



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**

**CAMPUS ERECHIM**

**CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

**BRUNA CAPRINI**

**CARACTERIZAÇÃO FOTOQUÍMICA DE *Ilex paraguariensis***

**ERECHIM**

**2024**

**BRUNA CAPRINI**

**CARACTERIZAÇÃO FOTOSSINTÉTICA DE *Ilex paraguariensis***

Projeto de pesquisa apresentado ao curso de Ciências Biológicas - Bacharelado, da Universidade Federal da Fronteira Sul como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador(a): Prof. Dr. Yugo Lima-Melo  
Coorientador(a): Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cherlei Marcia Coan

ERECHIM

2024

**Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Caprini, Bruna  
Caracterização Fotoquímica de *Ilex paraguariensis* /  
Bruna Caprini. -- 2024.  
29 f.

Orientador: Doutor em Biologia Vegetal Molecular e  
Bioquímica Yugo Lima-Melo

Co-orientadora: Doutora em Educação Científica e  
Tecnológica Cherlei Márcia Coan

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
Bacharelado em Ciências Biológicas, Erechim, RS, 2024.

1. fitoquímica. 2. fluorescência. 3. erva-mate. I.  
Lima-Melo, Yugo, orient. II. Coan, Cherlei Márcia,  
co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul.  
IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**BRUNA CAPRINI**

**CARACTERIZAÇÃO FOTOQUÍMICA DE *Ilex paraguariensis***

Projeto de pesquisa apresentado ao curso de Ciências Biológicas - Bacharelado, da Universidade Federal da Fronteira Sul como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Yugo Lima-Melo  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cherlei Marcia Coan

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 07/06/2024.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Yugo Lima-Melo - UFFS  
Orientador

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cherlei Marcia Coan - UFFS  
Coorientadora

---

Dr.<sup>a</sup> Rachel Hellen Vieira de Sousa Lima - UFCA  
Avaliadora

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Helen Treichel - UFFS  
Avaliadora

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos membros do Grupo de Extensão, Pesquisa e Ensino em Botânica (GEPEB), em especial à Lavinya Monfron Guerra e Arieli de Lima pela ajuda na realização dos experimentos. Agradeço também a meu orientador e minha coorientadora pelo aprendizado que me proporcionaram e pela paciência que tiveram comigo. Por último, agradeço aos meus familiares e amigos que me apoiaram durante todo esse trajeto.

## RESUMO

O presente estudo buscou avaliar diferenças na eficiência fotossintética entre mudas de diferentes idades e entre folhas diferentes estratos de *Ilex paraguariensis*, uma espécie arbórea nativa da América do Sul, encontrada principalmente na Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai. Durante os experimentos, as plantas foram mantidas em casas de vegetação. Mensurações para comparar mudas de diferentes idades foram realizadas utilizando a folha mais alta completamente expandida e considerada saudável (n=5), enquanto que as mensurações entre folhas de diferentes posições foram realizadas com plantas de mesma idade (n=5). As medições da quantidade de clorofila *a*, *b* e total foram realizadas com a utilização de clorofilômetro (FALKER) e as demais mensurações foram feitas por fluorômetro (OS5p+). Os resultados não apresentaram diferença significativa entre plantas de diferentes idades. Entre folhas de diferentes estratos, os resultados indicam que as melhores folhas para uso são as de posição mediana, seguidas pelas folhas mais jovens, não sendo recomendado o uso de folhas de base.

**Palavras-chave:** erva-mate; fitoquímica; fluorescência.

### ABSTRACT

The present study sought to evaluate differences in photosynthetic efficiency between seedlings of different ages and between different leaf strata of *Ilex paraguariensis*, a tree species native to South America, found mainly in Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay. During the experiments, the plants were kept in greenhouses. Measurements to compare seedlings of different ages were carried out using the highest leaf that was completely expanded and considered healthy (n=5), while measurements between leaves of different positions were carried out with plants of the same age (n=5). Measurements of the amount of chlorophyll a, b and total were carried out using a chlorophyllometer (FALKER) and the other measurements were made using a fluorometer (OS5p+). The results showed no significant difference between plants of different ages. Among leaves from different strata, the results indicate that the best leaves to use are those with a median position, followed by the youngest leaves, with the use of base leaves not being recommended.

**Keywords:** yerba mate; phytochemistry; fluorescence.

### SUMÁRIO

	8
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>10</b>
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>11</b>
<b>4 METODOLOGIA</b>	<b>13</b>
4.1 MATERIAL VEGETAL	13
4.2 CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILAS	14
4.3 PARÂMETROS DE FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A	14
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>15</b>
5.1 AVALIAÇÃO FOTOQUÍMICA DE PLANTAS EM DIFERENTES IDADES	15
5.1.1 CLOROFILA	15
5.1.2 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A	16
5.2 AVALIAÇÃO FOTOQUÍMICA DE FOLHAS EM DIFERENTES POSIÇÕES NA PLANTA	18
5.2.1 CLOROFILAS	18
5.2.2 FLUORESCÊNCIA	19
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>23</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>24</b>

## 1 INTRODUÇÃO

*Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae), conhecida popularmente como erva-mate, é uma espécie arbórea nativa da América do Sul, encontrada principalmente na Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai (GERHARDT, 2013). A erva-mate é uma árvore nativa da Floresta Ombrófila Mista, que apresenta grande importância ecológica, econômica e cultural na região sul do Brasil. É uma das plantas mais socioeconomicamente importantes nessa região devido ao seu uso na produção de chá-mate, chimarrão ou tererê, bebidas amplamente consumidas pela população local e exportadas para outros países (CARVALHO, 2003). A erva-mate também é utilizada na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética, destacando-se pela presença de compostos bioativos como metilxantinas, ácido clorogênico e outros polifenóis (COELHO et al., 2007; FILIP et al., 2001; REGINATTO et al., 1999).

Adicionalmente à importância socioeconômica, *Ilex paraguariensis* apresenta grande importância ecológica na manutenção da biodiversidade em florestas subtropicais e tropicais. Vários estudos têm mostrado a importância ecológica de *Ilex paraguariensis* através da sua relação com espécies de fungos, bactérias e animais (JUNQUEIRA et al., 2001; FRONZA et al. 2011; PÉREZ et al. 2016; CABRAL et al. 2020). A cultura da erva-mate pode promover a conservação da biodiversidade em áreas de floresta nativa, uma vez que os produtores são incentivados a manter a vegetação nativa em suas propriedades para garantir a produção sustentável da erva-mate. A agrofloresta de erva-mate é um sistema que oferece benefícios sociais, ambientais e econômicos, promovendo a conservação da biodiversidade, a melhoria da qualidade de vida das comunidades locais e a geração de renda para os produtores (EIBL et al., 2000; ILANY et al., 2010).

Apesar da importância socioeconômica e ambiental, o número de estudos focados nas especificidades fisiológicas de *Ilex paraguariensis*, sobretudo em relação à fotossíntese, é limitado (GAIAD et al, 2006, RAKOCEVIC et al, 2007, RAKOCEVIC et al, 2009, GALVÃO, 1986, LUNA et al, 2017). Existem também estudos sobre parâmetros fotossintéticos em condições específicas, como na presença de microrganismos (CASTILLO et al., 2009, TOMAZELLI et al., 2022).

