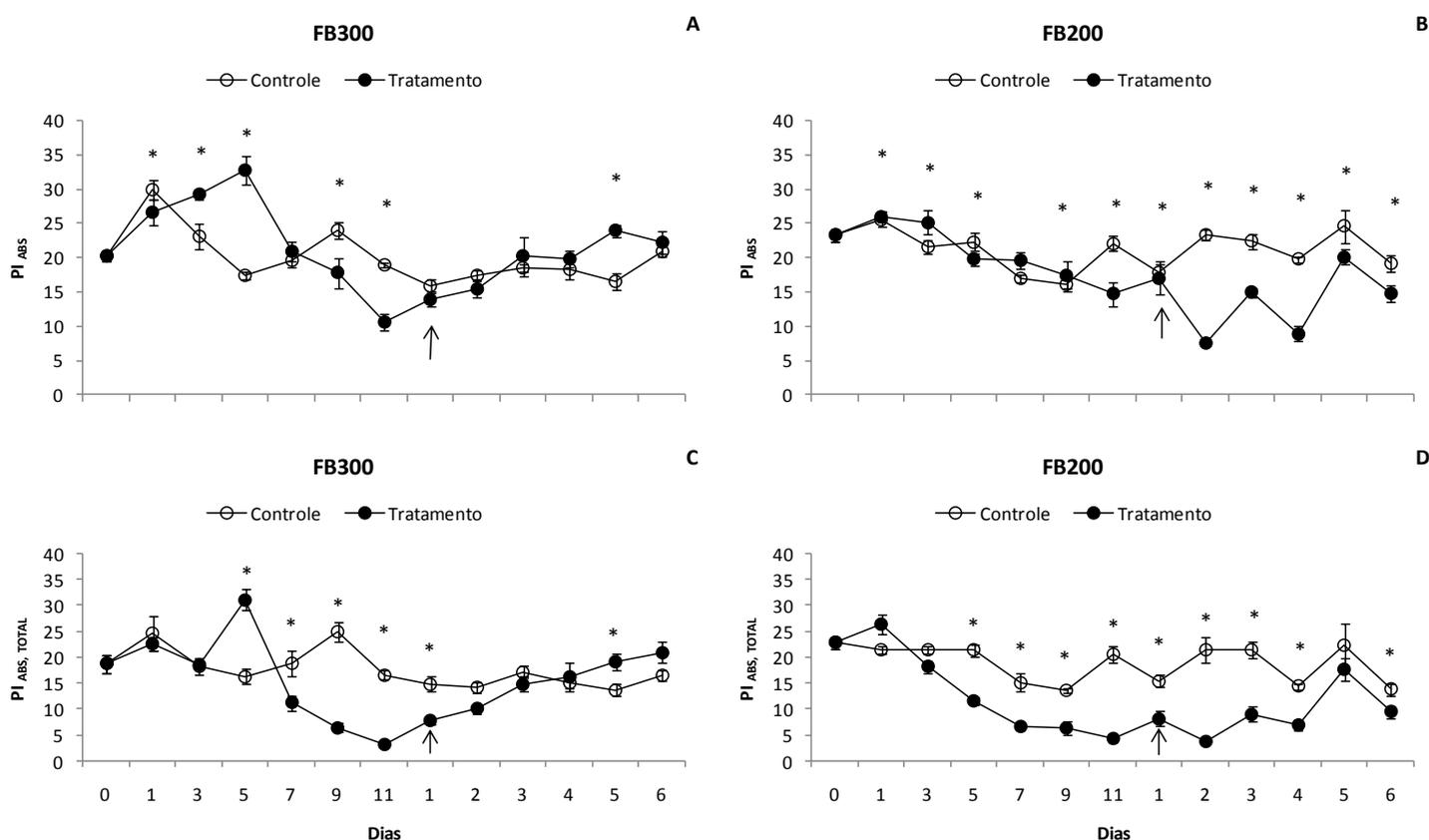


FIGURA 12 - Índice de desempenho (PI_{ABS}) e ($PI_{ABS,TOTAL}$) de duas cultivares (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims submetidas ao período de déficit hídrico e recuperação por reidratação. A seta indica o início da recuperação das plantas. O asterisco (*) indica que houve diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo período. Os valores são médias \pm desvio padrão ($n=5$).

5.5 Parametros da fluorescência modulada da clorofila a

A eficiência quântica para a captura de energia no FSII adaptado a luz (F_V'/F_M') reduziu significativamente nos 7º, 9º e no ultimo dia de déficit hídrico em FB300, com recuperação já no 1º dia de reidratação (Figura 13A). Em FB200, a recuperação total de F_V'/F_M' ocorreu no 4º dia de reidratação (Figura 13B). Essa mesma cultivar apresentou valores marcadamente mais baixos ($p < 0,05$) no ultimo dia de supressão hídrica quando comparado a FB300.

Analogamente, reduções similares às observadas para F_V'/F_M' foram descritas para a eficiência fotoquímica efetiva do FS II (ϕ_{PSII}) em ambas as cultivares (Figura 13G e H). Da mesma forma, ϕ_{PSII} apresentou maior redução e maior tempo para recuperação na cultivar FB200 (Figura 13H). Silva *et al* (2010) também encontraram uma redução de cerca de 50% nos valores da produtividade quântica efetiva da fotoquímica primária em plantas de pinhão manso sob déficit hídrico. O mesmo ocorreu com Liberato *et al* (2006), trabalhando com plântulas de *Minquartia guianensis* Aubl. submetidas ao déficit hídrico e recuperação.

