

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

BETY SHIUE DE HSIE

Perfil morfofisiológico de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em campo sob diferentes condições ambientais.

Recife
2013

BETY SHIUE DE HSIE

Perfil morfofisiológico de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em campo sob diferentes condições ambientais.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof^o. Dr. Marcelo Francisco Pompelli

Coorientador: Prof^o. Dr. Egídio Bezerra Neto.

Recife
2013

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

H873p Hsie, Bety Shiue de
Perfil morfofisiológico de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em campo sob diferentes condições ambientais / Bety Shiue de Hsie. – Recife: O Autor, 2013.

73 f. : il.

Orientador: Marcelo Francisco Pompelli

Coorientador: Egídio Bezerra Neto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Pós-graduação em Biologia Vegetal, 2013.

Inclui bibliografia e anexos

1. Euphorbiaceae 2. Fisiologia vegetal 3. Botânica – Morfologia I. Pompelli, Marcelo Francisco (orientador) II. Bezerra Neto, Egídio (coorientador) III. Título.

583.69

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2013-079

BETY SHIUE DE HSIE

“PERFIL MORFOFISIOLÓGICO DE PLANTAS DE *JATROPHA CURCAS* L.
CULTIVADAS EM CAMPO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS”.

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Marcelo Francisco Pompelli (Orientador) – UFPE

Dr. Werner Camargos Antunes – U.E. Maringá

Dra. Emília Cristina Pereira de Arruda – UFPE

Recife – PE
2013

AGRADECIMENTOS

A Deus que esteve comigo durante toda a minha trajetória no curso e na vida, me deu forças para enfrentar todas as dificuldades. Com certeza sem a Sua ajuda e orientação eu não teria conseguido.

A minha mãe Shiue Shwn Rong Araújo e meu pai Júlio César Figueiredo Araújo, por todo esforço que fizeram para que eu pudesse chegar até aqui.

A minha tia Marisa Shiue pelo carinho, apoio e ajuda na minha formação, sem isso nada seria possível.

Ao meu tio Humberto Fernando que me apoiou e sempre acreditou que eu conseguiria.

Ao João Antônio Almeida Granja, por seu amor, compreensão, companheirismo e sua ajuda em todos os momentos.

Ao meu orientador Marcelo Francisco Pompelli, pela confiança, suporte e por ter dividido comigo um pouco do seu conhecimento que levarei comigo para sempre.

Ao professor Egídio Bezerra Neto, pela confiança, apoio e ter doado um pouco do seu conhecimento.

Ao Marciel Teixeira de Oliveira, pela amizade, apoio e ensinamentos que muito contribuíram para a concretização desse trabalho.

A Maria Claudjane pela oportunidade de trabalhar com você, amizade e por me ajudar sempre que precisei.

A Mariana Lins e Millena Jane pela amizade e o prazer de ter trabalhado com vocês.

A todos os companheiros do LEV, pela amizade, apoio e troca de conhecimentos que muito contribuíram para a concretização desse trabalho.

Aos meus amigos Thiago Santos Araujo e Meiriana Nova que sempre me apoiaram e se fizeram presentes sempre que possível em todos os momentos importantes da minha vida.

Ao PPGBV pela estrutura e suporte

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Características climáticas das regiões analisadas. (A) Precipitação mensal total (barras) e temperatura média (linhas); (B) evapotranspiração potencial (ETR) e (C) armazenamento hídrico mensal no solo. Os dados foram registrados entre os meses de janeiro a dezembro de 2007 na região semiárida (símbolos escuros) e na região da Mata Atlântica (símbolos brancos). Os símbolos (*) representam que são estatisticamente distintas entre si (teste de Newman-Keuls, $p \leq 0,05$). Barras verticais representam a média \pm erro padrão. $n = 30$. (Fonte: AgriTempo, <http://www.agritempo.gov.br>). 47

Figura 2 - Visão geral da superfície adaxial da epiderme de *Jatropha curcas* L. coletada durante a estação chuvosa (A e C) ou seca (B e D) na região da Mata Atlântica (A e B) ou na região semiárida (C e D). Todas as imagens foram processadas a partir de uma folha completamente exposta e submetida às condições naturais de cultivo e a plena exposição solar. Barras 100 μm 48

Figura 3 - Visão geral da superfície abaxial da epiderme de *Jatropha curcas* L. coletada durante a estação chuvosa (A e C) ou seca (B e D) na região da Mata Atlântica (A e B) ou na região semiárida (C e D). Todas as imagens foram processadas a partir de uma folha completamente exposta e submetida às condições naturais de cultivo e a plena exposição solar. Em detalhe (\circ) são mostrados pequenos clusters de estômatos mal formados, na superfície das folhas desenvolvidas durante a estação seca. Barras 100 μm 49

Figura 4 - Densidade estomática (A e B), densidade de células epidérmicas (C e D) e índice estomático (E e F), em plantas adultas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região semiárida e na região da Mata Atlântica, durante a estação chuvosa (barras escuras) e na estação seca (barras brancas). As medidas foram obtidas tanto na face adaxial (A, C e E) bem como na face abaxial (B, D e F) da epiderme. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre as cidades e minúsculas entre as estações são estatisticamente distintas entre si (Newman-Keuls, $p \leq 0,05$). Barras verticais representam a média \pm erro padrão. $n = 100$ 50

Figura 5 - Assimilação líquida de carbono (P_N) (A), condutância estomática (g_s) (B), transpiração (E) (C), razão entre a concentração interna e atmosférica de CO_2 (C_i / C_a), eficiência do uso da água (EUA) (E), eficiência intrínseca do uso da água (EUA_i) (F), temperatura foliar (T_f) (G) e déficit de pressão de vapor (δ_e) (H), em plantas adultas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região semiárida e na região da Mata Atlântica, durante a estação chuvosa (barras escuras) e na estação seca (barras brancas). Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre cidades e minúsculas entre as estações são estatisticamente distintas entre si (Newman-Keuls, $p \leq 0,05$). Barras verticais representam a média \pm erro padrão. $n = 10$ 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Coeficientes de correlação canônica (CC) entre variáveis do grupo 1 [taxa de fotossíntese líquida (P_N), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e déficit de pressão de vapor (δ_e)] e grupo 2 [densidade estomática (DE) e índice estomático (IE)].

..... 52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PPGBV	Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
<i>i.e.</i>	<i>id est</i>
<i>e.g.</i>	<i>exemplum gratia</i>
CO ₂	dióxido de carbono
IEA	Agência Internacional de Energia
Sebrae	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
B2	2% de biodiesel e 98% de diesel convencional
B5	5% de biodiesel e 95% de diesel convencional
B20	20% de biodiesel e 80% de diesel convencional
B100	100% de biodiesel
ADM	Archer Daniels Midland
ANP	Agência Nacional do Petróleo
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
ABA	ácido abscísico
g_s	condutância estomática
$1 / g_s$	resistência estomática geral
P_N	taxa de fotossíntese líquida
E	transpiração
C_i	concentração intracelular de dióxido de carbono
T_f	temperatura foliar
δ_e	déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera
ANOVA	análise de variância
DE	densidade estomática
DC	densidade de células epidérmicas
IE	índice estomático
CCA	análise de correlação canônica

CC	coeficiente canônico ponderado
<i>EUA</i>	eficiência do uso da água
<i>EUA_i</i>	eficiência intrínseca do uso da água
C_i / C_a	razão concentração intracelular de dióxido de carbono e concentração de dióxido de carbono atmosférico
SNK	Student-Newman-Keuls
Rubisco	Ribulose 1,5 – bifosfato carboxilase/oxigenase

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	11
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
Biodiesel no Brasil e no Mundo	13
A espécie <i>Jatropha curcas</i> L.	16
Estômatos: Desenvolvimento e Adaptações	18
Parâmetros ecofisiológicos envolvidos com o déficit hídrico	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
MANUSCRITO	31
RESUMO	32
ABSTRACT	33
1. Introdução	33
2. Materiais e Métodos	36
2.1. <i>Área de estudo</i>	36
2.2. <i>Coleta e preparação de material botânico para os estudos morfológicos</i>	36
2.3. <i>Densidade e índice estomático</i>	37
2.4. <i>Trocas gasosas</i>	37
2.5. <i>Análises estatísticas</i>	37
3. Resultados	38
3.1. <i>Caracterização climatológica</i>	38
3.2. <i>Índice e densidade estomática</i>	39
3.3. <i>Trocas gasosas</i>	40
3.4. <i>Correlações canônicas</i>	41
4. Discussão	41
5. Referências Bibliográficas	51
CONSIDERAÇÕES FINAIS	57

RESUMO	58
ABSTRACT	59
ANEXO	60

APRESENTAÇÃO

A escassez de água, aliada ou não a salinidade dos solos, é um dos fatores que mais limita a produção agrícola nas regiões áridas e semiáridas do mundo. Entretanto, mecanismos de tolerância, desenvolvidos pelas plantas, frente às condições limitantes de água, têm despertado grande interesse entre os pesquisadores da área. Em geral, a aclimatação da planta, mediante condições de déficit hídrico, envolve uma variedade de mecanismos adaptativos, dos quais se podem citar as mudanças morfofisiológicas e aquelas de caráter puramente bioquímicos.

Jatropha curcas L. é uma euforbiácea arbustivo-lenhosa, de grande interesse econômico, devido principalmente à qualidade do seu óleo. *J. curcas* pode ser cultivada em diferentes condições edafoclimáticas, mesmo sob fortes irradiâncias ou em regiões expostas a longos períodos sem chuvas; condições estas muito frequentemente encontradas no semiárido nordestino. Para tanto, a espécie possui abscisão foliar, mecanismos antioxidativos e ajustamento osmótico como estratégia de aclimatação às variações ambientais.

Na grande maioria das situações, o ambiente influencia fortemente na atividade fotossintética das plantas; parte devido ao déficit de pressão de vapor que se estabelece entre a planta e a atmosfera, especialmente em dias e/ou ambientes mais secos. Neste sentido, a capacidade de uma determinada espécie sobreviver depende de sua eficiência em restringir a perda de água, ao mesmo tempo que troca gases de forma eficiente. Algumas espécies previnem a perda de água mediante maior sensibilidade estomática, com redução da abertura do poro estomático; outras mediante redução na sua densidade estomática, *i.e.*, estruturas potencialmente evapotranspirantes.

Diversos estudos têm mostrado que a densidade estomática e o desenvolvimento estomático são afetados pelas condições ambientais (*e.g.*, umidade, seca, estresse luminoso, ozônio, temperatura e concentração de CO₂ atmosférico), podendo, certas plantas, apresentar características que são resultantes da plasticidade fenotípica diante de variações ambientais. Entretanto, a planta pode diminuir ou aumentar sua área foliar, com conseqüente diminuição ou aumento dos espaços entre as células, de forma que a razão entre o número de estômatos e o número das demais células da epiderme, tende a

ser constante. Essa característica foi definida por Salisbury, no início do século XX, como índice estomático. De acordo com aquela descrição, o índice estomático seria intrínseco da espécie, não apresentando variações, fato que poderia ser utilizado como uma importante ferramenta na taxonomia de plantas.

É notório que as plantas se adaptam às condições estressantes; assunto vastamente explorado na literatura. Entretanto, tais estudos se referem basicamente aos mecanismos fisiológicos e/ou bioquímicos; poucos, porém, abordam as alterações em nível morfoanatômico. Neste sentido, este trabalho objetivou correlacionar a morfologia estomática com os principais parâmetros de trocas gasosas, em plantas adultas de *Jatropha curcas* L. desenvolvidas em duas condições ambientais, *i.e.* Mata Atlântica e região semiárida, sujeitas a regimes hídricos distintos.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Biodiesel no Brasil e no Mundo

O aparecimento do biodiesel se deu ao final do século XIX, quando em 1897 Rudolf Diesel desenvolveu um motor movido à base de diversos óleos vegetais. Expondo sua criação na Mostra Mundial de Paris em 1900, Rudolf Diesel utilizou óleo de amendoim para produzir combustão. Com o aparecimento e crescimento posterior da indústria do petróleo, no início do século XX, houve um total desinteresse pela produção de combustíveis provenientes de óleos vegetais. O petróleo era, naquela época, o mais barato dos combustíveis (MOON, 1974), tendo a indústria petrolífera tirado grande proveito daquela recente descoberta, da qual se produziu, anos mais tarde o óleo diesel mineral como propulsor de motores (GROSSER, 1978).

O biodiesel, em sua forma geral, pode ser conceituado como um combustível biodegradável, obtido de fontes renováveis, em geral extraído de fontes vegetais. Pode ser extraído por diferentes processos químicos, entre eles o craqueamento, a esterificação e a transesterificação (COSTA, 2008). Este último é o mais utilizado e consiste numa reação química de óleos vegetais ou de gorduras animais com o álcool comum (etanol) ou o metanol, estimulado por um catalisador (PARENTE, 2003). Desse processo, além do biodiesel, também se extrai a glicerina, que é removida do óleo vegetal e utilizada na fabricação de sabonetes e diversos outros cosméticos (COSTA, 2008).

A produção e uso do biodiesel no Brasil, como fonte de energia alternativa ao diesel de origem fóssil, é comemorada por ecologistas ao longo do mundo (POMPELLI, OROZCO *et al.*, 2011). Dentre as vantagens, podemos destacar os aspectos econômicos, ambientais e sociais, uma vez que esse combustível permite a economia de divisas com a importação de petróleo e óleo diesel, reduz a poluição ambiental, além de criar empregos em áreas pouco desenvolvidas, gerando inclusão social. O Brasil apresenta uma enorme potencialidade para a utilização do biodiesel na sua matriz energética, pois têm ampla flexibilidade em termos de áreas para cultivo e de matérias-primas para serem empregadas (mamona, dendê ou palma, soja, girassol, babaçu, pinhão manso, amendoim, nabo forrageiro, caroço de algodão, etc.) (POMPELLI, OROZCO *et al.*, 2011), com pequena ou nenhuma necessidade de modificação,

possibilitando que a produção desse combustível renovável se adapte às peculiaridades regionais do país.

As projeções mundiais previstas para 2020 pela *International Energy Agency* (IEA) – Agência Internacional de Energia – assinalam crescente substituição das fontes de combustível de origem fóssil pelas fontes renováveis de origem de biomassa, dentre elas as derivadas da cana-de-açúcar e do milho, para a produção de etanol, e as derivadas dos óleos vegetais de canola, de soja e de mamona, entre outros, para a produção de biodiesel (SEBRAE, 2010). Estima-se que o mercado por tecnologias limpas chegue a valer US\$ 1.9 trilhões em 2020 (BIOVALE, 2009).

O Brasil, acompanhando o movimento mundial de iniciativas favoráveis ao combate do efeito estufa, introduziu, a partir de 2005, o biodiesel na matriz energética com as condições de mercado e a produção regulamentadas pela Lei no 11097, de 13 de janeiro de 2005. As estimativas de volumes previstas são de 800 milhões de litros anuais (800 mil m³) de 2005 a 2007, com o B2 (mistura de 2% de biodiesel e 98% de óleo diesel), na forma autorizativa; de 1 bilhão de litros anuais de B2 (1 milhão de m³), na forma obrigatória nos intervalos seguintes de 2008 a 2012; de 2,4 bilhões anuais (2,4 milhões de m³) de B5 a partir de 2013 (SEBRAE, 2010) e de 12,4 bilhões anuais (12,4 milhões de m³) de B20 a partir de 2020 (BRASIL, 2012).

Diferentemente do que ocorreu com o etanol – combustível em que o Brasil ocupa a dianteira mundial em tecnologia e produção –, no caso do biodiesel o país largou atrasado. A Alemanha lidera a produção e o consumo do produto, com demanda superior a 2 bilhões de litros em 2006. As primeiras experiências dos alemães começaram há 20 anos. Hoje, os postos do país já vendem até biodiesel puro, o chamado B100. A maior usina do mundo, da americana ADM, fica em Hamburgo, com capacidade para 600 milhões de litros por ano. Nos Estados Unidos, o movimento começou mais tarde; porém, o avanço é rápido. Vários estados americanos vêm estimulando a adoção de fontes de energia limpa, com cortes de imposto sobre o combustível alternativo (PADUAN, 2007). No Brasil, a corrida de investimentos foi motivada pela criação, em 2004, de um programa federal que estabeleceu a obrigatoriedade da mistura de pelo menos 2% de biodiesel ao diesel em todo o país a partir de 01 de janeiro de 2008. A mistura obrigatória subirá para 5% este ano, o que deve gerar demanda anual de 2 bilhões de litros de biodiesel (SEBRAE, 2009). O

programa também concede redução de tributos federais para fabricantes que utilizam matérias-primas de pequenos produtores rurais (DUARTE, 2008). "O objetivo é gerar emprego e renda no campo, principalmente no Norte e no Nordeste", afirma Roberto Ardenghy, da Agência Nacional do Petróleo (ANP). Esse tipo de subsídio levou muita gente a apostar que o biodiesel estivesse fadado a ser um mercado puramente experimental, voltado exclusivamente para o pequeno agricultor, e que só sobreviveria à custa de dinheiro público. O que se vê hoje é um número crescente de grandes empresas – algumas das maiores do setor em todo o mundo – entrando no mercado (NETO, 2007; NEGRELLO e ZENTI, 2008). Os investimentos deram frutos, tanto que o Brasil foi o segundo maior produtor de biodiesel do mundo em 2010 (BIODIESELBR, 2011).

