

CINÉTICA DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA DAS CLOROFILAS EM DOIS CLONES DE *EUCALYPTUS*

Sandro Dan Tatagiba

Engenheiro Agrônomo, MSc. em Produção Vegetal, Dept^o. de Engenharia Florestal
(CCA-UFES), Alegre, ES. Email: sandrodantatagiba@yahoo.com.br

José Eduardo Macedo Pezzopane

Engenheiro Florestal, Ds. Prof. Adjunto II Dept^o de Engenharia Florestal (CCA-UFES),
Alegre, ES. Email: jemp@cca.ufes.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento das características da cinética de emissão de fluorescência da clorofila *a* e o potencial hídrico foliar de dois clones de eucalipto (15 e 39), em duas épocas (seca e chuvosa) estabelecidos no campo. O experimento foi conduzido na área de fomento da Aracruz Celulose S.A, na região de Itauninhas, distrito da cidade de São Mateus, localizado no Estado do Espírito Santo. Durante o experimento foram avaliadas as seguintes variáveis de fluorescência da clorofila *a*: fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) e rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m). A deficiência hídrica no solo durante a época seca não foi suficiente para provocar dano ao aparato fotoquímico do PS II, mostrando a capacidade de tolerância dos clones sobre as condições ambientais adversas. Os clones apresentaram maiores valores de F_0 , F_m , F_v , durante a época seca, enquanto que a razão F_v/F_m foi semelhante nas épocas, apesar do teor de água nas folhas durante a época seca apresentar-se reduzido. Nas duas épocas os clones apresentaram rendimento fotoquímico semelhante, apesar do valor de F_0 para o clone 39 ter sido superior ao apresentado pelo clone 15.

Palavras-chave: eucalipto, clone, fluorescência, fotossistema II.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the behavior of the characteristics of the kinetics of fluorescence of the chlorophyll and the leaf water potential in two eucalyptus clones (15 and 39), in two periods (dry and rainy) established in the field. The experiment was driven in the area of Aracruz Celulose S.A, in the area of Itauninhas, in São Mateus city, located in Espírito Santo State. During the experiment they were appraised the following variables of fluorescence of the chlorophyll: initial fluorescence (F_0), maximum fluorescence (F_m), variable fluorescence (F_v) photochemistry efficiency (F_v/F_m). The deficiency water in the soil during the period dry was not enough to provoke damage to the apparatus photochemical of the PS II, showing the capacity of tolerance of the clones about the adverse environmental conditions. The clones presented larger values of F_0 , F_m , F_v , during the period dry, while the F_v/F_m was similar in the periods, in spite of the tenor of water in the leaves during the period dry to present reduced. In the two times the clones presented income similar photochemical, in spite of the value of F_0 for the clone 39 it was larger to the presented by the clone 15.

Keywords: eucalyptus, clone, fluorescence, photosystem II.

INTRODUÇÃO

Embora as medidas de trocas gasosas (CO_2 e O_2) sejam importantes para determinar as taxas fotossintéticas, podem não ser eficientes para avaliar os efeitos deletérios nos cloroplastos, ocasionados pelas diversas formas de estresse abiótico (Durães, 2003). Uma alternativa às medidas de trocas gasosas é a avaliação da eficiência fotoquímica da fotossíntese, obtida por meio das diversas variáveis da fluorescência da clorofila *a*. O rendimento da fluorescência da clorofila revela o nível de excitação da energia no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese e fornece subsídios para estimar a inibição ou o dano no processo de transferência de elétrons do fotossistema II (PSII) (Bolhàr-Nordenkampf et al., 1989). Além disso, é uma técnica rápida, não-destrutiva e sensível, constituindo importante avanço em estudos fisiológicos e em ecologia de plantas (Krause & Weiss, 1991).

Condições extremas de estresse ambiental podem afetar os eventos no tilacóide, interferindo na eficiência da fotossíntese e inativando o fotossistema II (P680) e a cadeia de transporte de elétrons que daria origem ao ATP e NADPH₂ (Krause & Weiss, 1991; Costa et al., 2003).