Stefanov & Terashima (2008), trabalhando com feijão de fava submetido a intensidades luminosas distintas, concluiu que uma diminuição de F_V'/F_M' e ϕ_{PSII} pode estar relacionada com o aumento da perda de energia não fotoquímica. O resultado desses autores corroboram os observados neste estudo, e é reafirmado pelo aumento contínuo de DI_0/RC (Figura 8H) até o fim do experimento na cultivar FB200. Essa dissipação corresponde a uma perda

da absorção de energia através de calor, fluorescência ou outros sistemas (STRASSER, 2004).

Segundo Souza *et al* (2005), essa perda de energia de excitação na forma de dissipação, principalmente na forma de calor, refere-se a um possível mecanismo de foto-proteção, o qual mantém o aceptor primário de elétrons (Q_A) do FSII em seu estado oxidado (Q_A^+), diminuindo assim, a possibilidade de fotodanos. Entretanto, mesmo apresentando elevados valores de D_{10}/RC , a cultivar FB200 foi a que apresentou uma maior queda nos valores de F_V/F_M , F_V'/F_M' e ϕ_{PSII} , comparada aos seus respectivos controles. A queda desses parâmetros está associada diretamente ao acúmulo de Q_A^- resultante do aumento na proporção de centros de reação inativos (GENTY *et al.*, 1989).

Assim como mencionado anteriormente, a diminuição de F_V/F_M (Figura 9) pode estar relacionado a danos foto inibitórios (COLOM & VAZANA, 2003), que podem promover a inativação do FSII, inativando o complexo de evolução do oxigênio (CEO), que, por sua vez, pode promover danos à proteína D1 do FSII (OHNISHI *et al.*, 2005). Esse dano ao CEO é comprovado pelo surgimento da banda K em ambas as cultivares, com resultados mais pronunciados em FB200 (Figura 7). A taxa de transporte de elétrons, ETR (Figura 13C e D) e o coeficiente fotoquímico, qP (Figura 14E e F) não apresentaram muitas diferenças em ambas cultivares durante todo o período de experimento.