Entre as plantas oleaginosas com potencial para a produção de biodiesel, o pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) tem se apresentado como potencial candidato pelo Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) (NEGRELLO e ZENTI, 2007; DUARTE, 2008), principalmente por ser uma planta rústica, perene e adaptável a uma vasta gama de ambientes e condições edafoclimáticas (BELTRÃO, AZEVEDO *et al.*, 2007). Parte dessa vantagem se dá porque o cultivo pode produzir duas toneladas de óleo por hectare num período de um ano. Muitas características da *J. curcas* são muito superiores a maioria das outras oleaginosas, comumente utilizadas pelas indústrias de biodiesel. Temos como exemplo a soja que rende cerca de 0,2 a 0,6 ton ha⁻¹; a mamona com 0,5 a 1 ton ha⁻¹ ou o girassol, que rende 0,5 a 1,9 ton ha⁻¹ (POMPELLI, FERREIRA *et al.*, 2010). Dentre as plantas com potencial utilização nos programas de agroenergia, o pinhão manso apresenta-se como uma ótima alternativa (OPENSHAW, 2000; FAIRLESS, 2007; TIWARI, KUMAR *et al.*, 2007; LU, LIU *et al.*, 2009; POMPELLI, OROZCO *et al.*, 2011), pois suas sementes apresentam entre 27 e 32% de óleo (POMPELLI, OROZCO *et al.*, 2011). O óleo do pinhão manso apresenta uma grande concentração de ácidos graxos insaturados (~73%), os preferíveis pelas indústrias de biodiesel (PRAMANIK, 2003; ESCANDON, SILVA *et al.*, 2013). Pode gerar de 0,4 a mais de 12 toneladas de sementes por hectare plantado (ACHTEN, NIELSEN *et al.*, 2010), rendimento este que é atingido em plantas de pelo menos 5 anos de idade (TIWARI, KUMAR *et al.*, 2007). Cabe, ainda, ressaltar que hoje cerca de 80% da produção de biodiesel no Brasil vem da soja (POMPELLI, OROZCO *et al.*, 2011), um vegetal nobre, pois possui destinos diversos, especialmente aqueles ligados

com a alimentação animal e humana, com fortes impactos sobre a balança comercial dos países produtores (ACIKGOZ, SINCIK *et al.*, 2009).

Na composição do biodiesel não existem substâncias químicas aromáticas, sua combustão em motores, em substituição, mesmo que parcial, ao óleo diesel derivado de petróleo, reduz significativamente a produção típica de compostos carcinogênicos emitidos (NASS, PEREIRA *et al.*, 2007). *J. curcas*, ao contrário de outras oleaginosas, não pode ser utilizado na alimentação humana (ABDU-AGUYE, SANNUSI *et al.*, 1986; MARTÍNEZ-HERRERA, SIDDHURAJU *et al.*, 2006), sendo assim uma boa opção para a produção do biodiesel.

Igualmente a outros óleos biocombustíveis, o óleo gerado a partir da semente de pinhão manso pode ser considerado com um combustível ecologicamente mais favorável para o ambiente, uma vez que libera 50% menos material particulado e 98% menos enxofre, além disso, são biodegradáveis e não tóxicos (NASS, PEREIRA *et al.*, 2007; DEMIRBAS, 2009).

A espécie Jatropha curcas L.

Jatropha curcas L. é uma planta da família Euphorbiaceae, vulgarmente chamada de pinhão manso. É uma planta perene, tendo longevidade superior a 50 anos, seu porte é de um arbusto, embora a relatos de plantas com até 20 m. Apresenta tronco liso, folhas longipeciouladas, recortadas, em forma de palmas, possui inflorescência em cimeira com flores amarelo-esverdeadas, monóicas, unissexuais. Por ser uma planta alógama, ou seja, com aproximadamente 95% da polinização cruzada, a produção de frutos é dependente da ação de insetos polinizadores. O fruto encontra-se em cápsula trolocular, podendo haver em cada lóculo uma semente. A semente é uma amêndoa oleaginosa, inicialmente apresentando uma cor esverdeada, passando para o amarelo e quando madura apresenta uma coloração marrom. Relatos recentes demonstram que a espécie é nativa dos trópicos centro e sul-americano, especialmente Brasil e México (ACHTEN, MAES *et al.*, 2010); entretanto, há controvérsias sobre sua real origem e centro de dispersão.

Pode ser cultivada em várias condições climáticas, desde áreas com precipitação entre 200 e 1500 mm por ano, mas cresce melhor em locais com uma precipitação anual acima de 600 mm (ABOU-KHEIRA e ATTA, 2009). A sua facilidade de propagação

em larga escala e sua ampla adaptação a condições edafoclimáticas bastante diversas resultou em seu desenvolvimento e fixação em regiões longínquas do seu bioma original (OPENSHAW, 2000; TOMINAGA, KAKIDA *et al.*, 2007).

J. curcas pode ser considerada uma solução sustentável para a produção de biocombustível, pois promove desenvolvimento socioeconômico (POMPELLI, OROZCO *et al.*, 2011) e recuperação da qualidade do solo de áreas degradadas (ACHTEN, MAES *et al.*, 2010). Ogunwole *et al.* (2009) e Chen *et al.* (2008) afirmam que em um curto período de cultivo de pinhão manso em área degradada, pode ser observado uma redução de 20% na densidade do solo, foi aumentado também as partículas orgânicas associadas ao carbono e ao nitrogênio em cerca de 30%, promovendo maior nível de matéria orgânica e fertilidade do solo. O cultivo de pinhão manso caracteriza-se por possuir um alto potencial para o controle da erosão do solo pelo vento e pela água, através de mecanismos de quebra vento e captura de sedimentos durante o escoamento superficial (REUBENS, ACHTEN *et al.*, 2011). Isso se dá devido ao seu sistema radicular composto basicamente por uma raiz principal e quatro laterais orientadas perpendicularmente, que promovem uma cobertura do solo, mesmo em ambientes muito secos (REUBENS, ACHTEN *et al.*, 2011). Devido a essa série de fatores o pinhão manso pode ser considerado como uma boa opção agrícola principalmente para as regiões áridas e semiáridas do globo (POMPELLI, BARATA-LUÍS *et al.*, 2010).

Semelhante a outras tantas plantas lenhosas, o pinhão manso apresenta um rígido controle dos seus estômatos, permitindo alcançar uma excelente eficiência do uso da água (ABOU-KHEIRA e ATTA, 2009). Essas características, aliadas aquelas de cultivo, permitiram que a espécie fosse cultivada, inclusive, em terras com pouca ou restritas estratégias de irrigação. Isso nos leva a crer que o controle da condutância estomática seja o principal aspecto da tolerância à seca dessa espécie (ABOU-KHEIRA e ATTA, 2009; POMPELLI, BARATA-LUÍS *et al.*, 2010; ARCOVERDE, RODRIGUES *et al.*, 2011; SANTOS, VERÍSSIMO *et al.*, 2013). Ademais, o pinhão manso apresenta abscisão foliar quando cultivado por longos períodos sem chuva (EL-SHARKAWY, 2007). *In totum*, esses dois mecanismos permitem uma melhoria na eficiência do uso da água.

Recentemente *J. curcas* foi incluída como uma espécie aclimatada a condições de déficit hídrico (OGUNWOLE, CHAUDHARY *et al.*, 2009; POMPELLI, BARATALUÍS *et al.*, 2010; SANTOS, VERÍSSIMO *et al.*, 2013). Estudos de Pompelli *et al.* (2010) verificaram que árvores originárias de um mesmo banco de plântulas (*i.e.*, mesmo *pool* gênico) ao serem desenvolvidas em condições distintas de água se comportavam diferentemente, podendo ser um mecanismo de plasticidade fenotípica. Neste trabalho, os autores mostraram, ainda, que as sementes originárias das plantas cultivadas em região mais úmida apresentaram sementes menores, porém maiores concentrações de óleo (~12%), menor velocidade de germinação, bem como plântulas com maior vigor quando comparadas as plantas cultivadas em região semiárida. Por outro lado, as sementes originárias das plantas cultivadas na região semiárida apresentaram maior sincronismo na germinação - uma característica benéfica em uma região com baixo regime pluviométrico. Estes entre outros tantos trabalhos atuais mostram as diversas estratégias (*e.g.* controle estomático, abscisão foliar, *endurecimento*, entre outros mecanismos adaptativos morfofisiológicos) demonstram como *J. curcas* pode ser uma espécie altamente plástica às variações sazonais, propiciando seu estabelecimento em diferentes tipos de ambientes.

Estômatos: Desenvolvimento e Adaptações

Os estômatos originam-se de uma divisão anticlinal assimétrica de uma célula protodérmica, que origina a célula-mãe da célula-guarda, e que posteriormente se divide paralelamente ao eixo principal da folha, formando um par de células-guarda. Durante o processo de seu desenvolvimento, estas células assumem uma forma reniforme característica e a dissolução da lamela mediana contígua forma uma fenda central – o ostíolo ou abertura estomática (MENEZES, SILVA *et al.*, 2006).

Ao conjunto células-guarda e células subsidiárias, que auxiliam na abertura e fechamento estomático, se dá o nome de estômato ou complexo estomático (FAHN, 1990). Este aparelho celular, altamente especializado, regula a assimilação de CO₂ na planta e a perda de vapor de água através de mudanças no turgor das células-guarda (FAHN, 1990). Este mecanismo é de grande importância na capacidade da planta de responder às mudanças ambientais, abrindo e fechando seus estômatos em função da captação de CO₂ e perda de vapor de água para a atmosfera (HETHERINGTON e WOODWARD, 2003).

Durante a evolução das plantas do ambiente aquático para o terrestre (HETHERINGTON e WOODWARD, 2003), o desenvolvimento de estômatos foi considerado uma fase crítica, pois possibilitou um melhor controle da perda de água no ambiente terrestre, diferentemente do que ocorria no ambiente aquático. A resistência à difusão estomática está diretamente relacionada com o tamanho e a disposição espacial dos estômatos na superfície da folha, *i.e.*, deve haver um equilíbrio entre o tamanho e o número de estômatos numa determinada área (WANG, NGWENYAMA *et al.*, 2007). Assim, uma epiderme com estômatos pequenos pode reduzir a condutância estomática em cada unidade estomática, mas aumentar a eficiência do uso da água (POULOS, GOODALE *et al.*, 2007). De forma que o tamanho do estômato é considerado por muitos pesquisadores um mecanismo-chave no entendimento das relações hídricas de plantas (MOLINA, ACEDO *et al.*, 2006; GALMÉS, ABADÍA *et al.*, 2007; XU e ZHOU, 2008). Por outro lado, outros autores discutem se as variações no tamanho dos estômatos pode levar a grandes alterações em nível de economia de água (LIAO, CHANG *et al.*, 2005; ZHAO, YANG *et al.*, 2006; POMPELLI, MARTINS *et al.*, 2010). Entretanto, é consenso que a densidade estomática é relativamente mais plástica e potencialmente adaptável às mudanças ambientais em comparação com o comprimento e/ou largura do estômato (LAKE e WOODWARD, 2008; SEKIYA e YANO, 2008; POMPELLI, MARTINS *et al.*, 2010).

É conhecido que a densidade estomática é determinada pela iniciação estomática durante a ontogênese e pela expansão das células epidérmicas, numa fase posterior (FAHN, 1990). Embora não seja claramente entendido como a densidade estomática é controlada durante o desenvolvimento da folha (BERGMANN, 2004), acredita-se que possíveis fontes de sinais sistêmicos, como os hormônios vegetais, *e.g.* citocinina e ABA estejam envolvidos nessa regulação (WERNER, MOTYKA *et al.*, 2003; LAKE e WOODWARD, 2008; ACHARYA e ASSMANN, 2009). Segundo tais autores, sinais ambientais, tais como a luz e o aumento da concentração de CO₂ na atmosfera, são percebidos por folhas maduras afetando diretamente o desenvolvimento dos estômatos nas folhas em desenvolvimento (LAKE, QUICK *et al.*, 2001; COUPE, PALMER *et al.*, 2006; CASSON e HETHERINGTON, 2010), mostrando haver uma ligação entre as células maduras e aquelas em desenvolvimento.

O perfil de diferenciação dos estômatos também é uma resposta às condições ambientais, de forma que a folha pode alterar a densidade e/ou o tamanho dos estômatos, conforme sua necessidade de aclimação conforme condições ambientais. Entretanto, tais ajustes só podem ser percebidos durante o desenvolvimento das folhas; tornando-se, então, insensíveis às mudanças ambientais após sua completa expansão (ROGIERS, HARDIE *et al.*, 2011). Em contraste, o tamanho do poro estomático é facilmente ajustável em resposta ao ambiente externo (RAHNAMA, JAMES *et al.*, 2010); respostas estas acontecem em fração de segundos (RIBEIRO, MACHADO *et al.*, 2009). Por outro lado, acredita-se que o índice estomático, entendido como uma relação entre o número de estômatos e número de células epidérmicas numa determinada unidade de área, não é passível de alteração, sendo intrínseco da espécie (SALISBURY, 1928). Esta invariabilidade, entretanto, é discutida por muitos autores (LAKE, QUICK *et al.*, 2001; LIAO, CHANG *et al.*, 2005; MIYAZAWA, LIVINGSTON *et al.*, 2006; ZHAO, YANG *et al.*, 2006; POMPELLI, MARTINS *et al.*, 2010).

Modificações na densidade estomática, como forma de resposta a vários fatores ambientais, a elevada concentração de CO₂, o estresse térmico, estresse salino e hídrico (DONG e BERGMANN, 2010), bem como na densidade de plantas (ZHANG, WANG *et al.*, 2003). A exemplo de folhas desenvolvidas em diferentes condições ambientais, alterações morfológicas como redução da área foliar e variações tanto no número como no tamanho dos estômatos têm sido relatados para inúmeras espécies, a exemplo de *Coffea arabica* L. (POMPELLI, FERREIRA *et al.*, 2010), *Quercus robur* (BEERLING e CHALONER, 1993), espécies de *Jatropha* L. (OLOWOKUDEJO, 1993), *Mangifera indica* (ZAHARAH e RAZI, 2009), *Manihot sculenta* (RIBEIRO, CARVALHO *et al.*, 2012). Na totalidade destes trabalhos, tais variações morfológicas estão relacionadas principalmente à quantidade de radiação solar e à disponibilidade hídrica (MATTOS, BRAZ *et al.*, 2004).

Espécies do gênero *Jatropha*, de modo geral, possuem folhas anfiestomáticas e estômatos do tipo braquiparacíticos (DEHGAN e WEBSTER, 1979; FAHN, 1990). A presença de estômatos nas duas faces da epiderme foliar é comum em plantas xerofíticas, apresentando mecanismos fisiológicos altamente eficientes (MENEZES, SILVA *et al.*, 2006). Como por exemplo, temos que *Jatropha molissima* apresenta estômatos que se encontram ao mesmo nível das demais células da epiderme, enquanto

que em *J. ribifolia* os seus estômatos se sobressaem em relação às células adjacentes (LEAL e AGRA, 2005). O mesmo acontece com *Coffea canefora* e *C. arabica*, onde na primeira, os estômatos estão localizados acima das demais células da epiderme (TenCaten, A. Universidade Federal de Viçosa, comunicação pessoal), enquanto que em *C. arabica* (POMPELLI, MARTINS *et al.*, 2010) eles se encontram ao mesmo nível das células da epiderme. Embora haja alguns poucos relatos com duas outras espécies nativas de *Jatropha*, não há até então nenhum estudo que descreva a morfologia estomática de *J. curcas*, lacuna que este estudo pretende começar a preencher.

Parâmetros ecofisiológicos envolvidos com o déficit hídrico

Mudanças ambientais frequentemente associados com a sazonalidade encontrada na região nordeste (*e.g.* variações na incidência luminosa, temperatura, umidade do ar, precipitação e disponibilidade de água no solo), afetam diretamente as trocas gasosas, o metabolismo de carboidratos e de um modo geral o desenvolvimento da planta ao longo do ano (LIMA, OLIVEIRA *et al.*, 2002). Ademais, os fatores climáticos e a interação entre outras espécies vegetais, devido a competição por luz, alelopatia, herbivoria, entre outros mecanismos, também são fatores que merecem destaque especialmente em regiões tropicais (SANTOS, ARAUJO. *et al.*, 2008).

De modo geral, a intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO₂, o teor de nitrogênio da folha e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética dos vegetais (MARENCO e LOPES, 2005). O processo de abertura estomática está relacionado principalmente com a intensidade de luz, e ao estado de hidratação da folha e das células guarda. Dessa forma, o funcionamento dos estômatos e a área foliar influenciam na produtividade do vegetal, o primeiro controlando a absorção de CO₂ e o segundo porque determina a interceptação de luz (COSTA e MARENCO, 2007).

Condições ambientais extremas tais como altas temperaturas ou seca, podem afetar a atividade fotossintética em diferentes tipos de plantas, em especial nas plantas lenhosas (KRAMER e KOSLOWSKI, 1989). Neste sentido, uma diminuição na taxa de fotossíntese líquida e transpiração é normalmente observada em plantas sob condições de seca e ou em ambientes onde a demanda evaporativa é muito elevada (FENG e CAO, 2005; SAIBO, LOURENÇO *et al.*, 2009; POMPELLI, BARATA-LUÍS *et al.*, 2010;

ARCOVERDE, RODRIGUES *et al.*, 2011; CAMPOS, HSIE *et al.*, 2012; SANTOS-SILVA, ABREU *et al.*, 2012). Isto porque se a planta perde água a uma taxa superior à sua capacidade de absorção e transporte, o potencial hídrico da folha diminui, levando ao fechamento dos estômatos e consequente redução da fotossíntese líquida.

