



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GISELLY APARECIDA ANDRADE

**TEMPERATURA MÍNIMA LETAL E DELIMITAÇÃO DAS
ÁREAS DE BAIXO RISCO DE GEADAS PARA O CULTIVO
DO PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.) NO ESTADO DO
PARANÁ**

LONDRINA
2007

GISELLY APARECIDA ANDRADE

**TEMPERATURA MÍNIMA LETAL E DELIMITAÇÃO DAS
ÁREAS DE BAIXO RISCO DE GEADAS PARA O CULTIVO
DO PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.) NO ESTADO DO
PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Agronomia, da
Universidade Estadual de Londrina.

Orientador(a): Prof. Dra. Ana Maria de
Arruda Ribeiro

Co- Orientador(a): Dr. Paulo Henrique
Caramori

LONDRINA
2007

Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

A553t Andrade, Giselly Aparecida.

Temperatura mínima letal e delimitação das áreas de baixo risco de geadas para o cultivo do pinhão-manso (*Jatropha curcas L.*) no estado do Paraná / Giselly Aparecida Andrade. – Londrina, 2007.

57f. : il.

Orientador : Ana Maria de Arruda Ribeiro.

Co-orientador : Paulo Henrique Caramori.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2007.

Bibliografia : f. 52-57.

1. *Jatropha curcas L.* – Teses. 2. Vegetação e clima –

Teses. 3. Meteorologia agrícola – Teses. I. Ribeiro, Ana Maria

GISELLY APARECIDA ANDRADE

**TEMPERATURA MÍNIMA LETAL E DELIMITAÇÃO DAS
ÁREAS DE BAIXO RISCO DE GEADAS PARA O CULTIVO
DO PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.) NO ESTADO DO
PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, da Universidade
Estadual de Londrina.

Aprovada em: 05 / 03 /2007

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Paulo Henrique Caramori	IAPAR
Dr. Celso Jamil Marur	IAPAR
Dr. Otávio Jorge Grigoli Abi Saab	UEL
Dra. Dalziza de Oliveira	IAPAR
Dr. Ricardo Ralischi	UEL

Profa. Dra. Ana Maria de Arruda Ribeiro
Orientadora
Universidade Estadual de Londrina

DEDICATÓRIA

Às pessoas mais importantes da minha vida,
meus pais Geraldo e Maria Aparecida, minhas
irmãs Viviane e Vanessa e minha afilhada
Mirian.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me amar e cuidar de cada detalhe da minha vida.

Aos meus pais, Geraldo e Cida, meus verdadeiros mestres, pelo apoio e amor incondicionais e por acreditarem em mim mais que eu mesma.

Às minhas irmãs, Viviane e Vanessa, companheiras da minha vida, pela amizade e amor.

Aos meus parentes, Mota e Andrade, por me mostrarem em todos os momentos o que é ser família, e como é linda a nossa família!

Aos meus amigos companheiros de trabalho, de orações, de cinema, de conversas e de vida, por serem a família que eu pude escolher e por me escolherem para a de vocês.

Ao Dr. Fábio Suano de Souza, muito mais que uma ajuda oportuna, um grande amigo para todos os momentos.

Ao Dr. Paulo Henrique Caramori, por me dar a honra de ser sua orientada, por tudo que tem me ensinado, por acreditar sempre e nunca me deixar desanimar.

À Dra. Ana Maria de Arruda Ribeiro, pela orientação e apoio.

Aos doutores Maria Lúcia Crochemore e Luis Gonzaga Esteves Vieira, meus primeiros orientadores, pela oportunidade e por despertarem em mim o gosto pela pesquisa.

Aos pesquisadores do Instituto Agronômico do Paraná, Dr. Celso Jamil Marur, Msc. João Henrique Caviglione e Dra. Dalziza de Oliveira pela colaboração.

Aos colegas da área de Agrometeorologia e do Laboratório de Biotecnologia do Instituto Agronômico do Paraná, pelo companheirismo e ajuda.

À Weda, secretária da pós-graduação em Agronomia, pela paciência e eficiência.

Aos funcionários do Instituto Agronômico do Paraná e ao Programa Paranaense de Bioenergia, por possibilitarem a realização deste trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Bioquímica do Instituto de Biociências da UNESP-Botucatu e do Laboratório de Biotecnologia do Instituto Agrônomo do Paraná pela colaboração nas análises enzimáticas.

À Universidade Estadual de Londrina, pela formação.

Obrigada!

"Coisas que os olhos não viram, nem os ouvidos ouviram, nem o coração humano imaginou, tais são os bens que Deus tem preparado para aqueles que o amam"

1 Cor 2,9

ANDRADE, Giselly Aparecida. **Temperatura mínima letal e delimitação das áreas de baixo risco de geadas para o cultivo do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) no estado do Paraná**. 2006. 69 folhas. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram determinar a temperatura mínima letal para plantas jovens de Pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), definir e mapear as regiões que apresentam condições térmicas aptas ao seu cultivo, visando subsidiar a expansão desta cultura no sul do Brasil como alternativa para produção de biodiesel. O experimento foi conduzido no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), em Londrina-PR (23°23' S, 50°11' W). Utilizando uma câmara fria, foram realizados tratamentos de simulação de temperaturas mínimas de +1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C e -5°C, comparando-se os efeitos com um controle exposto à temperatura ambiente. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com 10 repetições. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ($P < 0,05$). Os seguintes parâmetros foram avaliados: taxa fotossintética das plantas após 6 horas, 7 dias e 14 dias; danos foliares visuais um dia e um mês após os tratamentos; mortalidade das plantas um mês após os tratamentos; atividade da enzima peroxidase nas folhas; teores de proteínas totais solúveis e recuperação das plantas no campo. Os dados foram submetidos à análise de regressão a 5% de significância. A temperatura mínima de -3°C provocou a morte das folhas em 60% das plantas. A exposição a -4°C foi letal para 60% das plantas, enquanto que a -5°C todas as plantas morreram. A fotossíntese foi prejudicada pelas baixas temperaturas e nos tratamentos -4°C e -5°C os valores foram negativos, demonstrando que o processo foi completamente paralisado e as plantas estavam somente respirando. A atividade da peroxidase se elevou nos tratamentos +1°C, 0°C, -1°C e -2°C e apresentou decréscimos sob temperaturas iguais ou inferiores a -3°C. Os teores de proteínas totais solúveis foram maiores quanto menores as temperaturas a que as plantas foram submetidas. Concluiu-se que as baixas temperaturas aumentam a atividade da enzima peroxidase em plantas de pinhão-manso até o ponto em que se iniciam os danos, quando a atividade passa a decrescer e assim pode ser utilizada como indicativo de sensibilidade a baixas temperaturas. Com base nos danos verificados, estabeleceu-se a temperatura mínima crítica de 0°C no abrigo meteorológico como limitante ao cultivo. Séries históricas de temperaturas mínimas da rede de estações meteorológicas do Instituto Agronômico do Paraná foram analisadas para ajustar os dados à distribuição de extremos. Os dados foram transferidos para um Sistema de Informação Geográfica para realizar as análises de espacialização dos dados. Os parâmetros alfa e beta da distribuição de extremos foram correlacionados com altitude e latitude, utilizando uma base altimétrica com valores a cada aproximadamente 900 x 900 m. Foram gerados mapas de probabilidade de ocorrência de geadas com riscos de 10 e 20%, correspondendo a uma geada a cada 10 e 5 anos em média, respectivamente. Estes resultados fornecem suporte para a expansão da cultura do pinhão-manso no Paraná em áreas com baixo risco de perdas por ocorrência de geadas.

Palavras-Chave: Risco climático, geada, biodiesel, Sistema de Informação Geográfica, peroxidase, proteína total solúvel.

ANDRADE, Giselly Aparecida. **Critical minimum temperatures and definition of areas with low risk of frost for the oil seed crop of *Jatropha curcas* L. for the state of Paraná, Brazil.** 2006. 69 folhas. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

ABSTRACT

The objectives of this paper were to determine the minimum lethal temperature for the oil seed plant *Jatropha curcas* L., to define and to map the regions with apt thermal conditions to grow, aiming at supporting the expansion of this crop in southern Brazil as an alternative for biofuel production. The experiment was carried out at Agronomic Institute of Parana (IAPAR), in Londrina-PR (23°23' S, 50°11' W). Treatments of minimum temperatures of +1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C and -5°C were simulated in a cold chamber, and compared to a control exposed to ambient temperature. Ten plants (replications) were distributed within the chamber in a completely randomized design. The means were compared through the Tukey test ($P < 0.05$). The following parameters were evaluated: photosynthetic rate after 6 hours, 7 days and 14 days; visual foliar damages one day and one month after the treatments; plant mortality one month after the treatments; activity of the enzyme peroxydasis in the leaves; total soluble protein content in the stems and plant recovering in the field. The data were submitted to regression analysis at 5% of significance. The minimum temperature of -3°C caused the death of the leaves in 60% of the plants. The exposition to -4°C was lethal for 60% of the plants, while at -5°C all plants were killed. Photosynthesis was decreased by low temperatures and under -4°C and -5°C the values were negative, demonstrating that the process was completely halted and only respiration was occurring. Peroxydasis activity increased in the treatments +1°C, 0°C, -1°C e -2°C and decreased at temperatures equal or less than -3°C. Total soluble protein content increased as temperature decreased. It was concluded that low temperatures increase the activity of peroxydasis in plants of *Jatropha curcas* up to the edge where leaf damages start, and from this point on the activity is reduced, suggesting that it can be used as a criterion to define sensitivity to low temperatures. Based on the results, the minimum screen temperature of 0°C was assumed as limiting to this crop. Historical series of minimum screen temperatures from the Agronomic Institute of Parana (IAPAR) were analyzed to adjust the data to the distribution of extremes. Following, the data were transferred to a Geographic Information System to proceed with the analyses of spatialization. The parameters alpha and beta of the distribution of extremes were correlated with altitude and latitude, using an altimetric basis with values at approximately each 900 x 900 m. Through this procedure, two maps of frost risk were generated, showing the regions with probabilities of occurring temperatures above and below 0°C at the levels of 10 and 20%, corresponding to one frost expected each 10 and 5 years, respectively. These results give support to the expansion of the oil seed plant of *Jatropha curcas* in the state of Parana in areas with low risk of loss due to frost occurrence.

Key words: Climatic risk, frost, biofuel, Geographic Information System, thermal stress, peroxydasis, total soluble protein.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1.	CRISE DO PETRÓLEO E INCENTIVO AOS BIOCOMBUSTÍVEIS	3
2.2.	O QUE É BIODIESEL?	4
2.2.1.	Histórico do Biodiesel	4
2.2.2.	O biodiesel no mundo	5
2.2.3.	O biodiesel no Brasil	6
2.2.4.	O biodiesel no Estado do Paraná	7
2.2.5.	Vantagens do Biodiesel em Relação ao Óleo Diesel	7
2.2.6.	Principais Plantas Oleaginosas Recomendadas	8
2.3.	PINHÃO-MANSO (<i>Jatropha curcas L.</i>)	10
2.3.1.	Descrição Botânica	10
2.3.2.	Aspectos Gerais da Cultura do Pinhão-Manso	11
2.3.3.	Tratos Culturais	13
2.3.4.	Propriedades Oleaginosas do Pinhão-Manso	13
2.3.5.	Extração do Óleo e Produção de Biodiesel de Pinhão-Manso	14
2.3.6.	Vantagens do Pinhão-Manso	15
2.3.7.	Outras Utilidades do Pinhão-Manso	15
2.4.	PINHÃO-MANSO E O CLIMA NO PARANÁ	16
2.5.	ASPECTOS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS A BAIXAS TEMPERATURAS	17
3.	ARTIGO A: TEMPERATURA MÍNIMA LETAL PARA O CULTIVO DO PINHÃO-MANSO (<i>Jatropha curcas L.</i>)	19
3.1.	RESUMO	19
3.3.	INTRODUÇÃO	20
3.4.	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
3.6.	CONCLUSÕES	31
4.	ARTIGO B: ATIVIDADE DA PEROXIDASE E NÍVEIS DE PROTEÍNAS EM PLANTAS JOVENS DE PINHÃO-MANSO (<i>Jatropha curcas L.</i>) SUBMETIDAS A BAIXAS TEMPERATURAS	32
4.1.	RESUMO	32
4.3.	INTRODUÇÃO	33
4.4.	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.4.1.	Simulações de Geadas	35
4.4.2.	Atividade da Peroxidase	36
4.4.3.	Teor de Proteína Total Solúvel	37
4.5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.6.	CONCLUSÕES	40
5.	ARTIGO C: REGIONALIZAÇÃO DAS ÁREAS COM BAIXO RISCO DE GEADAS PARA A CULTURA DO PINHÃO-MANSO NO ESTADO DO PARANÁ	41

5.1. RESUMO	41
5.2. ABSTRACT	41
5.3. INTRODUÇÃO	42
5.4. MATERIAL E MÉTODOS	44
5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.6. CONCLUSÕES	50
6. CONCLUSÕES GERAIS	51
7. REFERÊNCIAS	52

1. INTRODUÇÃO

Embora o petróleo seja uma das principais fontes de energia em todo o mundo, é um recurso que se esgotará nos próximos anos, aumentando a preocupação mundial em busca de fontes alternativas de energia renovável. Além disso, o consumo de combustíveis fósseis derivados do petróleo tem significativos impactos na qualidade do meio ambiente, sendo a poluição do ar nas grandes cidades o efeito mais visível.

Dentro deste enfoque o governo federal brasileiro, durante quase meio século promoveu iniciativas para usos em testes de biodiesel. Diversos estudos mostraram que o biodiesel pode substituir total ou parcialmente o óleo diesel de petróleo em motores ciclodiesel (Brasil, 2006). Trata-se de um combustível biodegradável, pois permite que se estabeleça um ciclo fechado de carbono no qual o CO₂ é absorvido quando a planta cresce e é liberado quando o combustível é queimado no processo de combustão do motor (Yamaoka et al., 2005).

O biodiesel é derivado de fontes renováveis constituídas de gorduras animais ou vegetais, sendo obtido por diferentes processos, tais como o craqueamento, a esterificação ou transesterificação. Diversas espécies vegetais no Brasil podem ser utilizadas para sua produção, tais como mamona, dendê (palma), girassol, babaçu, amendoim, pinhão manso, algodão e soja (Brasil, 2006).

Dentre as plantas oleaginosas, o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) tem se destacado como uma planta rústica, perene e adaptável a uma vasta gama de ambientes e condições edafoclimáticas (Saturnino et al., 2005). Trata-se de um arbusto de rápido crescimento, com excelente potencial de produção de óleo (Arruda et al., 2004). Segundo Silveira (1934), o teor de óleo nas sementes varia de 27 a 37% de óleo e na amêndoa atinge 52 a 61%.

A produtividade do pinhão manso varia de acordo com a região de plantio, método de cultivo, tratamentos culturais, idade da cultura, bem como a quantidade de chuva e a fertilidade do solo. A planta não tolera geadas severas, mas sobrevive a geadas fracas, perdendo, entretanto todas as folhas, o que provavelmente reduzirá

a produção de sementes (Saturnino et al., 2005). Assim, as baixas temperaturas podem limitar o cultivo da espécie em muitos municípios do estado do Paraná, onde há risco de ocorrerem geadas em função do deslocamento de massas de ar polar que alteram o balanço regional de energia.

Por meio da metodologia de zoneamento de risco climático são analisadas as variáveis planta-solo-clima, ajustando-se funções matemáticas e estatísticas com o objetivo de quantificar o risco de perda das lavouras devido à ocorrência de eventos climáticos adversos, tais como secas e geadas. Com isso identifica-se, para cada município, a melhor época de plantio das culturas nos diferentes tipos de solo e ciclos das cultivares. Entretanto, para realizar este trabalho é necessário conhecer as respostas das culturas às condições térmicas e hídricas.