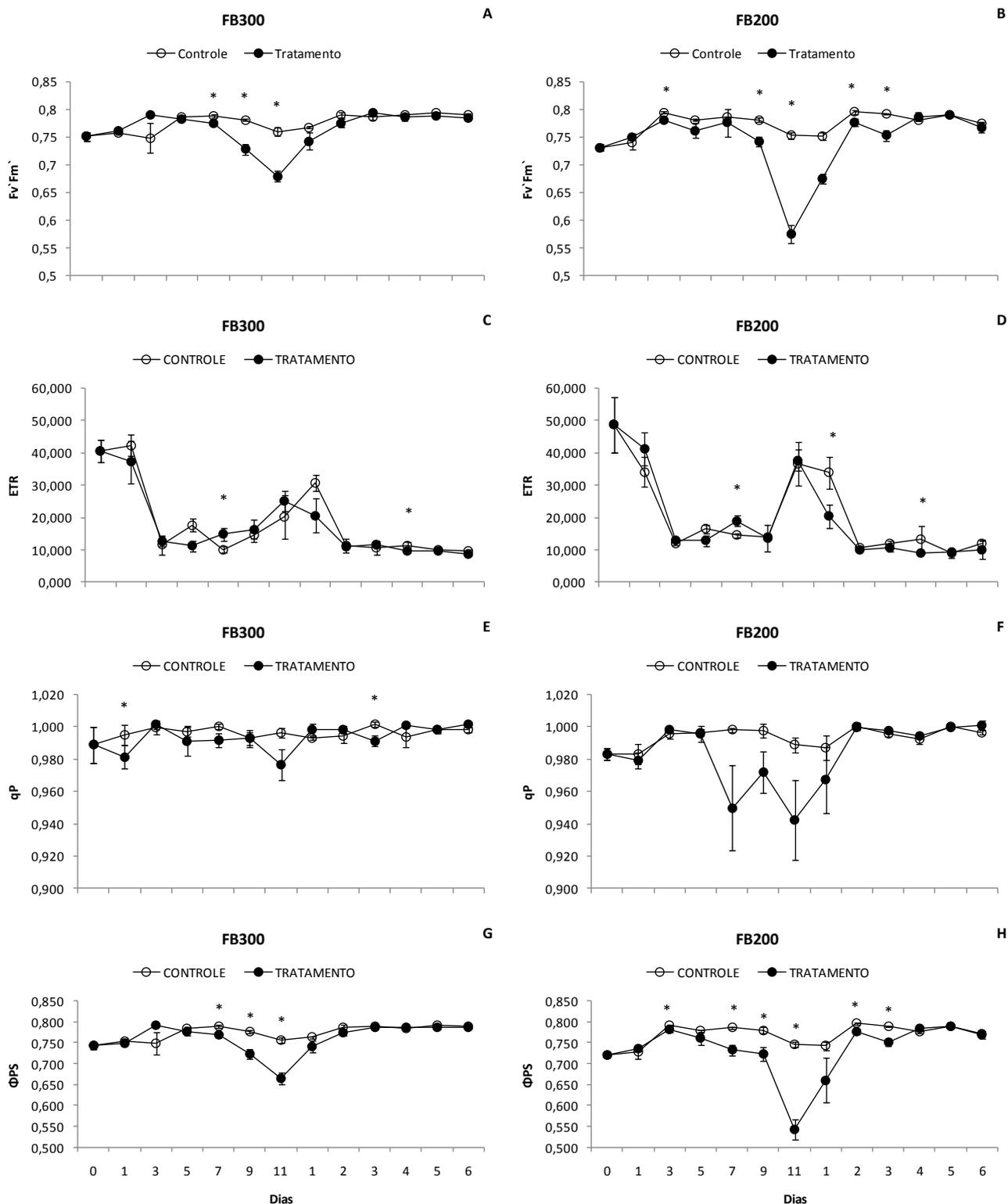


FIGURA 13 - Produtividade quântica efetiva do fotossistema II, (F_v/F_m'); Taxa de transporte de elétrons, (ETR); Coeficiente de extinção fotoquímico [$qp = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$]; Eficiência fotoquímica atual do FS II [$\phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$] de duas cultivares (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims submetidas ao período de déficit hídrico e recuperação por reidratação. A seta indica o início da recuperação das plantas. O asterisco (*) indica que houve diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo período. Os valores são médias \pm desvio padrão (n=10).

5.6 Atividade de enzimas antioxidantes e peroxidação de lipídeos

Neste estudo, a atividade da catalase diminuiu gradualmente com o déficit hídrico em ambas as cultivares (Figura 14A e B). Contudo, em FB300, esse decréscimo foi significativo aos 7º e 11º dia após supressão hídrica (Figura 14A). Por conseguinte, reduções na atividade da CAT em FB200 foram evidentes após o 1º dia durante todo o período de estresse até o 2º dia de recuperação, a partir do qual permaneceram similares ao controle (Figura 14B).

Por outro lado, um aumento significativo ($p \leq 0,05$) na atividade da peroxidase do ascorbato (APX) foi observado em ambas as cultivares submetidas ao déficit hídrico (Figura 14C e D). Após 11 dias de supressão hídrica, observou-se um aumento de ± 350 e 233% na atividade da APX em FB300 e FB200, respectivamente, em relação ao dia zero, enquanto pouca variação foi observada nas plantas controle. Diferenças entre tratamento e controle foram observadas a partir do 7º dia de supressão hídrica até o último dia de recuperação analisado em ambas as variedades (Figura 14C e D). Este resultado mostra que mesmo após 5 dias de reidratação das plantas, a atividade da APX não reduziu até o valor observado no controle, apresentado um aumento de ± 155 e 187% na atividade da APX em FB300 e FB200, respectivamente, em relação ao controle do dia para cada cultivar.

A supressão hídrica também causou alterações significativas em nível de membranas celulares, as quais foram avaliadas, neste estudo, por meio da dosagem do conteúdo de malondialdeído (MDA), composto secundário da peroxidação de lipídios (MITTLER, 2002). Na cultivar FB300, o conteúdo de MDA aumentou significativamente ($p \leq 0,05$) somente no 11º dia de supressão hídrica ($\pm 200\%$), igualando seus valores, a partir daí, ao controle (Figura 14E). Em FB200, o conteúdo de MDA foi maior no 3º ($\pm 160\%$) e 11º ($\pm 166\%$) dia de supressão hídrica e no 2º dia de reidratação ($\pm 166\%$), quando comparados ao seu respectivo controle (Figura 14F).

Segundo Asada (1999) diversos trabalhos vem mostrando que as injúrias causadas, seja por estresse biótico ou abiótico, são, em parte, disparadas por estresse oxidativo. Enzimas antioxidantes como, por exemplo, catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX), atuam na defesa dos mecanismos fotossintéticos das plantas contra os danos oxidativos que podem ser formados diante de condições ambientais estressantes (CAVALCANTI *et al.*, 2004).

Neste estudo, o estresse oxidativo foi claramente estabelecido em ambas as cultivares submetidas ao déficit hídrico, como indicado pelo aumento da peroxidação de lipídeos descrito acima. O acúmulo de ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos tecidos foliares é um bom indicativo de danos oxidativos em plantas (SILVA *et al.*, 2010). Por conseguinte, a inibição da atividade da CAT causada pela deficiência hídrica em ambas as cultivares pode estar relacionada a mecanismos de auto-regulação da expressão gênica ou por degradação e ou por desnaturação/inativação destas proteínas (CAVALCANTI *et al.*, 2007). Estes resultados foram corroborados por Silva *et al* (2010) em plantas de pinhão manso.

Enquanto a CAT é encontrada no peroxissomo e atua sobre o H_2O_2 somente em altas concentrações, a APX é encontrada em diversos locais das células como cloroplastos, citosol, mitocôndrias, apoplasto e peroxissomos e por possuir uma alta afinidade ao peróxido de hidrogênio, age na redução do H_2O_2 a H_2O quando esse EROs é encontrado em baixas concentrações na célula (MITTLER, 2002). Palatnik *et al* (2002) em estudo com plantas mutantes de cevada, deficientes em catalase, concluiu que sob deficiência de CAT, pode haver um aumento da expressão gênica e atividade das diversas isoformas da APX, como forma compensatória da redução/inibição da CAT. Porém, esse aumento da atividade da APX para a cultivar FB200 não foi suficiente para evitar o dano oxidativo provocado pelo acúmulo de H_2O_2 nos tecidos foliares (dados não mostrados).