Em situações de baixa disponibilidade de água no solo, as plantas também reduzem a perda de água ao reduzir a condutância estomática (HSIAO, 1973; OREN, SPERRY *et al.*, 1999). De certo modo, a sensibilidade da fotossíntese às mudanças no status hídrico da planta se dá porque os estômatos se fecham para conservar água (LAWLOR e TEZARA, 2009; GUO, ZHANG *et al.*, 2010), especialmente nas horas mais quentes do dia (TENHUNEN, LANGE *et al.*, 1981). Deste modo, variações no potencial hídrico da folha podem afetar a assimilação do carbono da planta.

Em meses mais secos do ano, uma maior manutenção de fechamento estomático diário, bem como a menor abertura dos estômatos, reduz a condutância estomática e a fixação de CO₂ (SMEDLEY, DAWSON *et al.*, 1991; SANTOS-SILVA, ABREU *et al.*, 2012; SANTOS, VERÍSSIMO *et al.*, 2013) e mais luz é absorvida do que o necessário para as reações fotoquímicas da fotossíntese (TENHUNEN, LANGE *et al.*, 1981). Tanto em alta, quanto em baixa temperatura uma pressão sobre o aparato fotossintético é imposta; pressão que pode levar a uma fotoinibição (DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1992; DEMMIG-ADAMS e ADAMS III, 1996). Quando a taxa fotossintética diminui, a energia luminosa absorvida não usada na fotossíntese tem de ser dissipada para evitar danos ao cloroplasto, causado por espécies reativas de oxigênio (HUNNER, ÖQUIST *et al.*, 1993).

A seca e a salinidade são os dois maiores estresses abióticos que afetam o crescimento das plantas, especialmente em regiões tropicais, principalmente devido ao regime pluviométrico, forte incidência luminosa e alta taxa evapotranspiratória do solo, bem como a alcalinidade do solo na região nordeste (HERNANDEZ, OLMOS *et al.*, 1995; ZHU, 2002). O estresse osmótico afeta virtualmente todos os aspectos da fisiologia e metabolismo das espécies. Os efeitos deletérios da falta de água no crescimento das plantas estão associados com a redução do potencial osmótico da solução do solo (estresse hídrico), distúrbios nutricionais, efeito específico de alguns íons (estresse iônico) ou uma combinação desses fatores (MUNNS, 2002).

Levando em conta todos os fatores ambientais ao qual a planta é exposta, uma característica notável é a sua capacidade de responder plasticamente às mudanças em seu ambiente (GRIME, CRICK *et al.*, 1986; SULTAN, 2000; GIVNISH, 2002). Embora a plasticidade seja assumida como sendo um parâmetro adaptativo, poucos estudos investigaram os efeitos da disponibilidade de recursos sobre as contribuições da folha de planta e plasticidade para nível de produtividade (POOTER, 1999; HESCHEL, SULTAN *et al.*, 2004; MONTGOMERY, 2004; PONS e ANTEN, 2004; MONCLUS, DREYER *et al.*, 2006). Compreender o significado funcional das respostas da planta a heterogeneidade do meio ambiente é importante para a identificação de quais características são susceptíveis a evolução adaptativa (ACKERLY, DUDLEY *et al.*, 2000) e para a identificação de preditores de produtividade (MONCLUS, DREYER *et al.*, 2006). Esta informação também é essencial para a modelagem de respostas dos sistemas naturais e agrícolas a influências humanas (FUNK e LERDAU, 2004).

A densidade estomática é indicada como um importante parâmetro ecofisiológico que afeta as trocas gasosas (CEULEMANS, PRAET *et al.*, 1995). O aumento na densidade estomática ou mesmo no índice estomático pode levar a um aumento no fluxo de CO₂ nas folhas, por meio de alterações na condutância estomática (g_s) (RIIKONEN, KETS *et al.*, 2008). No entanto, Paoletti e Gellini (1993) sugerem que o principal fator de redução de g_s , não é a alteração na densidade estomática, mas a redução da abertura estomática.

De acordo com Miyazawa *et al.* (2006), existe ainda uma baixa correlação tanto de fotossíntese líquida ou transpiração com o índice estomático, apesar de um distinto comportamento quando a análise se dá com a g_s . Uma maior densidade estomática pode permitir uma menor abertura estomática em um menor espaço de tempo, permitindo uma captura mais eficiente do CO₂ e conseqüentemente reduzindo a transpiração, condições que *in totum*, denotam um maior EUA_i (CASTRO, PEREIRA *et al.*, 2009; BATISTA, GUIMARÃES *et al.*, 2010; SOUZA, MAGALHÃES *et al.*, 2010). Assim, um aumento na densidade estomática promovendo uma redução na resistência estomática geral ($1/g_s$) poderia compensar o aumento na resistência ao fluxo de CO₂ para o mesófilo (RADOGLU e JARVIS, 1990; CERQUEIRA, 1992; WOODWARD, 1998; LIAO, CHANG *et al.*, 2005; MIYAZAWA, LIVINGSTON *et al.*, 2006)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDU-AGUYE, I. et al. Acute toxicity studies with *Jatropha curcas*. **Hum Toxicol**, v. 5, n. 4, p. 269-274, 1986.
- ABOU-KHEIRA, A. A.; ATTA, N. M. M. Response of *Jatropha curcas* L. to water deficit: Yield, water use efficiency and oil seed characteristics. **Biomass Bioenerg**, v. 33, n. 10, p. 1343-1350, 2009.
- ACHARYA, B. R.; ASSMANN, S. M. Hormone interactions in stomatal function. **Plant Mol Biol**, v. 69, n. 4, p. 451-462, 2009.
- ACHTEN, W. M. J. et al. Biomass production and allocation in *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. **Biomass Bioenerg**, v. 34, n. 5, p. 667-676, 2010.
- _____. Towards domestication of *Jatropha curcas*. **Biofuels**, v. 1, n. 1, p. 91-107, 2010.
- ACIKGOZ, E. et al. Forage soybean production for seed in mediterranean environments. **Field Crops Res**, v. 110, n. 3, p. 213-218, 2009.
- ACKERLY, D. D. et al. The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. **Bioscience**, v. 50, n. 11, p. 979-995, 2000.
- ARCOVERDE, G. B. et al. Water relations and some aspects of leaf metabolism of *Jatropha curcas* young plants under two water deficit levels and recovery. **Braz J Plant Physiol**, v. 23, n. 2, p. 123-130, 2011.
- BATISTA, L. A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Rev Ciência Agr**, v. 41, n. 3, p. 475-481, 2010.
- BEERLING, D. J.; CHALONER, W. G. The impact of atmospheric CO₂ and temperature change stomatal density: observations from *Quercus robur* Lammas leaves. **Ann Bot**, v. 71, n. 3, p. 231-235, 1993.
- BELTRÃO, N. E. M. et al. Ecofisiologia. In: AZEVEDO, D. M. P. e BELTRÃO, N. E. M. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Algodão, 2007. p.45-71.
- BERGMANN, D. C. Integrating signals in stomatal development. **Curr Opin Plant Biol**, v. 7, n. 1, p. 26-32, 2004.
- BIODIESELBR. Brasil foi o segundo maior produtor de biodiesel do mundo em 2010. Curitiba, 2011. Disponível em: < www.biodieselbr.com/noticias/bio/brasil-segundo-maior-produtor-biodiesel-030811.htm >. Acesso em: 08 jan 2013.
- BIOVALE. Perspectivas do negócio de biocombustíveis no Brasil e no mundo. São Paulo, 2009. Disponível em: < www.slideshare.net/Teias/biodiesel-perspectivas-no-brasil-e-no-mundo.htm >. Acesso em: 08 jan 2013.
- BRASIL. Boletim mensal do Biodiesel. Brasília, 2012. Disponível em: < www.anp.gov.br >. Acesso em: 08 jan 2013.
- CAMPOS, M. L. O. et al. Photosynthesis and antioxidant activity mechanisms in *Jatropha curcas* L. under salt stress. **Braz J Plant Physiol**, v. 24, n. 1, p. 55-67, 2012.

CASSON, A. S.; HETHERINGTON, A. M. Environmental regulation of stomatal development. **Plant Biol**, v. 13, n. 1, p. 90-95, 2010.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: Estrutura e função dos órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009.

CERQUEIRA, Y. M. Efeito da deficiência de água na anatomia foliar de cultivares de mandioca *Manihot esculenta* Crantz. I - densidade estomática. **Sitientibus**, v. 10, n. 1, p. 103-115, 1992.

CEULEMANS, R.; PRAET, L. V.; JIANG, X. N. Effects of CO₂ enrichment, leaf position and clone on stomatal index and epidermal cell density in poplar (*Populus*). **New Phytol**, v. 131, n. 1, p. 99-107, 1995.

CHEN, B.; LANDSMAN-ROSS, R. E.; OLENYIK, K. **Jatropha curcas L.: biodiesel solution or all hype?** Chicago University: Spring, 2008. 33

COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2007.

COSTA, R. A bela ou a fera? **Biodieselbr**, v. 1, n. 3, p. 16-20, 2008.

COUPE, S. A. et al. Systemic signalling of environmental cues in Arabidopsis leaves. **J Exp Bot**, v. 57, n. 2, p. 329-341, 2006.

DEHGAN, B.; WEBSTER, G. L. **Morphology and infrageneric relationships of the genus Jatropha (Euphorbiaceae)**. Berkeley: University of California Press, 1979. 75

DEMIRBAS, A. **Biofuels: Green energy and technology**. London: Springer Editor, 2009. 343

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS III, W. W. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. **Trends Plant Sci**, v. 1, n. 1, p. 21-26, 1996.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol**, v. 43, n. 1, p. 599-626, 1992.

DONG, J.; BERGMANN, D. C. Stomatal patterning and development. **Dev Biol**, v. 91, n. 10, p. 267-297, 2010.

DUARTE, A. Esperança nacional. **Biodieselbr**, v. 1, n. 1, p. 24-34, 2008.

EBB. The EU biodiesel industry. Belgium, 2010. Disponível em: < www.ebb-eu.org/stats.php >. Acesso em: 08 jan 2013.

EL-SHARKAWY, M. A. Physiological characteristics of cassava tolerance to prolonged drought in the tropics: Implications for breeding cultivars adapted to seasonally dry and semiarid environments. **Braz J Plant Physiol**, v. 19, n. 4, p. 257-286, 2007.

ESCANDON, J. M. et al. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. **Ind Crops Prod**, v. 44, n. 1, p. 684-690, 2013.

FAHN, A. **Plant Anatomy. 2nd edition**. 2nd. Oxford, USA: Butterworth Heinemann, 1990. 588

- FAIRLESS, D. The little shrub that could - maybe. **Nature**, v. 449, n. 7163, p. 652-655, 2007.
- FENG, Y. L.; CAO, K. F. Photosynthesis and photoinhibition after night chilling in seedlings of two tropical tree species grown under three irradiances. **Photosynthetica**, v. 43, n. 4, p. 567-574, 2005.
- FUNK, J. L.; LERDAU, M. T. **Photosynthesis in forest canopies**. 2. San Diego: Academic Press - Ecology, 2004. 543
- GALMÉS, J. et al. Photoprotection processes under water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits. **Physiol Plant**, v. 130, n. 4, p. 495-510, 2007.
- GIVNISH, T. J. Ecological constraints on the evolution of plasticity in plants. **Evol Ecol**, v. 16, n. 3, p. 213-242, 2002.
- GRIME, J. P.; CRICK, J. C.; RINCON, J. E. The ecological significance of plasticity. In: JENNINGS, D. H. e TREWAVAS, A. J. (Ed.). **Plasticity in Plants**. New York: Biologist Limited, v.40, 1986. p.5-29.
- GROSSER, M. **Diesel, the man & the engine**. California: California University Press, 1978. 166
- GUO, X. Y.; ZHANGL, X. S.; HUANG, Z. Y. Drought tolerance in three hybrid poplar clones submitted to different watering regimes. **J Plant Ecol-UK**, v. 3, n. 2, p. 79-87, 2010.
- HERNANDEZ, J. A. et al. Salt induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. **Plant Sci**, v. 105, n. 2, p. 151-167, 1995.
- HESCHEL, M. S. et al. Population differentiation and plastic responses to drought stress in the generalist annual *Polygonum persicaria*. **Int J Plant Sci**, v. 165, n. 5, p. 817-824, 2004.
- HETHERINGTON, A. M.; WOODWARD, F. I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. **Nature**, v. 424, n. 1, p. 901-908, 2003.
- HSIAO, T. C. Plant responses to water stress. **Ann Rev Plant Phys**, v. 24, n. 1, p. 519-570, 1973.
- HUNNER, N. P. et al. Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. **Photosynth Res**, v. 37, n. 1, p. 19-39, 1993.
- KRAMER, P. J.; KOSLOWSKI, T. **Physiology of wood plants**. New York: Academic Press, 1989. 811
- LAKE, J. A. et al. Signals from mature to new leaves. **Nature**, v. 411, n. 6834, p. 154, 2001.
- LAKE, J. A.; WOODWARD, F. I. Response of stomatal number to CO₂ and humidity control by transpiration rate and abscisic acid. **New Phytol**, v. 179, n. 2, p. 397-404, 2008.
- LAWLOR, D. W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Ann Bot**, v. 103, n. 4, p. 561-579, 2009.

- LEAL, C. K. A.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Jatropha molissima* (Pohl) Baill. e *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae). **Acta Farm Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 5-13, 2005.
- LIAO, J.-X.; CHANG, J.; WANG, G.-X. Stomatal density and gas exchange in six wheat cultivars. **Cereal Res Commun**, v. 33, n. 4, p. 719-726, 2005.
- LIMA, D. U. et al. Avaliação sazonal da produção de borracha e da dinâmica de carboidratos solúveis em plantas de seringueira (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) cultivadas em Lavras, Minas Gerais. **Rev Arvore**, v. 26, n. 3, p. 377-383, 2002.
- LU, H. et al. Production of biodiesel from *Jatropha curcas* L. oil. **Comput Chem Eng**, v. 33, n. 5, p. 1091-1096, 2009.
- MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa: Editora UFV, 2005. 451
- MARTÍNEZ-HERRERA, J. et al. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. **Food Chem**, v. 96, n. 1, p. 80-89, 2006.
- MATTOS, E. A. et al. Variação espacial e temporal em parâmetros fitoecológicos de plantas. In: ROCHA, C. F. D.; ESTEVES, F. A., et al (Ed.). **Pesquisas de longa duração na restinga de Jurubatiba. Ecologia, história natural e conservação**. São Carlos: Editora Rima, 2004. p.99-116.
- MENEZES, N. L.; SILVA, D. C.; MELO DE PINNA, G. F. A. Folha. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. e CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia Vegetal, 2ª edição revista e atualizada**. Viçosa: Editora da UFV, 2006. p.303-325.
- MIYAZAWA, S.-I.; LIVINGSTON, N. J.; TURPIN, D. H. Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*). **J Exp Bot**, v. 57, n. 2, p. 373-380, 2006.
- MOLINA, A.; ACEDO, C.; LLAMAS, F. The relationship between water availability and anatomical characters in *Carex hirta*. **Aquat Bot**, v. 85, n. 3, p. 257-262, 2006.
- MONCLUS, R. et al. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* x *Populus nigra*. **New Phytol**, v. 169, n. 2, p. 765-777, 2006.
- MONTGOMERY, R. Relative importance of photosynthetic physiology and biomass allocation for tree seedling growth across a broad light gradient. **Tree Physiol**, v. 24, n. 2, p. 155-167, 2004.
- MOON, J. F. **Rudolf Diesel and the diesel engine**. Madison: Wisconsin University Press, 1974. 96
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell Environ**, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.
- NASS, L. L.; PEREIRA, P. A. A.; ELLIS, D. Biofuels in Brazil: an overview. **Crop Sci**, v. 47, n. 6, p. 2228-2237, 2007.
- NEGRELLO, L.; ZENTI, L. Revolução verde. **Biodieselbr**, v. 1, n. 1, p. 12-17, 2007.

- _____. Nasce uma potência. **Biodieselbr**, v. 1, n. 2, p. 16-20, 2008.
- NETO, M. O biodiesel no Brasil e no mundo. **Exame**, v. 887, n. 1, p. 15-18, 2007.
- OGUNWOLE, J. O. et al. Improvement of the quality of a degraded Entisol with *Jatropha curcas* L under an Indian semi arid condition. Índia, p. Discipline of Phytosalinity, Central Salt and Marine Chemicals Research Institute., 2009. Acesso em: 08 jan 2013.
- OLWOKUDEJO, J. E. Comparative epidermal morphology of West African species of *Jatropha* L. (Euphorbiaceae). **Bot J Linn Soc**, v. 111, n. 2, p. 139-154, 1993.
- OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass Bioenerg**, v. 19, n. 1, p. 1-15, 2000.
- OREN, R. et al. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. **Plant Cell Environ**, v. 22, n. 12, p. 1515-1526, 1999.
- PADUAN, R. O biodiesel virou negócio. **Exame**, v. 887, n. 1, p. 12-20, 2007.
- PAOLETTI, E.; GELLINI, R. Stomatal density variation in beech and holm oak leaves collected over the last 200 years **Acta Oecol**, v. 14, n. 2, p. 173-178, 1993.
- PARENTE, E. J. S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: Unigráfica, 2003.
- POMPELLI, M. F. et al. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass Bioenerg**, v. 34, n. 8, p. 1207-1215, 2010.
- _____. Environmental influence on the physico-chemical and physiological properties of *Jatropha curcas* L. seeds. **Aust J Bot**, v. 58, n. 6, p. 421-427, 2010.
- _____. What is the influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants grown under full-sun and shady conditions? **Braz J Biol**, v. 70, n. 4, p. 1083-1088, 2010.
- _____. Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis. **Revista Agronomía Colombiana**, v. 29, n. 2, p. 361-371, 2011.
- PONS, T. L.; ANTEN, N. P. Is plasticity in partitioning of photosynthetic resources between and within leaves important for whole-plant carbon gain in canopies? **Funct Ecol**, v. 18, n. 6, p. 802-811, 2004.
- POOTER, L. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. **Funct Ecol**, v. 13, n. 3, p. 396-410, 1999.
- POULOS, H. M.; GOODALE, U. M.; BERLYN, G. P. Drought response of two Mexican oak species, *Quercus laceyi* and *Q. sideroxyla* (Fagaceae), in relation to elevational position. **Am J Bot**, v. 94, n. 5, p. 809-818, 2007.
- PRAMANIK, K. Properties and use of *Jatropha curcas* oil and diesel fuel blends in compression ignition engine. **Renew Energ**, v. 28, n. 2, p. 239-248, 2003.