Assim, este trabalho teve como objetivo subsidiar a realização do zoneamento de riscos climáticos do Pinhão-manso no estado do Paraná, por meio da determinação da temperatura mínima letal e identificação das áreas com baixo risco de perdas por geadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CRISE DO PETRÓLEO E INCENTIVO AOS BIOCOMBUSTÍVEIS

Desde meados do século XIX, quando tiveram início a exploração de campos e a perfuração de poços de petróleo, a indústria petrolífera foi a grande propulsora da economia internacional. Na década de 70 do século XX, houve uma crise mundial e as conseqüências foram especialmente graves para o Brasil, que importava praticamente 80% do petróleo consumido e que em um único ano, de 1973 para 1974, as despesas com a importação de combustível saltaram de US\$ 600 milhões para mais de US\$ 2 bilhões (AIAA, 1997). O governo federal lançou em 1975 o PROALCOOL, com o objetivo de garantir o suprimento de combustível para o país, substituindo a gasolina por um combustível renovável e encorajando o desenvolvimento tecnológico da indústria da cana-de-açúcar e do álcool. Foi também nessa década que se iniciaram as pesquisas sobre o biodiesel, buscando uma alternativa aos combustíveis minerais derivados do petróleo. No final da década de 80, os preços do petróleo caíram e o governo reduziu os subsídios do álcool, iniciando uma crise prolongada, porém, ele continua sendo um importante componente da gasolina, com um percentual de 25% de mistura no ano de 2004 (Holanda, 2004). Segundo a Agência Internacional de Energia o petróleo representava, no ano de 2006, 43% do consumo mundial de energia primária (ANEEL, 2006). Porém, trata-se de uma fonte não renovável, e de acordo com dados da BP Statistical Review of World Energy, 2006, desconsiderando-se novas descobertas e mantendo-se a produção nos patamares de 2002, as reservas mundiais durariam cerca de quarenta anos. Este possível esgotamento vem aumentando a preocupação mundial em busca de fontes alternativas de energia renovável. Além disso, o consumo de combustíveis fósseis derivados do petróleo tem significativos impactos na qualidade do meio ambiente, sendo a poluição do ar nas grandes cidades, o mais visível destes (Yamaoka, 2005).

2.2. O QUE É BIODIESEL?

Biodiesel é uma denominação genérica para combustíveis e aditivos derivados de fontes renováveis (Holanda, 2004). É produzido a partir de óleos vegetais puros ou usados e de gorduras animais, que sofrem uma reação com um álcool (etanol ou metanol), chamada de reação de transesterificação, que resulta nos compostos conhecidos como ésteres de ácidos graxos (etílicos ou metílicos) (Miragaya, 2005). O biodiesel pode ser usado puro ou em mistura com o óleo diesel em qualquer proporção. As misturas em proporções volumétricas entre 5% e 20% são as mais usuais, sendo que para a mistura B5, não é necessário nenhuma adaptação dos motores (Holanda, 2004). É um combustível biodegradável, pois permite que se estabeleça um ciclo fechado de carbono no qual o CO₂ é absorvido quando a planta cresce e é liberado quando o biodiesel é queimado na combustão do motor (Yamaoka et al., 2005).

2.2.1. Histórico do Biodiesel

Apesar de existirem registros da utilização de combustíveis de óleos vegetais, desde a montagem dos primeiros protótipos de motores de ignição por compressão, por Rudolph Diesel, no final do século 19 (Miragaya, 2005). As pesquisas do biodiesel como uma alternativa promissora aos combustíveis minerais derivados do petróleo se iniciaram no Brasil na década de 70, impulsionadas pelas crises do petróleo ocorridas nessa década, com os trabalhos do professor Expedito Parente, da Universidade Federal do Ceará, que é autor da patente PI - 8007957, primeira, em termos mundiais, de biodiesel e de querosene vegetal de aviação (Holanda, 2004). No dia 22 de Outubro de 1980, através da Resolução nº 007, a Comissão Nacional de Energia do Brasil elaborou o Programa Nacional de Óleos Vegetais para fins Carburantes (Brasil, 1985). Na década de 80 teve início a

produção comercial de biodiesel no continente Europeu, mas foi em 1992 que esta ganhou impulso com a mudança da Política Agrícola Comum da União Européia, que se tornou o principal mercado produtor e consumidor de biodiesel em grande escala, utilizando como matéria-prima a canola (Miragaya, 2005). Nesta época, no Brasil, os elevados custos de produção, em relação ao óleo diesel, inviabilizaram seu uso em escala comercial (Holanda, 2004).

2.2.2. O biodiesel no mundo

A demanda mundial por combustíveis renováveis tem se expandido rapidamente, graças a fatores como: estratégias para a redução de emissão de gases causadores do efeito estufa, conforme demandado pelo Protocolo de Kyoto; redução da dependência de derivados de petróleo na matriz energética nacional e incentivo à agricultura e às indústrias locais, principalmente nos países que são grandes consumidores de combustíveis (Miragaya, 2005).

A União Européia produz anualmente mais de 1,35 milhões de toneladas de biodiesel, em cerca de 40 unidades de produção. Isso corresponde a 90% da produção mundial de biodiesel. O governo garante incentivo fiscal aos produtores, além de promover leis específicas para o produto, visando melhoria das condições ambientais através da utilização de fontes de energia mais limpas. A tributação dos combustíveis de petróleo na Europa, inclusive do óleo diesel mineral é extremamente alta, garantindo a competitividade do biodiesel no mercado (Brasil,2006).

No mercado internacional, o Biodiesel produzido tem sido usado em: veículos de passeio, transporte de estrada e “off road”, frotas cativas, transporte público e geração de eletricidade. Países como Argentina, Estados Unidos, Malásia, Alemanha, França e Itália já produzem biodiesel comercialmente, estimulando o desenvolvimento de escala industrial. A Alemanha é o maior produtor e consumidor mundial de biodiesel, responsável por cerca de 42% da produção mundial. Sua

produção é feita a partir da canola, produto utilizado principalmente para nitrogenização do solo (Holanda, 2004). Outros países têm demonstrado interesse no biodiesel, seja para produzir ou comprar e consumir.

2.2.3. O biodiesel no Brasil

O governo federal brasileiro, durante quase meio século, promoveu iniciativas para usos em testes de biodiesel, sendo um dos primeiros a registrar patente sobre o processo de produção de combustível, em 1980. E em Outubro de 2002, lançou o Programa Brasileiro de Biocombustíveis, com o objetivo de viabilizar a utilização do biodiesel, promovendo a inclusão social; garantindo preços competitivos, qualidade e suprimento; e produzindo o biodiesel a partir de diferentes fontes oleaginosas e em regiões diversas, possibilitando a implantação de um programa sustentável (Holanda, 2004). O Brasil apresenta grande potencial na produção de biodiesel, destacando a utilização de fatores de produção baratos e abundantes, como disponibilidade de mão-de-obra e terra (Ferrucio, 2006). Em 6 de Dezembro de 2004, o presidente da república, Luiz Inácio Lula da Silva, assinou o decreto que autorizou o uso comercial do biodiesel do Brasil, inicialmente com uma mistura de 2% de biodiesel (B2) ao diesel de petróleo; a partir de 2008 essa mistura será obrigatória e a partir de 2013 esse percentual será de 5% (B5) (Miragaya, 2005). Existem atualmente muitas pesquisas e testes sendo realizados em todas as regiões do país, voltados à produção e utilização de biodiesel.

2.2.4. O biodiesel no Estado do Paraná

O Programa Paranaense de Bioenergia foi criado com a finalidade de gerir e fomentar ações de pesquisa e desenvolvimento, aplicações e uso da biomassa, com o foco inicial na produção e aplicação do biodiesel como biocombustível, adicionando-o na matriz energética estadual. O Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) desempenha papel fundamental nesse programa, sendo o órgão responsável pelos trabalhos de pesquisa agropecuária. Cabe ao IAPAR desenvolver tecnologia de produção de culturas oleaginosas não tradicionais no Estado e com potencial para a produção de biodiesel (Oliveira et al., 2005).

Atualmente as oleaginosas mais cultivadas no Paraná de acordo com o SEAB/DERAL (2006) são: soja (3.876.929 ha), algodão (16.209 ha), amendoim (5.264 ha), girassol (5.121 ha), canola (1.259 ha) e mamona (529 ha). O IAPAR, além de pesquisas para o aprimoramento dos cultivos de amendoim, girassol e mamona, desenvolve trabalhos com nabo forrageiro, canola, tungue e pinhão-manso, que não são tradicionais no estado.

2.2.5. Vantagens do Biodiesel em Relação ao Óleo Diesel

Um estudo conjunto do Departamento de Energia e do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos mostra que o biodiesel reduz em 78% as emissões líquidas de CO₂. Estudos desenvolvidos pelo Ministério do Desenvolvimento Agrário, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ministério da Integração Nacional e Ministério das Cidades mostram que a cada 1% de substituição de óleo diesel por biodiesel produzido com a participação da agricultura familiar podem ser gerados cerca de 45 mil empregos no campo, com uma renda média anual de aproximadamente R\$ 4.900,00 por emprego. Admitindo-

se que para um emprego no campo são gerados três empregos na cidade, seriam criados, então, 180 mil empregos. Numa hipótese otimista de 6% de participação da agricultura familiar no mercado de biodiesel, seriam gerados mais de 1 milhão de empregos (Holanda, 2004).

Os benefícios ambientais podem ainda gerar vantagens econômicas para o País. O Brasil poderia enquadrar o biodiesel nos acordos estabelecidos no protocolo de Kyoto e nas diretrizes dos Mecanismos de Desenvolvimento Limpo – MDL (Yamaoka et al., 2005).

O biodiesel substitui total ou parcialmente o óleo diesel de petróleo em motores ciclo diesel automotivos (caminhões, tratores, camionetas, automóveis, etc) ou estacionários (geradores de eletricidade, calor, etc) (Brasil, 2006), podendo ser utilizado puro ou misturado ao diesel em diversas proporções.

2.2.6. Principais Plantas Oleaginosas Recomendadas

O biodiesel pode ser produzido a partir de gorduras animais ou de óleos vegetais, existindo dezenas de espécies vegetais no Brasil que podem ser utilizadas (Brasil, 2006). Entre as principais culturas tradicionais e mais estudadas estão:

-Soja: Representa mais de 88% da produção de oleaginosas do Brasil (Teixeira, 2005). Apesar de ser maior fonte de proteína que de óleo, pode ser uma importante matéria-prima no esforço de produção, com uma produtividade de 0,210 toneladas de óleo por hectare por ano (Holanda, 2004).

-Algodão: É considerada a mais importante das fibras têxteis, naturais ou artificiais, é também a planta de aproveitamento mais completo e que oferece os mais variados produtos de utilidade (Brasil, 2006). A produtividade aproximada encontrada foi de 0,45 toneladas de óleo por hectare por ano (Teixeira, 2005).

-Amendoim: Por ter mais óleo que proteína, poderá voltar a ser produzido com grande vigor nessa era energética dos óleos vegetais, apresenta produtividade de 0,450 toneladas de óleo por hectare por ano (Holanda, 2004).

-Dendê: É uma cultura perene, que atinge seu máximo de produtividade (5 toneladas de óleo por hectare por ano), somente cinco anos após o plantio (Holanda, 2004). As maiores dificuldades são a impossibilidade de estocagem do fruto e o fato de seu biodiesel se solidificar em temperaturas baixas (Teixeira, 2005).

-Mamona: É a oleaginosa indicada como primeira escolha pelo governo para a agricultura familiar, porém, é uma *commodity* de alto valor no mercado, o que não torna interessante transformá-la em biodiesel (Teixeira, 2005). Apresenta uma produtividade de 0,470 toneladas de óleo por hectare por ano (Holanda, 2004).

-Girassol: Com uma produtividade de 0,68 toneladas de óleo por hectare por ano, suas características alimentares poderão dificultar o seu emprego na produção energética (Holanda, 2004).

-Canola: Cultura de maior destaque mundial para a produção de biodiesel, é a principal matéria-prima utilizada na Europa. A produtividade está entre 0,35 e 0,4 toneladas (Holanda, 2004).

Do grupo das forrageiras cita-se o Nabo-forrageiro, utilizada na agricultura basicamente para fornecer cobertura vegetal, trata-se de um excelente negócio por ser uma produção de custo zero. Ao invés de passar a máquina desintegradora, usa-se uma colhedeira para realizar o serviço. Os poucos registros existentes apontam uma produtividade de até 0,33 toneladas de óleo por hectare por ano (Teixeira, 2005).

Entre as culturas nativas estão:

Macaúba: Estima-se que sua produtividade esteja entre 1,5 e 5 toneladas de óleo por hectare por ano, o que a torna uma importante espécie produtora de óleo (Teixeira, 2005).

Babaçu: Existem 17 milhões de hectares de florestas onde predomina a palmeira do babaçu e a possibilidade de aproveitamento integral do coco, o que compensa o fato deste apresentar apenas 4% de óleo (Holanda, 2004). A produção estimada de óleo pode alcançar 1,7 toneladas por hectare por ano (Teixeira, 2005).

Tungue: Precisa de frio para alcançar boa produtividade, pode ser cultivada em toda a região sul do Brasil e sua produtividade está estimada em 1,5 toneladas de óleo por hectare por ano (Brasil, 2006).

2.3. PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.)

A origem do pinhão-manso ainda é bastante controversa. Peixoto (1973) julga que este seja oriundo da América do Sul, e que foi introduzido nas ilhas do arquipélago de Cabo Verde em 1783, de onde mais tarde foi disseminada pelo continente africano. Atualmente ocorre em maior escala nas regiões tropicais e temperadas, e em menor extensão nas regiões frias. Pode ser encontrada em quase todas as regiões intertropicais, estendendo sua ocorrência à América Central, Índia, Filipinas e Timor (Cortesão,1956; Peixoto, 1973; Brasil, 1985). Segundo Cortesão (1956) sua distribuição geográfica é bastante vasta devido a sua rusticidade, resistência a longas estiagens, bem como às pragas e doenças, sendo adaptável a condições edafoclimáticas muito variáveis, desde o Nordeste até São Paulo e Paraná. Em alguns países como Guiné, Moçambique, Filipinas e Ilhas do Cabo Verde, o pinhão-manso é plantado frequentemente associado às culturas de subsistência (Brasil, 1985). O pinhão-manso é pouco exigente em solo, se desenvolve bem tanto nas regiões tropicais secas como nas zonas equatoriais úmidas, assim como nos terrenos áridos e pedregosos, podendo suportar longos períodos de secas. Encontra-se desde a orla marítima, ao nível do mar, até 1.000 m de altitude, sendo o seu cultivo mais indicado em regiões que apresentem entre 500 e 800m de altitude (Cortesão,1956).

2.3.1. Descrição Botânica

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) pertence à família das Euforbiáceas. É um arbusto grande, de crescimento rápido, cuja altura normal é dois a três metros, podendo alcançar até cinco metros em condições especiais. O diâmetro do tronco atinge aproximadamente 20 cm; caule liso, de lenho mole e

medula desenvolvida, mas pouco resistente; floema com longos canais que se estendem até as raízes, nos quais circula o látex, suco leitoso que corre com abundância de qualquer ferimento, possui raízes curtas e pouco ramificadas. O tronco ou fuste é dividido desde a base, em compridos ramos, com numerosas cicatrizes produzidas pela queda das folhas na estação seca, as quais ressurgem logo após as primeiras chuvas (Cortesão, 1956; Brasil, 1985).

As folhas são verdes e brilhantes, largas, com 3 a 5 lóbulos mucronados, alternas, pecioladas, cordiformes na base, glabras e palminerviais. As nervuras são esbranquiçadas e salientes na face inferior (Brasil, 1985). As flores são amarelo-esverdeadas, monóicas, unissexuais e produzidas na mesma inflorescência. As femininas apresentam-se com pedúnculo longo, não articulado, com três células elípticas, ovário com três carpelos, cada um com um lóculo que produz um óvulo com três estigmas bifurcados separados, isoladas, em menor número que as masculinas, as quais se localizam nas ramificações, com dez estames, cinco unidos na base e cinco unidos na coluna (Saturnino et al., 2005). O fruto é uma cápsula ovóide, achatado nas extremidades, indeiscente, verde inicialmente, passa a amarelo, castanho e por fim preto, quando atinge o estado de maturação (Brasil, 1985). As sementes são oblongas e elipsóides, relativamente grandes; quando secas medem de 1,5 a 2 cm de comprimento e 1,0 a 1,3 cm de largura; tegumento rijo, quebradiço, de fratura resinosa. A semente de pinhão, que pesa de 0,551 a 0,797 g, pode ter, dependendo da variedade e dos tratos culturais, de 33,7 a 45% de casca e de 55 a 66% de amêndoa (Arruda et al., 2004). Segundo Silveira (1934), cada semente contém 27,90 a 37,33% de óleo e na amêndoa se encontra de 5,5 a 7% de umidade e 52,54 a 61,72% de óleo.