A fotossíntese é o processo bioquímico fundamental responsável pela produção de carboidratos e oxigênio a partir da absorção de energia luminosa, dióxido de carbono e água. O complexo processo fotossintético é regulado de forma diferente em cada espécie, sendo influenciado por diversos fatores ambientais. A caracterização fotossintética de plantas é importante para compreender a capacidade de produção de biomassa, crescimento e

desenvolvimento, resposta a estresses ambientais e produtividade (LIMA-MELO et al., 2021). Por ser o principal processo de produção de matéria orgânica na biosfera, sendo responsável pela fixação do carbono atmosférico e pela geração de oxigênio, o conhecimento sobre os mecanismos e as respostas da fotossíntese às condições ambientais permite entender como as plantas respondem às mudanças no clima e nas condições de disponibilidade de recursos, bem como como os ecossistemas são afetados por essas mudanças (KLUGE et al, 2015). Além disso, a fotossíntese é um processo chave na cadeia alimentar, pois é a base da produção primária que sustenta toda a vida na Terra. Portanto, entender os processos fotossintéticos de uma espécie é fundamental tanto para fins de aumento de produtividade quanto para a compreensão da ecologia e da dinâmica dos ecossistemas.

Percebendo a necessidade de um estudo mais aprofundado sobre a fotossíntese de *Ilex paraguariensis*, com a determinação de parâmetros fotossintéticos específicos para a espécie, o objetivo geral da pesquisa é caracterizar a fotossíntese da espécie, ressaltando as suas particularidades e importância ecológica, social e econômica.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar a fotossíntese de *Ilex paraguariensis* em mudas de diferentes idades e em folhas de diferentes estratos.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar diferenças na eficiência fotossintética em folhas de diferentes estratos em mudas de *Ilex paraguariensis*.
- Comparar os parâmetros de fotoquímica de plantas jovens de *Ilex paraguariensis* crescidas em casa de vegetação em diferentes idades.
- Estabelecer, pela primeira vez, os valores médios de parâmetros de fotoquímica para a *Ilex paraguariensis*.

## **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

A fotossíntese é um processo que ocorre em plantas e outros organismos, permitindo a conversão da energia luminosa em energia química, que é armazenada em moléculas de

carboidratos. Esse processo também leva à produção de  $O_2$ , tornando-o crucial para organismos aeróbicos (KLUGE et al., 2015, EVERT; EICHHORN, 2014). Em plantas, a fotossíntese consiste em duas etapas: a fase fotoquímica e a fase de assimilação/fixação de carbono. Durante a fase fotoquímica, a clorofila e outros pigmentos fotossintéticos absorvem a energia luminosa e a conservam como ATP e NADPH, enquanto ocorre a formação de  $O_2$ . Na fase de assimilação de carbono, o ATP e o NADPH gerados são usados para reduzir o  $CO_2$ , produzindo trioses fosfatadas, amido, sacarose e outros compostos (GOVINDJEE et al., 2017).

A quantidade de clorofila presente nas folhas é frequentemente utilizada para estimar o potencial fotossintético das plantas. O conteúdo de clorofila tem ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa (CHAPPELLE; KIM, 1992). São compostos com estruturas macrocíclicas assimétricas totalmente insaturadas, constituídas por quatro anéis de pirrol, e diferenciam-se somente pelos substituintes no carbono C3: a clorofila *a* contém um grupo metil, enquanto a clorofila *b* possui um grupo aldeído (VON ELBE, 2000).

A clorofila *a* é o pigmento utilizado para realizar a fotoquímica. A clorofila *b*, considerada um pigmento acessório, absorve luz em comprimentos de onda diferentes da clorofila *a* e a transfere para o centro de reações, o que maximiza a captura energética efetiva (TAIZ; ZEIGER, 2004). A mensuração do conteúdo de clorofila das plantas pode ser realizada de diversas maneiras, sendo um dos métodos comprovados a utilização de clorofilômetro. Vários fatores influenciam as medidas realizadas, sendo alguns: idade/posição da folha, estresse ambiental e biótico e estágio fenológico (AMARANTE et al., 2009, SILVEIRA, 2023).

A etapa fotoquímica ocorre nos cloroplastos, mais especificamente na membrana do tilacóide, e envolve o fluxo de elétrons através de uma série de carreadores protéticos membranares, resultando em fotofosforilação. Durante essa etapa, as moléculas de clorofila e outros pigmentos acessórios são excitadas pela absorção de fótons e transferem a energia para centros de reação presentes nos fotossistemas (EVERT; EICHHORN, 2014). Quando os fotossistemas são excitados energeticamente, ocorre uma separação de cargas elétricas, gerando um forte doador e um forte acceptor de elétrons (VINYARD et al., 2013; GOVINDJEE et al., 2017; SHEVELA et al., 2021).

Nos fotossistemas I (PSI), o centro de reação P700 transfere elétrons para ferredoxinas (Fd), que por sua vez reduzem o  $NADP^+$  a NADPH. Nos fotossistemas II (PSII), o centro de reação P680 transfere elétrons para plastoquinonas, que são então substituídas por elétrons provenientes da água, produzindo  $O_2$  (EVERT; EICHHORN, 2014). As plastoquinonas

reduzidas transferem elétrons para os complexos citocromos *b6f*, que passam para plastocianinas, que, por fim, repõem os elétrons doados pelo P700 após fotoexcitação. Esse fluxo de elétrons também produz um gradiente de prótons, que possibilita a produção de ATP pelas proteínas sintases de ATP localizadas nas membranas do tilacóide (VINYARD et al., 2013; LIMA-MELO et al., 2021).

A segunda etapa da fotossíntese consiste na assimilação de CO<sub>2</sub> foliar, absorvido através dos estômatos, que ocorre por meio de um conjunto de reações conhecidas como o ciclo de Calvin-Benson-Bassham (CBB). Neste ciclo, as moléculas de ATP e NADPH geradas na etapa fotoquímica são usadas para reduzir o CO<sub>2</sub> a trioses fosfatadas através de três etapas: fixação, redução e regeneração (EVERT; EICHHORN, 2014, VINYARD et al., 2013). A fixação do CO<sub>2</sub> é catalisada pela enzima Rubisco, seguida pela redução do 3-fosfo-glicerato a gliceraldeído 3-fosfato e pela regeneração da ribulose 1,5-bifosfato, que é o substrato da Rubisco juntamente com o CO<sub>2</sub>. As moléculas de carboidrato produzidas podem ser transportadas (como sacarose, por exemplo), armazenadas (como amido, por exemplo) ou terem função estrutural. Este processo é fundamental para a produção de alimentos e para a manutenção do equilíbrio ecológico da Terra (BENSON et al. 1950; EVANS et al. 2009).

Quando amostras adaptadas ao escuro são expostas à luz, a fluorescência da clorofila *a* passa por mudanças rápidas relacionada à passagem de elétrons nas várias etapas da cadeia transportadora de elétrons do tilacóide após a emissão de um feixe de luz. Esse efeito pode ser mensurado e utilizado para a obtenção de informações sobre a eficiência de transporte de elétrons no fotossistema II (GOVINDJEE, 1995). Quando as mudanças de fluorescência são examinadas em intervalos de microssegundos e milissegundos é possível identificar etapas durante seu aumento (ZHU et al., 2005), cuja compilação é parte do teste OJIP. Além dos valores de fluorescência em diferentes tempos, esse teste pode calcular, entre outros, os seguintes parâmetros relevantes a esse trabalho:

Tabela 1: Definição dos parâmetros mensurados pelo teste OJIP utilizados no presente trabalho.

Parâmetro	Definição
$F_V/F_M$	Eficiência quântica máxima do fotossistema II.
$F_V/F_0$	Eficiência máxima primária do processo fotoquímico no fotossistema II.
$PI_{ABS}$	Índice de desempenho com base na absorção.
$TR_0/ABS$	Rendimento quântico máximo fotoquímico do fotossistema II.
$DI_0/CS$	Fluxo de energia dissipado não capturado pelo fotossistema II.

Fonte: STIRBET et al., 2018.