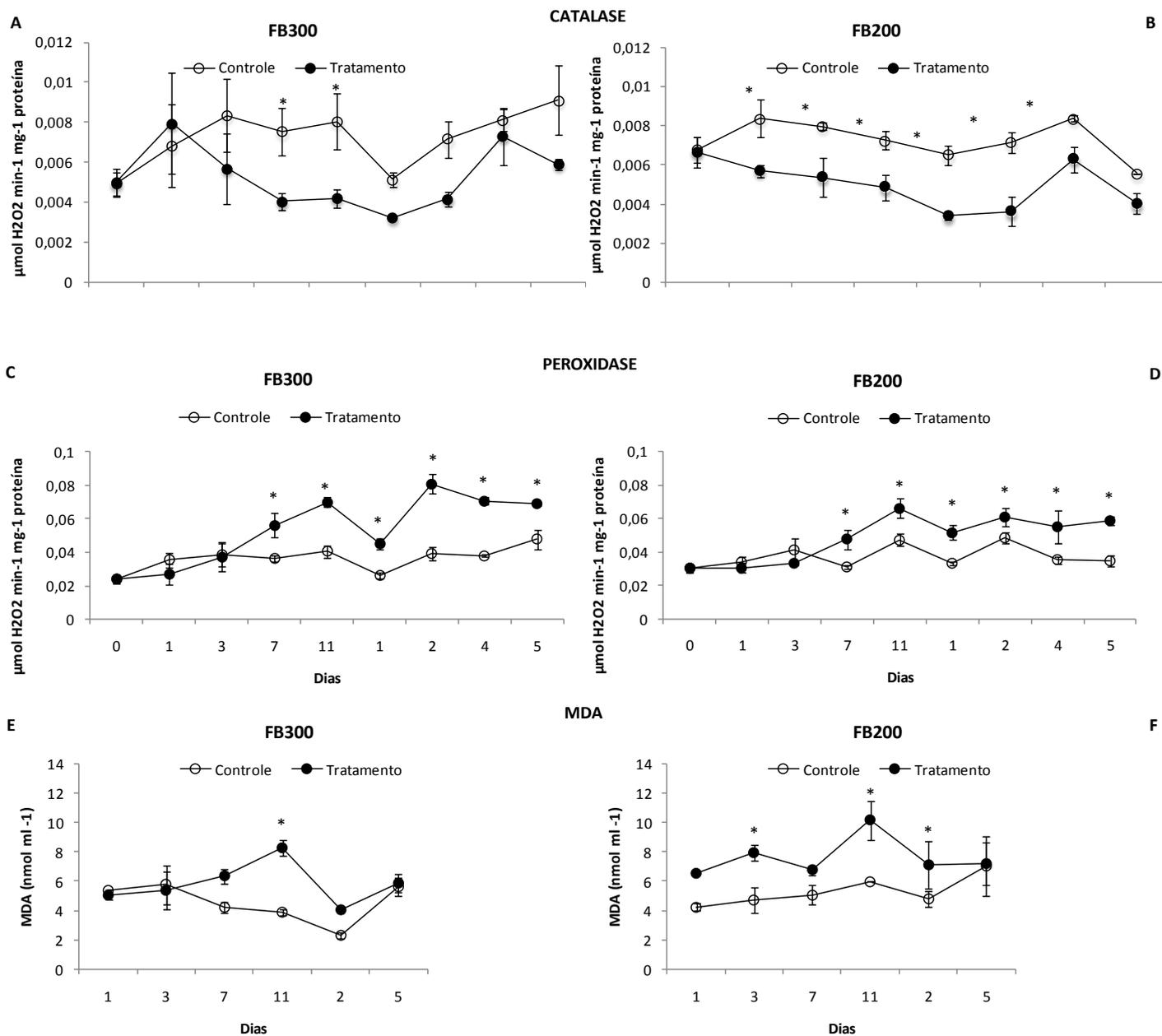


FIGURA 14 - Atividade das enzimas catalase e peroxidase e concentração de malondialdeído em duas variedades (FB300 e FB200) do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims, submetidas ao período de déficit hídrico e recuperação. As setas indicam início da recuperação por reidratação. Asterisco indica diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos. As barras representam o erro padrão da média de três repetições.

O excesso de H_2O_2 produzidos nos peroxissomos e cloroplastos pode difundir-se para o citosol e ser convertido em radicais hidroxil (OH^\cdot) (Moller *et al.*, 2007), contribuindo diretamente para o aumento da peroxidação de lipídeos, como observado neste estudo através do aumento do malondialdeído (MDA), composto secundário da peroxidação de lipídios (MITTLER, 2002; BACELAR, 2006).