2.3.2. Aspectos Gerais da Cultura do Pinhão-Manso

O pinhão pode ser reproduzido via sexuada ou multiplicado por estacas. Em ambos os casos, a seleção das matrizes deve ser rigorosa, escolhendo-

se as melhores plantas. De modo geral, as plantas oriundas de sementes são mais resistentes e de maior longevidade, atingindo idade produtiva após quatro anos, enquanto as provenientes de estacas são de vida mais curta e sistema radicular menos vigoroso, mas começam a produzir no segundo ano. Quando obtida por via sexual, em boas condições de produção, a longevidade desta euforbiácea é de 30 a 50 anos, podendo viver até mais de um século (Cortesão, 1956; Peixoto, 1973). A produtividade do pinhão manso varia de acordo com a região de plantio, método de cultivo e tratamentos culturais, idade da cultura, bem como a quantidade de chuva e a fertilidade do solo. Em espaçamento 3x3 m, o rendimento anual de óleo pode atingir de 3,0 a 4,0 t/ha (Brasil, 1985). Para Carnielli (2003), o pinhão manso produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare/ano. Nas regiões equatoriais o pinhão-manso pode florescer duas vezes por ano, enquanto nas demais regiões a colheita das sementes é feita apenas uma vez. A produção se distribui entre janeiro e julho, quando então o pinhão-manso entra em repouso vegetativo, com perda das folhas, até o início das chuvas em Outubro, período em que começa nova brotação (Brasil, 1985).

Apesar de pouco exigente em condições climáticas e solo fértil, adaptando-se facilmente a variadas condições, o pinhão-manso deve preferencialmente ser cultivado em solos profundos, bem estruturados e pouco compactados para que o sistema radicular possa se desenvolver e explorar maior volume de solo, satisfazendo a necessidade da planta em nutrientes. Devem ser evitados os solos muito argilosos, rasos, com umidade constante, pouco arejados e de difícil drenagem (Peixoto, 1973; Brasil, 1985). A maturação dos frutos é completa com o escurecimento das cápsulas, após a colheita é feita a secagem ao ar, que provoca a deiscência espontânea dos frutos, depois separam-se as sementes por meio de trilhadoras e peneiras (Peixoto, 1973). Entre as pragas nocivas ao desenvolvimento do pinhão-manso, que não são muitas, consequência da presença do látex cáustico nas diversas partes da planta, incluem: louva-deus, gafanhoto, trips, percevejo e besouro desfolhador (Brasil, 1985). Formigas saúva e rapa-rapa atacam principalmente as mudas novas. Recomenda-se então o plantio de mudas com seis meses de idade, mais desenvolvidas, que não sofrem prejuízos (Saturnino et al., 2005). Nos terrenos úmidos o pinhão é atacado por um fungo, levando-o a morte, cujo tratamento consiste em drenar o terreno, proporcionando mais oxigênio às raízes (Peixoto, 1973). Apesar de não tolerar geadas fortes, a planta pode

sobreviver a geadas bem fracas, perdendo, entretanto todas as folhas, o que provavelmente reduzirá a produção de sementes (Saturnino et al., 2005).

2.3.3. Tratos Culturais

As mudas devem ficar na sementeira até alcançarem de 8 a 12 cm, para então serem levadas ao viveiro ou diretamente a campo (Peixoto, 1973). A melhor época de plantio é no final do inverno e início da primavera ou no começo da estação chuvosa, quando o pinhão-manso recomeça a brotar e florir naturalmente (Saturnino et al., 2005). O espaçamento pode ser feito de 2 até 5 m segundo a fertilidade do solo, suas condições físicas, condições climáticas e modo de condução das plantas. As covas devem ter no mínimo 30 cm de diâmetro e de profundidade, mistura-se a terra dos 10 cm da superfície com oito litros de estrume bovino ou dois litros de esterco de galinha (Peixoto, 1973). A poda deve ser feita logo que a planta atinja 1 m de altura, visando à indução de ramos laterais, os quais propiciarão uma produção maior de frutos e de ramos novos (Saturnino et al., 2005). O controle de plantas daninhas deve ser feito sempre que necessário, pois elas concorrem com a cultura quanto à luz, ao ar, à umidade e aos nutrientes (Peixoto, 1973). O método mais prático e rápido de colheita dos frutos é fazendo vibrar o pé do pinhão, à meia altura, o que provoca a queda apenas dos frutos maduros (Brasil, 1985).

2.3.4. Propriedades Oleaginosas do Pinhão-Manso

O fruto do pinhão contém em base seca, teor de óleo de 28% no fruto inteiro, 38% na semente e 61% no albúmen (Brasil, 1985). Seu óleo dá boa chama sem esfumaçar, é utilizado na fabricação de tintas e seu principal emprego é

nas saboarias. Saponifica-se com soda cáustica, fornecendo sabão duro, marmoreado de excelente qualidade, bastante solúvel na água, produzindo muita espuma (Peixoto, 1973).

A partir do início da segunda Guerra Mundial possíveis utilizações do óleo de pinhão-manso começaram a ser estudadas, levando-se à conclusão de que esse óleo poderia também ser utilizado como combustível nos motores Diesel, o qual se comportava bem, sem qualquer tratamento prévio especial e com quase igual potência às conseguidas com o óleo diesel. Contudo, o consumo é evidentemente maior, devido à diferença dos poderes caloríficos (Cortesão, 1956). O poder calorífico do óleo bruto do pinhão-manso é de 9400 kcal/kg e do diesel 10100 kcal/kg (Moraes, 1982).

2.3.5. Extração do Óleo e Produção de Biodiesel de Pinhão-Manso

As sementes de pinhão-manso sofrem o mesmo tratamento industrial a que são submetidas as bagas de mamona, isto é, cozimento prévio e esmagamento subsequente em prensas tipo “expeller” (Brasil, 1985). Essas prensas são dotadas de aquecimento a vapor, cujo processo consiste no aquecimento rápido a 80°C da carga de sementes, seguindo-se a extração por prensagem, com rendimento de aproximadamente 70% (Cetec, 1989). Em seguida é filtrado, centrifugado e clarificado, resultando num produto livre de impurezas. A torta, que contém ainda 8% de óleo, é re-extraída, desta vez com solventes orgânicos, de modo geral hexano (Brasil, 1985). Pode ser feita diretamente a extração com solvente, que é preferida, pois a extração por prensagem não apresenta uma eficiência satisfatória (Brasil, 2006). O biodiesel é obtido pelo processo de transesterificação, que consiste basicamente no ataque dos glicerídeos por álcool, na presença de um catalisador ácido ou alcalino, gerando uma mistura de ésteres do álcool correspondente e glicerina (Cetec, 1989). A molécula de óleo vegetal é formada por três ésteres ligados a uma molécula de glicerina, o que faz dele um

triglicídio; assim, a transesterificação nada mais é do que a separação da glicerina do óleo vegetal (Teixeira, 2005).

2.3.6. Vantagens do Pinhão-Manso

Uma das principais vantagens do pinhão-manso é o seu longo ciclo produtivo que pode chegar a 40 anos e manter a média de produtividade de 2 ton/ha (Brasil, 2006). Por ser uma cultura perene, segundo Peixoto (1973), pode ser utilizado na conservação do solo, pois o cobre com uma camada de matéria seca, reduzindo, dessa forma, a erosão e a perda de água por evaporação, evitando enxurradas e enriquecendo o solo com matéria orgânica decomposta.

Sua rusticidade e adaptabilidade a vários ambientes e condições climáticas a destaca entre as demais oleaginosas. É uma cultura que pode se desenvolver nas pequenas propriedades, com a mão-de-obra familiar disponível, como acontece com a cultura da mamona na Bahia, sendo mais uma fonte de renda para as propriedades rurais da Região Nordeste (Brasil, 1985).

Além disso o pinhão-manso, por ser planta nativa, pode ser incorporado na reserva legal obrigatória, prevista no Código Florestal para as fazendas, já que 60 dos 20% desta pode ser cultivado (Paraná, 2006).

2.3.7. Outras Utilidades do Pinhão-Manso

Além de produzir óleo, o pinhão-manso também pode ser utilizado para outros fins, tais como: a) substituição parcial do arame em cercas vivas, já que os animais evitam tocá-lo devido ao látex cáustico que escorre das folhas arrancadas ou feridas; b) pode ser usado como suporte para plantas trepadeiras

como a baunilha (*Vanilla aromática*), visto que o tronco possui casca lisa e macia e c) atua como fixador de dunas na orla marítima (Peixoto, 1973).

Na medicina doméstica, aplica-se o látex da planta como cicatrizante, hemostático e também como purgante. As raízes são consideradas diuréticas e antileucêmicas e as folhas são utilizadas para combater doenças de pele. São eficazes também contra o reumatismo e possui poder anti-sifilítico. As sementes são utilizadas como purgativo, verificando-se casos de intoxicação em crianças e adultos quando as ingerem em excesso, o que pode ser perigoso e até fatal. Atribuem-se as propriedades tóxicas do pinhão a uma globulina, a curcasina e também ao ácido jatrópico de toxicidade igual ou superior a ricinina. A ingestão de uma única semente fresca pode causar vômito e diarreia (Peixoto, 1973).

O óleo é também considerado um pesticida biológico, graças à elevada presença de ésteres, apresenta efeito inseticida e moluscida, entretanto aplicações em altas concentrações podem ser prejudiciais às plantas. A casca do pinhão pode ser utilizada na fabricação de papel, na adubação e na produção de carvão (Heller, 1996).

2.4. PINHÃO-MANSO E O CLIMA NO PARANÁ

Por ser originalmente de regiões tropicais o pinhão-manso tolera geadas fracas, mas não sobrevive a geadas fortes (Saturnino et al., 2005). Assim, as baixas temperaturas podem ser uma barreira para o cultivo da espécie no estado do Paraná.

As geadas neste estado ocorrem em função do deslocamento de massas de ar polar que alteram o balanço regional de energia. Este processo se torna bastante freqüente no inverno, causando a ocorrência de geadas inclusive no norte do estado, com conseqüências desastrosas para a agricultura paranaense (GRODZKI, 1996). O mesmo autor observou que o número de ocorrências de geadas num mesmo período varia de acordo com o local, verificando uma relação direta entre o número de geadas ocorridas e os parâmetros latitude e altitude dos locais.

A ausência de ventos em noites de céu aberto causa uma extratificação do ar frio que, por ser mais denso, acumula-se próximo à superfície, formando-se um gradiente de temperatura, sendo esta menor quanto mais próximo ao solo. Devido ao fato de ocorrer justamente o inverso da condição diurna, este fenômeno é denominado “inversão térmica” (Pereira et al., 2002; Caramori et al., 2000).

Por meio da metodologia de zoneamento de risco climático são analisadas as variáveis planta-solo-clima, ajustando-se funções matemáticas e estatísticas (frequenciais e probabilísticas) com o objetivo de quantificar o risco de perda das lavouras devido à ocorrência de eventos climáticos adversos, tais como secas, geadas e excessos de chuva. Com isso, identifica-se para cada município, a melhor época de plantio das culturas nos diferentes tipos de solo e ciclos dos cultivares. Os resultados são de fácil entendimento e adoção pelos produtores rurais, extensionistas, agentes financeiros, seguradoras e demais usuários, possibilitando sua ampla aplicação. (Brasil, 2006).

2.5. ASPECTOS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS A BAIXAS TEMPERATURAS

Nas plantas sob condições de frio, existe menos energia metabólica disponível, restringindo a absorção de água e de nutrientes, os processos de biossíntese ocorrem em menor intensidade, a assimilação é reduzida e o crescimento é interrompido (Larcher, 2000). Assim, a tolerância ao frio é muito importante, pois baixas temperaturas que não chegam a matar podem levar à injúria, deixando-a suscetível a outros tipos de estresses ou doenças (McKersie, 1996).

Sob condições de estresse as plantas tendem a aumentar a atividade da peroxidase, que pode ser a primeira enzima a ter atividade alterada, independentemente do estresse aplicado (Siegel, 1993). As peroxidases são isoenzimas associadas às mudanças nos processos fisiológicos de plantas submetidas a estresses, e parecem ser moléculas-chave de adaptação das plantas, ou de algum de seus órgãos separadamente, às mudanças do meio ambiente (Gaspar, et al., 1985). A peroxidase está relacionada com a síntese de lignina e suberina, que aumentam a rigidez dos tecidos, e com a produção de quinonas e

oxigênio ativo, que possuem propriedades antibióticas (Goodman et al., 1986; Stout et al., 1994). Em plantas, a ação desse grupo de enzimas constitui proteção antioxidativa e tem papel importante na adaptação e sobrevivência de plantas durante o estresse (Chang e Kao, 1998).

A produção de altas concentrações de H_2O_2 , em resposta ao estresse, pode induzir a liberação de peroxidases nas membranas, às quais estas enzimas estão geralmente associadas (Grodén e Beck, 1979). As peroxidases são responsáveis pela síntese de polímeros (lignina) na parede celular e pela prevenção da oxidação dos lipídios da membrana. O aumento de peroxidase permitiria maior tolerância em plantas estressadas (Mittal e Dubey, 1991).

Danos celulares causados por radicais livres e pela peroxidação dos lipídeos podem ser reduzidos ou prevenidos pelo metabolismo oxidativo envolvendo enzimas antioxidantes, como a peroxidase (Chang e Kao, 1998). Lima et al. (1998) concluíram que esta enzima poderia ser usada como parâmetro para identificar estresse fisiológico e que o aumento de atividade da enzima pode estar associado à habilidade de certos genótipos em degradar substâncias tóxicas como radicais livres (peróxidos), fenóis e outros liberados em condições de estresse.

Em condições estressantes podem se alterar também os níveis de proteínas. O estresse salino pode provocar mudanças nos teores protéicos e atividade enzimática, com danos no crescimento e desenvolvimento vegetal (Ulisses et al., 1998). Krishnamurthy e Bhagwat (1989) comprovaram acúmulo de proteínas solúveis em brotos de arroz cultivados em meio salino quando comparado com o controle, sem sal. Este acúmulo foi considerado uma adaptação para a sobrevivência em estresse salino.

3. ARTIGO A: TEMPERATURA MÍNIMA LETAL PARA O CULTIVO DO PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.)

3.1. RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a temperatura mínima letal em plantas jovens de Pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), visando a expansão desta cultura no sul do Brasil como alternativa para produção de biodiesel. O experimento foi conduzido no Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em Londrina-PR (23°23' S, 50°11' W). Em uma câmara fria, foram realizados tratamentos com temperaturas mínimas de +1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C e -5°C, comparadas com um controle exposto à temperatura ambiente. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com 10 repetições. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ($P < 0,05$). Os seguintes parâmetros foram avaliados: taxa fotossintética das plantas após 6 horas, 7 dias e 14 dias; danos foliares visuais um dia e um mês após os tratamentos, mortalidade das plantas um mês após os tratamentos e índice de pegamento e recuperação das plantas no campo. A temperatura mínima de -3°C provocou a morte das folhas em 60% das plantas. A exposição a -4°C foi letal para 60% das plantas, enquanto que a -5°C todas as plantas morreram. A fotossíntese foi prejudicada pelas baixas temperaturas e nos tratamentos -4°C e -5°C os valores foram negativos, demonstrando que o processo foi completamente paralisado e as plantas estavam somente respirando.

Palavras-chave: estresse térmico, geada, dano foliar, fotossíntese, câmara fria.

3.2. ABSTRACT

The objective of this paper was to determine the minimum lethal temperature for the oil seed plant *Jatropha curcas* L., aiming at supporting the

expansion of this crop in southern Brazil as an alternative for biofuel production. The experiment was carried out at Agronomic Institute of Parana (IAPAR), in Londrina-PR (23°23' S, 50°11' W). In a cold chamber environment, young plants were submitted to treatments with minimum temperatures of +1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C and -5°C, and compared to a control exposed to ambient temperature. Ten plants (replications) were distributed within the chamber in a completely randomized design. The means were compared through the Tukey test ($P < 0.05$). The following parameters were evaluated: photosynthetic rate after 6 hours and 7, 14, 21, 28, 35 and 60 days; visual foliar damages one day and one month after the tests; plant mortality one month after the tests and index of fixation of fruits and plant recovering in the field. The minimum temperature of -3°C caused the death of the leaves in 60% of the plants. The exposition to -4°C was lethal for 60% of the plants, while at -5°C all plants were killed. Photosynthesis was decreased by low temperatures and under -4°C and -5°C the values were negative, demonstrating that the process was completely halted and only respiration was occurring.

Key words: thermal stress, frost, foliar damage, photosynthesis, cold chamber.

