

**Ecofisiologia do estresse luminoso em espécies de *Cattleya* Lindl.  
(Orchidaceae)**

**Clodoaldo Leites Pinheiro**

**Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical (Ecologia Tropical)**

**Mestrado em Biodiversidade Tropical (Ecologia Tropical)**

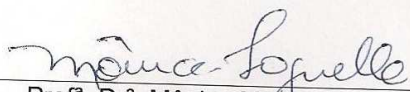
**Universidade Federal do Espírito Santo  
São Mateus, Fevereiro de 2012**

**Ecofisiologia do estresse luminoso em espécies de  
*Cattleya* Lindl. (Orchidaceae)**

**Clodoaldo Leites Pinheiro**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Aprovada: 28/02/2012.



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mônica Marja Pereira  
Tognella

Universidade Federal do Espírito Santo



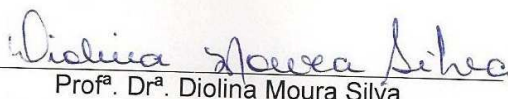
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Pierre Vitória

Universidade Estadual Norte Fluminense



Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto

Universidade Federal do Espírito Santo  
(Orientador)



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Diolina Moura Silva

Universidade Federal do Espírito Santo  
(Coorientadora)

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

P654e Pinheiro, Clodoaldo Leites, 1984-  
Ecofisiologia do estresse luminoso em espécies de *Cattleya*  
Lindl. (Orchidaceae) / Clodoaldo Leites Pinheiro. – 2012.  
98 f. : il.

Orientador: Antelmo Ralph Falqueto.  
Coorientadora: Diolina Moura Silva.  
Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) –  
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário  
Norte do Espírito Santo.

1. Orquídea. 2. Plantas - Efeito da luz. 3. Fluorescência. I.  
Falqueto, Antelmo Ralph, 1979-. II. Silva, Diolina Moura. III.  
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Universitário  
Norte do Espírito Santo. III. Título.

CDU: 502

---

## **Dedicatória**

À minha mãe por ter suportado a distância e pelas atitudes de carinho e de conforto que acompanham minha vida.

À minha irmã que cuidou do meu orquidário na minha ausência, durante estes quase dois anos que estive dedicado ao mestrado.

Aos professores que fizeram parte da minha formação acadêmica.

## Agradecimentos

Ao professor Dr. Antelmo Ralph Falqueto, pela orientação, paciência e amizade, por estar no Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal em Fortaleza-CE em 2009! Obrigado pela confiança e por acreditar no meu ponto de vista corajoso de fazer ciência.

*Teus ensinamentos foram muito valiosos.*

Ao coordenador do curso de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, professor Dr. Luis Fernando Tavares de Menezes pela brilhante atuação em conduzir uma proposta de Mestrado no contexto do corredor central da Mata Atlântica.

À professora Dr<sup>a</sup>. Diolina Moura Silva, pela co-orientação e pelo aporte de equipamentos para as avaliações ecofisiológicas.

Ao Sr. Roberson Maia, pela concessão de exemplares de Orchidaceae em condições de cultivo padronizado em sombra, o que foi providencial para o estudo da influência da luz enquanto promotor de estresse ou no incremento do desempenho fotoquímico.

*Admirável teu trabalho com as orquídeas, trouxe comigo alguns conceitos e apliquei no meu orquidário.*

Aos meus colegas de mestrado, meus amigos, minha família em São Mateus! Obrigado pela recepção e pela companhia. Não vou esquecer o primeiro açaí, as tartarugas marinhas, o mangue de Conceição da Barra, os *Cyrtopodium* e dos *Epistephium* nos nativos e... o Jambo de flores exuberantes, o pão que nasce em árvores, dos martelos no lugar de talheres, enfim...

*Teve dias que pensei estar em outro mundo, tudo diferente, tão singular e instigante!*

Ao colega de pesquisa Jadson Zampirolo pela contribuição na coleta e processamento de dados.