Outros trabalhos com plantas submetidas a déficit hídrico também confirmaram um aumento de MDA com o avanço da supressão hídrica, reafirmando a forte ligação entre o estresse oxidativo e o déficit hídrico (ENNAJEH *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2010). Neste sentido, sugere-se que o sistema enzimático antioxidante não foi suficiente para proteger as plantas contra danos oxidativos, visto o acúmulo de H_2O_2 (dados não mostrados) e os elevados níveis de peroxidação de lipídeos.

Os resultados obtidos neste estudo revelaram a complexidade das relações entre danos fotoquímicos e oxidativos em cultivares de maracujá submetidas ao déficit hídrico. Sem dúvidas, as mudanças da atividade fotoquímica das plantas e na atividade de enzimas antioxidantes não são suficientes para explicar algumas das respostas fisiológicas das cultivares de maracujazeiro frente ao estresse hídrico.

O aumento do conteúdo de MDA pode ter sido provocado pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) causadas pela ruptura dos mecanismos de conversão da energia luminosa em energia química frente ao déficit hídrico (ENNAJEH *et al.*, 2009). Neste estudo, esses dados são comprovados pelos resultados descritos para os fluxos específicos de absorção, taxas de fluxos de energia e índices de desempenho. Contudo, o aumento nos níveis de MDA provocados pela reação em cadeia da diminuição na atividade dos processos fotoquímicos gerando EROs, foi mais acentuado na cultivar FB200 do que em FB300. Isto confirma a maior susceptibilidade da cultivar FB200 ao déficit hídrico.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através da rápida fluorescência da clorofila *a*, teste JIP, fluorescência modulada, índice de clorofila, enzimas antioxidantes, conteúdo de MDA, mostraram que o déficit hídrico prejudicou a atividade fotoquímica e o metabolismo oxidativo das duas cultivares do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims.

Os dados também mostraram que as cultivares estudadas diferem em relação as suas respostas ao déficit hídrico e recuperação. A cultivar FB300 apresentou uma maior plasticidade fisiológica para tolerar a imposição da supressão hídrica confirmada pelo menor declínio na maioria das análises realizadas e pelo menor tempo necessário para sua recuperação ao nível do controle.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. M.; CHOW, W. S.; PARK, Y. I. The gran design of photosynthesis: acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. **Photosynthesis Research**. v. 46, p. 129 – 139. 1995.

AHMED, S.; NAWATA, E.; HOSOKAWA, M.; DOMAE, Y.; SAKURATANI, T. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. **Plant Science**, v.163, p.117-123, 2002.

ARUNYANARK, A.; JOGLOY, S.; AKKASAENG, C.; VORASOOT, N.; KESMALA, T.; NAGESWARA RAO, R. C.; WRIGHT, C. G.; PATANOTHAI, A. Chlorophyll Stability is na Indicator of Drought Tolerance in Peanut. **Journal Agronomy & Crop Science**. V. 194, p. 113 -125, 2008.

ASADA K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of extress photons. **Plant Physiology**. V. 50 601 – 639, 1999.

BACELAR, E. A.; SANTOS, D. L.; MOUTINHO – PEREIRA, J. M.; GONÇALVES, B. C.; FERREIRA, H. F.; CORREIA, C. M. Immediate responses and adaptive strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. **Plant Science**. V. 170, p. 596 – 605, 2006.

BAKER, N. R. A possible role for photosystem II in environmental perturbation of photosynthesis. **Plant Physiology**. V. 81, p. 563 – 570.

BORÉM, A.; **Melhoramento de Plantas**. Viçosa, UFV. Ed. 3, p. 500.

BORGES, R. S.; SCARANI, C.; BOLSON, E. A.; MELETTI, L. M. M.; OLIVEIRA, H. J.; SILVA, J. R. Avaliação de genótipos de maracujá amarelo na região de Araguari/MG. In: **XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura**. Cabo Frio, RJ, p 263. 2006.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. v. 52, p. 302 – 310. 1978.

CARVALHO, A. M. J. C.; MARTINS, D. P.; MONNERAT, P. H.; BERNARDO, S. Adubação nitrogenada e irrigação no maracujazeiro-amarelo: Produtividade e qualidade dos frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.6, p.1101-1108, 2000.

CAVALCANTI, F. R.; LIMA, J. P. M. S.; FERREIRA – SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. **Journal Plant Physiology**. V. 164, p. 591 – 600. 2007.

CAVALCANTI, F. R.; OLIVEIRA, J. T. A.; MARTINS – MIRANDA, A. S.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt – stressed cowpea leaves. **New Phytologist**. v. 163, p. 563 – 571. 2004.

COSTA, A. F. S.; COSTA, A. N.; VENTURA, A. J.; FANTON, J. C.; LIMA, M. I.; CAETANO, S. C. L.; SANTANA, N. E. Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro. Vitória, ES: **Incaper**, (Incaper. Documentos, 162) p. 56 2008.

COSTA, A. N.; COSTA, A. F. S. Pólo de maracujazeiro no estado do Espírito Santo: importância socioeconômica e potencialidades. In: **Tecnologias para produção do maracujá**. Vitória: **Incaper**, 2005. 205p.

CRUZ, M. M.; SIQUEIRA, L. D.; SALOMÃO, C. L.; CECEN, R. P. Fluorescência da clorofila *a* em folhas de tangerineira 'Ponkan' e limeira ácida 'Tahiti' submetidas a stresse hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, p. 896 – 901. 2009.