As principais variáveis observadas nas medições da fluorescência da clorofila *a* são: fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m). O F_0 representa a fluorescência com todos os centros de reação "abertos" e refere-se à emissão de fluorescência pelas moléculas de clorofila *a* do complexo coletor de luz do PSII (Krause & Weiss, 1991). O F_m indica a completa redução da quinona A (Q_A) a partir da incidência de um pulso de luz no centro de reação Q_A , gerando fluorescência máxima. A diferença entre F_m e F_0 resulta na fluorescência variável (F_v). A F_v representa o fluxo de elétrons do centro de reação do PSII (P680) até a plastoquinona (PQH_2). O rendimento quântico máximo é calculado como: $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$. Quando uma planta está com seu aparelho fotossintético intacto, a razão F_v/F_m deve variar entre 0,75 e 0,85 (Bolhàr-Nordenkampf et al., 1989), enquanto queda nesta razão reflete a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII (Björkman & Demming, 1987).

O monitoramento da fluorescência da clorofila *a* em plantios clonais de eucalipto pode ser útil na identificação da capacidade de tolerância dessas espécies à deficiência hídrica. Desse modo, objetivou-se verificar o comportamento das características de fluorescência da clorofila *a*, em dois clones de eucalipto (15 e 39), em duas épocas do ano (seca e chuvosa), estabelecidos no campo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material experimental , caracterização da área e delineamento estatístico

O experimento foi conduzido na área de fomento da Aracruz Celulose S.A, na região de Itauninhas, distrito da cidade de São Mateus, localizado no Estado do Espírito Santo. Foram utilizados dois clones comerciais produzidos pela Aracruz Celulose S.A, identificados como 15 e 39. O plantio de ambos os clones, foi feito em maio de 2001. As plantas, nas épocas das avaliações apresentam idade de 2,5 para 3 anos, com altura e diâmetro na altura do peito médios (DAP) de aproximadamente 13,34m e 10,25cm,

respectivamente. Os tratos culturais para condução do plantio da floresta (adubação, poda) são realizados anualmente.

A região apresenta clima ameno ao longo do ano inteiro. A temperatura média anual fica em torno dos 24°C, variando entre 25 e 30° C, no verão, e 19 a 21° C, no inverno. Como a precipitação pluviométrica local está na média de 1.432,8 mm e o índice de evapotranspiração na média de 1.395,0 mm por ano, o clima pode ser enquadrado como seco sub-úmido, se levarmos em consideração os dados dos últimos 25 anos (Relatório técnico da Prefeitura Municipal de São Mateus, 2006).

O solo da região é classificado como Latossolo (Embrapa, 1999), são solos forte a moderadamente drenados, com pequenas variações de argila, areias e cascalhos; ausência de minerais primários (cálcio e magnésio, principalmente); presença de óxidos de alumínio (Al) e ferro (Fe), garantindo uma textura granular relativamente porosa em relação à infiltração da água e, conseqüentemente, baixa capacidade de suporte nos níveis mais rasos. Assumem formas de relevo planas e suavemente onduladas, podendo chegar a profundidades superiores aos 10 m.

O experimento foi realizado num esquema fatorial 2 x 2, sendo o fator clone (15 e 39) e época (seca e chuvosa) em dois níveis, montado num delineamento inteiramente casualizado. Em todas as campanhas foram utilizadas doze repetições para os dados das variáveis de fluorescência e para o potencial hídrico foliar.

Descrição das características microclimáticas

Para obtenção das variáveis microclimáticas, foi instalada uma estação meteorológica automática (datalogger) no interior da floresta plantada, numa torre de acesso, com aproximadamente 37m de altura. Na estação, estavam acoplados sensores de temperatura e umidade relativa do ar modelo HMP35C (Campbell Scientific), e um piranômetro, modelo SP-Lite (Kipp & Zonen), media a radiação solar global. A precipitação pluviométrica era medida através de sensores modelo, TE 5255MM (Texas Eletronics).