RADOGLU, K. M.; JARVIS, P. G. Effects of CO₂ enrichment on four poplar clones. II. Leaf surface properties. **Ann Bot**, v. 65, n. 6, p. 627-632, 1990.

RAHNAMA, A. et al. Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil. **Funct. Plant Biol**, v. 37, n. 3, p. 255-263, 2010.

REUBENS, B. et al. More than biofuel? *Jatropha curcas* root system symmetry and potential for soil erosion control. **J Arid Environ**, v. 75, n. 2, p. 201-205, 2011.

RIBEIRO, M. N. O. et al. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Rev Ciência Agr**, v. 43, n. 2, p. 354-361, 2012.

RIBEIRO, R. V. et al. Seasonal and diurnal changes in photosynthetic limitation of young sweet orange trees. **Environ Exp Bot**, v. 66, n. 2, p. 203-211, 2009.

RIIKONEN, J. et al. Carbon gain and bud physiology in *Populus tremuloides* and *Betula papyrifera* grown under long-term exposure to interacting elevated CO₂ and O₃. **Tree Physiol**, v. 28, n. 2, p. 243-254, 2008.

ROGIERS, S. Y.; HARDIE, W. J.; SMITH, J. P. Stomatal density of grapevine leaves (*Vitis vinifera* L.) responds to soil temperature and atmospheric carbon dioxide. **Austr. J. Grape Wine Res**, v. 17, n. 2, p. 147-152, 2011.

SAIBO, N. J. N.; LOURENÇO, T.; OLIVEIRA, M. M. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. **Ann Bot**, v. 103, n. 4, p. 609-623, 2009.

SALISBURY, E. J. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. **Philos T R Soc B**, v. 216, n. 431-439, p. 1-65, 1928.

SANTOS-SILVA, M. M. et al. Photosynthesis and photoprotection mechanisms in umbu plants under different water regimes. **Environ Exp Bot**, v. submitted article, 2012.

SANTOS, C. M. et al. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subjected to water stress. **Ind Crops Prod**, v. 41, n. 1, p. 203-213, 2013.

SANTOS, J. P.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. Richness and distribution of useful woody plants in the semi-arid region of northeastern Brazil. **J Arid Environ**, v. 72, n. 5, p. 652-663, 2008.

SEBRAE. **Biodiesel**. Brasília: Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, 2009. 62

_____. **Biodiesel**. Brasília: Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, 2010. 68

SEKIYA, N.; YANO, K. Stomatal density of cowpea correlates with carbon isotope discrimination in different phosphorus, water and CO₂ environments. **New Phytol**, v. 179, n. 3, p. 799-807, 2008.

SMEDLEY, M. P. et al. Seasonal carbon isotope discrimination in a grassland community. **Oecologia**, v. 85, n. 3, p. 314-320, 1991.

- SOUZA, T. C. et al. Leaf plasticity in successive selection cycles of 'Saracura' maize in response to periodic soil flooding. **Pesqui Agropecu Bras**, v. 45, n. 1, p. 16-24 2010.
- SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. **Trends Plant Sci**, v. 5, n. 12, p. 537-542, 2000.
- TENHUNEN, J. D.; LANGE, O. L.; BRAUN, M. Midday stomatal closure in Mediterranean type sclerophylls under simulated habitat conditions in an environmental chamber. II. Effects of the complex leaf temperature and air humidity on gas exchange of *Arbutus unedo* and *Quercus ilex*. **Oecologia**, v. 50, n. 1, p. 5-11, 1981.
- TIWARI, A. K.; KUMAR, A.; RAHEMAN, H. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: An optimized process. **Biomass Bioenerg**, v. 31, n. 8, p. 569-575, 2007.
- TOMINAGA, N.; KAKIDA, J. E.; YASUDA, E. K. **Cultivo de pinhão-manso para produção de biodiesel**. Viçosa: CPT, 2007. 220
- WANG, H. et al. Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 19, n. 1, p. 63-73, 2007.
- WERNER, T. et al. Cytokinin-deficient transgenic Arabidopsis plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. **Plant Cell**, v. 15, n. 11, p. 2532-2550, 2003.
- WILLMER, C.; ZHOU, G. Do plants really need stomata? **J Exp Bot**, London, v. 49, n. special issue, p. 471-480, 1996.
- WOODWARD, F. I. Do plants really need stomata? **J Exp Bot**, v. 49, n. special issue, p. 471-480, 1998.
- XU, Z.; ZHOU, G. Response of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. **J Exp Bot**, v. 59, n. 12, p. 3317-3325, 2008.
- ZAHARAH, S. S.; RAZI, I. M. Growth, stomata aperture, biochemical changes and branch anatomy in mango (*Mangifera indica*) cv. Chokanana in response to root restriction and water stress. **Sci Hort**, v. 123, n. 1, p. 58-67, 2009.
- ZHANG, X. Y.; WANG, H. M.; WANG, G. X. Stomatal density and distributions of spring wheat leaves under different planting densities and soil moisture levels. **Acta Phytopathol Sin**, v. 27, n. 1, p. 133-136, 2003.
- ZHAO, X. et al. Stomatal clustering in *Cinnamomum camphora*. **South Afr J Bot**, v. 72, n. 4, p. 565-569, 2006.
- ZHU, J.-K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annu Rev Plant Biol**, v. 53, n. 1, p. 247-273, 2002.

Manuscrito a ser submetido à Environmental and
Experimental Botany como pré-requisito para obtenção
do título de Mestre em Biologia Vegetal

Perfil morfofisiológico de plantas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em campo sob regimes hídricos distintos

Bety S. Hsie^a; Laurício Endres^b; Claudiana M. Santos^b; Emília C. P. Arruda^c; Marcelo F. Pompelli^{a,*}

^a Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica, CCB, Recife, PE, Brasil, 50670-901

^b Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil, 57072-900

^c Laboratório de Anatomia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil, 50670-901

* Autor para correspondência: Tel.: +55 81 2126 8844; Fax +55 81 2126 7803. E-mail: mpompelli@yahoo.com.br

RESUMO

Este estudo teve como objetivo comparar as adaptações morfofisiológicas e anatômicas de plantas adultas de *Jatropha curcas* L. cultivadas em duas regiões com diferentes perfis climatológicos; uma região caracterizada como Caatinga semiárida e outra como Mata Atlântica. As avaliações ocorreram em 2007 em duas diferentes estações do ano: estação chuvosa (julho) e estação seca (dezembro). Medidas de trocas gasosas, bem como análises da densidade e índice estomático foram realizadas nas duas estações. Durante a estação seca, em ambas as regiões, foi evidenciada um aumento na densidade estomática, bem como no índice estomático. Foi observada, ainda, a presença de estômatos anormais na estação seca, o que pode justificar o aumento tanto na densidade quanto do índice estomático. Durante a estação chuvosa, na região semiárida, *J. curcas* apresentou o melhor desempenho fotossintético e maior taxa de condutância estomática. As maiores taxas de transpiração, independente da estação do ano, foram registradas nas plantas cultivadas na região da Mata Atlântica, provavelmente atrelado ao maior déficit de pressão de vapor e temperatura foliar registrado nesta região. A maior eficiência do uso da água foi registrada durante a estação chuvosa; enquanto que a maior eficiência intrínseca do uso da água foi registrada na estação seca; ambas as características registradas, em maior intensidade nas plantas cultivadas na região semiárida. Análises de correlação do tipo canônica evidenciaram uma forte correlação entre os parâmetros de fotossíntese líquida, condutância estomática e a densidade estomática; mas uma fraca correlação com o índice estomático.

Palavras-chave: trocas gasosas, correlação canônica, densidade e índice estomático, pinhão manso, sazonalidade.

ABSTRACT

This study aimed to compare the and morpho-physiological and anatomical adaptations of adult plants of *Jatropha curcas* L. grown in two regions with different climates: (i) region characterized as semiarid Caatinga and (ii) Atlantic Forest as another. The evaluations were in two different seasons: rainy season (July) and dry season (December). Measurements of gas exchange and analysis of stomatal density and stomatal index were performed in both seasons. During the dry season, in both regions, evidenced an increase in stomatal density and index. It was also observed the presence of abnormal stomata in the dry season, which may explain the increase in both the density and stomatal index. During the rainy season, in the semiarid region, *J. curcas* showed the best photosynthesis performance and higher stomatal conductance. The highest rates of transpiration, regardless of season, were recorded in plants grown in the Atlantic Forest region, probably linked to the higher vapor pressure deficit and leaf temperature recorded in this region. The highest rate of efficiency of water use was recorded during the rainy season, while the highest rate of intrinsic efficiency of water use was recorded in the dry season, both traits recorded at a higher intensity in plants grown in the semiarid region. Canonical correlation analyzes showed a strong correlation between the parameters of net photosynthesis, stomatal conductance and stomatal density, but a weak correlation with stomatal index.

Keywords: gas exchange, canonical correlation, density and stomatal index, purging nut, seasonality.

1. Introdução

Jatropha curcas L. é uma euforbiácea nativa dos trópicos centro e sul-americano, especialmente Brasil e México (Achten et al., 2010a). Apresenta uma alta exigência de fortes irradiâncias, e se adapta muito bem em precipitações entre 200 a 1150 mm por ano (Achten et al., 2010b; Reubens et al., 2011), sendo indicada com uma espécie bem adaptada às regiões áridas e semiáridas do Brasil e do mundo (Arruda et al., 2004; Maes et al., 2009; Openshaw, 2000; Santos et al., 2010). *J. curcas* cresce bem em áreas com climas extremos, condições estas que seriam sumariamente não suportadas pela maioria das espécies de plantas agronomicamente importantes (Francis et al., 2005).

Atualmente, vários grupos de pesquisadores vêm estudando *J. curcas*, especialmente aqueles envolvendo a caracterização do seu óleo como fonte de biodiesel. Entretanto, a espécie é fracamente explorada comercialmente, pois ainda está em processo de domesticação (Achten et al., 2010b) e ainda há muito a se estudar sobre seus mecanismos adaptativos, fitossanidade, caracterização anatômica, entre outros.

A escassez de água no solo é o fator que mais limita o crescimento e o rendimento vegetal em muitas partes do mundo (Silva et al., 2010), especialmente em regiões áridas e semiáridas, onde as plantas são muitas vezes submetidas a longos períodos sem chuva. A manutenção do conteúdo de água das células dentro de uma faixa operacional é essencial para o metabolismo das plantas e sobrevivência (Holbrook, 2010). Assim, uma regulação eficiente da perda de água pelas plantas, em resposta a baixa disponibilidade de água no solo, pode ser crucial para superar condições de déficit hídrico (Galmés et al., 2007). Assim, respostas morfofisiológicas devem ocorrer, de modo a promover um desempenho diferencial sob condições limitantes de água (Izanloo et al., 2008; Souza et al., 2010). Em geral, as estratégias de prevenção ou tolerância à seca podem envolver diferentes mecanismos fisiológicos e bioquímicos que permitem o desenvolvimento e sobrevivência da planta àquelas condições (Galle et al., 2010). É bem relatado na literatura que as plantas, quando submetidas a escassez de água no solo, podem lançar mão de complexas estratégias, *e.g.*, mecanismos de “escape da seca”, com ciclo de vida rápido, mecanismos de “evitação da seca”, com a redução das taxas de transpiração e condutância estomática, bem como os mecanismos de tolerância à seca, com a manutenção do turgor dos tecidos através do ajustamento osmótico (Izanloo et al., 2008).

Fatores climáticos e a interação entre espécies, especialmente nas regiões tropicais, estão frequentemente associados com a sazonalidade (Ackerly, 2004; Craven et al., 2011; Lima and Rodal, 2010; Lu et al., 2012; Santos et al., 2013). Mudanças nos fatores ambientais ao longo das estações envolvendo variações na incidência luminosa, temperatura, umidade do ar, precipitação e disponibilidade de água no solo restringem a assimilação de CO₂ das espécies em geral (Chaves and Oliveira, 2004; Cruz et al., 2005; Cruz et al., 2008; Moya, 2004). Em condições de campo, espera-se uma grande variação sazonal anual das trocas gasosas em espécies arbóreas (Bullock *et al.*, 1995; Chaves *et al.*, 2008; Corcuera *et al.*, 2005; Craven *et al.*, 2011; Kramer and Koslowski, 1989;

Santos-Silva *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2004). Uma vez que as trocas gasosas são fortemente influenciadas pelo déficit hídrico, os efeitos inibitórios sobre a fotossíntese podem estar associados com a baixa disponibilidade de CO₂ atribuída a uma queda na condutância estomática como forma de evitar a perda de água por evaporação (Guo *et al.*, 2010; Lawlor and Tezara, 2009) ou mesmo numa baixa condutância mesofílica, desde a câmara subestomática até os sítios de carboxilação da rubisco (Bernacchi *et al.*, 2002; Grassi and Magnani, 2005; Keenan *et al.*, 2010; Ni and Pallardy, 1992; Signarbieux and Feller, 2011). De certa forma, o fechamento dos estômatos é uma resposta rápida ao déficit hídrico (Ribeiro *et al.*, 2009), sendo uma forma eficiente de reduzir a perda de vapor de água em condições limítrofes. Alguns autores discutem se apenas variações no tamanho dos estômatos podem levar a grandes alterações em nível de economia de água (Liao *et al.*, 2005; Pompelli *et al.*, 2010c; Zhao *et al.*, 2006). No entanto, é consenso que a densidade estomática é relativamente mais plástica às mudanças ambientais em comparação com o comprimento e/ou largura do estômato (Lake and Woodward, 2008; Pompelli *et al.*, 2010c; Sekiya and Yano, 2008).

Atualmente existe uma grande discussão a respeito da correlação entre a densidade estomática e as trocas gasosas, em determinadas condições ambientais (*e.g.*, déficit hídrico e salino, alta incidência luminosa, estresse térmico). Por exemplo, o aumento na densidade estomática ou mesmo no índice estomático pode levar a um aumento no fluxo de CO₂ nas folhas e um aumento da condutância estomática (*g_s*) (Pompelli *et al.*, 2010c; Riikonen *et al.*, 2008). Um grande número de estudos, têm descrito alterações morfofisiológicas como respostas adaptativas exibidas pela espécies vegetais que habitam uma determinada área sujeita ao déficit hídrico (Chaves *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 2009; Zaharah and Razi, 2009). Mesmo assim, praticamente não há trabalhos que correlacionem às alterações morfológicas em nível de estômatos com parâmetros de trocas gasosas que ocorrem nas plantas submetidas ao déficit hídrico. Assim, o objetivo do presente estudo foi correlacionar os aspectos da morfologia estomática com aqueles de trocas gasosas, em plantas de *J. curcas* desenvolvidas em condições ambientais distintas, *i.e.* Mata Atlântica e região semiárida da Caatinga, sujeitas a regimes hídricos distintos.

2. Materiais e métodos

2.1. Área de estudo

Os estudos foram conduzidos em duas distintas regiões do Estado de Alagoas, Brasil. Uma situada no município de Rio Largo (09°27' S e 35°49' W, 127 m.a.s.l.), região da planície costeira pertencente a Mata Atlântica e a outra no município de Igaci (09°33' S e 36°38' W, altitude 240 m.a.s.l.), localizado na Caatinga semiárida, a qual é descrita como uma área de transição entre o sertão e a Mata Atlântica, possuindo vegetação característica de Caatinga, com trechos de Mata Seca (Souza et al., 2005a). As duas cidades se localizam a 135 km uma da outra. A primeira região é caracterizada por um clima tropical úmido com estação chuvosa entre abril e agosto e uma estação seca de setembro a fevereiro, com precipitação anual média de aproximadamente 1500 mm, sendo o mês mais chuvoso junho (309 mm) e o mais seco novembro (24 mm) (Pompelli et al., 2010b). A região semiárida, por outro lado, se caracteriza por uma estação chuvosa bem definida entre os meses de abril a agosto e um período de seca durante os meses de verão. Esta região tem uma precipitação média anual de 900 mm, sendo junho o mês mais chuvoso (158 mm) e novembro o mais seco (21 mm) (Pompelli et al., 2010b). Em 2007, ano de análise, as variações anuais de precipitação se mantiveram dentro da variação da média histórica (14 a 251 mm para Rio Largo e de 6 a 187 mm para Igaci; Figura 1).

Os dados de temperatura do ar e precipitação durante o período experimental foram obtidos a partir de uma estação climatológica automática instalada nas regiões de estudo. A umidade do solo e a evapotranspiração atual foram obtidos de dados publicados *on line* (Agritempo, 2012).