Aos amigos João Martins e Gisele Magevsk, pela companhia diária, pelos surtos rotineiros... coisas de mestrando, pelo “*flat*” mais limpo e verde de São Mateus.

Aos meus amigos de Bagé-RS, que sempre estiveram do meu lado: Cátia Cilene Avero, Luiz Aberto Gonçalves e Dona Delanei Ornelas.

Ao Vagner Moraes pelo companheirismo, apoio e exemplo de vida.

À Universidade Federal do Espírito Santo – Centro Universitário Norte do Espírito Santo e ao Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

*“Agora vou falar da dolência das flores para sentir mais a ordem do que existe”.*

Clarice Lispector

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	10
1.1 Família Orchidaceae A. Juss .....	10
1.2 Ecologia de Orchidaceae A. Juss.....	12
1.3 Ecofisiologia de Orchidaceae A. Juss .....	17
<b>2. Metodologia</b> .....	26
2.1. Material vegetal e condições de amostragem .....	26
3.2. Fluorescência da clorofila <i>a</i> e Teste JIP .....	26
2.3. Avaliação de danos dos processos ecofisiológicos do desempenho fotoquímico de orquídeas em resposta ao ambiente de luz.....	31
2.3. Avaliação de danos dos processos ecofisiológicos do desempenho fotoquímico de orquídeas em resposta ao ambiente de luz.....	31
2.3.1. Exposição à alta intensidade luminosa por período prolongado (Experimento 1).....	31
2.3.2. Exposição de plantas de orquídeas às manchas de sol (Experimento 2).....	34
2.4. Análise estatística .....	36
<b>3. Resultados e discussão</b> .....	38
3.1 Exposição à alta intensidade luminosa por período prolongado .....	38
3.2 Exposição de plantas de orquídeas às manchas de sol .....	62
<b>4. Considerações finais</b> .....	85
<b>5. Referências bibliográficas</b> .....	88

## **Lista de tabelas**

Tabela 1. Derivações do Test - JIP obtidas de análises da fluorescência da clorofila a (O-J-I-P) de acordo com Strasser et al. (2004), Yusuf et al. (2010) e Redillas et al. (2011) ..... 30

Tabela 2. Mudanças nos parâmetros componentes do índice de desempenho fotoquímico no Fotossistema II ..... 59



## Lista de Figuras

Figura 1: Modelo de alta complexidade do aparato fotossintético correlacionando o fluxo de energia ao longo da transdução de energia e a Teoria de Fluxo de Energia em Biomembranas.....	29
Figura 2: Transientes O-J-I-P em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	38
Figura 3: Banda J ou $V_t$ e $\Delta V_t$ em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	41
Banda K, Banda L, Banda I, curvas WOI, fase IP e $\Delta IP$ em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	45
Figura 5: Parâmetros da transdução de energia por centro de reação em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	52
Figura 6: Fotoinibição dinâmica e crônica fundamentada na emissão de fluorescência basal em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	54
Figura 7: Radar comparamos parâmetros rendimento quântico fotoquímico e parâmetros de eficiência de conservação de energia durante as reações redox.. .....	56
Figura 8: Curva O-L-K-J-I-P em <i>C. warneri</i> após 5 min (A – $T_1$ ), 35 min (B – $T_2$ ) e 120 min (C – $T_3$ ) de exposição às manchas solares.....	63
Figura 9: Curva O-L-K-J-I-P em <i>Cattleya harrisoniana</i> após 5 min (A – $T_1$ ), 35 min (B – $T_2$ ) e 120 min (C – $T_3$ ) de exposição às manchas solares.....	64
Figura 10: Curva O-L-K-J-I-P em <i>C. schofieldiana</i> após 5 min (A – $T_1$ ), 35 min (B – $T_2$ ) e 120 min (C – $T_3$ ) de exposição às manchas solares.....	65
Figura 11: Transdução de energia por centro de reação em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	69
Figura 12: Radar comparamos parâmetros de transdução de energia fotoquímica por cessão transversal, eficiências de conservação de energia, rendimento quântico fotoquímico para redução do FSI, turnover de $Q_A$ e total de elétrons carregados ao longo da cadeia transportadora de elétrons.....	73
Figura 13: Parâmetros de rendimento quântico fotoquímico máximo e índice de desempenho fotoquímico em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	77
Figura 14. Fotoinibição em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	79
Figura 15: Correlações entre desempenho fotoquímico e fluxo de energia em espécies de <i>Cattleya Lindl.</i> .....	82