Foi calculado o balanço hídrico da região de Itauninhas, segundo Pereira et al. (2002), proposto por Thornthwaite & Mather (1955), a fim de determinar a variação do armazenamento de água no solo ao longo do ano, caracterizando as estações seca e chuvosa. Assim, possibilitando, a identificação dos períodos de deficiência e excedente hídrico durante as campanhas fisiológicas dos dados de fluorescência e do potencial

hídrico foliar. A evapotranspiração potencial para o cálculo do balanço hídrico foi estimada pelo método simplificado de Camargo (1962).

Descrição das características fisiológicas

O período experimental foi subdividido no tempo em duas campanhas fisiológicas de campo, onde foram realizadas as avaliações das variáveis de fluorescência e do potencial hídrico foliar nas duas épocas (seca e chuvosa) para os dois clones (15 e 39).

Durante a época seca foi realizada a primeira campanha fisiológica de campo nos dias 5 e 6 de agosto de 2003, enquanto, na época chuvosa, foi realizada a segunda campanha, nos dias 1 e 2 de março de 2004, para os dois clones estudados.

Durante as campanhas, foram medidas na superfície de três folhas localizadas na parte externa do terço superior da copa de quatro árvores, a fluorescência inicial (F_o), a fluorescência máxima (F_m), a fluorescência variável (F_v) e a eficiência fotoquímica do PS II (F_v/F_m), com auxílio de um fluorímetro portátil (PEA-Plant Efficiency Analyser, Hansstech, King's Lynn, Norfolk, UK). As avaliações da cinética de emissão da fluorescência rápida da clorofila *a*, foram realizadas entre os horários de 12:30 e 13:30 horas. Antes das medições, as folhas foram adaptadas ao escuro por um período de 30 minutos.

Para a determinação do potencial hídrico foliar, utilizou-se uma bomba de pressão PMS 1003 (PMS Instruments Co.), segundo Sholander et al. (1965), em três folhas totalmente expandida de quatro árvores, localizada na parte externa do terço superior do dossel. Avaliou-se, em um único horário durante o dia, às 4:30 horas (antemanhã).

Os dados experimentais das variáveis de emissão da fluorescência rápida da clorofila *a*, e do potencial hídrico foliar antemanhã foram submetidos à análise de variância, e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando software SAEG.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Balanço hídrico climatológico e variáveis climáticas avaliadas

Durante o período de maio de 2003 a abril de 2004 foi monitorado o armazenamento de água no solo, através do balanço hídrico climatológico realizado para a região de

Itauninhas e também foi caracterizada a precipitação pluviométrica no mesmo período (Figura 1 e 2).

Observe que ocorreu deficiência hídrica no solo do mês de maio a novembro de 2003,



Figura 1. Balanço hídrico climatológico da região de Itauninhas no Estado do Espírito Santo, no período de maio de 2003 a abril de 2004.

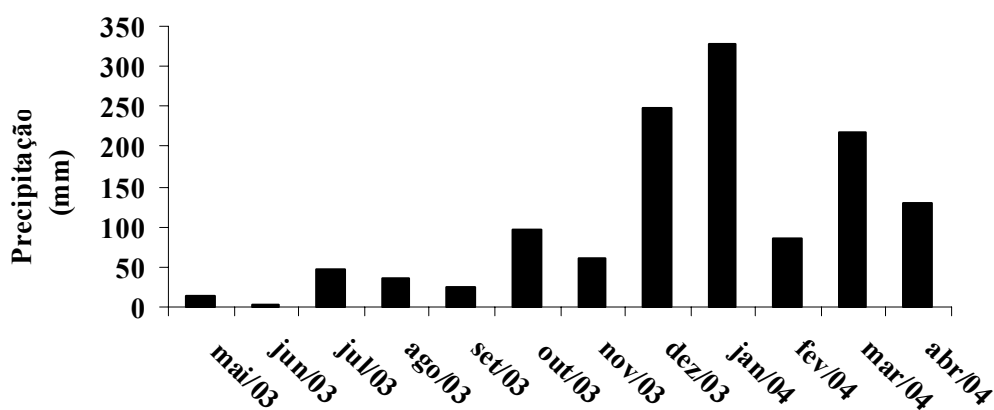


Figura 2. Precipitação pluviométrica da região de Itauninhas no Estado do Espírito Santo, no período de maio de 2003 a abril de 2004.