DEMMING, B.; BJORKMAN, O. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants. **Planta**. v. 171, p. 171 – 184. 1987.

DE RONDE, J. A.; CRESS, W. A.; KRUGER, G. H. J.; STRASSER, R. J.; VAN STADEN, J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing the Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. **Journal Plant Physiology**. v. 161, p. 1211 – 1224. 2004.

EFEOGLU, B.; EKMEKÇI, Y.; ÇIÇEK, N. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. **South African Journal of Botany**. v. 75, p. 34 – 42. 2009.

ENNAJEH, M.; VADEL, M. A.; KHEMIRA, H. Osmoregulation and osmoprotection in leaf cells of two olive cultivars subjected to severe water deficit. **Acta Physiology Plant**. 2009.

FALQUETO, A.R.; SANTOS, M.P.; ALVES, E.S.S. Respostas fotossintéticas de *Carica papaya* L. à infecção fúngica. *Papaya Brasil – Qualidade do Mamão Para o Mercado Interno*. Vitória – ES. **Incaper**. v. 1, p. 427-429. 2003.

FALQUETO, R. A.; SILVA, P. S. F.; CASSOL, D.; JÚNIOR, M. M. A.; OLIVEIRA, C. A.; BACARIN, A. M. Chlorophyll fluorescence in rice: probing of senescence driven changes of PSII activity on rice varieties differing in grain yield capacity. **Brazilian Journal Plant Physiology**. v. 22, p. 35 – 41. 2010.

FERNANDES, M. S. Perspectivas de mercado da fruta brasileira. In: **XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Cabo Frio, RJ. p. 4 - 12. 2006.

FERRAS, J. V. & LOT, L. Fruta para consumo in natura tem boas perspectivas de renda. In: **Anuário de Agricultura Brasileira**. FNP Consultoria & Agroinformativos, São Paulo, p. 387 - 394. 2007.

FONTES, R.V.; GALON, C.; FALQUETO, A.R.; COSTA, A.F.S.; LEITE, I.T.A., SILVA, D.M. Ecofisiologia do mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Sunrise durante o estresse hídrico. **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Belém. Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G.; Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses, **Plant Cell**. v. 17, p. 1866 - 1875. 2005.

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

GONÇALVES, C. F. J.; SILVA, M. E. C.; GUIMARÃES, G. D. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de Andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v. 44, p. 8 – 14. 2009.

GONÇALVES, E. R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.378–386, 2010.

GONZÁLEZ, A.; BERMEJO, V.; GIMENO, B. S. Effect of different physiological traits on grain yield in barley grown under irrigated and terminal water deficit conditions. **Journal of Agricultural Science**. v. 148, p. 319 – 328. 2010.

HAVIR, E.; McHALE, N. A. A Regulation of Catalase Activity in Leaves of *Nicotiana sylvestris* by High CO₂. **Plant Physiology**, v.89, n.3, p.952–957, 1989.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 125, p. 180 - 198. 1968.

HSIAO, S.; CHEN, S.; YANG, I.; CHEN, C.; TSAI, C.; CHUANG, Y.; WANG, F.; CHEN, Y.; LINC, T.; LO, Y. Evaluation of plant seedling water stress using dynamic fluorescence index with blue LED-based fluorescence imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 72, p. 127–133, 2010.

IBGE. Banco de dados agregados do sistema Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística de recuperação automática – Sidra. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pam/>>. Acesso em: 8 jan. 2008.

JADOSKI, S.O. ; SALVADOR, E.D. ; KLAR, A.E. ; LIMA, G.P.P. Peroxydase enzyme (EC.1.11.1.7) activity as an indicator of water stress in sweet pepper **Plants.Acta Horticulturae**, v.697, p.517- 522, 2005.

JIANG, C.D.; GAO, H.Y.; ZOU, Q. Characteristics of photosynthetic apparatus in Mn-starved leaves. **Photosynthetica**. v. 40 209–213. 2002.

JESUS, V. S.; MARENCO, A. R. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazonica**. v. 38, p. 815 – 818. 2008.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ICUMA, I. M.; VERAS, M. C.M.; OLIVEIRA, M. A. S.; DOS ANJOS, J. R. N. Cultura do maracujazeiro. In: Silva, J.M.M. (Org.). Incentivos a fruticultura no Distrito Federal: **manual de fruticultura**. Brasília: **OCDF**, p. 42-52. 1999.

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

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant Cell Environmental**. v. 25, p. 275 – 294. 2002.

LAZÁR, D.; ILÍK, P.; NAUS, J. An appearance of K-peak in fluorescence induction depends on the acclimation of barley leaves to higher temperatures. **J. Lumin**. v. 72, p. 595 – 596. 1997.

LAZAR, D.The O-K-J-I-P chlorophyll a fluorescence transient: Theory and experiments. **HabilitationThesis**. 62p. 2004.

LIBERATO, R. A. M.; GONÇALVES, C. F. S.; CHEVREUIL, R. L.; JUNIOR, N. R. A.; FERNANDES, V. A.; JUNIOR, S. M. U. Leaf water potential, gás Exchange and chlorophyll a fluorescence in acariquara seedlings (*Minuartia guianensis* Aubl.) under water stress and recovery. **Brazilian Journal Plant Physiology**. v. 18, p. 315 – 323. 2006.