3.3. INTRODUÇÃO

Dezenas de espécies vegetais oleaginosas no Brasil podem ser utilizadas na produção de biodiesel. Entre elas o pinhão-mansão tem se destacado como uma planta rústica, perene e adaptável a uma vasta gama de ambientes e condições edafoclimáticas (Saturnino et al., 2005). Sua distribuição geográfica é bastante vasta, podendo ser encontrada desde o Nordeste Brasileiro até os estados de São Paulo e Paraná (Cortês, 1956).

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie pertencente à família das Euforbiáceas. É um arbusto grande, de crescimento rápido, podendo alcançar até cinco metros de altura em condições especiais (Cortês, 1956). Tendo sua provável origem na América do Sul, atualmente pode ser encontrado em quase todas as regiões intertropicais, estendendo sua ocorrência à América Central, Índia, Filipinas e Timor (Peixoto, 1973; Brasil, 1985).

A produtividade do pinhão-mansô varia de acordo com a regiãõ de plantio, método de cultivo e tratos culturais, idade da cultura, bem como a quantidade de chuva e a fertilidade do solo. Segundo Brasil (1985), em espaçamento 3x3 m, o rendimento anual de óleo pode atingir de 3,0 a 4,0 t/ha. Para Carnielli (2003), o pinhão mansô produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare/ano. Além de produzir óleo, o pinhão-mansô também pode ser utilizado para outros fins, como: substituição parcial do arame em cercas vivas, já que os animais evitam tocá-lo devido ao látex cáustico que escorre das folhas arrancadas ou feridas; suporte para plantas trepadeiras como a baunilha (*Vanilla aromática*), visto que o tronco possui casca lisa e macia; fixador de dunas na orla marítima e na medicina doméstica; cicatrizante, hemostático e também como purgante, através da aplicação ou ingestão do látex. (Peixoto, 1973).

Embora seja pouco exigente em condições climáticas e solo fértil, adapta-se facilmente a variadas condições, não tolera geadas fortes, mas pode sobreviver a geadas fracas, perdendo, entretanto, todas as folhas, o que provavelmente reduzirá a produção de sementes (Saturnino et al., 2005). Não se encontrou na literatura nenhum trabalho que relate a temperatura letal para a planta de pinhão-mansô.

Em noites de céu aberto e na ausência de ventos, há uma extratificação do ar frio que, por ser mais denso, acumula-se próximo à superfície. Assim, forma-se um gradiente de temperatura, sendo esta menor quanto mais próximo ao solo. Devido ao fato de ocorrer justamente o inverso da condição diurna, este fenômeno é denominado “inversão térmica” (Pereira et al., 2002; Caramori et al., 2002). Em média, em noites com formação de geadas este gradiente é de 3 a 4°C entre a superfície do solo e 2 metros de altura (Grodzki et al., 1996; Silva e Sentelhas, 2001).

A temperatura, assim como a intensidade luminosa e a concentração de gás carbônico no ar, afeta também a fotossíntese. Qualquer temperatura abaixo ou acima da “ótima” resulta em condição limitante para as reações de fotossíntese. Abaixo da temperatura “ótima” a energia cinética das moléculas reagentes (CO₂, H₂O) é insuficiente para conseguir o rendimento químico. Acima da “temperatura ótima” as enzimas vão se desnaturando, podendo inclusive paralisar as reações (Kluge, 2006).

O objetivo deste trabalho foi determinar a temperatura mínima letal para o cultivo de mudas de Pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) visando à expansão desta cultura no sul do Brasil como alternativa para a produção de biodiesel.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), em Londrina-PR. Em novembro de 2005, sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) foram mantidas em caixa de areia por 10 dias, após este período foram transplantadas em saquinhos plásticos de 15X35 cm, contendo substrato (40% solo argiloso + 40% areia + 15% esterco de curral + 5% de super fosfato simples). As mudas foram mantidas em viveiro e em Junho de 2006 transferidas para uma casa de vegetação para serem protegidas das baixas temperaturas durante o inverno, onde foram mantidas até o momento de aplicação dos tratamentos, quando tinham aproximadamente 40cm de altura e em média 10 folhas por planta. Para a obtenção das temperaturas mínimas utilizou-se uma câmara de crescimento, referência comercial Conviron, modelo CMP 3244. Esta câmara possui um painel para programação da temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade em seu interior.

Monitorou-se a temperatura no interior da câmara através de sete sensores de termopar (cobre-constantan), distribuídos entre as plantas na altura destas e ligados a um coletor automático de dados, conforme metodologia utilizada por Moraes et al. (2003). Foi feita a programação para leitura dos sensores a cada segundo e armazenamento dos valores médios a cada minuto. Os dados foram transferidos para um computador para o processamento e análises.

A temperatura no interior da câmara foi estabilizada em torno de 15°C antes do início dos testes. As plantas foram acondicionadas na área útil de teste e submetidas às seguintes temperaturas: 1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C e -5°C. A umidade se elevou conforme o decréscimo da temperatura, atingindo valores próximos à saturação, de acordo com o observado por Silva (2004). As luzes eram apagadas a partir das 17 horas e acesas a partir das 6:30 horas do dia seguinte,

gradativamente. Um lote de plantas foi mantido na casa de vegetação como testemunha.

As temperaturas foram atingidas em um período de oito horas a partir do início de cada tratamento. A programação da câmara foi feita de forma que reproduzisse fielmente as condições naturais, baseando-se na queda da temperatura em uma situação real de geada, conforme observado na figura 3.1 que mostra um episódio de geada ocorrido em Londrina. Neste exemplo a temperatura do ar no interior do abrigo se situava em torno de 15°C logo após o pôr do sol, mas a condição de céu aberto e baixa umidade provocaram queda acentuada de temperatura e formação de geadas moderadas no dia seguinte. Uma vez atingidas as temperaturas voltavam a entrar em equilíbrio com o ambiente externo. A seguir, as plantas foram transferidas para a casa de vegetação.

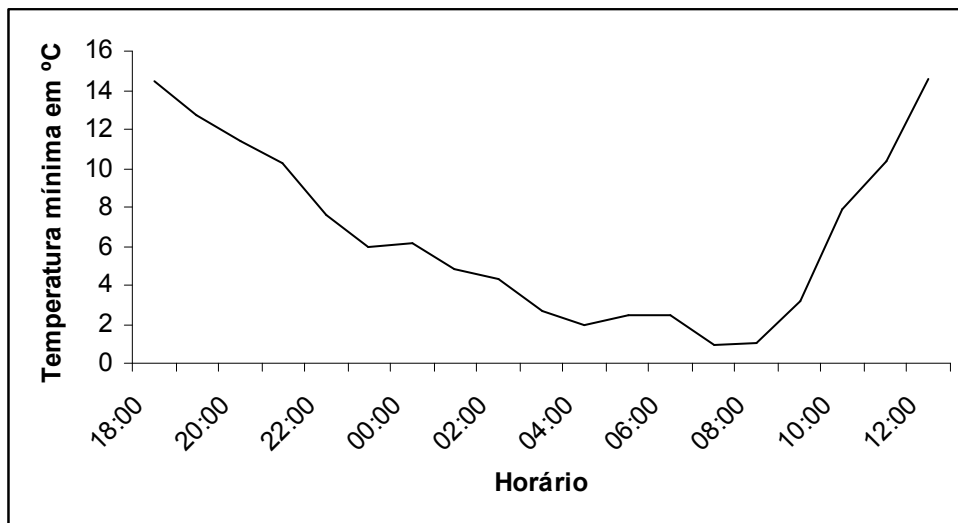


Figura 3.1. Temperatura mínima do ar no interior do abrigo a 2 m de altura, entre as 18 horas do dia 20 e as 12 h do dia 21 de Julho de 2000, em Londrina-PR.

Após seis horas, sete e quatorze dias, realizaram-se as medições da fotossíntese das plantas, utilizando-se um aparelho IRGA (Infra Red Gas Analyser), além da avaliação da porcentagem de plantas que apresentaram todas as suas folhas mortas após os tratamentos.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação por um mês, quando foi feita uma nova avaliação da porcentagem de plantas sobreviventes. Em seguida estas foram transplantadas para o campo, onde foi avaliada a sua

recuperação por meio de medições de fotossíntese e de avaliações visuais do vigor vegetativo.

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições sendo 7 tratamentos de temperatura as quais as plantas foram submetidas e uma testemunha sem estresse térmico. Os dados de fotossíntese obtidos foram submetidos à análise de regressão a 5% de significância. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 3.2 observam-se as temperaturas em cada tratamento e a homogeneidade destas nos sete pontos em que foram medidas no interior da câmara.

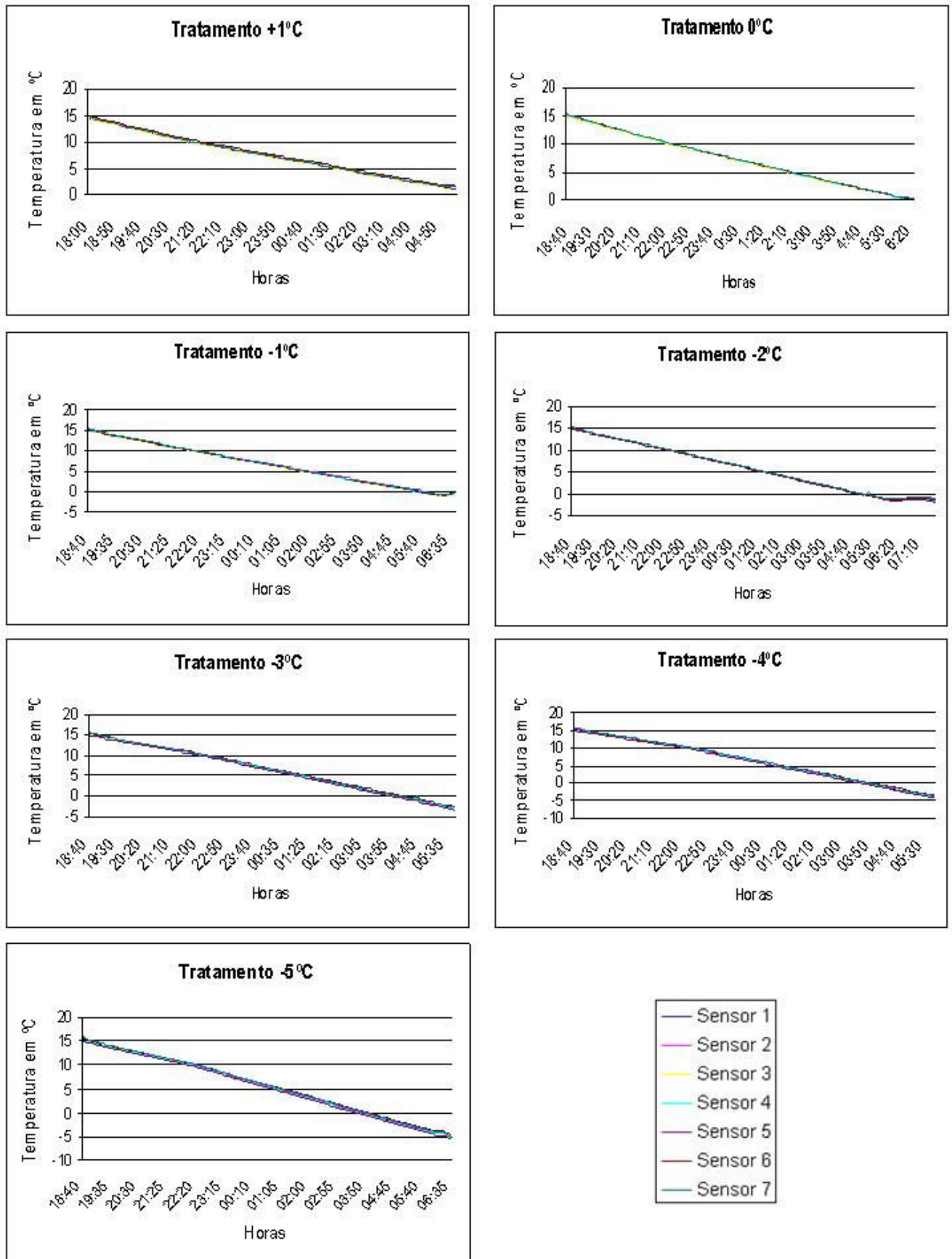


Figura 3.2. Temperatura no interior da câmara durante as simulações de geadas. Dados baseados na leitura de sete sensores instalados em diferentes pontos.

Para os dados de fotossíntese a regressão polinomial quadrática mostrou-se significativa ($P < 0,0001$) nas leituras feitas 6 horas e 7 dias após a aplicação dos tratamentos, indicando a existência do efeito da temperatura mínima aplicada sobre a fotossíntese da planta (Figura 3.3). Os coeficientes de determinação $R^2=0,73$, 6 horas após a aplicação do tratamento e $R^2=0,83$, 7 dias após, mostram que 73% e 83% da variação da fotossíntese pode ser explicada pela variação da temperatura mínima aplicada nos tratamentos, respectivamente. Nas leituras de fotossíntese feitas 14 dias após a aplicação dos tratamentos a regressão não foi significativa, com $R^2=0,16$. Estes resultados demonstram que após a primeira semana as plantas sobreviventes se recuperaram, exibindo taxas fotossintéticas que não apresentaram nenhum padrão de comportamento em comum para nenhum tipo de tratamento de temperatura.

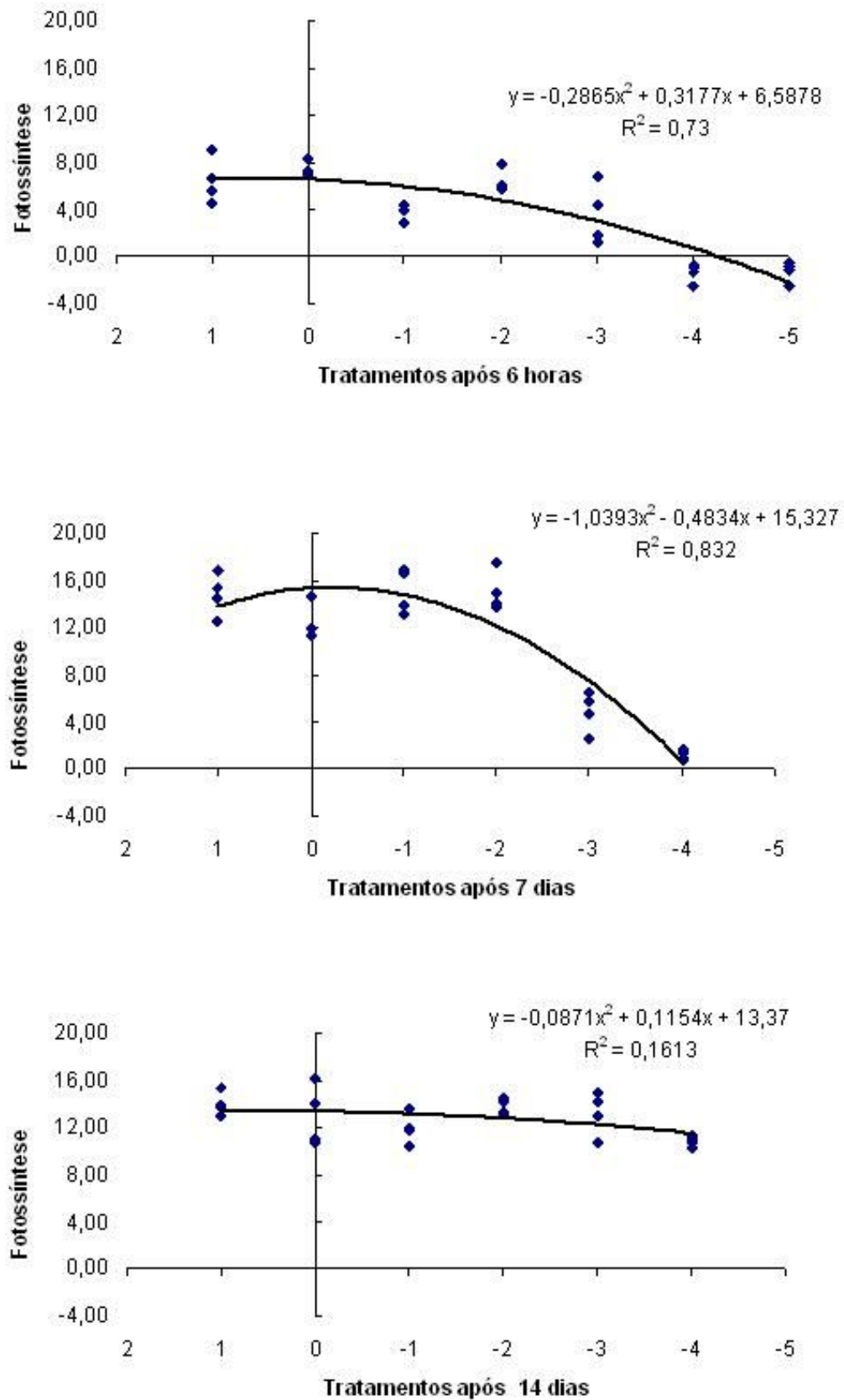


Figura 3.3. Valores de fotossíntese ($\mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) para cada tratamento e representação da Regressão polinomial quadrática nas leituras feitas 6 horas, 7 e 14 dias após os tratamentos.