caracterizando a época seca, em virtude da baixa precipitação pluviométrica, enquanto nos meses de dezembro de 2003 a abril de 2004 foi verificado um excedente hídrico, devido ao maior índice de chuvas caracterizando a época chuvosa. Percebe-se, então, que encontramos variação na disponibilidade hídrica do solo ao longo do ano, podendo caracterizar duas épocas bastante distintas, uma época seca e outra chuvosa.

Na Tabela 1, são apresentadas as médias das variáveis climáticas registradas durante as

avaliações da emissão de fluorescência durante os dias das campanhas fisiológicas de campo na época seca e chuvosa. Observa-se, durante a época seca, que foram **Tabela 1.** Temperatura e umidade relativa média, máxima, mínima; e radiação solar média durante as avaliações das variáveis de fluorescência compreendida nos horários de 12:30 e 13:30 horas, na época seca e chuvosa.

Variáveis climáticas	Tm (°C)	Tmax (°C)	Tmin (°C)	URm (%)	URmax (%)	URmin (%)	Rg (W/m ²)
Época seca	24,2	24,9	23,6	62,2	67,0	58,2	584
Época chuvosa	29,1	29,9	28,4	68,2	73,4	63,1	819

encontrados os menores valores para a temperatura, umidade relativa e radiação solar, quando comparado com a época chuvosa.

Detecta-se, assim, a condição climática e a disponibilidade hídrica média do solo para a região de Itauninhas, buscando caracterizar os períodos de deficiência hídrica e de excedente hídrico, seus efeitos sobre as plantas e sua implicação sobre o rendimento fotoquímico.

Avaliação da cinética de emissão da fluorescência rápida da clorofila *a* e do potencial hídrico foliar antemanhã

Na Tabela 2, é apresentada a análise de variância para as variáveis de fluorescências e potencial hídrico foliar. Nota-se que houve diferença significativa entre os clones para a F_o e potencial hídrico foliar. Para as épocas a diferença estatística só não foi verificada para a razão F_v/F_m no PS II, enquanto, a interação entre clone e época, somente foi significativo para o potencial hídrico foliar, não havendo diferença para as variáveis de fluorescência.

Tabela 2. Análise de variância para as variáveis de fluorescências e potencial hídrico foliar.

Fontes de variação	G.L	Quadrado médio				
		F_o	F_m	F_v	F_v/F_m	Potencial hídrico foliar
Clone	1	4107*	30,08ns	3168,75ns	0,00081ns	5,26**
Estação	1	144102**	3532760**	2259404**	0,00026ns	31,52**
Clone x Época	1	1518,45ns	15480ns	3570,75ns	0,00004ns	5,67**
Resíduo	44	843,14	32269	35440,70	0,01676	0,57