## Resumo

*Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) são ervas epífitas atuantes na regulação do equilíbrio dinâmico da biodiversidade neotropical e na manutenção de baixa entropia nos remanescentes florestais. O habitat fragmentado expõe estas espécies a condições de excesso luminoso ou a pulsos de luz momentâneos. As plantas adaptam-se à heterogeneidade do regime da luz, regulando a sua estrutura e estado fisiológico na tentativa de alcançar o seu estado funcional máximo. Portanto, a composição do aparato fotossintético é altamente sensível a alterações na quantidade e na qualidade espectral da energia luminosa. Assim, a emissão de fluorescência da clorofila *a* pode ser utilizada como um mecanismo eficiente para medições da eficiência fotossintética especialmente em ambientes que propiciam condições de estresse fisiológico ao vegetal. Neste sentido, aspectos ecológicos e biofísicos de *Cattleya* as tornam relevantes no que tange a estudos ecofisiológicos. Este estudo buscou responder: Por que padrões biogeográficos de espécies de *Cattleya* parecem refletir os eficientes mecanismos de resistência à fotoinibição fotoquímica frente à heterogeneidade do ambiente de luz de um habitat? Para isto foram testadas as hipóteses: (1) espécies com características mais derivadas têm maior resistência ao estresse de luz, e (2) mudanças estruturais e funcionais das unidades fotossintéticas podem re-significar estratégias de manejo e conservação de espécies de *Cattleya* Lindl. Plantas de *Cattleya amethystoglossa* Linden & Rchb.f., *C. guttata* Lindl., *C. granulosa* Lindl. e *C. walkeriana* Gardner. foram expostas a pleno sol e medidas da fluorescência transiente da clorofila *a* (Handy-PEA, Hansatech) foram feitas em folhas previamente adaptadas ao escuro (30'), às 5h (controle), 8h, 10h, 12h, 14h, 16h, 18h, 20h e 5h\* do dia seguinte (recuperação). A intensidade de luz registrada foi de 0, 1386, 1892, 2350, 1899, 1301, 347, 0 e 0  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , respectivamente (QSPAR, Hansatech). Plantas de *C. warneri* T. Moore, *C. schofieldiana* Rchb.f., e *C. harrisoniana* Batem. ex Lindl. foram expostas a pleno sol durante 5, 35 e 120' as 12h (2259  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Depois de transferidas para local sombreado medidas foram feitas às 13h, 15h, 17h, 19h e 9h (recuperação) do dia seguinte (701, 270, 30, 0 e 154  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , respectivamente). A análise dos transientes O-L-K-J-I-P e dos par\u00e2metros do teste JIP indicaram que evid\u00eancias sobre a fotoinibi\u00e7\u00e3o fotoqu\u00edmica separaram plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* (fotoinibi\u00e7\u00e3o din\u00e2mica) de plantas de *C. guttata* e *C. walkeriana* (fotoinibi\u00e7\u00e3o cr\u00f4nica). Foi comprovada a import\u00e2ncia da plasticidade fisiol\u00f3gica em resposta ao est\u00edmulo de luz da mancha solar em plantas de *C. schofieldiana*. Plantas primitivas apresentaram menor resist\u00eancia e plasticidade fisiol\u00f3gica ao estresse de luz, as quais possuem distribui\u00e7\u00e3o mais representativa no corredor central da Mata Atl\u00e2ntica, corredor da Serra do Mar e vegeta\u00e7\u00e3o rip\u00e1ria do bioma Cerrado. Entretanto, plantas com caracter\u00edsticas mais derivadas foram associadas ao corredor do nordeste da Mata Atl\u00e2ntica. *C. amethystoglossa* parece expressar processos de especia\u00e7\u00e3o e vicari\u00e2ncia. As express\u00f5es biof\u00edsicas do teste JIP sugerem a presen\u00e7a de centros de rea\u00e7\u00e3o silenciosos atuando como eficientes dissipadores de energia n\u00e3o fotoqu\u00edmica. Neste contexto, dist\u00fcrbios da modula\u00e7\u00e3o do aparato fotossint\u00e9tico para diferentes fluxos de f\u00f3tons foram acompanhados por ajustes funcionais e estruturais das unidades fotossint\u00e9ticas. Desta forma o uso de an\u00e1lises da fluoresc\u00eancia da clorofila *a* pode ser uma ferramenta eficiente nas avalia\u00e7\u00f5es de respostas ecofisiol\u00f3gicas das esp\u00e9cies de Orchidaceae sob influ\u00eancia de excesso luz e manchas de sol, resignificando estrat\u00e9gias de manejo e conserva\u00e7\u00e3o.