Os poucos estudos realizados anteriormente com *Ilex paraguariensis* demonstraram que sua taxa fotossintética é influenciada por vários fatores, como sazonalidade (RAKOCEVIC et al., 2007, GALVÃO, 1986), sistema de cultivo, estágio fenológico (RAKOCEVIC et al., 2009, LUNA et al., 2017), disponibilidade de radiação solar (CARON et al., 2014) e maturidade da folha (RAKOCEVIC et al., 2009). Além de fatores ambientais, a taxa fotossintética e a transpiração realizada pelas folhas são influenciadas pelo dimorfismo sexual: plantas femininas possuem taxa maior de ambas durante o período de brotamento na primavera e durante a pausa de crescimento no inverno (RAKOCEVIC et al., 2009).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

As plantas utilizadas foram cultivadas a partir de sementes germinadas em diferentes momentos na localização 27°38'23.5"S 52°00'36.5"W e posteriormente doadas à Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Erechim para a realização da pesquisa. As mudas foram separadas por idade: 3 meses, 4 meses, 6 meses, 8 meses e 12 meses; com 5 repetições cada, totalizando um total de 25 plantas.

As plantas foram colocadas em uma casa de vegetação, transferidas para vasos e cobertas com substrato para plantas. A rega foi feita a cada três dias, sendo atingida a capacidade de campo. O período de aclimação foi de duas semanas. Mensurações para comparar mudas de diferentes idades foram realizadas utilizando a folha mais alta completamente expandida e considerada saudável (n=5), enquanto que as mensurações entre folhas de diferentes posições foram realizadas com plantas de mesma idade (8 meses, n=5).

Figura 1: exemplares de mudas de *Ilex paraguariensis* de diferentes idades. Em ordem: 3 meses, 4 meses, 6 meses, 8 meses e 12 meses.



#### 4.2 CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILAS

A medição de concentração das clorofilas *a*, *b* e total foi realizada com o uso de um clorofilômetro (ClorofiLog 2060 - FALKER). Duas mensurações foram realizadas na superfície adaxial de cada amostra foliar evitando a nervura principal. O horário da realização das mesmas foi entre 11:00 e 13:00. Os resultados passaram por análise estatística usando teste de Tukey.

#### 4.3 PARÂMETROS DE FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A

Os parâmetros de fluorescência foram medidos pelo método de pulso de saturação (SCHREIBER et al. 1995) em folhas expostas a condições de luz e adaptadas à escuridão. Para a realização das mensurações foi utilizado o fluorômetro (OS5P+, OPTISCIENCES) por meio da curva OJIP. A intensidade e a duração do pulso de luz de saturação foram de  $3.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e 0,7 s, respectivamente. A máxima eficiência quântica do fotossistema II (PSII) ( $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ) foi medida em condições de adaptação à escuridão. Na realização dos testes o período de adaptação à escuridão foi de 20 minutos. Os parâmetros  $F_m$  e  $F_o$  correspondem à fluorescência máxima e mínima de folhas adaptadas à escuridão, respectivamente;  $F_m'$  e  $F_s$  são a fluorescência máxima e de estado estacionário em folhas adaptadas à luz, respectivamente, e  $F_o'$  é a fluorescência mínima após iluminação vermelho-distante das folhas previamente expostas à luz (GENTY et al. 1989; SCHREIBER et al. 1995; FLEXAS et al. 2007). Foram também calculados parâmetros que indicam o

índice de desempenho com base na absorção ( $PI_{ABS}$ ), o rendimento quântico máximo da fotoquímica primária do fotossistema II ( $TR_0/ABS$ ) e o fluxo de energia dissipado não capturado pelo fotossistemas II ( $DI_0/CS$ ). Os resultados passaram por análise estatística usando teste de Tukey.

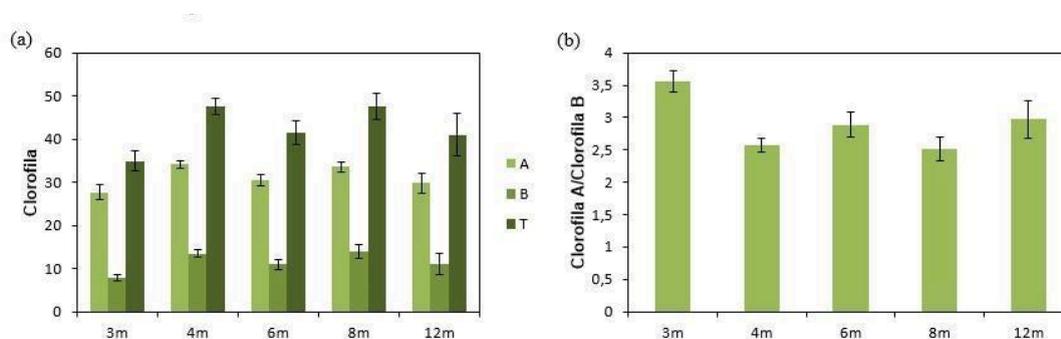
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 AVALIAÇÃO FOTOQUÍMICA DE PLANTAS EM DIFERENTES IDADES

#### 5.1.1 CLOROFILA

As mensurações realizadas para determinar a quantidade de clorofila *a* e *b* apresentaram apenas diferenças significativas entre plantas de 3 e 4 meses e entre 3 e 8 meses ( $p < 0,01$ ). A relação entre clorofila *a/b* teve diferença significativa entre plantas de 3 meses com todas as demais idades ( $p < 0,01$  para 4 e 8 meses e  $p < 0,05$  para 6 e 12 meses).

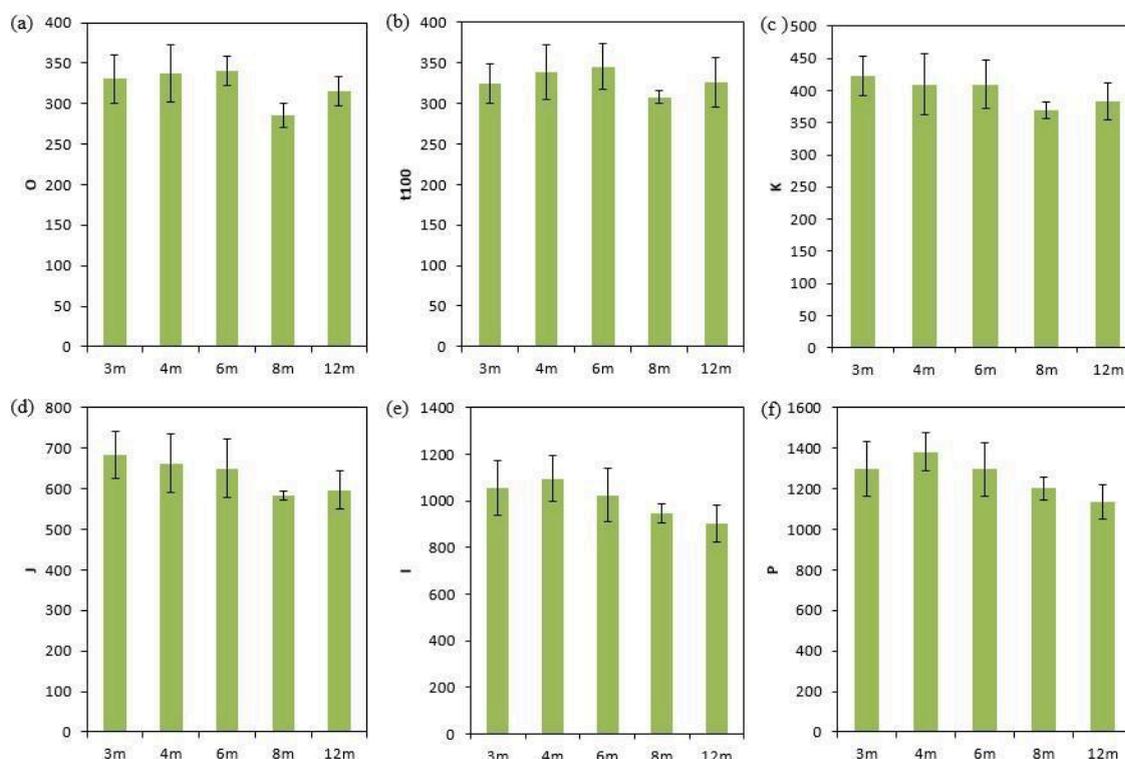
Figura 2: (a) mensuração da quantidade de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofilas totais em mudas de diferentes idades de *Ilex paraguariensis*. (b) Relação entre as clorofilas *a/b* em mudas de diferentes idades de *Ilex paraguariensis*. Barras de erro representam o erro padrão.