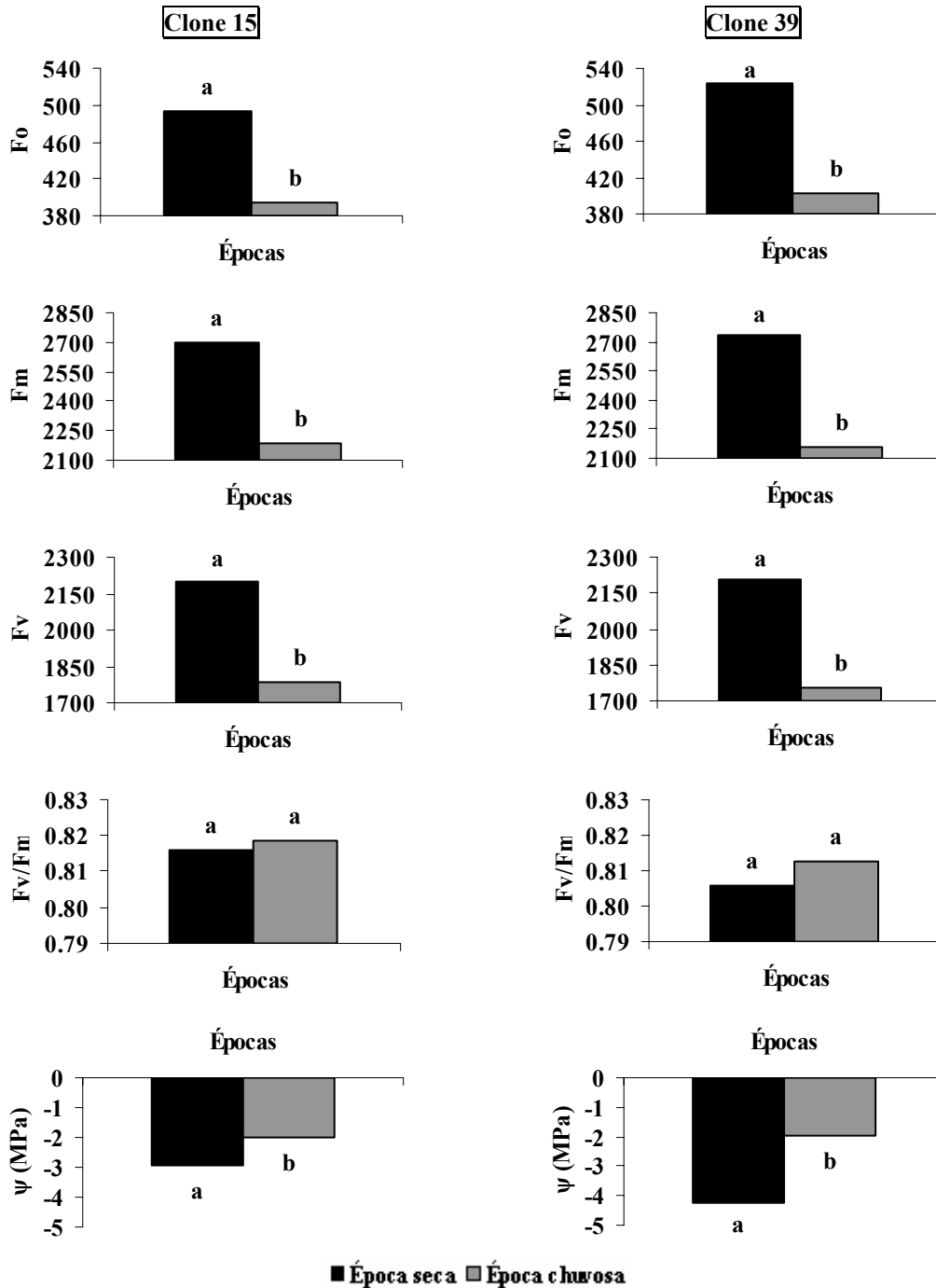
Total	47				
C.V(%)	6,41	7,35	9,47	2,39	27,19
Média	453	2444	1987	0,81	2,79

*e** = Significativo, pelo teste F, a 5% e 1% e de probabilidade, respectivamente; ns = não significativo.

A Figura 3 apresenta a avaliação do estudo dos clones de eucalipto para as variáveis de fluorescência e potencial hídrico foliar antemanhã entre as épocas estudadas, segundo teste de média de Tukey, a 5% de probabilidade. Observa-se que durante a época seca foram encontrados maiores valores para F_o , para os dois clones, em relação a época chuvosa. Esperava-se que durante a época chuvosa os valores fossem superiores aos encontrados na época seca, em virtude da maior disponibilidade de água encontrada no solo. Porém, pode-se atribuir esses resultados, a capacidade dos clones de eucalipto tolerarem a deficiência hídrica encontrada no solo, e o fato das condições climáticas prevalecentes no momento das campanhas, como temperatura, umidade relativa e radiação solar, não serem suficientes para promoverem a indução da fotoinibição. A queda mais acentuada de F_o durante a época seca poderia indicar menor possibilidade de adaptação das plantas às condições fotoinibitórias provenientes da deficiência hídrica encontrada no solo. Verifica-se, assim, que o sistema de absorção de luz do PS II esteja atuando mais eficientemente na época seca, do que em relação a época chuvosa.