Os valores médios de fotossíntese variaram de $-0,9 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ no tratamento -5°C a $8,8 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ no controle na leitura feita 6 horas após os tratamentos (Tabela 3.1.). Na leitura feita 7 dias após os tratamentos os valores variaram de $1,1 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ no tratamento -4°C a $15,7 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ no tratamento -1°C , 14 dias após, os valores variaram de $6,9 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ no controle a $13,4 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ no -2°C .

Os tratamentos -4°C e -5°C , na leitura feita 6 horas após os tratamentos, que indicavam ocorrência somente de respiração, não apresentaram diferença entre si, porém foram significativamente inferiores aos demais. Sete dias após, as plantas expostas a -5°C já estavam mortas e os tratamentos -3°C e -4°C se diferenciaram significativamente dos outros, mostrando que estas permaneciam debilitadas. No décimo quarto dia os tratamentos $+1^\circ\text{C}$, 0°C , -1°C , -2°C , -3°C e -4°C , não apresentaram diferença significativa entre si, ou seja, as plantas sobreviventes aos tratamentos -3°C e -4°C já estavam recuperadas e fotossintetizando normalmente.

Tabela 3.1. Médias de fotossíntese ($\mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) nas leituras feitas 6 horas, 7 e 14 dias após os tratamentos.

Tratamento	Fotossíntese (após 6 horas)	Fotossíntese (após 7 dias)	Fotossíntese (após 14 dias)
Controle	8,8 a	8,6 b	6,9 a
$+1^\circ\text{C}$	4,5 bc	14,1 a	9,4 a
0°C	7,3 ab	12,6 ab	11,9 a
-1°C	4,2 cd	15,7 a	11,3 a
-2°C	5,5 bc	14,2 a	13,4 a
-3°C	2,4 d	4,4 c	13,3 a
-4°C	-0,92 e	1,1 c	10,6 a
-5°C	-0,9 e	mortas	mortas

As médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As plantas que passaram pelos tratamentos $+1^\circ\text{C}$, 0°C , -1°C e -2°C não sofreram danos visíveis em suas folhas (Tabela 3.2), como se pode observar na figura 3.4. No tratamento -3°C , 60% das plantas tiveram todas as suas folhas mortas pelo frio, enquanto que a -4°C e -5°C além de terem todas as folhas mortas, apresentarem danos também nos caules. A -3°C alguns fatores podem ter determinado que 40% das plantas não tenham sofrido qualquer dano visível. A concentração de açúcares no suco celular ou o status hídrico da planta podem

contribuir para que haja variabilidade nos danos em temperaturas próximas aos valores letais. Diversos autores mostram que plantas expostas a temperaturas críticas, mesmo acima do ponto de congelamento, podem sofrer danos foliares letais, dependendo da idade dos tecidos, condição nutricional, aclimatação e tempo de exposição (Levitt, 1980; Bauer et al., 1985; Bodner & Larcher, 1987).

Tabela 3.2. Porcentagem de plantas que apresentaram todas as folhas mortas um dia após os tratamentos.

Tratamentos	% de Plantas com folhas mortas
+1°C	0
0°C	0
-1°C	0
-2°C	0
-3°C	60
-4°C	100
-5°C	100

Após um mês em casa de vegetação os tratamentos +1°C, 0°C, -1°C, -2°C e -3°C apresentaram 100% das plantas vegetando (Tabela 3.3), no tratamento -4°C somente 40% das plantas sobreviveram e emitiram novas folhas, no -5°C não houveram sobreviventes. Comparando-se os resultados das porcentagens de plantas que apresentaram todas as folhas mortas um dia após os tratamentos (Tabela 3.2), com a porcentagem de plantas vivas em mês após os tratamentos (Tabela 3.3), observa-se que as plantas do tratamento -3°C tiveram 100% de recuperação, enquanto no tratamento -4°C apenas 40% conseguiram se recuperar. Portanto, fica evidente que o limiar de dano por geadas situa-se entre -3°C e -4°C. Este limite é semelhante ao da cultura do café, estimado em torno de -3,4°C (Camargo e Salatti, 1967; Ferraz, 1968), com variações dependendo do tempo de exposição ao frio (Manetti e Caramori, 1986) ou da condição da planta (Caramori et al., 2001).

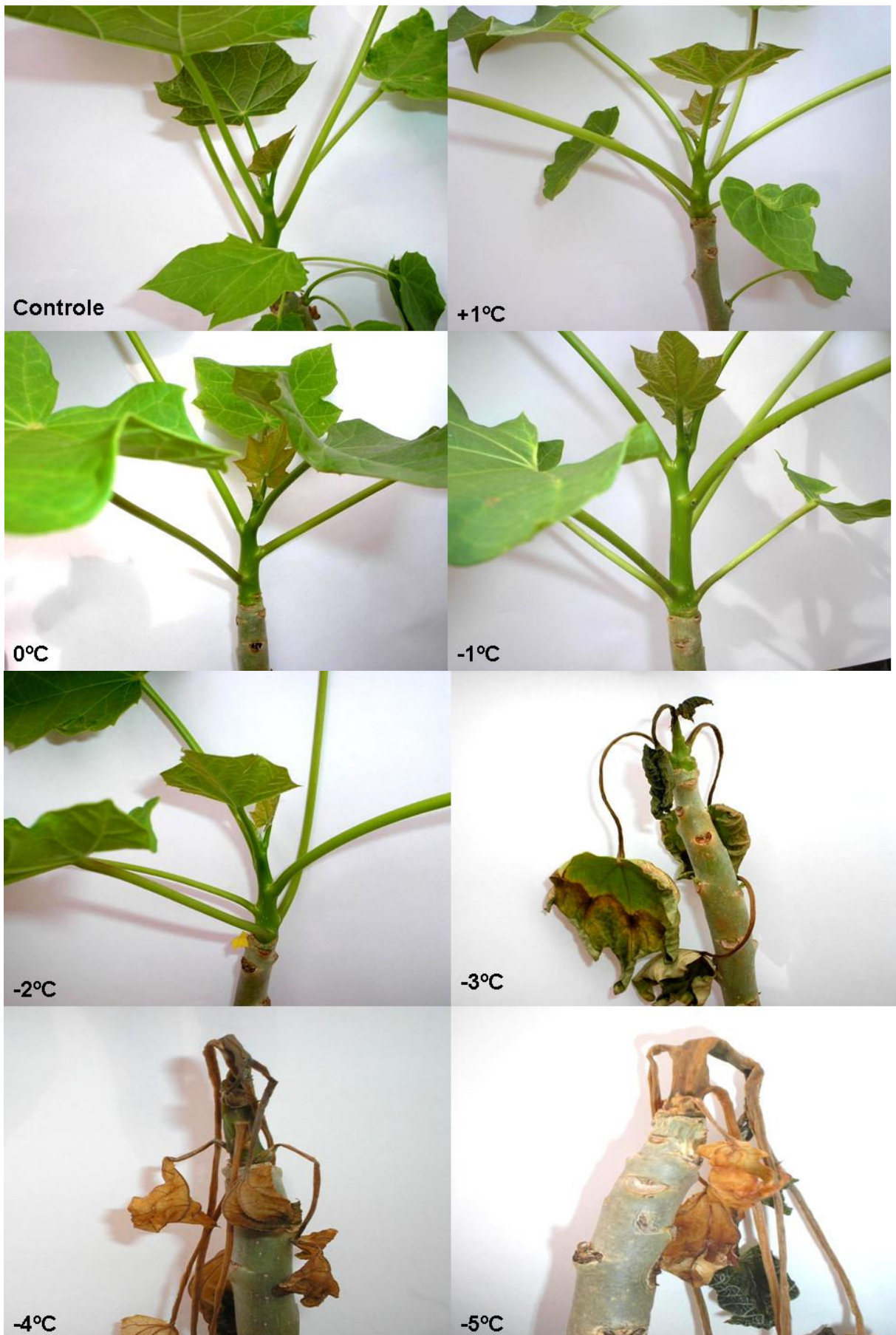


Figura 3.4. Danos ocorridos nas plantas após cada tratamento.

Tabela 3.3. Porcentagem de plantas vivas um mês após os tratamentos.

Tratamentos	% de Plantas Vivas
+1°C	100
0°C	100
-1°C	100
-2°C	100
-3°C	100
-4°C	40
-5°C	0

Aproximadamente um mês após os tratamentos, quando foram levadas ao campo, as plantas não apresentavam diferença nas taxas fotossintéticas entre os tratamentos. No campo tiveram 100% de pegamento em todos os tratamentos e em avaliações posteriores não foram observadas diferenças visuais nem fotossintéticas entre eles. O fato de ser uma planta adaptada a ambientes de baixa umidade pode condicionar maior tolerância ao frio ao pinhão manso. Embora possam ocorrer danos foliares por baixas temperaturas, a excelente recuperação das plantas indica que a presença de gemas dormentes, mais tolerantes que os tecidos foliares, proporciona tolerância a temperaturas mais baixas. Seria importante avaliar os efeitos de geadas em plantas adultas, quantificando o impacto na produção de frutos do ano seguinte mesmo em condições de danos parciais.

3.6. CONCLUSÕES

A temperatura mínima crítica para o cultivo de plantas jovens de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) está entre -3°C e -4°C, em condições de ambiente controlado. Considerando a capacidade de recuperação das plantas danificadas até este limiar, o plantio desta cultura em áreas que apresentam baixo risco de geadas moderadas, como o Norte do Paraná, pode ser uma atividade viável.

4. ARTIGO B: ATIVIDADE DA PEROXIDASE E NÍVEIS DE PROTEÍNAS EM PLANTAS JOVENS DE PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.) SUBMETIDAS A BAIXAS TEMPERATURAS

4.1. RESUMO

O objetivo deste trabalho foi quantificar a atividade da enzima peroxidase e os teores de proteínas totais solúveis em plantas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a estresse por temperaturas baixas. O experimento foi conduzido no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), em Londrina-PR. As exposições de plantas jovens às temperaturas mínimas de +1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C e -5°C foram simuladas em câmara de crescimento, comparando-se com um controle exposto à temperatura ambiente. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com 3 repetições. Foram avaliados a atividade da enzima peroxidase e os teores de proteínas totais solúveis nas folhas das plantas submetidas ao estresse. Os dados de atividade da peroxidase e de teores de proteínas totais solúveis foram submetidos à análise de regressão e ao teste de comparação de médias a 5% de significância. A atividade da peroxidase foi elevada nos tratamentos +1°C, 0°C, -1°C e -2°C e apresentou decréscimos sob temperaturas iguais ou inferiores a -3°C. Os teores de proteínas totais solúveis foram maiores quanto menores as temperaturas a que as plantas foram submetidas. Conclui-se que o estresse térmico aumenta a atividade da enzima peroxidase em plantas de pinhão-manso até o ponto em que a temperatura não causa danos, mas esta é reduzida a partir do ponto em que se iniciam os danos, podendo ser utilizada como indicativo de sensibilidade a baixas temperaturas.

Palavras-chave: geada, câmara de crescimento, proteína total solúvel, danos foliares, estresse térmico.

4.2. ABSTRACT

The objective of this paper was to quantify the activity of the enzyme peroxydasis and total soluble protein content in plants of *Jatropha curcas* submitted to stress of low temperatures. The experiment was carried out at the Agronomic Institute of Parana (IAPAR), in Londrina, Parana State, Brazil (23°23' S, 50°11' W). Exposition to minimum temperatures of +1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C and -5°C on young plants were simulated in a cold chamber environment, compared with a control exposed to ambient temperature. The experimental design was completely randomized with three replications. Analyses of peroxydasis activity and total soluble protein content in stems of young plants after stress treatment were performed, and submitted to regression analysis at 5% of significance. Peroxydasis activity increased in the treatments at +1°C, 0°C, -1°C e -2°C and decreased at -3°C and below. The content of total soluble proteins increased as temperature decreased. Thermal stress increased the activity of the enzyme peroxydasis in plants of *Jatropha curcas* up to the edge of leaf damage, but was reduced as damages were visible, showing that this enzyme could be used as indicator of sensitivity to low temperatures.

Key words: frost, growth chamber, total soluble protein, leaf damage, thermal stress.

4.3. INTRODUÇÃO

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa de grande interesse para a produção de biodiesel. É adaptável a uma vasta gama de ambientes e condições edafoclimáticas (Saturnino et al., 2005). Sua distribuição geográfica é bastante vasta, podendo ser encontrada desde o nordeste brasileiro até os estados de São Paulo e Paraná (Cortesão,1956). A origem do pinhão-mansão ainda é bastante controversa. Peixoto (1973) julga que este seja oriundo da América do Sul, ocorrendo atualmente em maior escala nas regiões tropicais e temperadas e em menor extensão nas regiões frias. Apesar de sua fácil adaptabilidade a variadas condições, não tolera geadas fortes e pode sobreviver a geadas fracas, perdendo,

entretanto, todas as folhas, o que provavelmente reduzirá a produção de sementes (Saturnino et al., 2005).

Nas plantas sob condições de frio existe menos energia metabólica disponível, restringindo a absorção de água e de nutrientes, os processos de biossíntese ocorrem em menor intensidade, a assimilação é reduzida e o crescimento é interrompido (Larcher, 2000). Assim, a tolerância ao frio é muito importante, pois baixas temperaturas, mesmo que não causem a morte da planta, podem levar à injúria, deixando-a suscetível a outros tipos de estresses ou doenças (McKersie, 2007).

Sob condições de estresse, as plantas tendem a aumentar a atividade da peroxidase, que pode ser a primeira enzima a ter atividade alterada, independentemente do estresse aplicado (Siegel, 1993). As peroxidases são isoenzimas associadas às mudanças nos processos fisiológicos de plantas submetidas a estresses, e parece ser a molécula chave de adaptação das plantas, ou de algum de seus órgãos separadamente, às mudanças do meio ambiente (Gaspar et al., 1985). A peroxidase está relacionada com a síntese de lignina e suberina, que aumentam a rigidez dos tecidos, e com a produção de quinonas e oxigênio ativo, que possuem propriedades antibióticas (Goodman et al., 1986; Stout et al., 1994). Em plantas, a ação desse grupo de enzimas constitui proteção antioxidativa, exercendo papel importante na sua adaptação e sobrevivência durante o estresse (Chang e Kao, 1998).

A produção de altas concentrações de H_2O_2 , em resposta ao estresse, pode induzir a liberação de peroxidases nas membranas, às quais estas enzimas estão geralmente associadas (Grodén e Beck, 1979). As peroxidases são responsáveis pela síntese de polímeros (lignina) na parede celular e pela prevenção da oxidação dos lipídios da membrana. O aumento de peroxidase permitiria maior tolerância em plantas estressadas (Mittal e Dubey, 1991).

Danos celulares causados por radicais livres e pela peroxidação dos lipídeos podem ser reduzidos ou prevenidos pelo metabolismo oxidativo envolvendo enzimas antioxidantes, como a peroxidase (Chang e Kao, 1998). Lima et al. (1998) concluíram que esta enzima poderia ser usada como parâmetro para identificar estresse fisiológico e que o aumento de atividade da enzima pode estar associado à habilidade de certos genótipos em degradar substâncias tóxicas, como radicais livres (peróxidos), fenóis e outros liberados em condições de estresse.

Os níveis de proteínas podem se alterar em condições estressantes. O estresse salino pode provocar mudanças nos teores protéicos e atividade enzimática, com danos no crescimento e desenvolvimento vegetal (Ulisses et al., 1998). Krishnamurthy e Bhagwat (1989) comprovaram acúmulo de proteínas solúveis em brotos de arroz cultivados em meio salino quando comparado com o controle, sem sal em excesso. Este acúmulo foi considerado uma adaptação para a sobrevivência em estresse salino.