2.2. Coleta e preparação de material botânico para os estudos morfológicos

Em cada uma das regiões descritas acima foram selecionadas 10 plantas adultas, que foram acompanhadas ao longo do ano de 2007. Entretanto, foi selecionado o mês de julho como representante da estação chuvosa e o mês de dezembro para as medidas durante a estação seca. Para as caracterizações morfológicas, foram coletadas cinco folhas de plantas distintas em cada uma das populações e em cada data. Para a coleta, foram escolhidas folhas totalmente expandidas do terceiro par de ramos plagiotrópicos, fragmentadas no seu terço médio e fixadas em FAA50 por 48h, substituídas por etanol

70% para sua preservação (Johansen, 1940). Da folha fixada procedeu a dissociação da epiderme, que foi realizada com solução de Franklin (Franklin, 1945). As folhas dissociadas foram, então, coradas com safranina 1% em etanol 50% e montados em lâminas semi-permanentes com glicerina 50% (Kraus and Arduin, 1997).

2.3. *Densidade e índice estomático*

De cada uma das cinco plantas amostradas, foram montadas 20 lâminas de cada face da epiderme (*i.e.* abaxial e adaxial), das quais foram obtidas 100 imagens através de microscopia óptica em uma objetiva de 10x. As imagens especulares foram utilizadas para a contagem de estômatos e demais células da epiderme, de modo a se estimar tanto a densidade como o índice estomático na área do campo visual ($\sim 0,6 \text{ mm}^2$). Para tanto, o software Image-Pro[®] Plus (versão 4.1, Media Cybernetics, Inc., Silver Spring USA) foi utilizado. O número de estômatos por campo foi convertido para o número de estômatos por milímetro quadrado (Pompelli et al., 2010c). O índice estomático foi estimado através da fórmula $[S / (E + S)] \times 100$, onde S é o número de estômatos e E é o número das demais células epidérmicas por unidade de área foliar.

2.4. *Trocas gasosas*

Medidas de trocas de gasosas foram realizadas em 10 plantas que foram acompanhadas ao longo do ano de 2007. As análises foram realizadas com um analisador de gases a infravermelho (LCPro, ADC Ltd. Bioscientific, Hoddesdon, UK), com uma fonte externa de luz de $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. As variáveis avaliadas foram: taxa de fotossíntese líquida (P_N), transpiração (E), condutância estomática (g_s), concentração intracelular de CO_2 (C_i), a temperatura da folha (T_f) e o déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera (δ_e).

2.5. *Análises estatísticas*

Foi realizada análise de ANOVA 2 fatores para os dados de trocas gasosas, bem como para os parâmetros morfológicos, seguido de um teste de Newman-Keuls para verificar se existe diferença significativa (α : 5%). As correlações canônicas entre o conjunto de dados foram realizadas por meio do software Statistica versão 8.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) conforme descrito por Rencher (2002). As variáveis analisadas neste estudo foram divididas em dois grupos, grupo 1 (P_N , g_s e E) e grupo 2 (DE e IE). As relações entre

estes dois conjuntos de variáveis foram explorados através de uma análise de correlação canônica (CCA). Os coeficientes canônicos ponderados (CC) revelam a importância das variáveis correspondentes, enquanto que o valor da correlação canônica descreve a medida da relação entre os dois conjuntos de variáveis (RENCHER, 2002).

3. Resultados

3.1. Caracterização Climatológica

Em ambas as regiões de estudo, foram observadas duas estações (seca e chuvosa) ao longo do ano de 2007 (Figura 1A). A região de Mata Atlântica exibiu uma precipitação total de 1843 mm, com a precipitação máxima no mês de agosto (251 mm) e mínima no mês de novembro (14 mm). A região semiárida, por sua vez, exibiu uma precipitação total de 1074 mm, com a precipitação máxima no mês de maio (188 mm) e mínima no mês de novembro (6 mm) (Figura 1A). Foi observado que o mês de novembro foi um mês atípico em ambas as regiões, caracterizado pela quase ausência de chuva, *i.e.* precipitação menor do que a média histórica (*i.e.* últimos 10 anos) para as regiões. Sendo assim, foi escolhido o mês de dezembro para as análises. Na região da Mata Atlântica a temperatura média mensal variou de 23,3 a 28,1°C, enquanto que na região semiárida foi de 21,9 a 26,7°C (Figura 1A). Embora as temperaturas da região da Mata Atlântica tivessem sido levemente mais alta do que aquelas registradas na região semiárida, não se evidenciou diferenças significativas entre as médias ao longo dos meses de observação.

Embora a evapotranspiração potencial da região da Mata Atlântica tenha sido geralmente superior àquela registrada na região semiárida, as médias só foram significativas entre si ($P \leq 0,05$) nos meses de janeiro e outubro (Figura 1B). Como resultado da interação entre a precipitação e a evapotranspiração tem-se o armazenamento de água no solo em cada um dos meses em ambas as regiões. Verifica-se que o armazenamento de água da região da Mata Atlântica se apresenta sempre maior quando em comparação ao armazenamento de água da região semiárida (Figura 1C). Na região da Mata Atlântica a variação de armazenamento de água no solo foi de 14,1 e 195 mm, enquanto que na região semiárida a variação de armazenamento de água foi de 2,5 e 113 mm. Independente da região estudada – Mata Atlântica ou Igaci –, os maiores

valores foram registrados no mês de maio (195 e 113 mm) e os menores no mês de dezembro (14,1 e 2,5 mm).

3.2. Índice e densidade estomática

Verifica-se nas figuras 2 e 3 que *J. curcas* possui folhas com estômatos do tipo anfiestomáticos, segundo classificação de Appezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro, 2006; com maior densidade de estômatos na face abaxial da epiderme (Figura 4). Na face adaxial, independente da região analisada, a DE foi 5 vezes maior na estação seca que na chuvosa (*i.e.* 11 e 60 estômatos mm^{-2} , respectivamente) (Figura 2A). Os dados de densidade de células epidérmicas (DC) e índice estomático (IE) (Figura 4C e 4E) foram ~2 vezes maior na estação seca, quando em comparação a estação chuvosa.

Avaliando a face abaxial, independente da região analisada pode ser observado que DE e DC evidenciaram um perfil semelhante aquele mostrado na face adaxial da epiderme, porém com menores variações entre os valores registrados em ambas as estações. Fato distinto, entretanto, ocorreu com o IE (Figura 4). Enquanto na face adaxial, as plantas cultivadas durante os meses de seca mostraram os maiores valores, na face abaxial estes valores foram levemente inferiores durante a estação chuvosa, com diferença significativa evidenciada somente nas plantas cultivadas na região de Semárido (Figura 4F). Assim, verifica-se que a DE da superfície adaxial da epiderme das folhas cultivadas na região da Mata Atlântica foi de 10 ± 1 e de 64 ± 3 estômatos mm^{-2} durante a estação chuvosa e seca, respectivamente. Por outro lado, a DE da superfície abaxial foi de 158 ± 4 e de 207 ± 13 estômatos mm^{-2} , respectivamente. Para as folhas obtidas da região semiárida a DE da face adaxial é de 11 ± 1 e de 56 ± 4 estômatos mm^{-2} durante a estação chuvosa e seca respectivamente. Por outro lado, a DE da superfície abaxial foi de 135 ± 2 e de 264 ± 9 estômatos mm^{-2} . Em todos os casos, pode-se verificar um aumento no número de estômatos nas plantas cultivadas durante a estação seca em ambas as regiões, observando também a presença de alguns pequenos *clusters* de estômatos mal formados ou de tamanho menor nestas folhas (Figura 3B e 3D).

3.3. Trocas gasosas

Verifica-se na figura 5 que os as trocas gasosas refletem bem as variações presentes em cada uma das condições climáticas das regiões estudadas. Quando os valores são integrados por região, verifica-se que aqueles registrados nas plantas da região semiárida foram significativamente maiores, do que aqueles registrados na região de Mata Atlântica, durante a estação chuvosa, ($P_N = 20$ e $10 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $g_s = 484$ e $224 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente) (Figura 5A e 5B). No entanto, quando analisamos a estação seca, pode ser observado um padrão invertido, em que as plantas da região de Mata Atlântica apresentaram valores superiores as da região semiárida ($P_N = 12$ e $3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $g_s = 315$ e $14 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente).

Nas plantas cultivadas na região de Mata Atlântica foram registrados os maiores valores de E (*i.e.*, $4,72$ e $4 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente para a estação chuvosa e seca), em relação àqueles registrados nas plantas cultivadas na região semiárida (*i.e.*, $1,7$ e $0,5 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente para as estação chuvosa e seca) (Figura 5C). Os maiores valores de EUA foram registrados na região semiárida, independentemente da estação (12 e $5 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Nas plantas cultivadas na região da Mata Atlântica houve um aumento de EUA nas plantas cultivadas durante a estação seca, não apresentando diferença significativa em relação a região de semiárida ($P = 0,12$). Analisando os dados de EUA_i (Figura 5F), foi observado um padrão diferenciado, em que os maiores valores foram registrados nas plantas cultivadas durante a estação seca na região semiárida ($0,08 \text{ mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$).

A temperatura foliar apresentou um padrão diferencial entre as estações. Na região semiárida, as plantas cultivadas durante a estação seca apresentaram maiores temperaturas foliares ($36,6 \pm 0,12^\circ\text{C}$) quando comparadas àquelas cultivadas durante a estação chuvosa ($29,5 \pm 0,24^\circ\text{C}$). Por outro lado, nas plantas cultivadas na Mata Atlântica, os maiores valores foram registrados durante a estação chuvosa ($49,7 \pm 0,14^\circ\text{C}$) em relação àquelas registradas durante a estação seca ($33,7 \pm 0,18^\circ\text{C}$). Parte destas variações na temperatura foliar das plantas cultivadas na região da Mata Atlântica, provavelmente se deu em virtude de valores mais elevados de déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera nestas mesmas situações (Fig. 5G).

A razão C_i/C_a , que reflete o grau de comprometimento do ciclo de Calvin em virtude do déficit hídrico, apresentou valores com uma grande amplitude de distribuição, fato que corroborou para a não determinação de significância ($P = 0,46$) entre as médias apresentadas pelas plantas cultivadas na região semiárida. Dentro das plantas cultivadas na região de Mata Atlântica verifica-se significância (SNK; $P \leq 0,05$) entre as médias apresentadas na estação chuvosa ($0,73 \pm 0,02$) e na estação seca ($0,66 \pm 0,03$) (Figura 5H).

3.4. Correlações canônicas

Uma correlação do tipo canônica foi utilizada para se avaliar o grau de influência dos parâmetros de trocas gasosas sobre a densidade e índice estomático. Dessa forma, foram realizadas análises separadas para cada região analisada. Observou-se uma correlação significativa entre o grupo 1 (P_N , g_s e E) e 2 (DE e IE) apenas na região semiárida para o primeiro par canônico (CC1) ($r = 0,829$; $P = 0,006$) (Tabela 1). Analisando os coeficientes canônicos ponderados (CC), observam-se fortes correlações entre P_N (0,986), g_s (-0,678) e E (0,456) do grupo 1, e DE (-0,802) do grupo 2. Entre o grupo 1 e 2, a correlação mais forte se dá entre P_N e DE, em que apresentam uma correlação negativa. O baixo coeficiente canônico ponderado de δ_e (0,128) sugere que essa característica apresente uma baixa influência sobre DE e IE. Em adição, o baixo coeficiente canônico ponderado de IE (-0,278), sugere que esta variável possui uma baixa relevância no que diz respeito a todos os parâmetros de trocas gasosas analisadas. Quanto aos dados da região de Mata Atlântica são analisados, não foi verificado correlação significativa ($P = 0,28$) entre os dois grupos (Tabela 1).

4. Discussão

A região nordeste do Brasil é caracterizada por um regime pluviométrico irregular, concentrado em alguns poucos meses, aliado a altas taxas evapotranspiratórias que, conjuntamente interferem no comportamento fenológico das plantas, bem como na sua morfologia e fisiologia (Sampaio, 1995). Nestas condições, espera-se um aumento na densidade estomática e uma diminuição no tamanho dos estômatos os quais devem refletir as condições de déficit hídrico com que estão frequentemente expostos (Martinez et al., 2007; Xu et al, 2008). Este estudo mostrou que *J. curcas* pode-se adaptar, de forma a elevar sua DE e DC ao mesmo tempo em que diminui sua área foliar

para se adaptar as condições limitantes de falta de água (Pompelli et al., 2012a), ou mesmo em ambientes com heterogeneidade na incidência luminosa. Sabe-se que plantas lenhosas em geral tendem a desenvolver mecanismos de diminuição na sua área foliar como uma estratégia para minimizar a perda por calor latente de evaporação e otimizar o mecanismo de resfriamento da folha (Chaves et al., 2003; Gazanchian et al., 2007; Yin et al., 2006). Neste sentido, o déficit hídrico pode inicialmente promover um aumento na DE e IE, que não é sustentado ao longo do tempo, fato que corrobora os dados aqui apresentados, onde a maior DE e IE não foi verificada nas plantas durante a estação chuvosa. Assim, espera-se que os maiores valores apresentados pelas plantas durante a estação seca serão diminuídos na próxima estação chuvosa, quando a taxa de expansão foliar é maior.

Não obstante, um aumento no *quantum* de luz que chega a folha influencia positivamente na DE e IE (Casson and Hetherington, 2010; Pompelli et al., 2010c), pois a quantidade de luz influencia no destino das células na epiderme, quando ainda na forma de primórdios (Miyazawa et al., 2006).

Verifica-se, neste estudo, uma clara compactação nas células da epiderme (Figura 3) e uma diminuição no tamanho dos estômatos principalmente durante a estação seca; mesmo que isto não tenha sido propriamente avaliado neste trabalho. Acredita-se que os *clusters* de pequenos estômatos permaneçam abertos mesmo sob condições de déficit hídrico, equilibrando a entrada de carbono através da fotossíntese e prevenindo uma maior perda de água por evaporação (Martinez et al., 2007; Spence et al., 1986). Ademais, folhas mais compactas (*i.e.*, de menor área foliar) apresentam condições mais propícias de dissipar calor sensível e conseqüentemente uma menor perda de água (Chaves et al., 2003) que, nas condições de Caatinga nordestina, pode se tornar extremamente escassa durante os meses de seca.

A depressão registrada em P_N provavelmente foi resultante do fechamento dos estômatos que conseqüentemente reduziu a concentração de CO_2 intercelular. O fenômeno do fechamento de estômatos durante a estação seca, com conseqüente decréscimo no ganho de carbono é amplamente registrado entre espécies de climas semiáridos como aquelas desenvolvidas no cerrado (Franco and Lüttge, 2002; Mattos et al., 2002), ou mesmo na Caatinga brasileira (Lima-Filho et al., 2008; Pompelli et al., 2010a; Santos et al., 2013). Um mecanismo eficiente de fechamento estomático,

acarretando, por conseguinte, reduções em P_N , permitiria a este grupo de plantas uma economia de água mesmo antes de qualquer redução do seu estado hídrico (Teramura et al., 1991; Tinoco-Ojanguren and Pearcy, 1993), fato que eleva a eficiência intrínseca do uso da água (EUA_i). A eficiência do uso da água (EUA), como uma razão entre P_N e E , por outro lado, tende a ser maior nos meses de chuva, devido principalmente as menores temperaturas atmosféricas, que interferem fortemente no processo transpiratório.

A forte diminuição da condutância estomática na região semiárida, durante os meses de seca, não foi seguido de um decréscimo significativo na razão C_i/C_a , uma evidência circunstancial de que a queda em P_N , é atribuída em grande parte ao fechamento estomático (Ni and Pallardy, 1992). Entretanto, devido a leve constância dos valores de C_i/C_a , mesmo com fortes reduções de g_s , nos leva a deduzir que houve uma limitação não estomática da fotossíntese, podendo ter havido uma limitação mesofílica ao fluxo líquido de CO_2 ou uma limitação bioquímica da fotossíntese, possivelmente por retroinibição enzimática (Buchanan and Wolosiuk, 2006). A primeira hipótese é suportada pela sensível compactação das células epidérmicas verificadas nas plantas cultivadas durante a estação seca (Figura 3B e 3D). Pompelli et al. (2012), estudando plantas de cafeeiros cultivados a pleno sol e sob sombra de 50% verificou que a densidade do mesofilo era aumentada em 10% nas plantas cultivadas sob altas luminosidades, mesmo que estas plantas não tenham experimentado limitação hídrica. Para se testar a segunda hipótese dever-se-ia analisar a atividade de algumas enzimas do ciclo de Cálvin, entretanto, este não foi o objetivo do presente trabalho.

Em termos de Mata Atlântica, uma região mais chuvosa que aquela de Caatinga, deve-se esperar que pequenos incrementos da taxa assimilatória fossem compensados pela maior nebulosidade e menor penetrância de luz nesta região. Souza et al (2005) descreve uma menor radiação global, aliada a um decréscimo na luminosidade durante a estação chuvosa em regiões de Mata Atlântica durante os meses mais chuvosos do ano. Os dados apresentados aqui estão em consonância com outros estudos já realizados com *J. curcas* (Santos et al., 2013; Yin et al., 2010).