Resultados semelhantes aos da F_o foram encontrados para F_m e F_v , para os dois clones de eucalipto, registrando os maiores valores durante a época seca. Com base nestes resultados, pressupõe-se que a distribuição de energia entre os complexos coletores de luz do PS II, os centros de reação e o acceptor final do PS II apresentaram diferenças entre as épocas em cada um dos clones estudados. Com base na diferença dos valores de F_m e F_v encontradas nas diferentes épocas, supõe-se, que os mecanismos de controle da fase fotoquímica e bioquímica da fotossíntese apresentaram diferenças, e pode-se dizer, que as variáveis avaliadas pela emissão de fluorescência rápida podem ser explorados para estudos do comportamento em diferentes épocas do ano. Os maiores valores de F_m encontrados durante a época seca, mostram que não causaram deficiência na fotorredução da quinona A (Q_A) e nem no fluxo de elétrons entre os fotossistemas dos clones estudados. De Las Rivas & Barber (1997) relataram que a perda de atividade do PS II nas espécies suscetíveis, está provavelmente associada à diminuição da capacidade de reoxidação das quinonas, resultando em menor eficiência no transporte de elétrons para o PS I.

O rendimento quântico máximo do PS II, estimado pela razão F_v/F_m , expressa a eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do PSII (Baker, 1991; Krause & Weis, 1991). Segundo Bolh ar-Nordenkampf et al. (1989),



*Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 3. Fluorescência inicial (F_o), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m), e potencial hídrico foliar antemanhã

(ψ) de um plantio de dois clones de eucalipto na região de Itauninhas, na estação seca e chuvosa.