#### 5.1.2 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A

As diferentes etapas do teste de curva OJIP mostram valores de fluorescência registrados em diferentes tempos. Esses valores são utilizados para o cálculo dos demais parâmetros. Entre as etapas avaliadas, não houve diferença estatisticamente relevante entre os valores obtidos em plantas de diferentes idades.

Figura 3: valores de fluorescência nos tempos (a) 20  $\mu$ s (etapa O), (b) 100  $\mu$ s (t100), (c) 300  $\mu$ s (etapa K), (d) 2 ms (etapa J), (e) 30 ms (etapa I) e (f) valor máximo de fluorescência (etapa P, ou Fm) em mudas de diferentes idades de *Ilex paraguariensis*. Barras de erro representam o erro padrão.

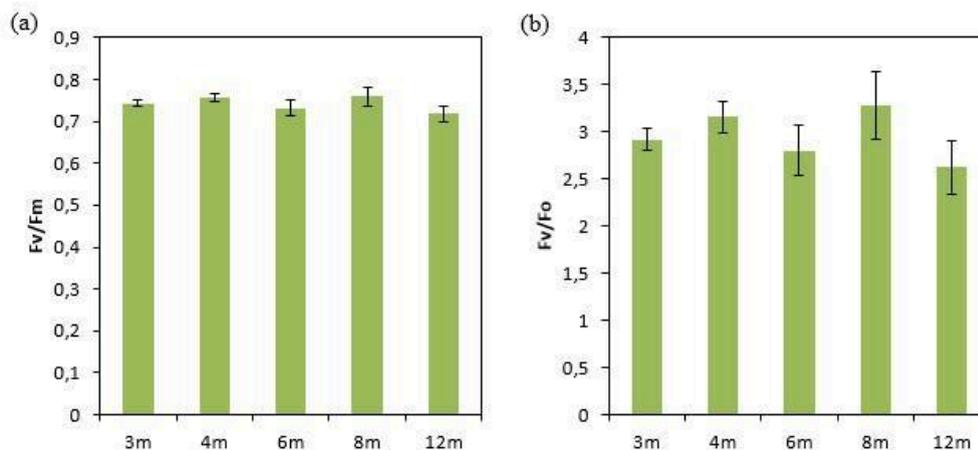


O valor de Fv/Fm representa a eficiência quântica máxima do fotossistema II, com todos os centros de reação abertos e oxidados (KITAJIMA; BUTLER, 1975). O teste é realizado com folhas adaptadas ao escuro, e seus valores para plantas terrestres tendem a variar entre 0,75 a 0,85 em condições não estressantes (RONQUIM et al, 2009). O teste de Fv/Fo é mais sensível ao estresse da planta. Em geral, o valor das medições pode variar entre 0 e 4, onde valores mais baixos são indicadores de estresse (OPTI-SCIENCES).

Os valores encontrados de Fv/Fm estão dentro da variação esperada, com a menor média sendo registrada nas plantas de 12 meses (0,717) e a maior registrada nas plantas de 8 meses (0,759). Estes valores são, de acordo com a literatura, indicadores de uma planta saudável. Não houve diferença estatística relevante entre as diferentes idades. Os valores médios de Fv/Fo variam entre 2,798 (6 meses) e 3,285 (8 meses), não indicando ocorrência de

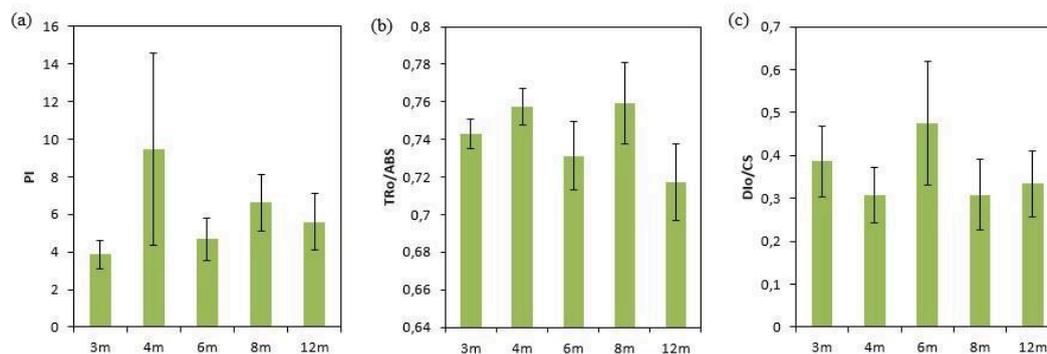
estresse nas plantas. Os testes estatísticos não identificaram diferença relevante entre os valores.

Figura 4: (a) valores de  $F_v/F_m$  de mudas de idades diferentes de *Ilex paraguariensis* e (b) valores de  $F_v/F_o$  de mudas de diferentes idades de *Ilex paraguariensis*. Barras de erro representam o erro padrão.



O índice de desempenho com base na absorção ( $PI_{ABS}$ ) registrou médias mais elevadas em plantas de 4 e 8 meses. Apesar disso, não houve diferença estatisticamente relevante entre os valores encontrados. O rendimento quântico máximo da fotoquímica primária do fotossistema II ( $TR_0/ABS$ ) apresentou valores entre 0,717 (12 meses) e 0,759 (8 meses) para todas as idades. Não foram encontradas diferenças estatísticas relevantes entre os valores. O fluxo de energia dissipado não capturado pelos fotossistemas II ( $DI_0/CS$ ) não apresentou diferença estatística significativa entre os valores obtidos.

Figura 5: valores de (a)  $PI_{ABS}$ , (b)  $TR_0/ABS$  e (c)  $DI_0/CS$  em mudas de *Ilex paraguariensis* de diferentes idades. Barras de erro representam o erro padrão.