No estado do Paraná, o deslocamento de massas de ar polar causa a ocorrência de geadas, principalmente durante o inverno, com conseqüências desastrosas para a agricultura (Grodzki, 1996). Com a crescente busca por matérias-primas ideais para o biodiesel, torna-se essencial o estudo da adaptação de tais plantas em regiões onde possam vir a ser cultivadas e aumenta-se a demanda por trabalhos que correlacionem estresse térmico por baixas temperaturas, com a atividade de enzimas relacionadas à proteção das plantas, bem como trabalhos que avaliem o impacto do estresse em compostos presentes nas plantas submetidas a tais condições, como o teor de proteína.

Os objetivos deste trabalho foram quantificar a atividade da enzima peroxidase e analisar as variações nos teores de proteínas totais solúveis em plantas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) submetidas a estresse por baixas temperaturas, visando obter subsídios científicos para a instalação da cultura no estado do Paraná.

4.4. MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1. Simulações de Geadas

O experimento foi conduzido no Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em Londrina-PR. Plantas jovens de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), com aproximadamente um ano de idade, 40cm de altura e em média 10 folhas por planta, foram submetidas a temperaturas mínimas de +1°C, 0°C, -1°C, -2°C, -3°C, -4°C e -5°C. Para estas simulações utilizou-se uma câmara de crescimento,

referência comercial Conviron, modelo CMP 3244 que possui um painel para programação da temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade em seu interior.

A temperatura no interior da câmara foi estabilizada em torno de 15°C antes do início dos testes. A umidade se elevou conforme o decréscimo da temperatura, atingindo valores próximos à saturação, de acordo com o observado por Silva (2004). As luzes eram apagadas a partir das 17 horas e acesas a partir das 6:30 horas do dia seguinte, gradativamente. Um lote de plantas foi mantido na casa de vegetação como testemunha.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 3 repetições, sendo 7 tratamentos de temperatura às quais as plantas foram submetidas e uma testemunha sem estresse térmico.

As temperaturas críticas foram atingidas em um período de oito horas a partir do início de cada tratamento. Uma vez atingidas, a temperatura voltava a entrar em equilíbrio com o ambiente externo. A seguir, as amostras foram armazenadas a -70°C, para que suas condições fisiológicas do momento do estresse fossem conservadas.

4.4.2. Atividade da Peroxidase

Em gral de porcelana contendo 5 mL de tampão fosfato de potássio pH 6,7, 0,2 M, foram triturados 0,40 g de tecido vegetal de folha. O homogeneizado resultante foi centrifugado 10 minutos a 10.000 rpm e o sobrenadante obtido foi utilizado como fonte de enzima. Todas essas operações foram realizadas entre zero e -4°C. Foi utilizado o método descrito por Allain et al. (1974), modificado por Lima et al. (1999): 100 µmol de tampão fosfato pH 6,7; 10 µmol de H₂O₂; 35 µmol de fenol ; 2 µmol de 4-aminoantipirina e 1 mL de sobrenadante contendo enzima, com volume final de 2 mL. Após permanência durante cinco minutos em banho-maria a 30°C a reação foi interrompida com 2 mL de etanol absoluto e a absorbância medida a 505 nm. A velocidade da reação foi expressa em unidades (U). Uma U corresponde a 1 µmol de H₂O₂ consumido/minuto/mg de proteína.

4.4.3. Teor de Proteína Total Solúvel

O teor de proteína total solúvel foi determinado através do método de Bradford (1976), que se baseia no princípio da formação de um complexo pela ligação entre o corante Coomassie Brilliant Blue G 250 e a proteína. A sensibilidade do método varia entre 1 e 100 mg de proteína. Inicialmente foi traçada uma curva padrão com albumina bovina, em concentração 1mg/mL. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 595 nm. Foram utilizadas cubetas plásticas de 1 cm de caminho óptico. A solução estoque de Bradford foi preparada a partir de 100 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 dissolvidos em 50 mL de etanol 95%, ao qual foram adicionados 100 mL de ácido orto-fosfórico 85%. A solução resultante foi diluída com água destilada até o volume final de 1L e para ser utilizada foi filtrada.

Os dados de atividade da peroxidase e de níveis de proteína obtidos foram submetidos à análise de regressão a 5% de significância.

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A regressão polinomial quadrática das variações na atividade da enzima peroxidase em plantas jovens de pinhão-mansão submetidas a estresse por baixas temperaturas mostrou-se significativa, indicando a existência do efeito da temperatura mínima aplicada sobre a atividade da peroxidase na planta (Figura 4.1).

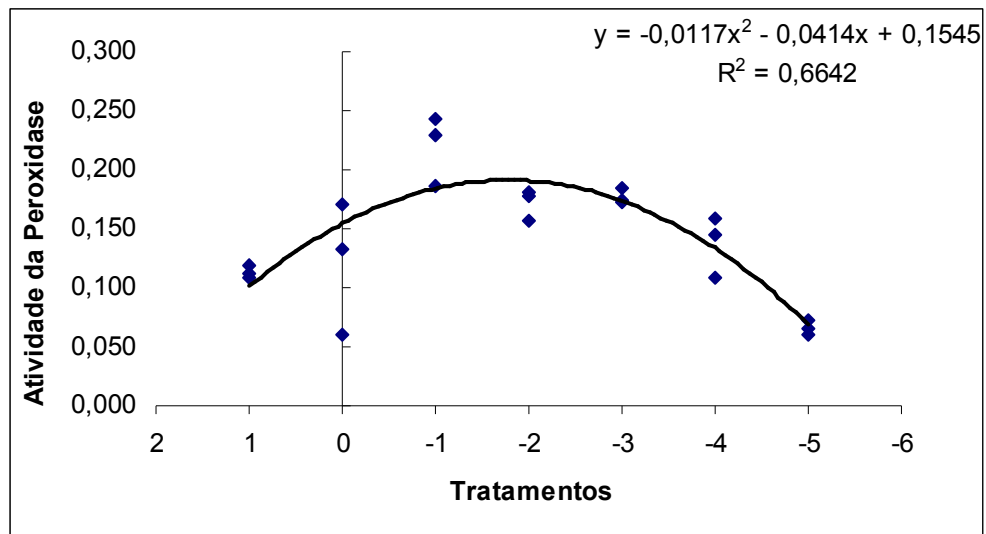


Figura 4.1. Atividade de peroxidase ($\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$ decomposto $\text{minuto}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína), em plantas jovens de pinhão-mansó submetidas a estresse térmico (+1, 0, -1, -2, -3, -4 e -5°C).

De acordo com Siegel (1993) a atividade da peroxidase pode aumentar em plantas submetidas a diversos tipos de estresse. Este comportamento foi observado nos tratamentos +1°C, 0°C, -1°C e -2°C. O aumento na atividade da enzima peroxidase parece estar relacionado à produção de altas concentrações de H_2O_2 , em resposta ao estresse, podendo induzir a liberação de peroxidase nas membranas, às quais estas enzimas estão geralmente associadas, como observado em cloroplastos de espinafre por Groden e Beck (1979). Nestes tratamentos as plantas não apresentaram qualquer sintoma de injúria visível em suas folhas. Porém, nos tratamentos -3°C, -4°C e -5°C em que o estresse foi ainda maior, esta atividade diminuiu, mostrando que possivelmente o estresse tenha afetado inclusive a peroxidase, quase que paralisando sua reação, além de causar a morte de todas as folhas. Com o aumento da temperatura de -5 para +1°C pode-se observar um decréscimo significativo no teor de proteína total solúvel (Figura 4.2).

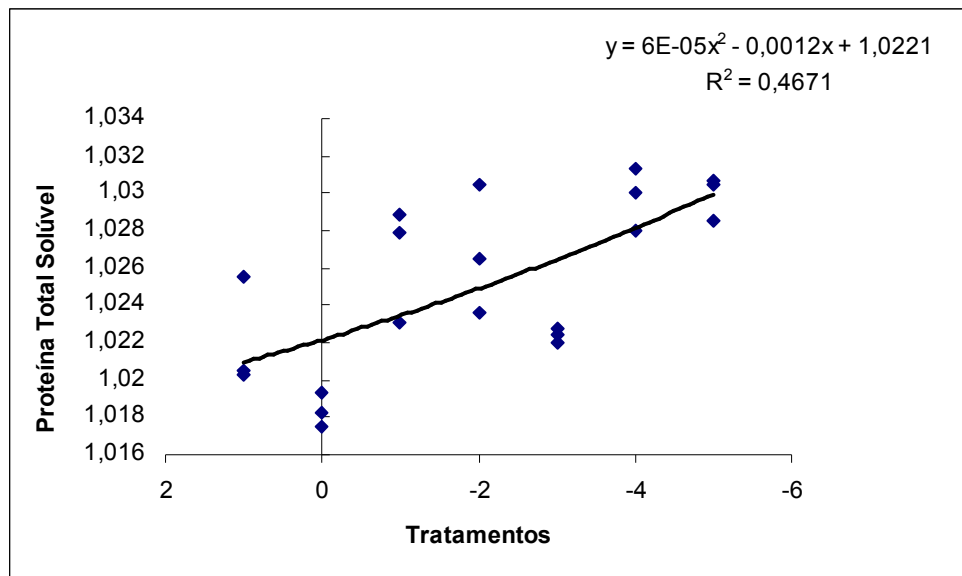


Figura 4.2. Teores de proteínas totais solúveis (mg de proteína/grama de matéria fresca) em plantas jovens de pinhão-mansó submetidas a estresse por baixas temperaturas (+1, 0, -1, -2, -3, -4 e -5°C).

Ungaro et al. (1997) verificaram que em girassol, quando ocorreu um aumento ou diminuição em relação ao valor ótimo (25°C) houve efeito negativo da temperatura máxima no teor de proteína. Canvin (1965) também em girassol, observou tal efeito, relatando que a concentração de proteína passa de 14% para 20% com o aumento da temperatura. Chapman et al. (1983) verificaram que tilacóides isolados de plantas de ervilha cultivadas em temperaturas mais baixas tiveram concentração relativa de lipídios e proteínas nos cloroplastos mais elevada em relação às plantas cultivadas em maiores temperaturas.

Krishnamurthy e Bhagwat (1989) comprovaram acúmulo de proteínas solúveis em brotos de arroz cultivados em meio salino quando comparado com o controle, sem sal. Este acúmulo foi considerado uma adaptação para a sobrevivência em estresse salino. Esta pode ser uma hipótese para o acúmulo de proteínas também no estresse térmico; isto é, uma adaptação ao estresse, garantindo o desenvolvimento da planta em baixas temperaturas.

Os dados do tratamento controle não foram incluídos nas equações de regressão, pois não é conhecida a temperatura exata em que as amostras foram coletadas. A temperatura média em Londrina durante a realização dos tratamentos foi de 19°C, condição a que o tratamento controle foi submetido.

No teste de comparação de médias (Tabela 4.1) o menor valor de atividade da peroxidase foi observado no tratamento -5°C (0,07 U), que foi o único

que diferiu significativamente do controle; o maior valor foi no tratamento -1°C (0,22 U), que entre as temperaturas analisadas, pode ser considerada ótima para a atividade da enzima. O menor teor de proteína total solúvel foi encontrado no tratamento 0°C (1,018 mg/g) que foi significativamente diferente dos tratamentos -4 e -5°C , sendo que estes apresentaram o maior teor de proteína total solúvel (1,030mg/g).

Tabela 4.1. Médias de atividade da enzima peroxidase ($\text{U} = \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ decomposto $\text{minuto}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) e de teores de proteínas totais solúveis (mg de proteína/ g de matéria fresca) em plantas jovens de pinhão-manso submetidas a estresse por baixas temperaturas ($+1, 0, -1, -2, -3, -4$ e -5°C).

Tratamentos	Atividade da Peroxidase	Teor Proteína Total
Controle	0,17 ab	1,024 abc
1°C	0,11 bc	1,022 bc
0°C	0,12 bc	1,018 c
-1°C	0,22 a	1,027 ab
-2°C	0,17 ab	1,027 ab
-3°C	0,18 ab	1,022 bc
-4°C	0,14 bc	1,030 a
-5°C	0,07 c	1,030 a

As médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.6. CONCLUSÕES

Sob condições de estresse provocado por baixas temperaturas, os teores de proteínas solúveis totais em Pinhão-Manso aumentam com a diminuição da temperatura mínima. Por outro lado, o estresse térmico por baixas temperaturas aumenta a atividade da enzima peroxidase até o limiar de dano, quando passa a decrescer. Deste modo, a atividade da peroxidase, aliada aos níveis de proteína total solúvel quantificada nas diferentes temperaturas estudadas, poderia ser utilizada como um critério para identificar a sensibilidade a baixas temperaturas dessa espécie.

5. ARTIGO C: REGIONALIZAÇÃO DAS ÁREAS COM BAIXO RISCO DE GEADAS PARA A CULTURA DO PINHÃO-MANSO NO ESTADO DO PARANÁ

5.1. RESUMO

O objetivo deste trabalho foi definir e mapear as regiões que apresentam condições térmicas aptas ao cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) no estado do Paraná. Com base nos resultados apresentados no capítulo 3, estabeleceu-se a temperatura mínima crítica de 0°C no abrigo meteorológico como limitante ao cultivo. Séries históricas de temperaturas mínimas do Instituto Agrônomo do Paraná foram analisadas para ajustar os dados à distribuição de extremos. Os dados foram transferidos para um Sistema de Informação Geográfica para realizar as análises de espacialização dos dados. Os parâmetros alfa e beta da distribuição de extremos foram correlacionados com altitude e latitude, utilizando uma base altimétrica com valores a cada aproximadamente 900 x 900 m. Foram gerados mapas de probabilidade de ocorrência de geadas com riscos de 10 e 20%, correspondendo a uma geada a cada 10 e 5 anos em média, respectivamente. Esses resultados fornecem suporte para a expansão da cultura do pinhão-manso no Paraná em áreas com baixo risco de perdas por ocorrência de geadas.

Palavras-chave: *Jatropha curcas*, risco climático, geada, biodiesel, Sistema de Informação Geográfica.

5.2. ABSTRACT

The objective of this paper was to define and to map the regions with apt thermal conditions to grow the oil seed plant *Jatropha curcas* L. in the state of Parana, southern Brazil. Based on experimentation in controlled environment, the minimum screen temperature of 0°C was assumed as limiting to this crop. Historical

series of minimum screen temperatures from the Agronomic Institute of Parana (IAPAR) were analyzed to adjust the data to the distribution of extremes. Following, the data were transferred to a Geographic Information System to proceed with the analyses of spatialization. The parameters alpha and beta of the distribution of extremes were correlated with altitude and latitude, using an altimetric basis with values at approximately each 900 x 900 m. Through this procedure, two maps of frost risk were generated to show the regions with probabilities of occurring temperatures above and below 0°C at the levels of 10 and 20%, corresponding to one frost expected each 10 and 5 years, respectively. These results give support to the expansion of the oil seed plant of *Jatropha curcas* in the state of Parana in areas with low risk of loss due to frost occurrence.

Key words: *Jatropha curcas*, climatic risk, frost, biofuel, Geographic Information System.

5.3. INTRODUÇÃO

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie provavelmente originária da América do Sul (Cortesão, 1956), pertencente à família das Euforbiáceas. Tem se mostrado adaptável a uma vasta gama de ambientes e condições edafoclimáticas (Saturnino et al., 2005). Sua distribuição geográfica é bastante vasta, podendo ser encontrada desde o Nordeste brasileiro até os estados de São Paulo e Paraná (Cortesão, 1956).

É uma planta oleaginosa que apresenta um rendimento anual de 3,0 a 4,0 t de óleo/ha em espaçamento 3x3 (Brasil, 1985). Segundo Carnielli (2003) produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare/ano, variando de acordo com a região de plantio, método de cultivo e tratos culturais, idade da cultura, quantidade de chuva e fertilidade do solo.

Apesar de sua fácil adaptabilidade a variadas condições, não tolera geadas fortes e pode sobreviver a geadas fracas, perdendo, entretanto todas as folhas, o que provavelmente reduzirá a produção de sementes (Saturnino et al.,

2005). Portanto, este fator pode ser limitante para o cultivo em regiões de ocorrência freqüente de geadas, como é o caso de uma grande porção do estado do Paraná.