Palavras-chave: Orquídea, plantas – efeito da luz, fluoresc\u00eancia.

## Abstract

*Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) are epiphytic active on the dynamic neotropical biodiversity regulation and on keeping the remnant forest low entropy. The fragmented habitat exposures this species to conditions of over light or transient light pulse. The plants auto adjust to the light heterogeneous system adjusting their structures and physiological state in an attempt to reach their ultimate functional state. Therefore, the photosynthetic apparatus composition is highly sensitive on the quality and amount of luminous spectrum energy. Thereby, the chlorophyll *a* fluorescence emission can be used as an efficient mechanism to measure the photosynthetic efficiency, especially on physiologically stressful environments. On this same line, *Cattleya* ecological and biophysical aspects become relevant in terms of ecophysiological studies. The present survey aimed to respond: Why biogeographic patterns of *Cattleya* species seem to reflect the efficient mechanisms of resistance to photochemical photoinhibition face to an habitat light environment heterogeneity? Hence, the following hypothesis were tested: (1) species with more features derived have a higher resistance to light stress, and (2) structural and functional changes of photosynthetic units can retreating management and conservation strategies of *Cattleya* Lindl. species. *Cattleya amethystoglossa* Linden & Rchb.f., *C. guttata* Lindl., *C. granulosa* Lindl. and *C. walkeriana* Gardner plants had a full sun exposure and chlorophyll *a* fluorescence transient (Handy-PEA, Hansatech) was made on previously dark adapted leaves (30'), at 5 am (controle), 8am, 10am, 12pm, 2pm, 4pm, 6pm, 8pm and e 5am\* of the next day (recovery). The registered light intensity was of 0, 1386, 1892, 2350, 1899, 1301, 347, 0 and 0  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , respectively (QSPAR, Hansatech). *C. warneri* T. Moore, *C. schofieldiana* Rchb.f., and *C. harrisoniana* Batem. ex Lindl. were exposure to full sun for 5, 35 and 120' at 12am ( $2259 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). After being transferred to a shaded place, measures were made at 1am, 3pm, 5pm, 7pm and 9am (recovering) of the next day (701, 270, 30, 0 and  $154 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , respectively). The transient O-L-K-J-I-P analysis and of the JIP test parameters indicated that evidences about photochemical photoinhibition split plants of *C. amethystoglossa* and *C. granulosa* (dynamic photoinhibition) from plants of *C. gutatta* and *C. walkeriana* (chronic photoinhibition). The physiological plasticity importance was proved in respond to sun flecks on *C. schofieldiana* plants. Primitive plants have less resistance and physiological plasticity to light stress, which have more distribution representative in the Atlantic forest central biodiversity corridor, the corridor of the Serra do Mar and riparian vegetation of the Cerrado biome. However, plants with more features derived were related with the Northeast Corridor of the Atlantic forest. *C. amethystoglossa* seems to express processes of speciation and vicariance. The JIP test biophysical expressions suggest active reaction silent centers as efficient photochemical energy dissipation. In this context, disturbs on photosynthetic apparatus modulation of different photosynthetic photon flows were followed by functional and structural adjusts of the photosynthetic units. Accordingly, the use of chlorophyll *a* fluorescence analysis is able to become efficient when it comes to evaluate ecophysiological responses of Orchidaceae species under high light and sun flecks influence, retreating management and conservation strategies.