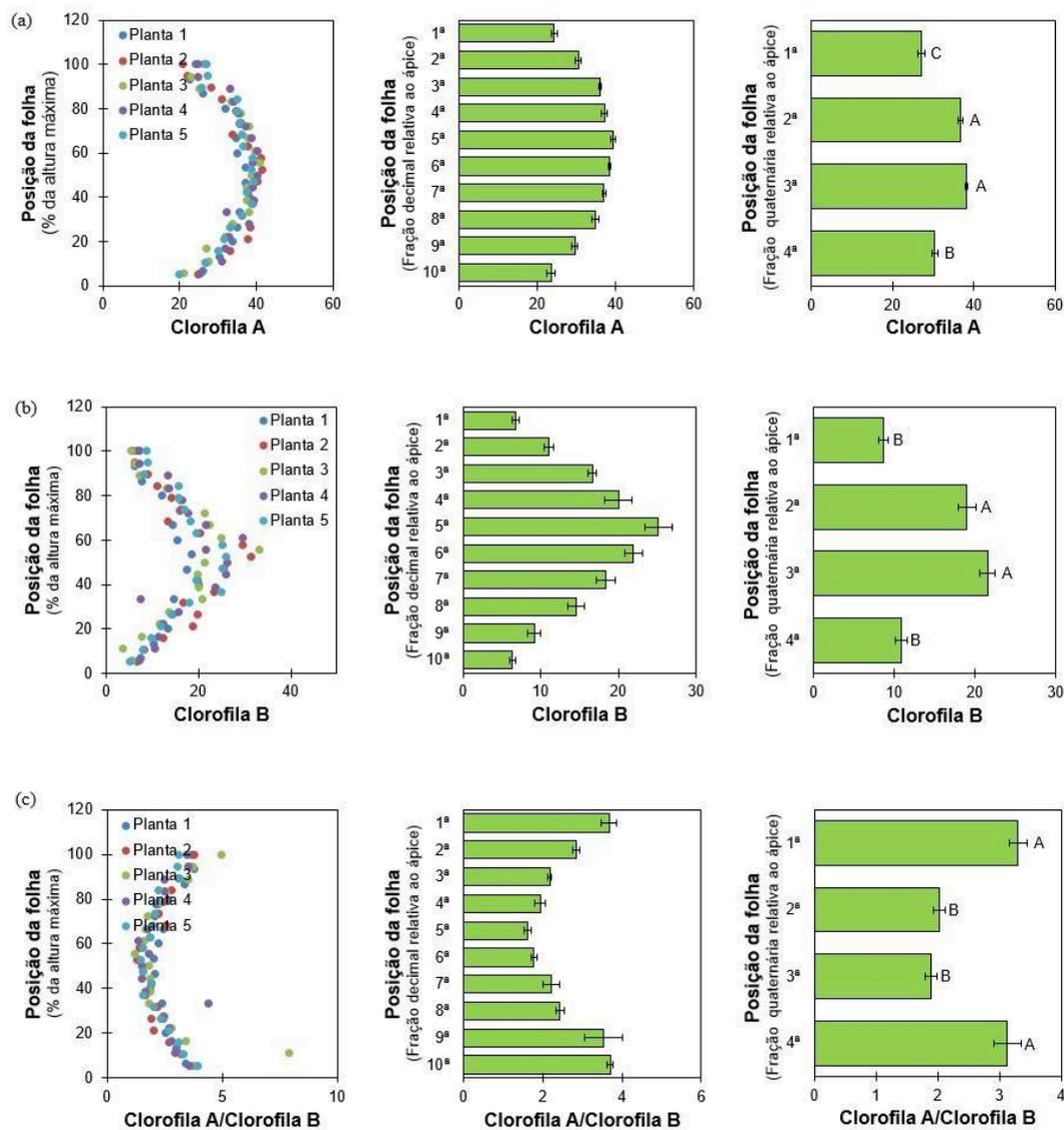


## 5.2 AVALIAÇÃO FOTOQUÍMICA DE FOLHAS EM DIFERENTES POSIÇÕES NA PLANTA

### 5.2.1 CLOROFILAS

Os valores de clorofila *a* e *b* foram significativamente menores em folhas jovens e folhas mais velhas quando comparadas às demais. A relação entre clorofila *a/b* foi maior para essas folhas, e os valores de ambas foram estatisticamente diferentes das folhas localizadas entre elas (terceira e quarta fração) e semelhantes entre si. A queda nos valores de folhas mais velhas pode estar relacionado ao processo de senescência.

Figura 6: (a) mensuração da quantidade de clorofila *a* por posição da folha em mudas de 8 meses; (b) mensuração da quantidade de clorofila *b* por posição da folha em mudas de 8 meses e (c) relação de clorofila *a/b* por posição da folha em mudas de 8 meses de *Ilex paraguariensis*. Barras de erro representam o erro padrão. Diferentes letras próximas às barras de erro em diferentes frações quaternárias de estrato de posição foliar representam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