Neste estado as geadas ocorrem em função do deslocamento de massas de ar polar que alteram o balanço regional de energia, propiciando a queda da temperatura até o ponto de congelamento interno dos tecidos vegetais. Em noites com geadas, forma-se um gradiente térmico próximo à superfície denominado de inversão térmica, de maneira que a diferença de temperatura a 2 metros de altura e a superfície do solo pode atingir 3 a 4°C (Grodzki et al., 1996; Silva e Sentelhas, 2001). Assim, quando a temperatura mínima medida no interior do abrigo meteorológico atinge 4°C pode ocorrer o congelamento do orvalho junto à superfície, advindo a formação de geadas.

A ocorrência de danos às plantas depende da sensibilidade de cada espécie e da condição fisiológica e nutricional da planta. Em cafeeiros, os danos ocorrem com temperaturas em torno de -3,4°C (Camargo e Salati, 1967; Ferraz, 1968), mas dependendo do tempo de exposição podem ocorrer a temperaturas mais elevadas (Manetti e Caramori, 1986).

Séries históricas de temperatura mínima de abrigo têm sido usadas para caracterizar o risco de ocorrência de geadas ao longo do ano. Os exemplos mais conhecidos são os trabalhos que levaram ao zoneamento dos riscos climáticos das culturas anuais e perenes em áreas onde a ocorrência de geadas é provável. (Caramori et al., 2001; Wrege et al., 2005). Nesses estudos, determinou-se a probabilidade de ocorrerem temperaturas mínimas abaixo de um limite crítico para a cultura analisada, considerando que há um gradiente médio de 3°C entre o abrigo e a superfície (Grodzki et al, 1996).

A temperatura tem uma estreita relação com a altitude e a latitude. De uma maneira geral, a cada 100 metros de elevação a temperatura decresce em média 0,65°C. Esta taxa de decréscimo é denominada gradiente adiabático úmido e é frequentemente utilizada como critério para estimar temperaturas médias para locais onde não se dispõe de estações meteorológicas. Da mesma forma, em latitudes mais elevadas há um decréscimo na radiação solar incidente, com conseqüente diminuição da temperatura. Portanto, é possível estimar a temperatura de um local com base em equações de regressão baseadas na altitude e latitude (Caramori et al., 2001; Wrege et al., 2005).

Observa-se no estado do Paraná uma grande variação de altitude desde o nível do mar, até próximo de 1300 m nas regiões sul e sudoeste, entre os municípios de Palmas e Guarapuava. No norte do estado as altitudes situam-se a 300m no vale do Paranapanema, enquanto que no vale do rio Paraná atingem valores aproximados de 200m, condicionando temperaturas elevadas no verão. A combinação de altitude e latitude condiciona variações no clima e no regime de geadas. À medida que as altitudes atingem valores superiores a 800m em latitudes maiores que 24°S os riscos de geada se acentuam, condicionando climas mais temperados (Caviglione et al., 2000; Caramori et al., 2001).

No capítulo 3 desta dissertação, determinou-se a temperatura mínima crítica em que se iniciam os danos na planta do pinhão-manso. A exposição às temperaturas mínimas entre +1°C e -2°C não causaram danos às plantas em ambiente controlado. Temperaturas mínimas de -3°C causaram a morte das folhas, enquanto que a -4°C ocorreram mortes de plantas. Embora as plantas expostas a -3°C tenham se recuperado após o teste, emitindo nova brotação, houve estresse às plantas, com redução da taxa fotossintética decorrente dos danos foliares. Portanto, estabeleceu-se -3°C como o limite crítico ao pinhão manso.

O objetivo deste trabalho foi definir e mapear as regiões que apresentam baixos riscos de perdas por geadas para a cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) no estado do Paraná, com a finalidade de viabilizar o seu cultivo visando a produção de biodiesel.

5.4. MATERIAL E MÉTODOS

Para a definição e mapeamento das regiões aptas ao cultivo do pinhão-manso no estado do Paraná, foi utilizado o banco de dados meteorológicos do Instituto Agrônomo do Paraná. Séries históricas de temperaturas mínimas diárias de 32 estações meteorológicas (Tabela 5.1) foram organizadas em uma planilha para se proceder as análises.

Tabela 5.1. Latitude, longitude, altitude e ano de início da coleta de dados em cada uma das 32 estações do IAPAR.

Número	Município	Latitude	Longitude	Altitude	Ano início coleta
1	BELA V.PARAISO	22°57'	51°12'	600	1971
2	JOAQUIM TAVORA	23°30'	49°57'	512	1971
3	CAMBARA	23°	50°2'	450	1971
4	BANDEIRANTES	23°6'	50°21'	440	1974
5	LONDRINA	23°22'	51°10'	585	1976
6	APUCARANA	23°30'	51°32'	746	1961
7	IBIPORA	23°16'	51°1'	484	1971
8	PARANAVAI	23°5'	52°26'	480	1971
9	CIANORTE	23°40'	52°35'	530	1971
10	UMUARAMA	23°44'	53°17'	480	1971
11	CERRO AZUL	24°49'	49°15'	360	1972
12	TELEMACO BORBA	24°20'	50°37'	768	1971
13	CANDIDO DE ABREU	24°38'	51°15'	645	1988
14	NOVA CANTU	24°40'	52°34'	540	1972
15	PALOTINA	24°18'	53°55'	310	1972
16	CASCAVEL	24°53'	53°33'	660	1989
17	MORRETES	25°30'	48°49'	59	1966
18	GUARAQUECABA	25°16'	48°32'	40	1977
19	ANTONINA	25°13'	48°48'	60	1977
20	PINHAIS	25°25'	49°8'	930	1970
21	LAPA	25°47'	49°46'	910	1988
22	PONTA GROSSA	25°13'	50°1'	880	1954
23	FERNANDES PINHEIRO	25°27'	50°35'	893	1963
24	GUARAPUAVA	25°21'	51°30'	1058	1972
25	LARANJEIRAS DO SUL	25°25'	52°25'	880	1972
26	PLANALTO	25°42'	53°47'	400	1973
27	QUEDAS DO IGUAÇU	25°31'	53°1'	513	1972
28	SÃO MIGUEL IGUAÇU	25°26'	54°22'	260	1982
29	PALMAS	26°29'	51°59'	1100	1978
30	CLEVELANDIA	26°25'	52°21'	930	1972
31	PATO BRANCO	26°7'	52°41'	700	1978
32	FRANCISCO BELTRÃO	26°5'	53°4'	650	1973

Considerando que existe um gradiente médio de 3 a 4°C entre a temperatura medida no abrigo meteorológico e a relva (Grodzki et al., 1996), utilizaram-se as temperaturas de abrigo inferiores a 0°C para estimar os riscos de geadas. As probabilidades de ocorrência de geada em cada estação meteorológica foram ajustadas à distribuição de extremos, utilizando o método de Lieblein. O ajuste dos dados à distribuição de extremos foi testado através do teste de aderência de Kolmogorov-Smirnov conforme descrito por Assis et al. (1996).

Todas as análises de espacialização dos riscos climáticos foram realizadas em um Sistema de Informação Geográfica (SIG), utilizando-se o software ArcGis versão 9.1.

As constantes alfa (α) e beta (β) da distribuição de extremos foram espacializadas, gerando-se um mapa para cada uma delas. A constante α apresentou elevada correlação com a altitude e latitude, enquanto que o mesmo não ocorreu com a constante β . Utilizando-se destas informações, foi obtida uma equação de regressão entre os valores de α e altitude e latitude de cada estação meteorológica. O mapa das estimativas de α foi gerado com base nos dados de altitude do Shuttle Radar Topography Mission (SRTM), na resolução de 30", equivalente a 900 metros por pixel para o estado do Paraná. A constante β foi interpolada utilizando o método de krigagem simples.

Os riscos climáticos foram estimados utilizando álgebra de mapas sobre os mapas de α e β . Foi construído o mapa de ocorrência de temperaturas mínimas de abrigo superiores e inferiores a 0°C, com riscos de ocorrência de 10 ou 20%, por meio da expressão:

$$F(X) = \text{EXP} \{- \text{EXP} [-(X - \alpha) / \beta]\},$$

na qual:

F(X) é a função cumulativa de probabilidade de ocorrência de uma temperatura menor que um valor crítico;

X é o valor crítico de temperatura, no caso igual a -0°C

5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O parâmetro α da distribuição de extremos apresentou elevada correlação com altitude e latitude, conforme a equação ajustada apresentada a seguir:

$$\alpha = - 5,2822 \cdot 10^{-3} \cdot \text{Altitude} + 9,5883 \cdot 10^{-6} \cdot \text{Latitude} - 66,4434,$$

$$R^2 = 0,93$$

Os valores de altitude e latitude são em metros, na projeção UTM.

Por outro lado, o parâmetro β não teve nenhuma correlação com as variações de altitude e latitude.

As figuras 5.2 e 5.3 mostram a variação espacial dos parâmetros α e β no estado do Paraná.

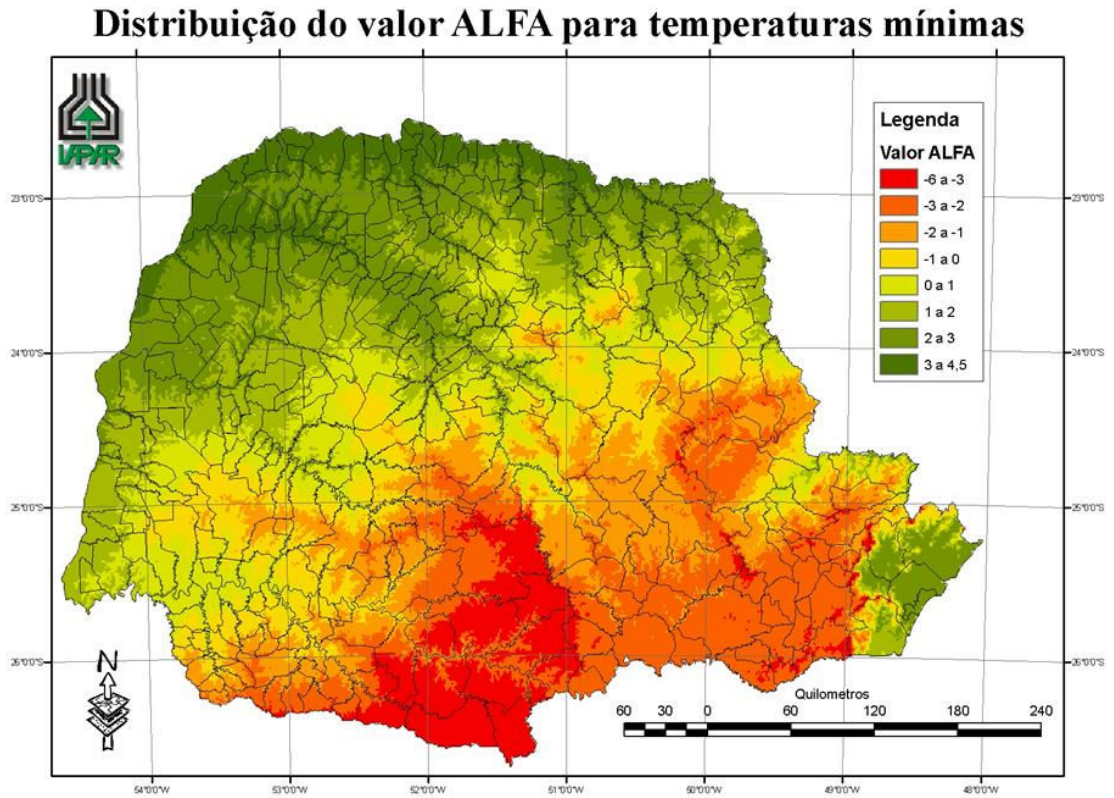


Figura 5.2. Variação espacial do parâmetro α no estado do Paraná.

Distribuição do valor BETA para temperaturas mínimas

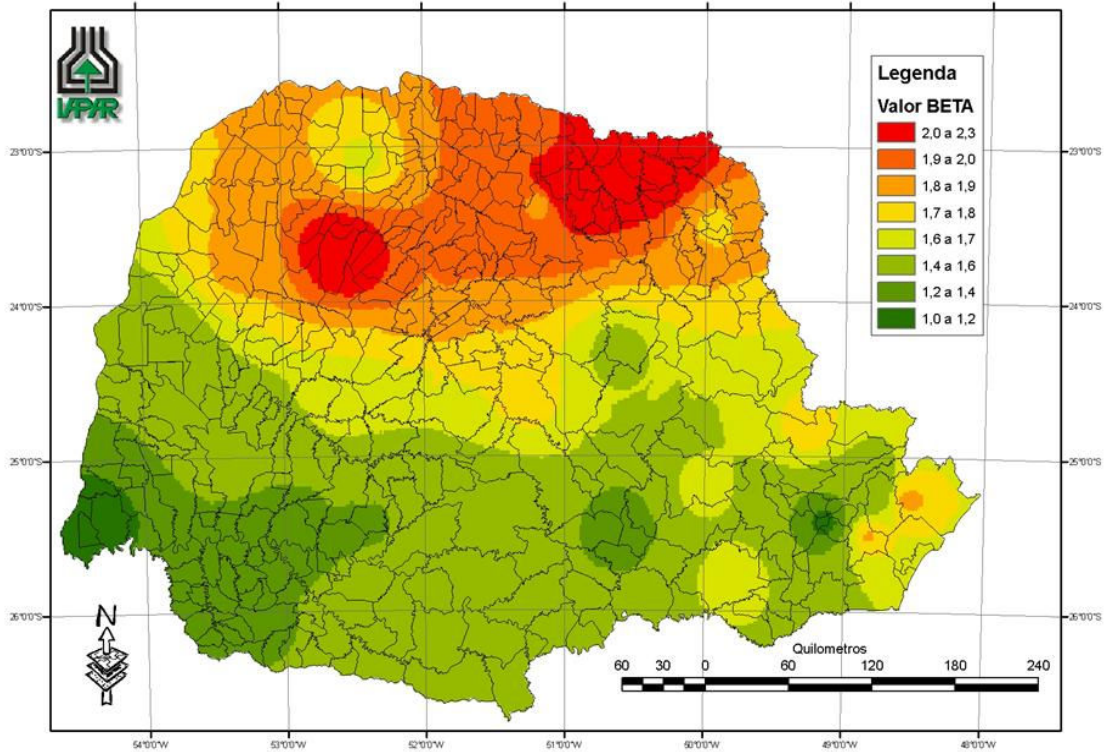


Figura 5.3. Variação espacial do parâmetro β no estado do Paraná.

Utilizando álgebra de mapas no ambiente SIG, foram gerados os riscos de ocorrerem temperaturas mínimas acima e abaixo de 0°C no abrigo meteorológico, com probabilidades de 10 e 20%, respectivamente, os quais são apresentados nas figuras 5.4 e 5.5. As áreas em coloração amarelo, laranja e marrom são aquelas que têm condições para o cultivo do pinhão manso com baixo risco de perdas por geadas.

Temperaturas mínimas com risco de ocorrência de 10%

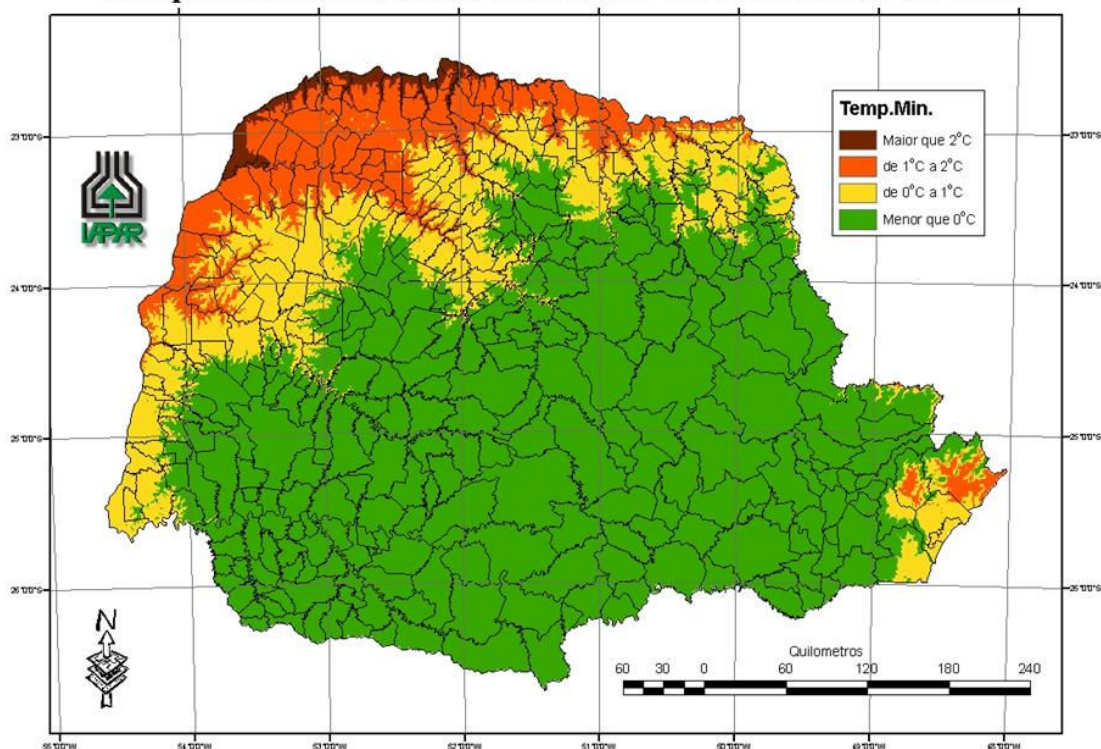


Figura 5.4. Riscos de ocorrerem temperaturas mínimas acima e abaixo de 0°C no abrigo meteorológico, com probabilidade de 10%.