Key-words: Orchid, plants - light stress, fluorescence.

## 1. Introdução

### 1.1 Família Orchidaceae A. Juss

Orchidaceae A. Juss é de distribuição cosmopolita, constituindo uma das maiores famílias de Angiospermas, com cerca de 700 gêneros e 35.000 espécies. No Brasil, foram documentadas aproximadamente 2.350 espécies distribuídas em 203 gêneros. A diversidade e a riqueza de espécies da família Orchidaceae está fortemente influenciada pela geografia (relevo) e pelas condições climáticas, sendo claro que no Brasil, há uma redução no número de espécies em regiões situadas ao Sul do paralelo 30° (WAECHTER, 1996).

A família Orchidaceae caracteriza-se por possuir flores hermafroditas, raramente unissexuais. Frequentemente zigomórficas, raramente assimétricas, constituídas por perianto de dois verticilos trímeros, cálice formado por três tépalas sepalóides e corola formada por três tépalas petalóides, sendo a tépala sepalóide mediana, o labelo, morfologicamente modificado, apresentando frequentemente glândulas e ornamentações relacionadas à polinização como nectários e osmóforos (SINGER, 2006).

O androceu é constituído de um, raro dois ou três, estames férteis e, em função disso, as orquídeas são classificadas em cinco subfamílias (Apostasioideae, Cyripedioideae, Vanilloideae, Orquidoideae, Epidendroideae). O filete é fundido ao estilete, formando o ginostêmio; o estigma fica, geralmente, na face ventral do ginostêmio, e é composto por três lobos, e destes um é parcialmente estéril, formando o rostelo, uma estrutura mais ou menos membranácea que separa a antera do estigma. A antera, geralmente, é representada por um “capuz” que, ocasionalmente, é olecídua no processo de retirada do pólen; o pólen na maioria das espécies é unido em polínias, em número de 2, 4, 6 ou 8, embora possa ocorrer na forma de aglutinados, solto ou sob textura quebradiça. As políneas podem estar unidas a outras estruturas que co-atuam no processo de polinização formando uma estrutura denominada polinário (SINGER, 2006).

O ovário é ínfero, sincárpico, em regra unilocular, com placentação parietal. O pedicelo sofre ressupinação durante a ontogênese floral para posicionar o labelo para baixo na abertura da flor. Os frutos são capsulares e secos, raramente carnosos; as sementes são numerosas, minúsculas, com embrião rudimentar, desprovidas de endosperma, sendo necessário estabelecimento de simbiose na efetivação de sementes *in situ*. (SINGER, 2006).

De modo geral, as orquídeas apresentam um sistema radicular especializado, com raízes uniformemente grossas contrariamente às raízes com diâmetros muito variáveis das plantas terrestres, desde capilar até o de raízes pivotantes (ARDITTI, 1992).