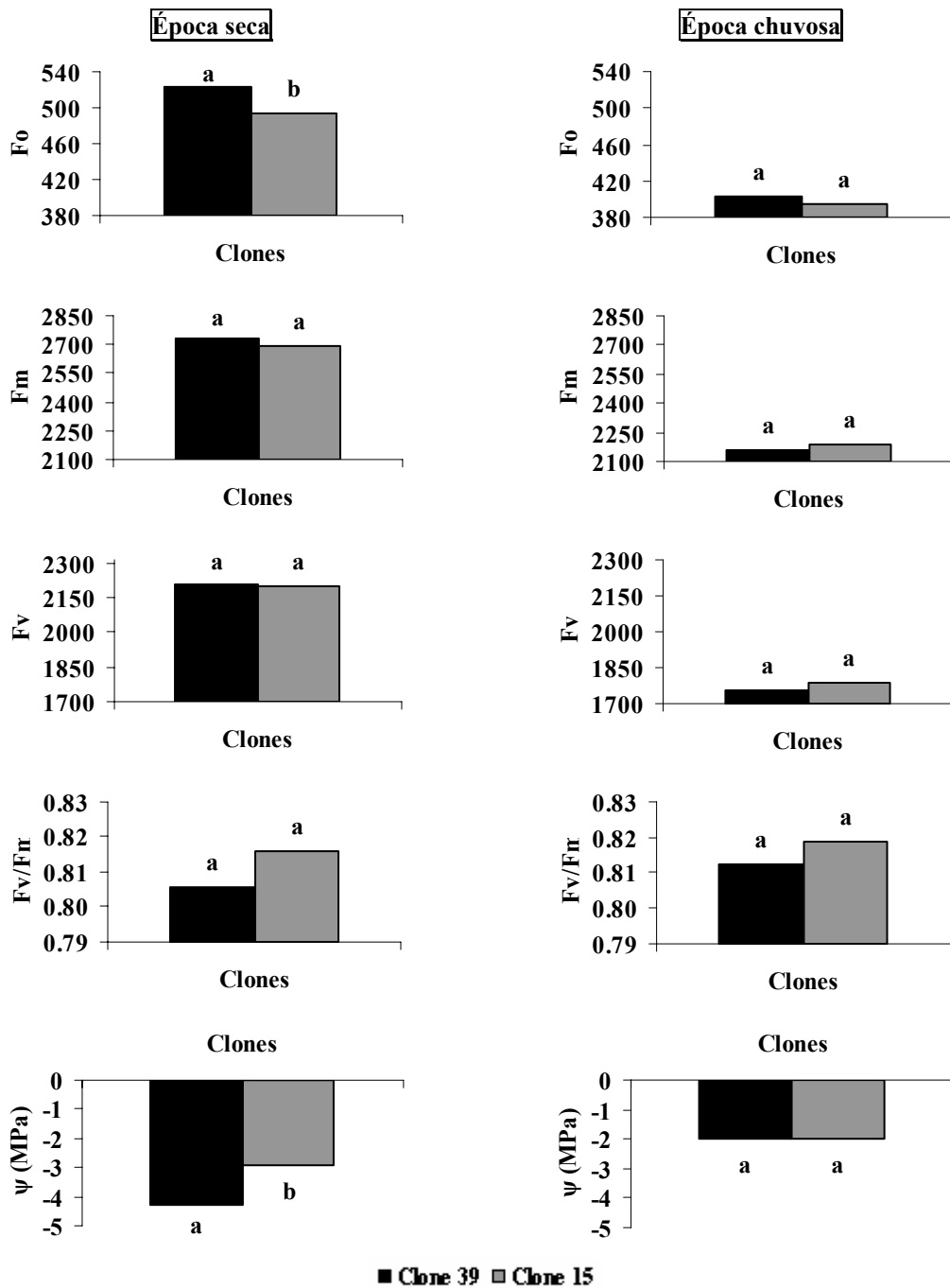
quando uma planta não está submetida ao estresse, a razão F_v/F_m deve ser de 0,75 a 0,85. Ambos os clones apresentaram rendimento quântico máximo do PS II semelhantes e compreendidos entre os valores considerados não estressantes para as plantas, evidenciando que a deficiência hídrica no solo e as condições climáticas, não foram suficientes para provocar danos ao aparato fotoquímico da fotossíntese no PS II.

O teor de água nas folhas, por sua vez, apresentou diferenças entre as épocas nos clones. Ambos os clones, apresentaram maior potencial hídrico foliar antemanhã durante a época chuvosa, devido provavelmente o excedente hídrico encontrado no solo. É importante observar, que nem o menor conteúdo de água encontrado na folhas durante a época seca foi suficiente para provocar injúrias ao PS II.

Na Figura 4 é apresentada a avaliação das variáveis de fluorescência e do potencial hídrico foliar antemanhã entre os clones de eucalipto em cada época estudada. Nota-se entre os clones na época seca que os valores de F_o diferiram estatisticamente. O clone 39 apresentou maiores valores de F_o , quando comparado com o clone 15. Isto indica, que o sistema de absorção de luz do PS II esteja atuando mais eficientemente no clone 39, do que em relação ao clone 15, enquanto na época chuvosa, os clones apresentaram valores de F_o semelhantes, possivelmente devido a maior disponibilidade de água no solo. Várias interpretações das alterações na intensidade de F_o são apresentadas por Krause & Weis (1991), considerando: a) a heterogeneidade dos PS II; b) o deslocamento de polipeptídeos do sistema antena do PS II e acoplamento do PS I (Raskin & Marden, 1993).

Os valores de F_m , F_v e da razão F_v/F_m , não diferiram estatisticamente, apresentando valores semelhantes entre os clones nas épocas seca e chuvosa. Segundo Paul & Planchon (1990), o método de medição da emissão de fluorescência rápida, com a caracterização de suas variáveis, deve ser melhor explorado em estudos de variabilidade genético-fisiológica.