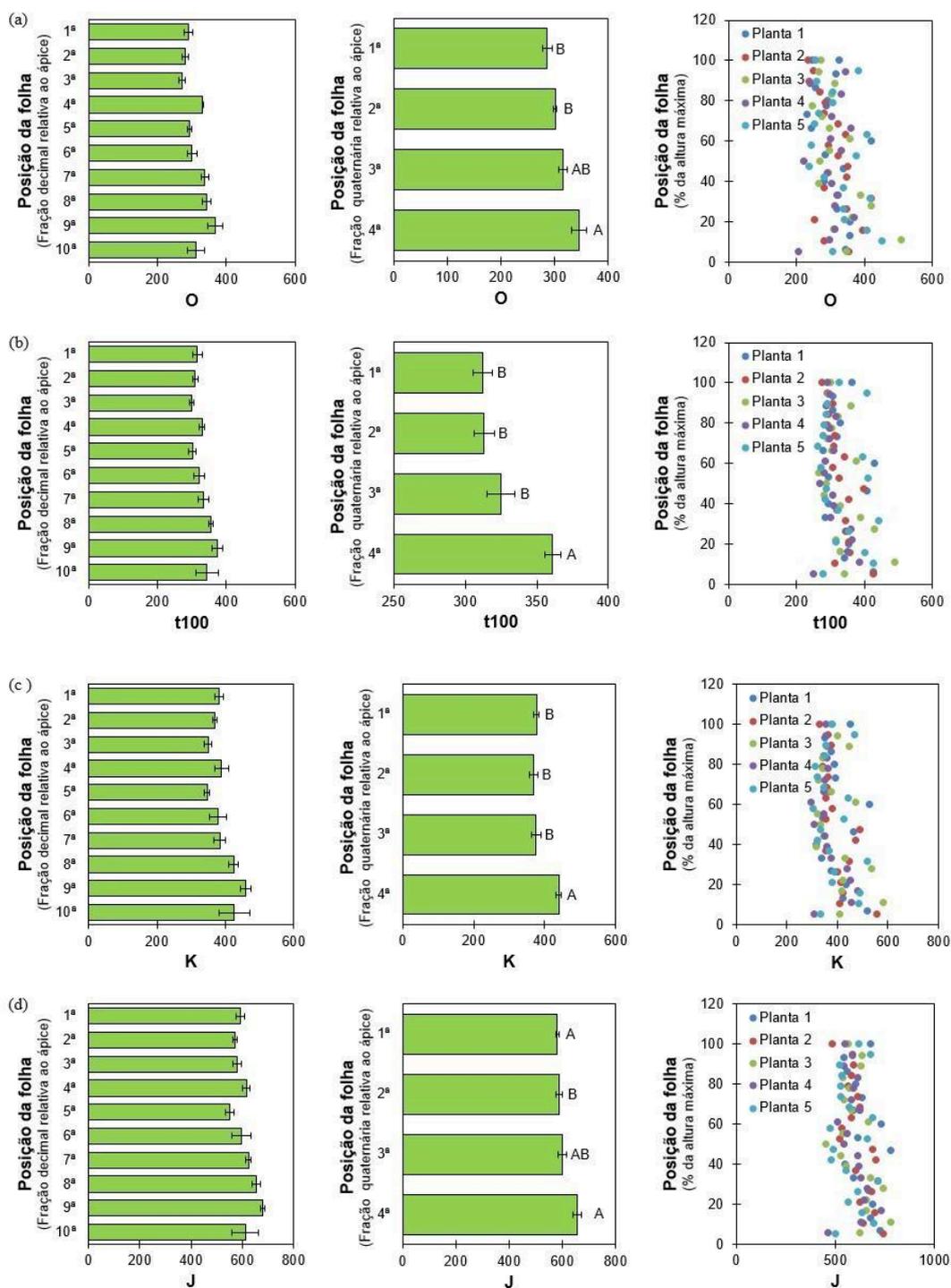


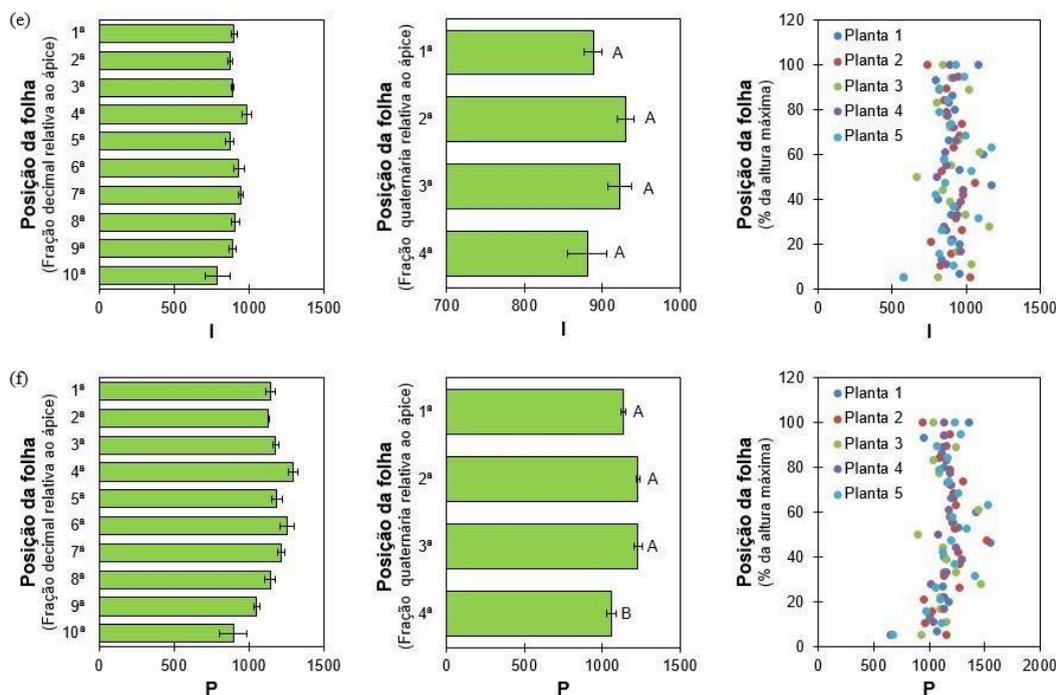
### 5.2.2 FLUORESCÊNCIA

A fluorescência da clorofila *a* aumenta mais rapidamente em folhas mais velhas. Apesar disso, seu valor de fluorescência máxima é significativamente menor que a das folhas nas demais posições. Com exceção das fases O (terceira fração é igual a todas as demais, incluindo a quarta) e J (segunda fração é igual à terceira diferente das demais) as demais folhas não apresentaram diferenças significativas entre os valores obtidos. Os valores obtidos servem como base para o cálculo dos demais parâmetros.

Figura 7: valores de fluorescência nos tempos (a) 20  $\mu$ s (etapa O), (b) 100  $\mu$ s (t100), (c) 300  $\mu$ s (etapa K), (d) 2 ms (etapa J), (e) 30 ms (etapa I) e (f) valor máximo de fluorescência

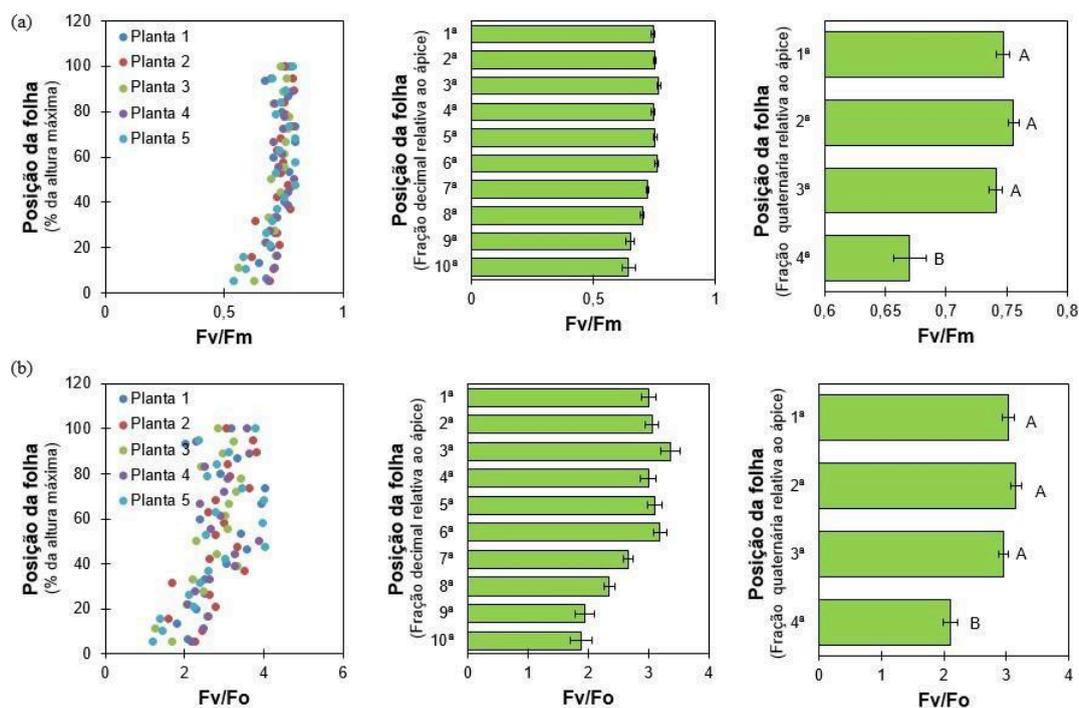
(etapa P, ou Fm) por posição da folha em mudas de 8 meses de *Ilex paraguariensis*. Barras de erro representam o erro padrão. Diferentes letras próximas às barras de erro em diferentes frações quaternárias de estrato de posição foliar representam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).





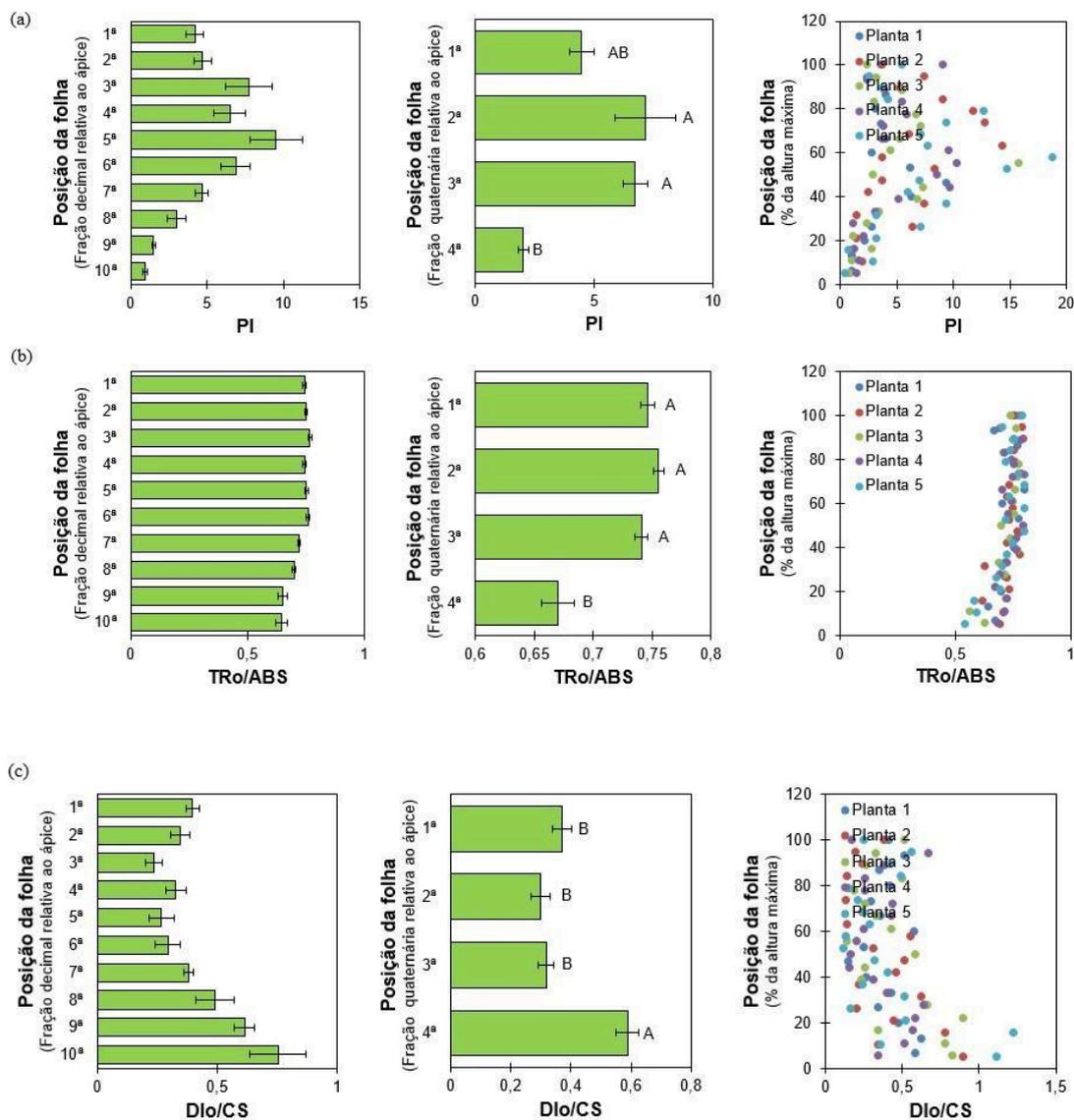
Os valores de  $F_v/F_m$  e  $F_v/F_o$  foram menores em folhas mais velhas quando comparados às demais, e não atingiram o valor considerado padrão em plantas não estressadas. As demais folhas não apresentaram diferença estatística significativa entre si em ambos os parâmetros, e atingiram valores associados a folhas saudáveis. A queda nos valores de folhas mais velhas pode estar relacionado ao processo de senescência.