As folhas apresentam mesófilo homogêneo, feixes vasculares intercalados de tamanhos variados dependendo da espécie considerada. A qualidade luminosa confere diferente comportamento da cutícula, sendo mais espessa quando as folhas são expostas à maior luminosidade. Os estômatos ocorrem, geralmente, no mesmo nível da epiderme ou ligeiramente elevados, podem estar protegidos por fibras pericíclicas. A hipoderme confere osmorregulação e, células esclerificadas no mesófilo resistência mecânica às folhas destas plantas em ambientes aéreos, onde o estresse hídrico é frequente (OLIVEIRA e SAJO, 1999).

A família Orchidaceae apresenta indivíduos com grande diversidade de órgãos vegetativos (DRESSLER, 1993) encontrando-se grande variedade de formas de crescimento (PABST e DUNGS, 1975-1977), apesar disso são essencialmente monopodiais ou simpodiais. O crescimento monopodial é aquele com eixo caulinar central com inflorescências em cada nó caulinar. A ramificação simpodial caracteriza-se pela presença de vários eixos caulinares em forma de pseudobulbos, que atuam como órgãos de reserva de água e nutrientes principalmente em espécies epífitas e estes estão agregados ao caule rastejante, o rizoma (WITHNER et al., 1974; BETCHEL et al., 1981).

As flores das orquídeas são relativamente uniformes quanto ao número e arranjo de suas partes. Sua diversidade está no tamanho e nos detalhes das estruturas (DRESSLER, 1993). Partindo das características comuns a toda família, como a presença do ginostêmio e o labelo, as flores apresentam-se nas mais variadas formas. A especialização das flores é evidenciada por diferentes mecanismos morfofisiológicos que selecionam polinizadores e facilitam a polinização cruzada (SINGER e SAZIMA, 2001; SINGER e KOEHLER, 2003; SINGER, 2006).

Do ponto de vista vegetativo, as orquídeas podem ser terrícolas, epífitas, hemiepífitas ou rupícolas, raramente saprófitas e, então, aclorofiladas. Espécies saprófitas têm maior representação em regiões temperadas (DUNSTERVILLE e GARAY, 1976). Estas diferentes formas de vida possibilitam a ocupação de diferentes tipos de ambientes. Caules secundários intumescidos, formando pseudobulbos, folhas carnosas e raízes dotadas de velame cobrindo grande superfície são algumas estratégias adaptativas das orquídeas para ambientes restritivos (DRESSLER, 1993).

## 1.2 Ecologia de Orchidaceae A. Juss

Orchidaceae possui origem filogenética recente, de grande diversidade na região Neotropical. Porém, o estado da arte apresenta lacunas sobre seus aspectos de processos biológicos e funcionais, o que as tornam relevantes no que tange a estudos ecológicos (CARDIM et al., 2001). Segundo Gentry e Dodson (1987), parte da diversidade florística em florestas tropicais úmidas advém de espécies epífitas que perfazem 10% de todas as plantas vasculares que influenciam positivamente nos processos ecológicos e na manutenção do fluxo de energia e de matéria em ecossistemas.

A importância ecológica do epifitismo nas comunidades florestais consiste na manutenção da diversidade biológica e no equilíbrio dinâmico interativo nos distintos ecossistemas, uma vez que espécies epifíticas proporcionam recursos alimentares (frutos, néctar, pólen, água) e microambientes especializados para a fauna do dossel que abriga alta diversidade de organismos e de interações tróficas (WAECHTER, 1996).

Plantas epífitas, como as orquídeas, possuem a capacidade de elaborar quantidades consideráveis de biomassa suspensa em ambientes notoriamente restritivos considerando a fisiologia do estresse, associada à retenção de água e detritos, conferindo aos epífitos vasculares um importante papel no fluxo de energia e de matéria da floresta tropical úmida (NADKARNI, 1986). Os elementos minerais são adicionados às epífitas à medida que elas crescem e são removidos quando elas morrem e se decompõem. Através da captura, armazenamento e liberação de minerais, as epífitas contribuem com a ciclagem de nutrientes de um determinado ecossistema (COXSON e NADKARNI, 1995).