LIU, X.; HUANG, B. Photosynthetic acclimation to high temperatures associated with heat tolerance in creeping bengrass. **Journal Plant Physiology**. v. 165, p. 1947 – 1953. 2008.

MACFARLANE, G. R. Leaf biochemical parameters in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh as potential biomarkers of heavy metal stress in estuarine ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**. v.44, p.244-256, 2002.

MARINHO, F.J.L.; GHEYI, H.R.; FERNANDES, P.D.; NETO, M.F. Alterações fisiológicas em coqueiro irrigado com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. p.370-374, 2005.

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

MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; BERNACCI, L.C.; PASSOS, I.R.S. Melhoramento Genético do Maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. EMBRAPA – Cerrados. p.55-78. 2005.

MELO, T. K.; MANICA, I.; JUNQUEIRA, N. T. V. Produtividade de seis cultivares de maracujazeiro-azedo durante três anos em Vargem Bonita, DF. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.9, p.1117-1125, 2001.
MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**. v. 9, p. 405 – 410. 2002.

MITTOVA, V., TAL, M., VOLOKITA, M., GUY M. Salt stress induces up-regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerance wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species. **Physiology Plantarum**, v.115, p.393 – 400. 2002.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modification to cellular components in plants. **Annual Reviews of Plant Biology**. v. 9, p. 405 – 410. 2002.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modification to cellular components in plants. **Annual Reviews of Plant Biology**. v. 58, p. 459 – 481. 2007.

MONTILLET, J.L.; S., CHAMNONGPOL, C.; RUSTÉRUCCI, J.; VAN DE COTTE, B.; AGNEL, J.P.; BATESTI, C.; INZÉ, D.; VAN BREUSEGEM, F., TRIANTAPHYLIDES, C., Fatty acid hydroperoxides and H₂O₂ in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves, **Plant Physiology**. v. 138, p. 1516 – 1526. 2005.

NAGESWARA RAO, R. C.; TALWAR, H. S.; WRIGHT, G. C. Rapid assessment of species leaf area and leaf N in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using chlorophyll meter. **Journal of Agronomy and Crop Science**. v. 189, p. 175 – 182. 2001.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione : Keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 49, p. 249 – 279. 1998.

NOGUEIRA, E. A.; MELLO, N. T. C.; RIGHETTO, P. R.; SANNAZZARO, A. M. Produção integrada de frutas: Inserção do maracujá paulista. Disponível em: www.iea.sp.gov.br. Acesso em: 28 de maio de 2007.

NOGUEIRA, E. A.; MELLO, N. T. C. de; RIGHETTO, P. R.; SANNAZZARO, A. M. Produção Integrada de Frutas: A inserção do maracujá paulista. Disponível em: www.iea.sp.gov.br>. Acesso em 06 de maio de 2009.

OUKARROUM, A.; MEDIDI, S.; SCHANSKER, G.; STRASSER, J. R. Probing the reponses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**. V. 60, p. 438 – 446. 2007.

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

PALATNIK, J. F.; VALLE, E. M.; FEDERICO, M. L.; GOMEZ, L. D.; MELCHIORRE, M. N.; PALEO, A. D.; CARRILO, N.; ACEVEDO, A. Status of antioxidant metabolites and enzymes in catalase-deficient mutant of barley (*Hordeum vulgare* L.) **Plant Science**. v. 162, p. 363 – 371. 2002.

PARRY, M. A. J.; ANDROLOJC, P. J.; KHAN, S.; LEA, P. J.; KEYS, A. J. Rubisco activity: effects of drought stress. *Ann. Bot.* v. 89, p. 833 – 838. 2002.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIN, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p.137-143, 1999.

PINIOR, A.; GRUNEWALDT-STOCKER, G.; VON ALTEN, H.; STRASSER, R. J. Micorrhizal impact on drought stress tolerance of rose plants probed by chlorophyll *a* fluorescence, proline content and visual scoring. **Mycorrhiza**. v. 15, p. 596 – 605. 2005.

POSPÍŠIL P. Production of reactive oxygen species by Photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1787, p. 1151-1160. 2009.

QING, Z. M.; JING, L. G.; KAI, C. R. Photosynthesis characteristics in eleven cultivars of sugarcane and their responses to water stress during the elongation stage. Proceedings **International Society of Sugar Cane technologists**. v. 24, p. 642 – 653. 2001.

RANJBARFORDOEI, A.; SAMSON, R.; VAN DAMME, P. Chlorophyll fluorescence performance of sweet almond *Prunus dulcis* M. in response to salinity stress induced by NaCl. **Photosynthetica**. v. 44, p. 513 – 522. 2006.

RICE-EVANS, C. A.; DIPLOCK, A. T.; SYMONS, M.C. R. Techniques in free radical research. Amsterdam. **Elsevier Science**. v. 22, p. 291. 1991.

RODRÍGUEZ, A. A.; GRUNBERG, K. A.; TALEISNIK, E. L. Reactive oxygen species in the elongation zone of maize leaves are necessary for leaf extension. **Plant Physiology**. v. 129, p. 1627 – 1632. 2002.

RONG-HUA, L.; PEI-GUO, G.; BAUM, M.; GRANDO, S.; CECCARELLI, S. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. **Agriculture Science**. China. v. 5, p. 751 – 757. 2006.