Os dados de P_N coletados na região da Mata Atlântica nas plantas cultivadas durante a estação chuvosa apresentaram menores valores em relação à estação seca, fato possivelmente atrelado aos maiores valores de T_f e δ_e . Estudos anteriores com outras espécies lenhosas (Roy and Salager, 1992; Zots and Winter, 1996), também relataram

reduções das taxas de assimilação do CO₂ em dias de céu claro, em resposta a altos valores de temperatura foliar e δ_e . Não obstante, tem sido demonstrado que a atividade oxigenase da Rubisco é favorecida em relação a sua atividade da carboxilase com o aumento da temperatura foliar (Zots and Winter, 1996), fato que permite uma maior dissipação de parte do excesso do poder reductor; protegendo assim indiretamente o aparelho fotossintético contra os danos fotooxidativos do aumento na temperatura da folha (Flexas et al., 1999; Zufferey et al., 2000).

O perfil de queda na taxa de transpiração na região semiárida também foi acompanhado por uma queda na taxa evapotranspiratória durante a estação seca, o que provavelmente pode ser explicada pela baixa disponibilidade hídrica do solo durante a estação seca. Uma eficiente redução nas taxas de E e g_s como uma forma de evitar maiores perdas de água por evaporação, indica que *J. curcas* apresenta um eficiente mecanismo de regulação da perda de água, principalmente pela regulação da condutância estomática em condições de déficit hídrico (Arcoverde et al., 2011; Pompelli et al., 2012a; Pompelli et al., 2010a; Santos et al., 2013).

A forte correlação negativa entre P_N e DE, implica que em condições ambientais de baixa disponibilidade hídrica, um aumento de DE, devido a compactação dos tecidos, implicaria numa diminuição de P_N . Por outro lado, a correlação positiva entre g_s e DE decorre do fato que folhas menores apresentam mais superfícies evapotranspirantes por unidades de área (*i.e.* maior densidade celular) do que folhas maiores. A baixa correlação entre g_s , DE e IE, colabora com os dados de Miyazawa et al (2006) com plantas de *Populus*, em que não foi encontrada correlação entre g_s e E , contrastando apenas quanto a P_N , em que nos dados foi encontrada uma forte correlação.

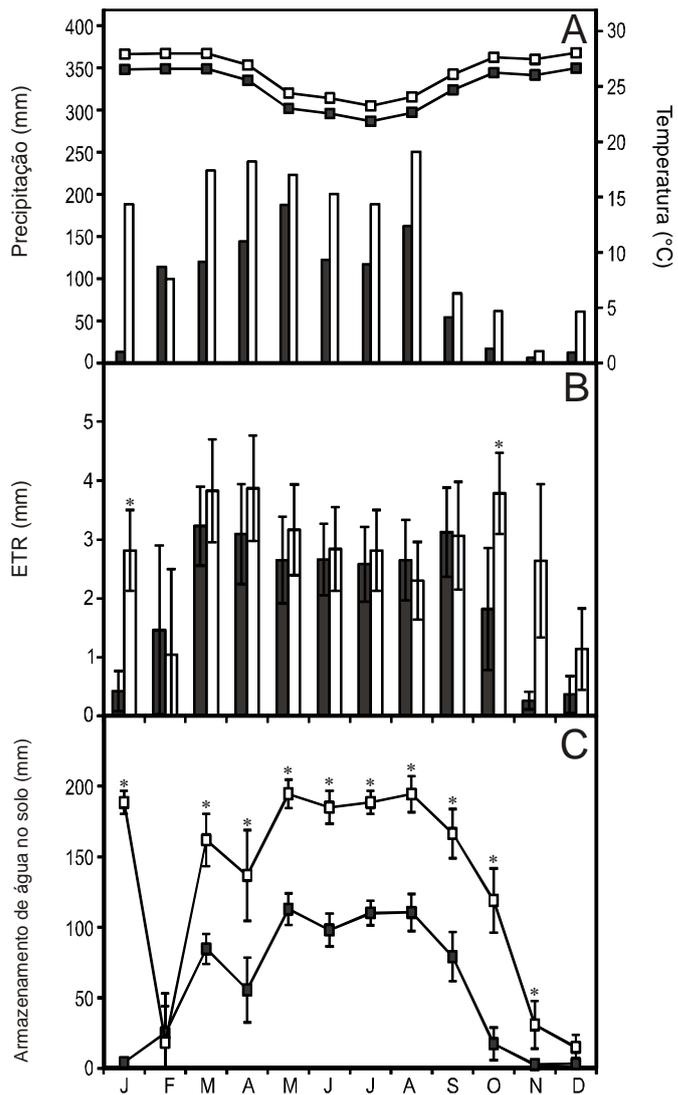


Figura 1

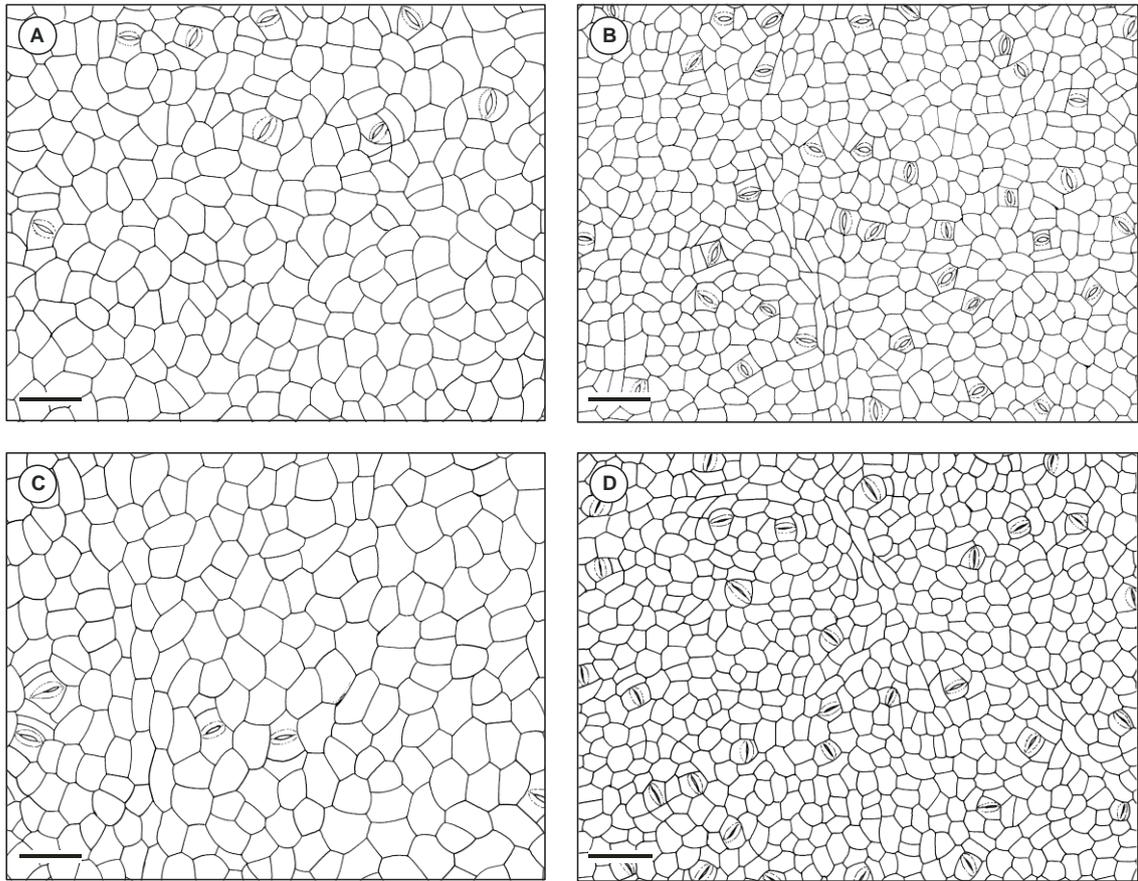


Figura 2

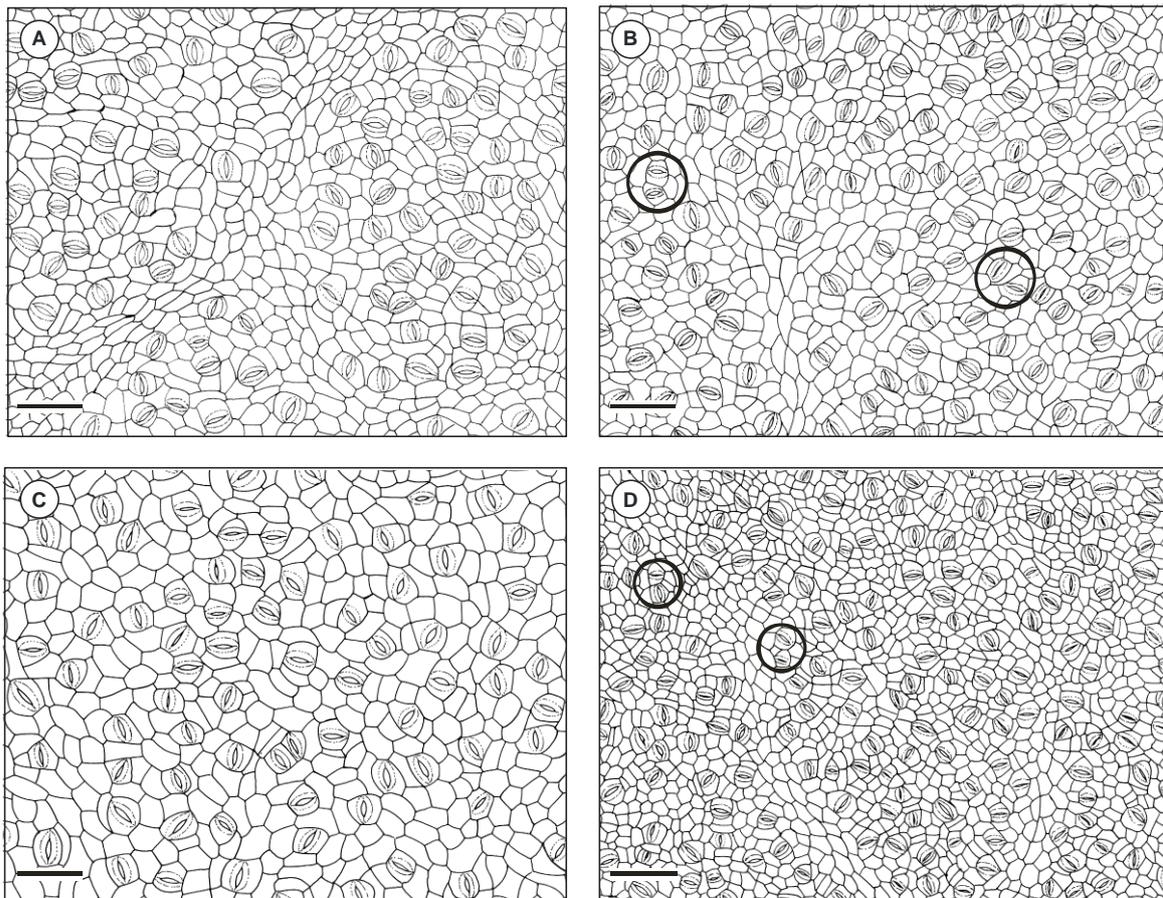


Figura 3

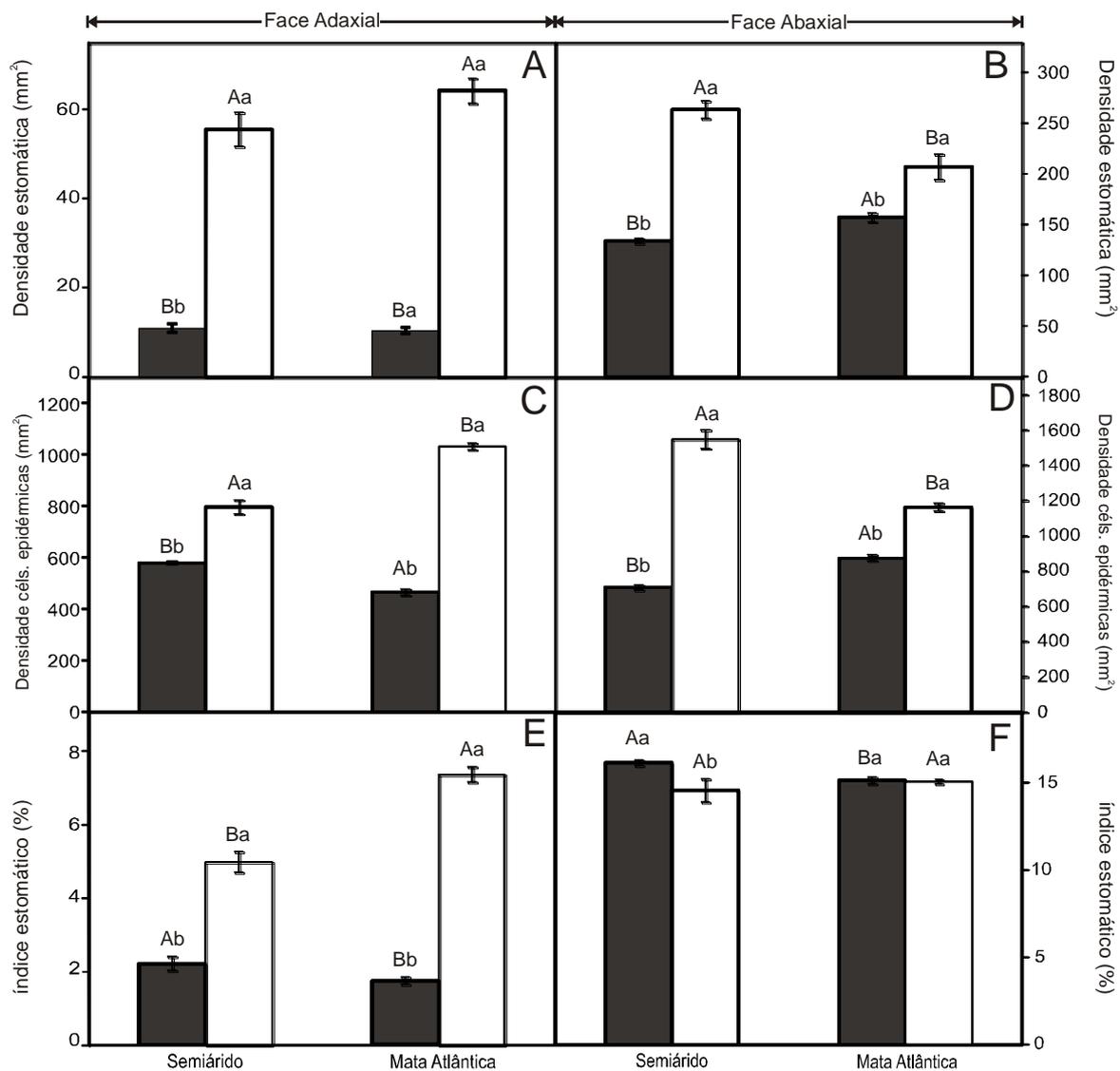


Figura 4

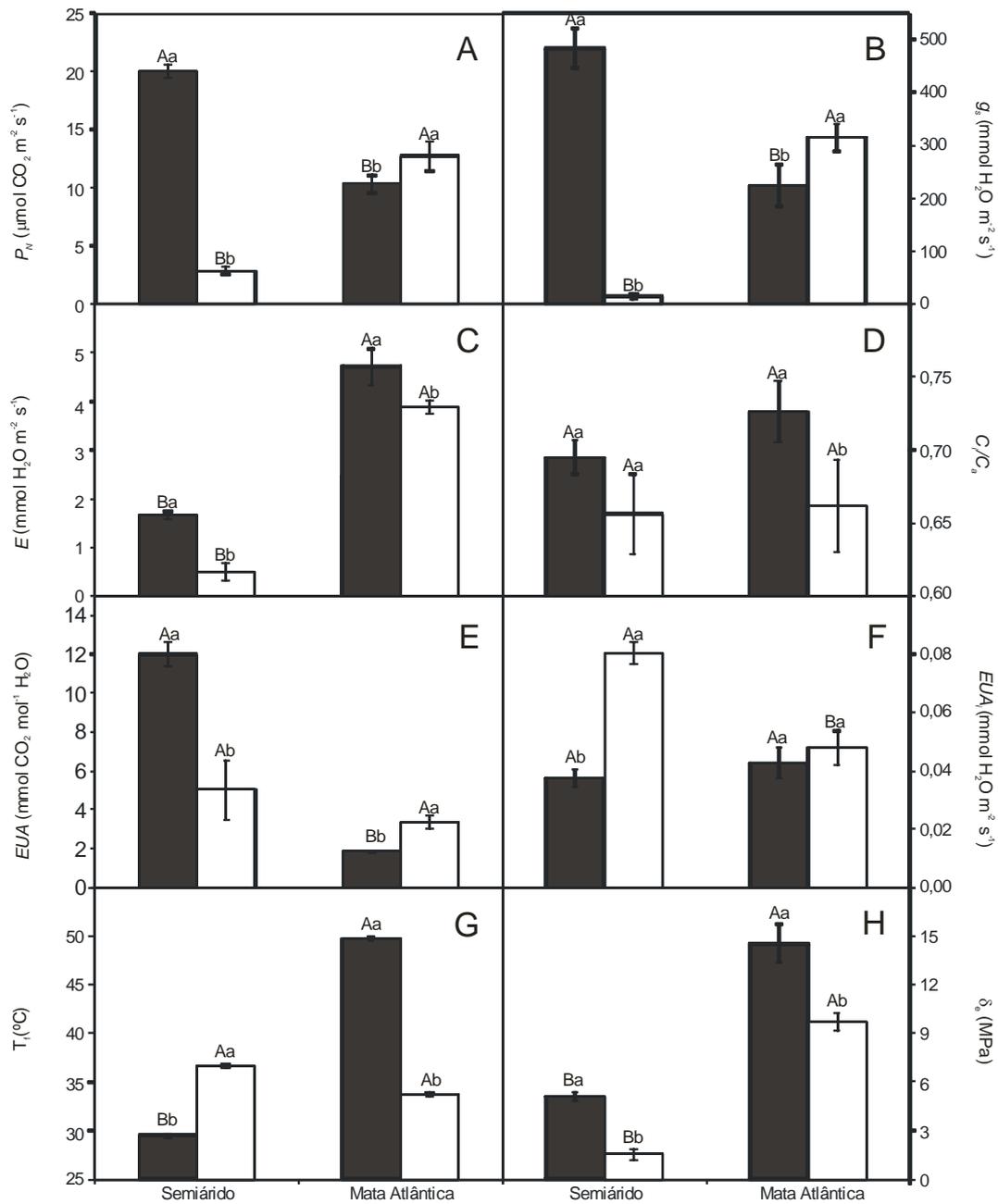


Figura 5

Lista de Figuras

Figura 1. Características climáticas das regiões analisadas. (A) Precipitação mensal total (barras) e temperatura média (linhas); (B) evapotranspiração potencial (ETR) e (C) armazenamento hídrico no solo. Os dados foram registrados entre os meses de janeiro a dezembro de 2007 na região semiárida (símbolos escuros) e na região da Mata Atlântica (símbolos brancos). Os símbolos (*) representam que são estatisticamente distintas entre si (teste de Newman-Keuls, $p \leq 0,05$). Barras verticais representam a média \pm erro padrão. $n = 30$. (Fonte: Agritempo, <http://www.agritempo.gov.br>).