As epífitas também funcionam como bioindicadores do estágio sucessional da floresta, tendo em vista que comunidades em fases secundárias apresentam menor diversidade epifítica do que comunidades em equilíbrio dinâmico (RAMALHO e PIMENTA, 2010). Em função das características fisiológicas as epífitas podem ser utilizadas em estudos de processos ecológicos que indiquem padrões de interferência antrópica ou distúrbios de ordem natural no ambiente (VAN DEN BERG, 1996).

A despeito do relevante papel ecológico das orquídeas na regulação da biodiversidade e do equilíbrio interativo de espécies nos distintos ecossistemas (WAECHTER, 1992), o número de indivíduos de cada população nos remanescentes da Mata Atlântica tem declinado nos últimos anos, especialmente em função da devastação das áreas preservadas e sua conversão em áreas de cultivo agrícola e da coleta

desenfreada das plantas para fins ornamentais e comerciais (WARREM, 1996; FARIA e RIBEIRO, 2000).

Em virtude de sua riqueza biológica e níveis de ameaça, a Mata Atlântica e o Cerrado foram elencados como *hotspot*, ou seja, áreas de prioridade de conservação de biodiversidade (MYERS et al., 2000). Atualmente a área da Mata Atlântica está reduzida a 8% de sua extensão original que se estendia do estado do Ceará até o Rio Grande do Sul, cobrindo 1.350.000 Km<sup>2</sup> do território nacional (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA E INPE, 2002). Estas regiões são de grande importância econômica e também apresenta reflexos da ocupação desordenada antrópica e do uso de recursos naturais, o que produziu fragmentos pulverizados pelo território nacional. A conservação da biodiversidade remanescente nestes fragmentos depende do manejo dos ecossistemas. Porém são necessárias bases sólidas a respeito dos processos que regem o funcionamento das interações, em especial dos fluxos de energia e de matéria, responsáveis pela manutenção da baixa entropia nestes ambientes fragmentados.

De acordo com Odum e Barret (2007), para conceituar a entropia em sistemas ecológicos é necessário buscar bases na física, especificamente na segunda lei da termodinâmica, que define que todos os processos que envolvem degradação de energia produzirão outra forma de energia mais dispersa. Entropia traz consigo o conceito que nenhum processo é 100% eficiente, havendo sempre alguma perda de energia, e desta forma pode ser utilizado como medida de desordem em um ecossistema. Ecossistemas e suas bases constituintes (indivíduos), conseguem criar e manter um ambiente de baixa entropia, ou seja, mantêm um estado de ordem interna fisiológica dissipando de forma eficiente a energia de alta utilidade excedente, como por exemplo, os processos ecofisiológicos que ocorrem durante o fluxo de energia fotoquímica em vegetais. Um ecossistema, formado por inúmeros organismos, promove o controle da baixa entropia em função de processos dinâmicos do controle da desordem (entropia). O resgate de princípios básicos fundamentados nos processos do fluxo de energia são em parte, fundamentais e determinantes para o sucesso de projetos que visem à manutenção do estado de baixa entropia em um determinado ecossistema. A presença do componente epifítico, fundamentalmente nucleador, contribui em complexidade de interações ao estabelecer ligações entre os níveis tróficos promovendo o aumento do ritmo sucessional pela conectância entre produtores, consumidores e decompositores em um ambiente de maior biodiversidade.

Estratégias desenvolvidas na Mata Atlântica a partir da definição de corredores ecológicos que encerram características de endemismos, de espécies raras e ameaçadas

de extinção e das peculiaridades do bioma, unem esforços que poderão proteger cerca de 75% das espécies vegetais neste *hotspot* de caráter de insubstituibilidade. O corredor central da Mata Atlântica inclui quase a totalidade do território do estado do Espírito Santo (CI-Brasil et al., 2000), centro de biodiversidade do gênero *Cattleya* (Orchidaceae: Epidendroideae) (BARROS et al., 2012).