Temperaturas mínimas com risco de ocorrência de 20%

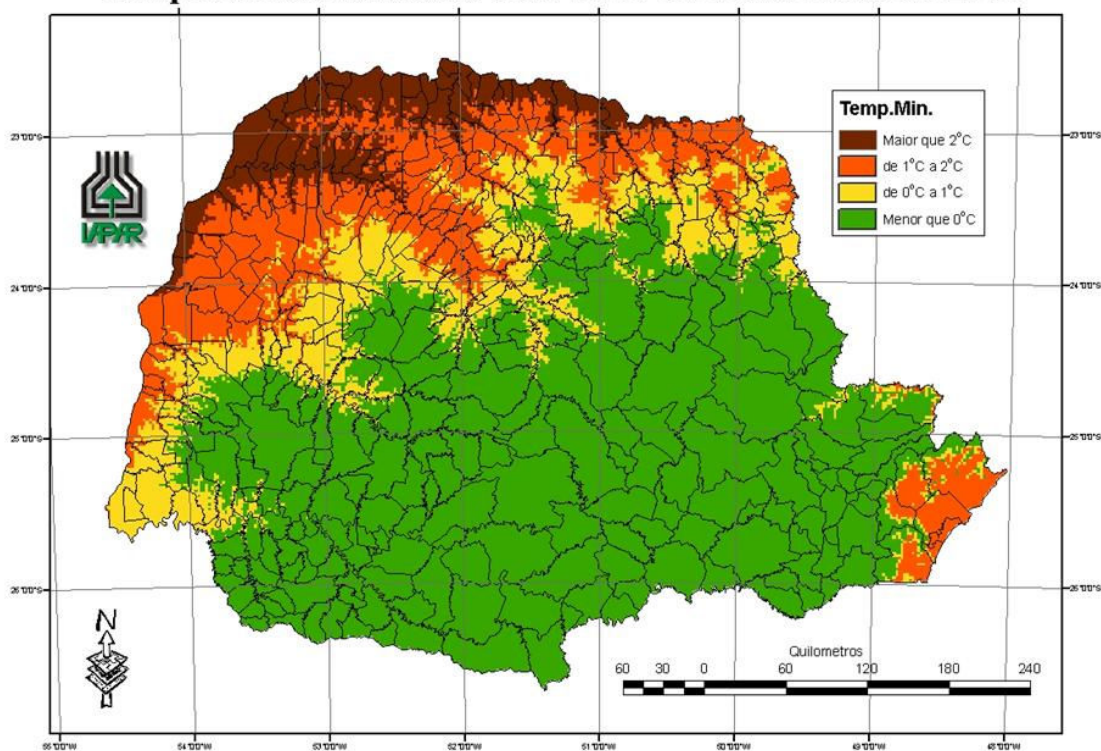


Figura 5.5. Riscos de ocorrerem temperaturas mínimas acima e abaixo de 0°C no abrigo meteorológico, com probabilidade de 20%.

5.6. CONCLUSÕES

A metodologia utilizada mostrou-se adequada para caracterizar os riscos de ocorrência de geadas no Paraná, considerando as exigências do pinhão-manso. Por meio da utilização de análises baseadas em um Sistema de Informação Geográfica, ficou evidente que grande parte do Norte, Litoral e partes das regiões Oeste e do Alto Ribeira possuem baixo risco de perdas por geadas nesta cultura.

6. CONCLUSÕES GERAIS

A temperatura mínima crítica para o cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) está entre -3°C e -4°C . Considerando a capacidade de recuperação das plantas danificadas até este limiar. Os teores de proteínas solúveis totais, em Pinhão-Manso sob condições de estresse provocado por baixas temperaturas, aumentam com a diminuição da temperatura mínima.

O estresse térmico por baixas temperaturas aumenta a atividade da enzima peroxidase até o limiar de dano, quando passa a decrescer. Deste modo, a atividade da peroxidase poderia ser utilizada como um critério para identificar a sensibilidade a baixas temperaturas dessa espécie.

A metodologia utilizada mostrou-se adequada para caracterizar os riscos de ocorrência de geadas no Paraná, considerando as exigências do pinhão-manso, ficou evidente que grande parte do Norte, Litoral e partes das regiões Oeste e do Alto Ribeira possuem baixo risco de perdas por geadas nesta cultura.

7. REFERÊNCIAS

- AIAA. Associação das Indústrias de Açúcar e de Álcool do Estado de São Paulo. **Álcool: História de um combustível sustentável**. 1997. Disponível em: <http://www.unica.com.br/pages/publicacoes_4.asp>. Acesso em: 23 nov. 2006.
- ALLAIN, C.C.; POON, L.S.; CHAN, C.S.G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v.120, p.470-475, 1974.
- ANEEL (Agência Nacional de Energia Elétrica, 2006). **Petróleo**. Disponível em: <[http://www.aneel.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/07-Petroleo\(2\).pdf](http://www.aneel.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/07-Petroleo(2).pdf)>. Acesso em: 25/11/2006.
- ARRUDA, F. P.; BELTRÃO, N. E. M.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; SEVERINO, L. S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de oleaginosas e fibrosas**. Campina Grande, v.8, n.1, p.789-799, jan-abr. 2004
- ASSIS, F. N.; ARRUDA, H. V.; PEREIRA, A. R.; **Aplicações de estatística à climatologia: Teoria e Prática**. Pelotas: Editora UFPEL, 1996. 161p.
- BAUER, H. et al. Photosynthesis of *Coffea Arabica* after chilling. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 64, p. 449-454, 1985.
- BP **Statistical Review of World Energy**. 2006. Disponível em: <www.bp.com/worldenergy>. Acesso em: 25 nov. 2006.
- BODNER, M.; LARCHER, W. Chilling susceptibility of different organs and tissues of *Saintpaulia ionantha* and *Coffea arabica*. **Angew. Botany**, Berlin, v. 61, p. 225-242, 1987.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- BRASIL.Ministério da Indústria e do Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: STI/CIT, 1985.
- BRASIL. Comissão Executiva Interministerial. **Biodiesel no Mundo**. Portal do biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/mundo/biodiesel-no-mundo.htm>>. Acesso em: 28 nov. 2006.

CAMARGO, A.P.; SALATI, E. Determinación de la temperatura letal para hojas de café en noches de heladas. **Café**, Lima, v. 8, n. 3, p. 12-15, 1967.

CANVIN, D.T. The effect of temperature on the oil content and fatty acid composition of the oils from several oilseed crops. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.43, p.63-69, 1965.

CARAMORI, L. P. C., CARAMORI, P H, MANETTI FILHO, J. Effect of leaf water potential on cold tolerance of *Coffea arabica* L.. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba - PR:, v.45, n.4, p.439 - 443, 2002.

CARAMORI, P.H.; CAVIGLIONE, J.H., WREGE, M.S., GONÇALVES, S. L., FARIA, R. T., ANDROCIOLO FILHO, A.; SERA, T.; CHAVES, J.C.D.; KOGUISHI, M. S. Zoneamento de riscos climáticos para a cultura de café (*Coffea arabica* L.) no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v.9, n.3, p. 486-494, 2001.

CARNIELLI, F. **O combustível do futuro**. 2003. Disponível em: <www.ufmg.br/boletim/bol1413>. Acesso em: 19 jun. 2006.

CAVIGLIONE, J. H.; CARAMORI, P. H.; KIIHL, L. B; OLIVEIRA, D. **Cartas Climáticas do Paraná**. Londrina, 2000. IAPAR. (CD-room).

CETEC. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. **Produção de óleo de pinhão-mansão para avaliação de desempenho e durabilidade de motores do ciclo diesel**. Belo Horizonte, 1989. 57p.

CHANG, C. J.; KAO, C. H. H₂O₂ metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness. **Plant Growth Regulators**, v. 25, p. 11-15, 1998.

CHAPMAN, D. J.; DE-FELICE, J.; BARBER, J. Growth temperature effects on thylakoid membrane lipid and protein content of pea chloroplasts. **Plant Physiology**, v.72, p. 225-228, 1983.

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

FERRAZ, E. C. **Estudos Sobre o Momento em que a Geada Danifica as Folhas do Cafeeiro**. 1968. Tese. (Doutorado em Agronomia) – Universidade Superior Luiz de Queirós, USP, Piracicaba.

FERRUCIO, B.; DASILVA, R. **Análise do potencial Brasileiro na produção de biodiesel**. Portal do biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>>. Acesso em: 30 nov. 2006.

GASPAR, T.; PENEL, C.; CASTILLO, F.J.; GREPPIN, H.A. Two step control of basic and acidic peroxidase and significance for growth and development. **Physiologia Plantarum**, v.64, p.418-423, 1985.

GASPAR, T. (Ed.) **Biochemical, molecular and physiological aspects of plant peroxidases**. Geneve:University of Geneve, 1991. p.443-445.

GOODMAN, R. N.; KIRALY, Z.; WOOD, K. R. Secondary metabolite. In: GOODMAN, R. N. **The Biochemistry and Physiology of Plant Disease**. Missouri: University of Missouri, 1986. p. 211-224.

GRODEN, D.; BECK, E. H₂O₂ destruction by ascorbate-dependent systems from chloroplasts. **Biochemistry Biophysics Acta**, v. 546, p. 426-435, 1979.

GRODZKI, L., CARAMORI, P H, OLIVEIRA, D., GOMES, J. Riscos de ocorrência de geadas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**. Santa Maria, v.4, n.1, p.93 - 99, 1996.

HELLER, J. **Physic nut :*Jatropha curcas* L.**, International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 66p.

HOLANDA, A. **Biodiesel e inclusão social**. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações, 2004. 200p.

KLUGE, R. A. **Fotossíntese**. Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal. Disponível em: < <http://www.sbfv.org.br/materialdidatico/download/FotossinteseKluge.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2006.

KRISHNAMURTHY R.; BHAGWAT, K. A. Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. **Plant Physiology**, v. 91, p. 500-504, 1989.

LARCHER W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa. 531p.

LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses: chilling, freezing and high temperature stresses**. 2. ed., New York: Academic Press, 1980, v. 1, 497p.

LIMA, G. P. P.; BROETTO, F.; BRASIL, O. G. Efeito da salinidade sobre o teor de proteínas e atividades da peroxidase e redutase de nitrato em calos de arroz. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 20, p. 357-363, 1998.

LIMA, G.P.P.; BRASIL, O.G.; OLIVEIRA, A.M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**, v.56, p.21-25, 1999.

MANETTI FILHO, J.; CARAMORI, P.H. Desenvolvimento de uma câmara para simulação de temperaturas baixas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 10, p. 1005-8, 1986.

McKERSIE BD. 1996. **Chilling stress**. Disponível em: <http://www.agronomy.psu.edu/Courses/AGRO518/CHILLING.htm>. Acessado em 01 fev 2007.

MIRAGAYA, J. C. G. **Biodiesel: tendências no mundo e no Brasil**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.26, n. 229, p.7-13, 2005.

MITTAL R.; DUBEY, R. Behavior of peroxidases in rice: changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 29, p. 31-40, 1991.

MORAES, J. R. **Manual dos óleos vegetais e suas possibilidades energéticas**. Rio de Janeiro: CNI, 1982. 70p.

MORAIS, H. **Efeito do sombreamento de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) com guandu (*Cajanus cajan* (L) Millsp.) no norte do Paraná**. 2003. 118 p. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

OLIVEIRA, D.; YAMAOKA, R. S.; COLASANTE, L. O.; JUNIOR, N. S. F.; CIRINO, V. M.; POLA, J. N.; ARAÚJO, P. M.; FIGUEIREDO, P. R. A.; LEME, M. C. J.; MARUR, C. J.; CARAMORI, P. H. Participação do IAPAR no Programa Paranaense de Bioenergia. In: Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 2., 2005, Varginha – MG. **Anais**. Varginha - MG: Universidade Federal de Lavras e Prefeitura Municipal de Varginha, 2005, pg.908-911.

PARANÁ. Conselho Regional de Engenharia Arquitetura e Agronomia. **O futuro chama-se Bioenergia**. Disponível em: http://www.crea-pr.org.br/crea/html/assessoria_comunicacao/o_futuro_chama-se%20bioenergia%20.htm. Acesso em: 20 dez. 2006.

PEIXOTO, A.R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. 284p.

PEREIRA, A.R.; ANGELOCCI, L.R.; SENTELHAS, P.C. **Agrometeorologia: Fundamentos e Aplicações Práticas**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária Ltda, 2002. p. 385-411.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; NAGASHI, T.; GONÇALVES, N. P. **Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.26, n. 229, p.44-78, 2005.

SIEGEL, B.Z. Plant peroxidases: an organism perspective. **Plant Growth Regulation**, v.12, p. 303-312, 1993.

SILVA, J. G.; SENTELHAS, P. C.; Diferença de temperatura mínima do ar medida no abrigo e na relva e probabilidade de sua ocorrência em eventos de geada no Estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**. Santa Maria, v.9, n.1, p. 9-15, 2001.

SILVA, M. A. A.; GALVANI, E.; ESCOBEDO, J. F.; Avaliação de elementos meteorológicos durante a ocorrência de geada em cultivo de pimentão, nas condições de ambiente protegido e campo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**. Santa Maria, v.12, n.1, p. 35-41, 2004.

SILVEIRA, J.C. Contribution a l'étude du pulgère aux iles duCap Vert. In: INSTITUTO SUPERIOR DE AGRONOMIA (Campinas,SP). **Anais**. Campinas, 1934. v. 6, p.116-126.

STOUT, M. J.; WORKMAN, J.; DUFFEY, S. S. Differential induction of tomato foliar proteins by arthropod herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 10, p. 2575-2594, Oct. 1994.

TEIXEIRA, L. C. **Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.26, n. 229, p.18-27, 2005.

ULISSES, C.; ROCHA, P.; ALBUQUERQUE, C. et al. Determinación de prolina en yemas de plátano (*Musa* sp. Cv Nanicão-AAA) seleccionadas *in vitro* en cuanto a la tolerancia a la salinidad. In: ENCUENTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 3 1998, La Habana, Cuba. **Anais...** Cuba, 1, p. 334-35.

UNGARO, M.R.G.; SENTELHAS, P.C.; TURATTI, J.M.; SOAVE, D. Influência da temperatura do ar na composição de aquênios de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.4, p.351-356, 1997.

U.S.G.S. **Shuttle Radar Topography Mission (SRTM) "Finished" 3-arc second**. Disponível em: <<http://edcsns17.usgs.gov/srtmbil/index.html>>. Acesso em: 03 mar. 2006.

WREGG, M. S.; CARAMORI, P. H.; GONÇALVES, A. C. A.; BERTONHA, A.; FERREIRA, R. C.; CAVIGLIONE, J. H.; FÁRIA, R. T.; DE FREITAS, P. S. L.; GONÇALVES, S. L. Regiões potenciais para cultivo da cana-de-açúcar no Paraná,

com base na análise do risco de geadas. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 113-122, 2005.

YAMAOKA, R. S.; COSTA, A.; SOUZA, R.; FAUCZ, R.; OLIVEIRA, D. Programa Paranaense de Bioenergia – “PR – Bioenergia”. In: Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 2., 2005, Varginha – MG. **Anais**. Varginha - MG: Universidade Federal de Lavras e Prefeitura Municipal de Varginha, 2005, pg. 912-916.