Figura 2. Visão geral da superfície adaxial da epiderme de *Jatropha curcas* coletada durante a estação chuvosa (A e C) ou seca (B e D) na região da Mata Atlântica (A e B) ou na região semiárida (C e D). Todas as imagens foram processadas a partir de uma folha completamente exposta e submetida às condições naturais de cultivo e a plena exposição solar. Barras 100 μm .

Figura 3. Visão geral da superfície abaxial da epiderme de *Jatropha curcas* coletada durante a estação chuvosa (A e C) ou seca (B e D) na região da Mata Atlântica (A e B) ou na região semiárida (C e D). Todas as imagens foram processadas a partir de uma folha completamente exposta e submetida às condições naturais de cultivo e a plena exposição solar. Em detalhe (\circ) são mostrados pequenos *clusters* de estômatos mal formados, na superfície das folhas desenvolvidas durante a estação seca. Barras 100 μm .

Figura 4. Densidade estomática (A e B), densidade de células epidérmicas (C e D) e índice estomático (E e F), em plantas adultas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região semiárida e na região da Mata Atlântica, durante a estação chuvosa (barras escuras) e na estação seca (barras brancas). As medidas foram obtidas tanto na face adaxial (A, C e E) bem como na face abaxial (B, D e F) da epiderme. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre as cidades e minúsculas entre as estações são estatisticamente distintas entre si (Newman-Keuls, $p \leq 0,05$). Barras verticais representam a média \pm erro padrão. $n = 100$

Figura 5. Assimilação líquida de carbono (P_N) (A), condutância estomática (g_s) (B), transpiração (E) (C), razão entre a concentração interna e a atmosférica de CO_2 (C_i / C_a), eficiência do uso da água (EUA) (E), eficiência intrínseca do uso da água (EUA_i) (F), temperatura foliar (T_f) (G) e déficit de pressão de vapor (δ_e) (H), em plantas adultas de *Jatropha curcas* L. cultivadas na região semiárida e na região da Mata Atlântica, durante a estação chuvosa (barras escuras) e na estação seca (barras brancas). Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre cidades e minúsculas entre as estações são estatisticamente distintas entre si (Newman-Keuls, $p \leq 0,05$). Barras verticais representam a média \pm erro padrão. $n = 10$.

Tabela 1. Coeficientes de correlação canônica (CC) entre variáveis do grupo 1 [taxa de fotossíntese líquida (P_N), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e déficit de pressão de vapor (δ_e)] e grupo 2 [densidade estomática (DE) e índice estomático (IE)].

Variáveis	Semiárido	Mata Atlântica
	CC1	CC1
Grupo 1		
P_N	0,986	0,773
g_s	-0,678	-0,070
E	0,456	-1,625
δ_e	0,128	2,309
Grupo 2		
DE	-0,802	-0,316
IE	-0,278	-0,684
R canonical	0,829	0,844
P	0,006	0,280

5. Referências Bibliográficas

- Achten, W.M.J., Maes, W.H., Reubens, B., Mathijs, E., Singh, V.P., Verchot, L., Muys, B., 2010a. Biomass production and allocation in *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *Biomass Bioenerg* 34, 667-676.
- Achten, W.M.J., Nielsen, L.R., Aerts, R., Lengkeek, A.G., Kjær, E.D., Trabucco, A., Hansen, J.K., Maes, W.H., Graudal, L., Akinnifesi, F.K., Muys, B., 2010b. Towards domestication of *Jatropha curcas*. *Biofuels* 1, 91-107.
- Ackerly, D.D., 2004. Functional strategies of chaparral shrubs in relation to seasonal water deficit and disturbance. *Ecol Monogr* 74, 25-44.
- Agritempo, 2012. Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, São José dos Campos.
- Appezato-da-Glória, B., Carmello-Guerreiro, S.M., 2006. Anatomias Vegetal, 2 edição revista e atualizada. Editora da UFV, Viçosa.
- Arcoverde, G.B., Rodrigues, B.M., Pompelli, M.F., Santos, M.G., 2011. Water relations and some aspects of leaf metabolism of *Jatropha curcas* young plants under two water deficit levels and recovery. *Braz J Plant Physiol* 23, 123-130.
- Arruda, F.P., Beltrão, N.E.M., Andrade, A.P., Pereira, W.E., Severino, L.S., 2004. Cultivo do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido Nordeste. *Rev Bras Oleag Fib* 8, 789-799.
- Bernacchi, C.J., Portis, A.R., Nakano, H., von Caemmerer, S., Long, S.P., 2002. Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of

Rubisco enzyme kinetics and for limitation to photosynthesis in vivo. *Plant Physiol* 130, 1992-1998.

Buchanan, B.B., Wolosiuk, R.A., 2006. Photosynthesis: carbon reactions, In: Taiz, L., Zeiger, E. (Eds.), *Plant Physiology*, 4th edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, England, pp 159-195.

Bullock, S.H., Mooney, H.A., Medina, E., 1995. *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge University Press, Cambridge.

Casson, A.S., Hetherington, A.M., 2010. Environmental regulation of stomatal development. *Plant Biol* 13, 90-95.

Chaves, A.R.M., Ten-Caten, A., Pinheiro, H.A., Ribeiro, A., DaMatta, F.M., 2008. Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees* 22, 351-361.

Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S., 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Funct Plant Biol* 30, 239-264.

Chaves, M.M., Oliveira, M.M., 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J Exp Bot* 55, 2365-2384.

Corcuera, L., Morales, F., Abadía, A., Gil-Pelegrín, E., 2005. Seasonal changes in photosynthesis and photoprotection in a *Quercus ilex* subsp. *ballota* woodland located in its upper altitudinal extreme in the Iberian Peninsula. *Tree Physiol* 25, 599-608.

Craven, D., Dent, D., Braden, D., Ashton, M.S., Berlyn, G.P., Hall, J.S., 2011. Seasonal variability of photosynthetic characteristics influences growth of eight tropical tree species at two sites with contrasting precipitation in Panama. *For Ecol Man* 261, 1643-1653.

Cruz, J.A., Avenson, T.J., Kanazawa, A., Takizawa, K., Edwards, G.E., Kramer, D.M., 2005. Plasticity in light reactions of photosynthesis for energy production and photoprotection. *J Exp Bot* 56, 395-406.

Cruz, J.P., Leite, L.G., Soares, C.P.B., Campos, J.C.C., Smit, L., Nogueira, G.S., Oliveira, M.L.R., 2008. Modelos de crescimento e produção para plantios comerciais jovens de *Tecnona grandis* em Tangará da Serra, Mato Grosso. *R Árvore* 32, 821-828.

Flexas, J., Escalona, J.M., Medrano, H., 1999. Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevines. *Plant Cell Environ* 22, 39-48.

Francis, G., Edinger, R., Becker, K., 2005. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socioeconomic development in degraded areas in India. Need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. *Nat Res Forum* 29, 12-24.

Franco, A.C., Lüttge, U., 2002. Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131, 356-365.

Franklin, G., 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites and a new macerating method of wood. *Nature* 155, 51.

Galle, A., Florez-Sarasa, I., Thameur, A., Paepe, R., Flexas, J., Ribas-Carbo, M., 2010. Effects of drought stress and subsequent rewatering on photosynthetic and respiratory pathways in *Nicotiana sylvestris* wild type and the mitochondrial complex I-deficient CMSII mutant. *J Exp Bot* 61, 765-775.

Galmés, J., Abadía, A., Cifre, J., Medrano, H., Flexas, J., 2007. Photoprotection processes under water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits. *Physiol Plant* 130, 495-510.

Gazanchian, A., Hajheidari, M., Sima, N.K., Salekdeh, G.H., 2007. Proteome response of *Elymus elongatum* to severe water stress and recovery. *J Exp Bot* 58, 291-300.

Grassi, G., Magnani, F., 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant Cell Environ* 28, 834-849.

Guo, X.Y., Zhang, X.S., Huang, Z.Y., 2010. Drought tolerance in three hybrid poplar clones submitted to different watering regimes. *J Plant Ecol-UK* 3, 79-87.

Holbrook, N.M., 2010. Water Balance of Plants, In: Taiz, L., Zeiger, E. (Eds.), *Plant Physiology*, 5th edition. Sinauer Associates Inc., Sunderland, pp 85-105.

Izanloo, A., Condon, A.G., Langridge, P., Tester, M., Schnurbusch, T., 2008. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *J Exp Bot* 59, 3327-3346

Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*. 3rd ed. Paul B. Hoeber, Inc, New York.

Keenan, T., Sabate, S., Gracia, C., 2010. The importance of mesophyll conductance in regulating forest ecosystem productivity during drought periods. *Glob Change Biol* 16, 1019-1034.

Kramer, P.J., Koslowski, T., 1989. *Physiology of wood plants*. Academic Press, New York.

Kraus, J.E., Arduin, M., 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Universidade Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Lake, J.A., Woodward, F.I., 2008. Response of stomatal number to CO₂ and humidity control by transpiration rate and abscisic acid. *New Phytol* 179, 397-404.

Lawlor, D.W., Tezara, W., 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann Bot* 103, 561-579.

- Liao, J.-X., Chang, J., Wang, G.-X., 2005. Stomatal density and gas exchange in six wheat cultivars. *Cereal Res Commun* 33, 719-726.
- Lima-Filho, D.O., Prado-Sogabe, V., Costa-Calarge, T.C., 2008. Mercado de biodiesel: um panorama mundial. *Espacios* 29, 5-27.
- Lima, A.L.A., Rodal, M.J.N., 2010. Phenology and wood density of plants growing in the semi-arid region of northeastern Brazil. *J Arid Environ* 74, 1363-1373.
- Lu, P., Chacko, E.K., Bithell, S.L., Schaper, H., Wiebel, J., Cole, S., Müller, W.J., 2012. Photosynthesis and stomatal conductance of five mango cultivars in the seasonally wet-dry tropics of northern Australia. *Sci Hortic-Amsterdam* 138, 108-119.
- Maes, W.H., Trabucco, A., Achten, W.M.J., Muys, B., 2009. Climatic growing conditions of *Jatropha curcas* L. *Biomass Bioenerg* 33, 1481-1485.
- Martinez, J.P., Silva, H., Ledent, J.F., Pinto, M., 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Eur J Agron* 26, 30-38
- Mattos, E.A., Lobo, P.C., Joly, C.A., 2002. Overnight rainfall inducing rapid changes in photosynthetic behavior in cerrado woody species during a dry spell amidst the rainy season. *Aust J Bot* 50, 241-246.
- Miyazawa, S.-I., Livingston, N.J., Turpin, D.H., 2006. Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*). *J Exp Bot* 57, 373-380.
- Moya, R., 2004. *Gmelina arborea* en Costa Rica. *Bois et Forêt des Tropique* 279, 47-57.
- Ni, B.-R., Pallardy, S.G., 1992. Stomatal and nonstomatal limitations to net photosynthesis in seedlings of woody angiosperms. *Plant Physiol* 99, 1502-1508.
- Openshaw, K., 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass Bioenerg* 19, 1-15.
- Pompelli, M.F., Antunes, W.C., Ferreira, D.T.R.G., Cavalcante, P.P.G.S., Wanderley-Filho, H.C.L., Endres, L., 2012a. Allometric models for non-destructive leaf area estimation of the *Jatropha curcas*. *Biomass Bioenerg* 36, 77-85.
- Pompelli, M.F., Barata-Luís, R.M., Vitorino, H.S., Gonçalves, E.R., Rolim, E.V., Santos, M.G., Almeida-Cortez, J.S., Endres, L., 2010a. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass Bioenerg* 34, 1207-1215.
- Pompelli, M.F., Ferreira, D.T.R.G., Cavalcante, P.P.G.S., Salvador, T.L., Hsie, B.S., Endres, L., 2010b. Environmental influence on the physico-chemical and physiological properties of *Jatropha curcas* L. seeds. *Aust J Bot* 58, 421-427.

- Pompelli, M.F., Martins, S.C., Celin, E.F., Ventrella, M.C., DaMatta, F.M., 2010c. What is the influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants grown under full-sun and shady conditions? *Braz J Biol* 70, 1083-1088.
- Pompelli, M.F., Pompelli, G.M., Cabrini, E.C., Alves, C.J.L., Ventrella, M.C., 2012b. Leaf anatomy, ultrastructure and plasticity of *Coffea arabica* L. in response to light and nitrogen availability. *Biotemas* 25, 13-28.
- Reubens, B., Achten, W.M.J., Maes, W.H., Danjon, F., Aerts, R., Poesen, J., Muys, B., 2011. More than biofuel? *Jatropha curcas* root system symmetry and potential for soil erosion control. *J Arid Environ* 75, 201-205.
- Ribeiro, R.V., Machado, E.C., Santos, M.G., Oliveira, R.F., 2009. Seasonal and diurnal changes in photosynthetic limitation of young sweet orange trees. *Environ Exp Bot* 66, 203-211.
- Riikonen, J., Kets, K., Darbah, J., Oksanen, E., Sôber, A., Vapaavuori, E., Nelson, N., Kubiske, M., Karnosky, D., 2008. Carbon gain and bud physiology in *Populus tremuloides* and *Betula papyrifera* grown under long-term exposure to interacting elevated CO₂ and O₃. *Tree Physiol.* 28, 243-254.
- Roy, J., Salager, J.L., 1992. Midday depression of net CO₂ exchange of leaves of an emergent rain forest tree in French Guiana. *J Trop Ecol* 8, 499-504.
- Sampaio, E.V.S.B., 1995. Overview of the Brazilian Caatinga, in: Bullock, S.H., Mooney, H.A., Medina, E. (Eds.), *Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 35-63.
- Santos-Silva, M.M., Abreu, P.P., Araújo, I.S., Ometto, J.P., Chaves, A.R.M., Pompelli, M.F., 2012. Photosynthesis and photoprotection mechanisms in umbu plants under different water regimes. *Environ Exp Bot* submitted article.
- Santos, C.M., Endres, L., Wanderley-Filho, H.C.L., Rolim, E.V., Ferreira, V.M., 2010. Fenologia e crescimento do pinhão-manso cultivado na zona da mata do Estado de Alagoas, Brasil. *Sci Agr* 11, 201-209.
- Santos, C.M., Veríssimo, V., Wanderley-Filho, H.C.L., Ferreira, V.M., Cavalcante, P.G.S., Rolim, E.V., Endres, L., 2013. Seasonal variations of photosynthesis, gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subjected to water stress. *Ind Crops Prod* 41, 203-213.
- Sekiya, N., Yano, K., 2008. Stomatal density of cowpea correlates with carbon isotope discrimination in different phosphorus, water and CO₂ environments. *New Phytol* 179, 799-807.
- Signarbieux, C., Feller, U., 2011. Nonstomatal limitations of photosynthesis in grassland species under artificial drought in the field. *Environ Exp Bot* 71, 192-197.