Figura 8: (a) valores de  $F_v/F_m$  por posição da folha em mudas de 8 meses e (b) valores de  $F_v/F_o$  por posição da folha em mudas de 8 meses de *Ilex paraguariensis*. Barras de erro representam o erro padrão. Diferentes letras próximas às barras de erro em diferentes frações quaternárias de estrato de posição foliar representam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



O desempenho com base na absorção (PI) foi maior entre as folhas de meio (segunda e terceira fração). Foi identificada diferença estatística relevante entre as folhas de posição média e as folhas mais velhas. Os valores de rendimento quântico máximo da fotoquímica primária do fotossistema II encontrados foram menores nas folhas de base quando comparadas às demais, apresentando diferença estatística relevante. As folhas das demais posições não apresentaram diferença estatística relevante nos valores encontrados. O fluxo de energia dissipado pela não captura pelo fotossistema II apresentou valor maior entre as folhas mais velhas, apresentando diferença estatística relevante com relação às demais. Folhas de topo e de meio não apresentaram diferença estatística relevante entre os valores encontrados. Nos três parâmetros, a diferença observada nas folhas mais velhas podem estar relacionadas ao processo de senescência.

Figura 9: valores de (a)  $PI_{ABS}$ , (b)  $TR_0/ABS$  e (c)  $DI_0/CS$  por posição das folhas em mudas de *Ilex paraguariensis* de 8 meses. Barras de erro representam o erro padrão. Diferentes letras próximas às barras de erro em diferentes frações quaternárias de estrato de posição foliar representam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



## 6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi realizada a mensuração e análise de diversos parâmetros que nos permitem avaliar a eficiência fotossintética de folhas de *Ilex paraguariensis*, planta que possui imensa importância econômica e cultural na região sul do Brasil, onde seu consumo é mais intenso. Até o presente momento, não foram encontradas publicações com foco neste tipo de caracterização. Sendo assim, os dados obtidos podem servir de base para estudos do desempenho fotossintético de erva-mate em diversas condições, colaborando com o entendimento da biologia dessa espécie e possivelmente permitindo entender as melhores condições de cultivo da mesma.

Entre mudas de diferentes idades, os parâmetros mensurados não apresentaram diferenças estatisticamente relevantes exceto pela mensuração de clorofila a e b e da relação a/b onde, em ambos os casos, apenas as plantas com idade de 3 meses apresentaram valores que divergem dos demais. Sendo assim, podemos afirmar que, para fins experimentais, todas as idades testadas são viáveis. Para a avaliação fotoquímica de folhas de diferentes posições na mesma planta, as folhas mais velhas foram menos representativas da atividade fotossintética da planta em comparação com as demais. Os resultados demonstram que a melhor opção para uso são as folhas de posição mediana, seguidas pelas folhas de topo, não sendo recomendável a utilização das folhas da parte inferior.

## REFERÊNCIAS

AMARANTE, C. V. T. do; ZANARDI, O. Z.; MIQUELOTO, A.; STEFFENS, C. A.; ERHART, J.; ALMEIDA, J. A. de. Quantificação da área e do teor de clorofilas em folhas de plantas jovens de videira 'Cabernet Sauvignon' mediante métodos não destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 680–686, set. 2009.

ARO, E.-M.; VIRGIN, I.; ANDERSSON, B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1143, p. 113–134, 1993.

BENSON, A. A.; BASSHAM, J. A.; CALVIN, M.; GOODALE, T. C.; HAAS, V. A.; STEPKA, W. The path of carbon in photosynthesis. V. Paper chromatography and radioautography of the products. **Journal of the American Chemical Society**, v. 72, p. 1710–1718, 1950.

CABRAL, H.; CORONEL-BEJARANO, D.; RUIZ, R.; CANETE, L.; BRITEZ, E.; ROJAS, V. Living in the shadows: Diversity of amphibians, reptiles and birds in shade-grown yerba mate (*Ilex paraguariensis*) plantations. **Austral Ecology**, v. 45, p. 1123-1134, 2020.

CARON, B. O.; SCHMIDT, D.; MANFROM, P. A.; BEHLING, A.; ELOY, E.; BUSANELLO, C. Efficiency of the use of solar radiation for plants *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. cultivated under shadow and full sun. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 2, p. 257-265, 2014.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. v. 1, p. 455-466.

CASTILLO, A. E.; SANSBERRO, P. A.; LUNA, C. V. Effect of chlorpyrifos on photosynthesis, transpiration and stomatal conductance of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). 2009.

CAZZANIGA S.; DALL'OSTO, L.; KONG, S.-G.; WADA, M.; BASSI, R. Interaction between avoidance of photo absorption, excess energy dissipation and zeaxanthin synthesis against photooxidative stress in Arabidopsis. **Plant Journal**, v.76, p. 568-579, 2013.

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. **Remote Sensing of Environment**, New York, v. 39, p. 239- 247, 1992.

CLIFFORD, M. N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. Chlorogenic Acids and Purine Alkaloids Contents of Maté (*Ilex paraguariensis*) Leaf and Beverage. **Food Chemistry**, v. 35, p. 13-21, 1990.

COELHO, G. C.; RACHWAL, M. F. G.; DEDECEK, R. A.; CURCIO, G. R.; NIETSCHKE, K.; SCHENKEL, E. P. Effect of light intensity on methylxanthine contents of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 2, p. 75-80, 2007.

EIBL, B.; FERNANDEZ, R. A.; KOZARIK, J. C.; LUPI, A.; MONTAGNINI, F.; NOZZI, D. Agroforestry systems with *Ilex paraguariensis* (American holly or yerba mate) and native timber trees on small farms in Misiones, Argentina. **Agroforestry Systems**, v. 48, p. 1–8, 2000.