SAIRAM, R.K., RAO, K.V., SRIVASTAVA, G.C. Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant Science**, v.163, p.1037-1046. 2002.

SARKER, A. M.; RAHMAN, M. S.; PAUL, N. K. Effects of soil moisture on relative leaf water content, chlorophyll, proline and sugar accumulation in wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**. v. 183, p. 225 – 229. 1999.

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

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E.A. Sap pressure on vacuolar plants. **Science** 148, 339–346, 1965.

SCHOPFER, P. Hydroxyl radical-induced cell-wall loosening in vitro and in vivo: implications for the control for elongation growth. **Plant Journal**. v. 28, p. 679 – 688. 2001.

SILVA, A. M.; JIFON, L.J.; SILVA, G. A. J.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal Plant Physiology**. v. 19, p. 193 – 201. 2007.

SILVA, E.N.; RIBEIRO, R.V.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1130-1137. 2010.

SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response to water deficit and desiccation. **New Phytologist**. v. 125, p. 27 – 58. 1993.

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

SOUZA, R.T.; RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F.; SILVEIRA, J.A.G. Photosynthetic responses of young cashew plants to varying environmental conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.735 – 744. 2005.

STENZEL, N. M. C. Situação da cultura do maracujá no Sul do Brasil. In: **III Reunião técnica de Pesquisas em Maracujazeiro**, Viçosa, 2002. Anais... Viçosa, MG, p. 14-19 2002.

STEFANOV, D.; TERASHIMA, I. Non-photochemical loss in PSII in high-and low-light-grown leaves of *Vicia faba* quantified by several fluorescence parameters including L_{NP} , F_0/F_m , a novel parameter. **Physiology Plantarum**. v. 133, p. 327 – 338. 2008.

STRASSER, J. B. and STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-Test. In: Mathis P (ed) **Photosynthesis: from Light to the Biosphere**. v. 4, p. 909 – 912. 1995.

STRASSER, J. B. Donor side capacity of Photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients. **Photosynthesis Research**. v. 52, p. 147 – 155. 1997.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou, G.; Govindjee. *Advances in Photosynthesis and Respiration Chlorophyll Fluorescence a Signature of Photosynthesis*. **Kluwer Academic Publishers**. The Netherlands. V. 19, p. 321 – 362. 2004.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; GOVINDJEE. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. **Photochemical Photobiology**. V. 61, p. 32 – 42. 1995.

STRASSER, R. J.; STIRBET, A. D. Heterogeneity of photosystem II probed by the numerically simulated chlorophyll a fluorescence rise (O-J-I-P), **Math. Computers Simulat.** v. 48, p. 3 – 9. 1998.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescent transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. In: Yunus, M.; Pathre, U.; Mohanty, P. (Eds.), **Probing Photosynthesis: Mechanisms, regulation and adaptation**. **Taylor and Francis**, London, p. 445 – 483. 2000.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

THIS, D.; BORRIES, C.; SOUYRIS, I.; TEULAT, B. Study of chlorophyll content as a genetic parameter of drought tolerance in barley. **Barley Genetics Newsletter**. v. 30, p 20 – 23. 2000.

TÓTH, S. Z.; SCHANSKER, G.; KISSIMON, J.; KOVÁCS, L.; GARAB, G.; STRASSER, R. J. Biophysical studies of photosystem II related recovery process after a heat pulse in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.). **Journal Plant Physiology**. v. 162, p. 181 – 194. 2005.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo assessment of stress impact on plants' vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of Mycorrhization on host plants. In: VARMA, A (Ed). **Mycorrhiza: State of the art, genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics**. 3. ed., p. 679–703, 2008.

VAIDYANATHAN, H., SIVAKUMAR, P., CHAKRABARTY, R., THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v.165, p.1411-1418. 2003.

VAN DER MESCHT, A.; RONDE, J. A. ; ROSSOUW, F. T. Chlorophyll fluorescence and chlorophyll content as a measure of drought tolerance in potato. **South African Journal of Science**. v. 95, p. 407 – 412. 2000.

VAN HEEEDEN, P. D. P.; SWANEPOEL, W. J.; HRUGER, J. H. G. Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C3-mode CO₂ assimilation. **Environmental and Experimental Botany**. v. 61, p. 124 – 136. 2007.

VIEIRA, Darlene Ana de Paula et al . Fluorescência e teores de clorofilas em abacaxizeiro cv. pérola submetido a diferentes concentrações de sulfato de amônio. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, jun. 2010.

VRANOVA, E.; VAN BREUSEGEM, D.; Signal transduction during oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, vol. 53, p. 1227-1236. 2002.

YORDANOV, L.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. **Photosynthetica**. v. 38, p. 171 – 186. 2000.

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

ZHU, J. K.; HASEGAWA, P. M; BRESSAN, R. A. Molecular aspects of osmotic stress in plants. **Critical Reviews in Plant Science**. v. 16, p. 253 – 277. 1997.

ZANANDREA, I.; BACARIN, M.A.; SCHMITZ, D.D.; BRAGA, E.J.B.; PETERS, J.A. Chlorophyll fluorescence in *in vitro* cultivated apple. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.3, p. 305-308. 2006.