- Silva, E.A., DaMatta, F.M., Ducatti, C., Regazzi, A.J., Barros, R.S., 2004. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of arabica coffee trees. *Field Crops Res* 89, 349-357.
- Silva, E.N., Ferreira-Silva, S.L., Fontenele, A.V., Ribeiro, R.V., Viégas, R.A., Silveira, J.A.G., 2010. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. *J Plant Physiol* 167, 1157-1164.
- Souza, J.L., Nicácio, R.M., Moura, A.L., 2005. Global solar radiation measurements in Maceió Brazil. *Renew Energ* 30, 1203–1220.
- Souza, T.C., Magalhães, P.C., Pereira, F.J., Silva Junior, J.M., Paraentoni, S.N., 2010. Leaf plasticity in successive selection cycles of ‘Saracura’ maize in response to soil flooding. *Pesqui Agropecu Bras* 45, 16-24.
- Spence, R.D., Wu, H., Sharpe, P.J.H., Clark, K.G., 1986. Water stress effects on guard cell anatomy and the mechanical advantage of the epidermal cells. *Plant Cell Environ* 9, 197-202.
- Teramura, A., Gold, W.G., Forseth, I., 1991. . Physiological ecology of mesic, temperate woody vines. In: (, eds.), In: Putz, F.E., Mooney, H.H. (Eds.), *The Biology of Vines*. Cambridge University Press Cambridge, pp 245-286.
- Tinoco-Ojanguren, C., Pearcy, R.W., 1993. Stomatal dynamics and its importance to carbon gain in two rainforest Piper species. I. VPD effects on the transient stomatal response to lightflecks. *Oecologia* 94, 388-394.
- Yin, C., Berninger, F., Li, C., 2006. Photosynthetic responses of *Populus przewalski* subjected to drought stress. *Photosynthetica* 44, 62-68.
- Yin, L., Hu, T.-X., Liu, Y.-A., Ma, J., Liu, W.-T., He, C., 2010. Effect of drought stress on photosynthetic characteristics and growth of *Jatropha curcas* seedlings under different nitrogen levels. *Chinese J App Ecol* 21, 569-576.
- Zaharah, S.S., Razi, I.M., 2009. Growth, stomata aperture, biochemical changes and branch anatomy in mango (*Mangifera indica*) cv. Chokanana in response to root restriction and water stress. *Sci Hort* 123, 58-67.
- Zhao, X., Yang, Y., Shen, Z., Zhang, H., Wang, G., Gan, Y., 2006. Stomatal clustering in *Cinnamomum camphora*. *South Afr J Bot* 72, 565-569.
- Zots, G., Winter, K., 1996. Diel patterns of CO₂ exchange in rainforest canopy plants, In: Mulkey, S.S., Chazdon, R.L., Smith, R., Smith, A.P. (Eds.), *Tropical Forest Plant Ecophysiology* Chapman & Hall, New York, pp 89-113.
- Zufferey, V., Murisier, F., Schultz, H.R., 2000. A model analysis of the photosynthetic response of *Vitis vinifera* L. cvs Riesling and Chasselas leaves in the field. I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis* 39, 19-26.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados desta pesquisa, propõe-se que *J. curcas* apresenta uma boa adaptabilidade a diferentes regimes hídricos, observado no melhor desempenho fotossintético e maior taxa de condutância estomática, durante a estação chuvosa, na região semiárida, e maiores taxas de transpiração, déficit de pressão de vapor e temperatura foliar quando cultivadas na região da Mata Atlântica. Esse bom desempenho pode ser atribuído tanto a adaptações fisiológicas como morfoanatômicas, evidenciado no aumento da densidade e índice estomáticos durante a estação com menor disponibilidade hídrica, aumento esse que pode ter sido acarretado tanto pela diminuição da área foliar, como devido à presença de *clusters* de estômatos anormais.

Uma forte ligação nas modificações fisiológicas e morfoanatômicas sofridas pela planta durante o estudo foram comprovadas pelas análises de correlação canônica que evidenciou uma forte correlação entre os parâmetros de fotossíntese líquida, condutância estomática e a densidade estomática. No entanto poucos são os trabalhos que discutem sobre essas correlações, o trabalho sendo o primeiro para essa espécie, abrindo assim portas para mais trabalhos de pesquisas sobre essas correlações.

RESUMO

Jatropha curcas L. é uma Euforbiácea nativa dos trópicos centro e sul-americano, especialmente Brasil e México. Indicada com uma espécie bem adaptada às regiões áridas e semiáridas do Brasil e do mundo, atualmente um grande número de centros de pesquisas estudam a caracterização do seu óleo como fonte de biodiesel, principalmente em áreas de baixo regime hídrico. Trabalhos atuais também mostram diversas estratégias, (e.g. controle estomático, abscisão foliar, *endurecimento*, entre outros mecanismos adaptativos morfofisiológicos), que demonstram como pode ser uma espécie altamente plástica a variações sazonais, propiciando seu estabelecimento em diferentes tipos de ambientes. Levando em conta isso, este estudo teve como objetivo comparar as adaptações morfofisiológicas e anatômicas de plantas adultas de *J. curcas* cultivadas em duas regiões com diferentes perfis climatológicos; uma região caracterizada como Caatinga semiárida e outra como Mata Atlântica (Brasil). As avaliações ocorreram em 2007 em duas diferentes estações do ano: estação chuvosa (julho) e estação seca (dezembro). Medidas de trocas gasosas, bem como análises da densidade e índice estomático foram realizadas nas duas estações. Durante a estação seca, em ambas as regiões, foi evidenciado um aumento na densidade estomática, bem como no índice estomático. Foi observado, ainda, a presença de estômatos anormais na estação seca, o que pode justificar o aumento tanto na densidade quanto do índice estomático. Durante a estação chuvosa, na região semiárida, *J. curcas* apresentou o melhor desempenho fotossintético e maior taxa de condutância estomática. As maiores taxas de transpiração, independente da estação do ano, foram registradas nas plantas cultivadas na região da Mata Atlântica, provavelmente atrelado ao maior déficit de pressão de vapor e temperatura foliar registrado nesta região. A maior eficiência do uso da água foi registrada durante a estação chuvosa; enquanto que a maior eficiência intrínseca do uso da água foi registrada na estação seca; ambas as características registradas, em maior intensidade nas plantas cultivadas na região semiárida. Análises de correlação do tipo canônica evidenciaram uma forte correlação entre os parâmetros de fotossíntese líquida, condutância estomática e a densidade estomática; mas uma fraca correlação com o índice estomático.

Palavras-chave: trocas gasosas, correlação canônica, densidade e índice estomático, pinhão manso, sazonalidade.

ABSTRACT

Jatropha curcas L. is a native Euphorbicea of tropical Central and South America, especially Brazil and Mexico. Indicated with a species well adapted to arid and semiarid regions of Brazil and the world, currently a large number of research centers studying the characterization of its oil as a source of biodiesel, especially in areas of low water regime. Recent works also show the various different strategies (*e.g.* stomatal control, leaf abscission, *enduring* and other adaptive mechanisms morphophysiological) that demonstrate how it can be a highly plastic species to seasonal variations, providing its establishment in different types of environments. Taking this into account, this study aimed to compare the morpho-physiological and anatomical adaptations of adult plants of *J. curcas* grown in two regions with different climates: (i) a region characterized as semiarid Caatinga and (ii) Atlantic Forest (Brazil). The evaluations were in two different seasons: rainy season (July) and dry season (December). Measurements of gas exchange and analysis of density and stomatal index were performed in both seasons. During the dry season, in both regions, evidenced an increase in density and stomatal index. It was also observed the presence of abnormal stomata in the dry season, which may explain the increase in both the density and stomatal index. During the rainy season, in the semiarid region, *J. curcas* showed the best photosynthesis performance and higher stomatal conductance. The highest rates of transpiration, regardless of season, were recorded in plants grown in the Atlantic Forest, probably linked to the higher vapor pressure deficit and leaf temperature recorded in this region. The highest rate of efficiency of water use was recorded during the rainy season, while the highest rate of intrinsic efficiency of water use was recorded in the dry season, both traits recorded at a higher intensity in plants grown in the semiarid region. Canonical correlation analyzes showed a strong correlation between the parameters of net photosynthesis, stomatal conductance and stomatal density, but a weak correlation with stomatal index.

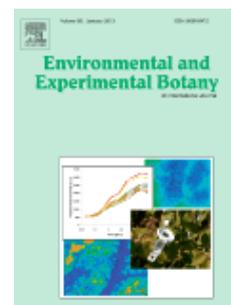
Keywords: gas exchange, canonical correlation, density and stomatal index, purging nut, seasonality.

ANEXO



TABLE OF CONTENTS

●	Description	p.1
●	Audience	p.1
●	Impact Factor	p.2
●	Abstracting and Indexing	p.2
●	Editorial Board	p.2
●	Guide for Authors	p.4



ISSN: 0098-8472

DESCRIPTION

Environmental and Experimental Botany (EEB) publishes research papers on the physical, chemical, biological, molecular mechanisms and processes involved in the responses of plants to their environment.

In addition to research papers, the journal includes review articles. Submission is in agreement with the Editors-in-Chief.

The Journal also publishes special issues which are built by invited guest editors and are related to the main themes of EEB.

The areas covered by the Journal include:

- (1) Responses of plants to heavy metals and pollutants
- (2) Plant/water interactions (salinity, drought, flooding)
- (3) Responses of plants to radiations ranging from UV-B to infrared
- (4) Plant/atmosphere relations (ozone, CO₂, temperature)
- (5) Ecophysiology of Northern plants under global change and environmental stress

Each submitted manuscript related to these areas should be based on an explicitly elaborated mechanistic hypothesis.

The following types of manuscripts are not suitable for EEB: purely descriptive studies, use of unicellular or micro-organisms as models, agricultural investigations, phytopathological studies, ecological reports, studies of plant biology without considering environmental factors.

AUDIENCE

Plant scientists, physiologists and molecular biologists.

IMPACT FACTOR

2011: 2.985 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2012

ABSTRACTING AND INDEXING

BIOSIS
Biological & Agricultural Index
Current Contents
EMBiology
Elsevier BIOBASE
Environmental Periodicals Bibliography
GEOBASE
INSPEC
PASCAL/CNRS
Science Citation Index
Scopus

EDITORIAL BOARD

Editors-in-Chief

J.-C. Kader, Université Pierre et Marie Curie, Sorbonne Universités, Paris, France
K. Taulavuori, University of Oulu, Oulu, Finland

Editorial Board:

J. Abe, University of Tokyo, Bunkyo-Ku, Japan
R. Antunes de Azevedo, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP, Brazil
C. Arrese-Igor, Universidad Pública de Navarra, Pamplona, Spain
J. Barcelo, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, Spain
G.B. Begonia, Jackson State University, Jackson, MS, USA
J.W. Bjerke, Norwegian Institute for Nature Research- NINA, Tromsø, Norway
J.F. Bornman, Curtin University, Perth, WA, Australia
F. Bussotti, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italy
D. Close, University of Tasmania, Hobart, TAS, Australia
J.A.G. da Silveira, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - Ceará, Brazil
J.F. Dat, Université de Franche-Comté, Besançon, France
T.A. Day, Arizona State University, Tempe, AZ, USA
L.J. De Kok, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen, Netherlands
Th.A. Dueck, AB-DLO, Wageningen, Netherlands
J. Flexas, Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Spain
J.L. Garcia-Hernandez, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), Torreón, Coahuila, Mexico
S.P. Hardegree, U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service (ARS), Boise, ID, USA
J. He, Nanyang Technological University, Singapore, Singapore
B. Heuer, Agricultural Research Organization (ARO), Bet Dagan, Israel
H-W. Koyro, Justus-Liebig-Universität Gießen, Giessen, Germany
F.R. Larher, Université de Rennes I, Rennes Cedex, France
J. Leipner, Zürich, Switzerland
A. Lux, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovakia
C. Lütz, Botanical Institute, Innsbruck, Austria
A. Massacci, National Research Council of Italy (CNR), Roma, Italy
A.A. Meharg, University of Aberdeen, Aberdeen, UK
S. Munne-Bosch, University of Barcelona, Barcelona, Spain
S.R. Pezeshki, University of Memphis, Memphis, TN, USA
M. Puschenreiter, Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Vienna, Austria
L.-J. Qu, Peking University, Beijing, China
F. Rivas, National Agricultural Research Institute, Salto, Uruguay
L. Sanita' di Toppi, Università di Parma, Parma, Italy
D. Savvas, Agricultural University of Athens, Athens, Greece
H. Schat, Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, Netherlands
R. Serraj, ICARDA, Aleppo, Syrian Arab Republic
S. Shabala, University of Tasmania, Hobart, TAS, Australia
A.K. Shanker, National Research Centre for Agroforestry, Jhansi, Uttar Pradesh, India

C. Tang, La Trobe University, Melbourne, VIC, Australia
M. Tattini, National Research Council of Italy (CNR), Firenze, Italy
E. Taulavuori, University of Oulu, Oulu, Finland
M. Tausz, University of Melbourne, Creswick, VIC, Australia
T.J. Tschaplinski, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, USA
I. Turkan, Ege University, Izmir, Turkey
J.C.V. Vu, University of Florida, Gainesville, FL, USA
F. Wechsung, Potsdam Institut für Klimafolgenforschung, Potsdam, Germany
C. Wei, Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing, China
R.R. Wise, University of Wisconsin at Oshkosh, Oshkosh, WI, USA
M. Wisniewski, U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service (ARS), Kearneysville, WV, USA
T. Yoshihara, Central Research Institute of Electric Power Industry (CRIEPI), Chiba, Japan
W.-H. Zhang, Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing, China

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Aims and Scope of the Journal *Environmental and Experimental Botany*

Environmental and Experimental Botany (EEB) publishes research papers on the physical, chemical, biological, molecular mechanisms and processes involved in the responses of plants to their environment.

In addition to research papers, the journal includes review articles. Submission is in agreement with the Editors-in-Chief.

The Journal also publishes special issues which are built by invited guest editors and are related to the main themes of EEB.

The areas covered by the Journal include:

- (1) Responses of plants to heavy metals and pollutants
- (2) Plant/water interactions (salinity, drought, flooding)
- (3) Responses of plants to radiations ranging from UV-B to infrared
- (4) Plant/atmosphere relations (ozone, CO₂, temperature)
- (5) Ecophysiology of Northern plants under global change and environmental stress

Each submitted manuscript related to these areas should be based on an explicitly elaborated mechanistic hypothesis.

The following types of manuscripts are not suitable for EEB: purely descriptive studies, use of unicellular or micro-organisms as models, agricultural investigations, phytopathological studies, ecological reports, studies of plant biology without considering environmental factors.

Types of issues

Alongside the standard issues, the journal publishes two other types of issues: *Special issues* and *Virtual special issues*. Special issues focus on a specific research topic and are organised by a guest editor. Virtual special issues bring together content already published on ScienceDirect. Articles appearing in virtual special issues have been selected by the Journal editor, highlighting topics that are of particular interest to the readers. The virtual issues are hosted on Elsevier.com, linking directly to the original articles on ScienceDirect.

Types of paper

1. Original full papers (Regular Papers)
2. Review articles on Environmental Issues in Plant Science.

Original papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Reviews should be related to an area covered by the journal. These are written on invitation or after initial contact with the Editor-in-Chief.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

Policy and ethics

The work described in your article must have been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans* <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; *EU Directive 2010/63/EU*

for animal experiments http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals <http://www.icmje.org>. This must be stated at an appropriate point in the article.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Open access

This journal does not ordinarily have publication charges for authors. However, you can now opt to make your article available to all (including non-subscribers) via the ScienceDirect platform. To prevent any conflict of interest, you can only make this choice after receiving notification that your article has been accepted for publication. The fee of \$3,000 excludes taxes and other potential author fees such as color charges. In some cases, institutions and funding bodies have entered into agreement with Elsevier to meet these fees on behalf of their authors. Details of these agreements are available at <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. Authors of accepted articles, who wish to take advantage of this option, should complete and submit the order form (available at <http://www.elsevier.com/locate/openaccessform.pdf>). Whatever access option you choose, you retain many rights as an author, including the right to post a revised personal version of your article on your own website. More information can be found here: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop <http://webshop.elsevier.com/languageediting/> or visit our customer support site <http://support.elsevier.com> for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/eeb/>

Referees

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of 5 potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Use of wordprocessing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

Article structure

1. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission.

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Authors and Editor(s) are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.

All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the *IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.

Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers one-click access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Math Formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible. In principle, variables are to be presented in italics.

Number consecutively any equations that have to be displayed separate from the text (if referred to explicitly in the text).

Subscripts and superscripts should be clear.

Greek letters and other non-Roman or handwritten symbols should be explained in the margin where they are first used. Take special care to show clearly the difference between zero (0) and the letter O, and between one (1) and the letter I.

Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Also powers of e are often more conveniently denoted by exp.

Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are: *P <0.05, **P <0.01 and ***P <0.001.

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g., Ca²⁺, not as Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required. If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'.

Please do not:

- Supply files that are optimised for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference

Note: Authors are strongly encouraged to check the accuracy of each reference against its original source.

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.

2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary - by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer,1989, pp. 12-16)".

3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates -- publications of the same author with one co-author -- publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1994a, 1994b, etc.

5. Use the following system for arranging your references, please note the proper position of the punctuation:

a. *For periodicals* Chettri, M.K., Sawidis, T., Zachariadis, G.A., Stratis, J.A., 1997. Uptake of heavy metals by living and dead *Cladonia thalli*. *Environ. Exp. Bot.*37, 39-42.

b. *For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical*
Rice, K., 1992. Theory and conceptual issues. In: Gall, G.A.E., Staton, M. (Eds.), *Integrating Conservation Biology and Agricultural Production. Agriculture, Ecosystems and Environment* 42, 9-26.

c. *For books* Gaugh, Jr., H.G., 1992. *Statistical Analysis of Regional Field Trials*. Elsevier, Amsterdam.

d. *For multi-author books* DeLacy, I.H., Cooper, M., Lawrence, P.K., 1990. Pattern analysis over years of regional variety trials: relationship among sites. In: Kang, M.S. (Ed.), *Genotype by Environment Interaction and Plant Breeding*. Louisiana State University, Baton Rouge, LA, pp. 189-213.

6. Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references according to the *Bibliographic Guide for Editors and Authors* (The Chemical Abstracts Service, The Ohio State University, Columbus, OH 43210, USA).

7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Roman alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

8. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;

2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;

3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr, W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references according to the *Bibliographic Guide for Editors and Authors* (The Chemical Abstracts Service, The Ohio State University, Columbus, OH 43210, USA).

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will

do everything possible to get your article published quickly and accurately – please let us have all your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com//myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com//myarticleservices/offprints/myarticlesservices/booklets>).

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2012 Elsevier | <http://www.elsevier.com>