EVANS, J. R.; KALDENHOFF, R.; GENTY, B.; TERASHIMA, I. Resistances along the CO<sub>2</sub> diffusion pathway inside leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2235–2248, 2009.

EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Grupo Editorial Nacional (GEN), 2014. E-book. ISBN 978-85-277-2384-8. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2384-8/>. Acesso em: 04 dez. 2023.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, p. 774-778, 2001.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; DIAZ-ESPEJO, A.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H. Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>, current knowledge and future prospects. **Plant Cell and Environment**, v. 31, p. 602–621, 2007.

FRONZA, E.; SPECHT, A.; CORSEUIL, E. Butterflies and moths (Insecta: Lepidoptera) associated with erva-mate, the South American Holly (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), in Rio Grande do Sul, Brazil. **Check List**, v. 7, n. 4, p. 496-504, 2011.

GAIAD, S.; RAKOCEVIC, M.; REISSMANN, C. B. N sources affect growth, nutrient content, and net photosynthesis in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 689-697, 2006.

GALVÃO, F. Variação sazonal da fotossíntese líquida e respiração de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., *Ilex paraguariensis* St. Hill. e *Podocarpus lambertii* Klotz em função da intensidade luminosa e temperatura. Tese. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1986.

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

GERHARDT, Marcos. *História Ambiental da erva-mate*. 2013. 290 f. Tese (Doutorado em História). Centro de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

GOVINDJEE, G. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence. – Aust. J. **Plant Physiology**, vol. 22, p. 131-160, 1995

GOVINDJEE, G.; SHEVELA, D.; BJÖRN, L. O. Evolution of the Z-scheme of photosynthesis: a perspective. **Photosynthesis Research**, v. 133, p. 5-15, 2017.

GURURANI, M. A.; VENKATESH, J.; TRAN, L.-S. P. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. **Molecular Plant**, v. 8, p. 1304–1320, 2015.

ILANY, T.; ASHTON, M. S.; MONTAGNINI, F.; MARTINEZ, C. Using agroforestry to improve soil fertility: effects of intercropping on *Ilex paraguariensis* (yerba mate) plantations with *Araucaria angustifolia*. **Agroforestry Systems**, v. 80, p. 399-409, 2010.

JUNQUEIRA, L. K.; DIEHL, E.; DIEHL-FLEIG, E.. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) visitantes de *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 161-164, 2001.

KITAJIMA, M.; BUTLER, W. L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. **Biochimica et biophysica acta**, vol. 376(1), p. 105–115, 1975.

KLUGE, R. A.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; SILVA, P. P. M. da. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. *Revista Virtual de Química*, vol. 7, n. 1, p. 56-73, 2015.

LIMA-MELO, Y.; ALENCAR, V. T. C. B.; LOBO, A. K.; SOUSA, R. H. V.; TIKKANEN, M.; ARO, E.-M.; SILVEIRA, J. A. G.; GOLLAN, P. J. Photoinhibition of Photosystem I Provides Oxidative Protection During Imbalanced Photosynthetic Electron Transport in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019.

LIMA-MELO, Y.; KILIÇ, M.; ARO, E.-M.; GOLLAN, P. J. Photosystem I Inhibition, Protection and Signalling: Knowns and Unknowns. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021.

LUNA, C. V.; GONZALES, A. M.; MROGINSKI, L. A.; SANSBERRO, P. A. Anatomical and histological features of *Ilex paraguariensis* leaves under different in vitro shoot culture systems. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 129, p. 457-467, 2017.

MIRESKI, M. C.; GUEDES, R. S.; WENDLING, I.; PEÑA, M. L. P.; MEDEIROS, A. C. S. Secagem na viabilidade e desenvolvimento embrionário de sementes de *Ilex paraguariensis*. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 3, p. 1354-162, 2019.

OPTI-SCIENCES. OS5p+ User's Guide, p. 11.

PÉREZ, L. P.; COLLAVINO, M. M.; SANSBERRO, P. A.; MROGINSKI, L. A.; GALDEANO, E. Diversity of endophytic fungal and bacterial communities in *Ilex paraguariensis* grown under field conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 61, 2016.

RAKOCEVIC, M.; MEDRADO, M. J. S.; LAVORANTI, O. J. Condutância estomática, fotossíntese, luz, temperatura, transpiração. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 54, p. 37, 2007. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/127>. Acesso em: 18 fev. 2024.

RAKOCEVIC, M.; MEDRADO, M. J. S.; MARTIM, S. F.; ASSAD, E.D. Sexual dimorphism and seasonal changes of leaf gas exchange in the dioecious tree *Ilex paraguariensis* grown in two contrasted cultivation types. **Annals of Applied Biology**, v. 154, n. 2, p. 291-301, 2009.

REGINATTO, F. H.; ATHAYDE, M. L.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Methylxanthines Accumulation in *Ilex* Species - Caffeine and Theobromine in Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) and Other *Ilex* Species. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 10, n. 6, p. 443-446, 1999.

RONQUIM, C.C.; PRADO, C.H.B.A.; SOUZA, J.P. Growth, photosynthesis and leaf water potential in Young plants of *Capaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpiniaceae) under contrasting irradiances. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v.21, n.3, p.197-208, 2009.

RUBAN, A. V. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. **Plant Physiology**, v. 170, p. 1903–1916, 2016.

SCHREIBER, U.; BILGER, W.; NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schulze ED, Caldwell MM, eds. **Ecophysiology of Photosynthesis**, Springer, Berlin. pp. 49–70, 1995.

SHEVELA, D.; KERN, J. F.; GOVINDJEE, G.; WHITMARSH, J.; MESSINGER, J. Photosystem II. **eLS**, v. 2, p. 1–16, 2021.

SILVEIRA, P. M. de. Clorofilômetro. Website: Embrapa Arroz e Feijão, 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/producao/adubacao/clorofilometro>

SIMKIN, A. J.; McAUSLAND, L.; LAWSON, T.; RAINES, C. A. Over-expression of the RieskeFeS protein increases electron transport rates and biomass yield. **Plant Physiology**, v. 175, p. 134–145, 2017.

SUORSA, M.; JÄRVI, S.; GRIECO, M.; NURMI, M.; PIETRZYKOWSKA, M.; RANTALA, M.; KANGASJÄRVI, S.; PAAKKARINEN, V.; TIKKANEN, M.; JANSSON, S.; ARO, E.-M. PROTON GRADIENT REGULATION5 is essential for proper acclimation of Arabidopsis photosystem I to naturally and artificially fluctuating light conditions. **Plant Cell** 24, 2934–2948, 2012.

TAIZ, L.; ZIEGLER, E. **Fisiologia vegetal** 3.ed. Porto Alegre : Artmed, 2004. p.693.

TAKAHASHI, S.; MURATA, N. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? **Trends in Plant Sciences**, v. 13, p. 178–182, 2008.

TOMAZELLI, D.; COSTA, M. D.; PRIMIERI, S.; RECH, T. D.; SANTOS, J. C. P.; KLAUBERG-FILHO, O. Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi improves growth and photosynthesis of *Ilex paraguariensis* (St. Hil) seedlings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. e22210333, 2022.

VINYARD, D. J.; ANANYEV, G. M.; CHARLES DISMUKES, G.; Photosystem II: the reaction center of oxygenic photosynthesis. **Annual Review in Biochemistry**, v. 82, p. 577-606, 2013.

VON ELBE J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos** 2.ed. Zaragoza : Wisconsin - Madison, 2000. Cap.10, p.782-799.

ZHU, X. G.; GOVINDJEE, G.; BAKER, N. R.; DESTURTLER, E.; ORT, D. O.; LONG, S. P. Chlorophyll a fluorescence induction kinetics in leaves predicted from a model describing each discrete step of excitation energy and electron transfer associated with Photosystem II. **Planta**, vol. 223(1), p. 114–133, 2005.