Observa-se também, durante época seca, onde ocorreu deficiência hídrica no solo, que o clone 39, apresentou menor valor do potencial hídrico foliar antemanhã, em comparação ao clone 15, mas mesmo assim, o menor teor de água apresentado nas folhas pelo clone 39, não foi suficiente para alterar os valores de F_m , F_v e a razão F_v/F_m . Na época chuvosa, os clones apresentaram valores de potencial hídrico foliar antemanhã semelhantes, devido provavelmente o excedente hídrico de água encontrado no solo.



*Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Figura 4. Fluorescência inicial (F_o), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m), e potencial hídrico foliar antemanhã (ψ) de um plantio de dois clones de eucalipto na região de Itauninhas, na estação seca e chuvosa.

CONCLUSÕES

A deficiência hídrica no solo e as condições climáticas impostas durante a época seca, não foram suficientes para provocar danos no aparato fotoquímico do PS II, mostrando a capacidade de tolerância dos clones de eucalipto as condições ambientais adversas. A capacidade de tolerar ao déficit hídrico pode estar associada à maior eficiência do sistema fotoprotetor do PSII.

Os clones apresentaram maiores valores de F_o , F_m , F_v , durante a época seca, enquanto que a razão F_v/F_m foi semelhante nas duas épocas, apesar do teor de água nas folhas durante a época seca apresentar-se reduzido. Nas duas épocas os clones apresentaram rendimento fotoquímico semelhante, sendo que o valor de F_o para o clone 39 ter sido superior ao apresentado pelo clone 15.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a colaboração prestada pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, ao Núcleo de Estudos e Difusão de Tecnologias em Floresta, Recursos Hídricos e Agricultura Sustentável (NEDTEC), e a Aracruz Celulose S.A.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, N.R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. **Physiologia Plantarum**, v.81, n.4, p.563-70, 1991.

BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 k among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v.170, p.61-66, 1987.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G.. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, v.3, p.497-514, 1989.

COSTA, E.S.; BRESSAN-SMITH, R.; OLIVEIRA, J.G.; CAMPOSTRINI, E. Chlorophyll *a* fluorescence analysis in response to excitation irradiance in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) submitted to high temperature stress. **Photosynthetica**, v.41, p.77-82, 2003.

DE LAS RIVAS, J.; BARBER, J. Structure and thermal stability of photo system II reaction centers studied by infrared spectroscopy. **Biochemistry**, v.36, p.8897-8903, 1997.

DURÃES, F.O.M. 2003. **Fotossíntese e fluorescência da clorofila**: Parâmetros indicadores de tolerância a estresses. Disponível em: [www.cnpms.embrapa.br/nucleos/nea_gest002.html /pesquisa/](http://www.cnpms.embrapa.br/nucleos/nea_gest002.html/pesquisa/) . Acesso em: 26 set. 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro: 1999. 412p.

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

PAUL, M.H.; PLANCHON, C. Chlorophyll fluorescence as a tool in soybean improvement for N fixation efficiency. **Euphytica**, v. 45, p. 43-47, 1990.

PREFEITURA MUNICIPAL DE SÃO MATEUS. **Relatório técnico**. Disponível em: www.saomateus.es.gov.br/coordenacao/noticias12.htm. Acesso em: 10 nov. 2006.

PEREIRA, A.R.; ANGELOCCI, L.R.; SENTELHAS, P.C. **Agrometeorologia fundamentos e aplicações**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 478p.

RASKIN, V.L.; MARDES, I.B. How plants limit the photodestructive potential of chlorophyll. In: YAMAMOTO, N.Y.; SMITH, C.M (Ed.). **Photosynthetic responses to the environment**. Maryland: American Society of Plant Physiologists, 1993. p. 156-159.

SHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E.A.
Sap pressure in vascular plants. **Science**, Cambridge, v.148, 1965. p.339-346.