Epidendroideae é a maior das subfamílias de Orchidaceae com cerca de 18.000 espécies distribuídas em aproximadamente 650 gêneros (PRIDGEON et al., 2005). O grande número de espécies torna esta subfamília a mais diversificada. Nela ocorre grande número de espécies epífitas, e pode ser caracterizada por possuir antera terminal, incumbente, 2-8 polínias rígidas, com consistência ceróide ou cartilaginosa e, segundo Pabst e Dungs (1977), geralmente dotadas de apêndices como caudícula, estipe e víscido.

*Cattleya* Lindl. é um gênero de Orchidaceae: Epidendroideae exclusivamente neotropical mais amplamente cultivado, com cerca de 50 espécies (BARROS et al., 2012). Este gênero é um dos mais importantes da família devido ao elevado valor ornamental, e ao fato de que todas as espécies têm sido coletadas intensamente na natureza para cultivo. A elevada frequência com a qual vem ocorrendo essa procura tem levado a uma redução e desaparecimento de várias populações e, conseqüentemente, várias destas espécies apresentam-se ameaçadas de extinção. Porém, as espécies deste gênero são muito pobremente representadas em coleções de herbário. O Brasil é o país com maior número de espécies (26) deste gênero, das quais 21 são endêmicas (PABST e DUNGS, 1975-1977; VAN DEN BERG, 1996; BARROS et al., 2012). Da biodiversidade de espécies dos biomas Mata Atlântica e Cerrado, destacam-se a *Cattleya amethystoglossa* Linden e Rchb.f., *C. guttata* Lindl., *C. granulosa* Lindl., *C. warneri* T. Moore e *C. walkeriana* Gardner, também inseridas na lista de espécies ameaçadas de extinção (MMA, 2008).

Como todos os seres vivos, plantas de orquídeas são sistemas complexos, capazes de manter sua organização pela absorção, captura e da transdução de energia disponível no ambiente, por tanto, atuantes na manutenção de baixa entropia nos remanescentes florestais. (NICOLIS e PRIGOGINE, 1977; SCHNEIDER e KAY, 1996; SOUZA e BUCKERIDGE, 2004; STRASSER et al., 2007). São sistemas abertos ao fluxo de energia, sujeitos à variabilidade ambiental como, por exemplo, perturbações no ambiente de luz. Por isso, todo sistema biológico precisa ser capaz de manter seus processos funcionando coordenadamente de forma a conferir-lhes estabilidade, possibilitando a manutenção da integridade do sistema (SCHULTZ, 1996; SOUZA e



OLIVEIRA, 2004) e de suas unidades associadas à transdução de energia (STRASSER et al., 2004; YUSUF et al., 2010; STIRBET e GOVINDJEE, 2011) frente a perturbações de ordem natural ou antrópica (PICKETT et al., 1987). Estabilidade, neste sentido, está sendo referida como a capacidade de manter as variações internas abaixo do limite de tolerância ou, dentro de uma faixa dinâmica de resistência a fatores ambientais que venham a readequar as atividades fotobiológicas e fotocibernéticas da espécie vegetal para um patamar de rendimento positivo (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Florestas tropicais são ecossistemas formados por processos dinâmicos de sucessão ecológica, caracterizados por uma sequência temporal e direcionada de substituição de populações de espécies num dado local (SCHULZE et al., 2002; BEGON et al., 2006). Uma floresta tropical propriamente dita ocorre após a colonização de áreas não vegetadas, sucessão primária. As espécies que se estabelecem, podem ser substituídas após distúrbios de ordem natural ou antrópica, sucessão secundária. Neste modelo de facilitação, é comumente presente a tipologia funcional epifítica, Orchidaceae, no componente arbóreo em processo de sucessão. A fase final da sucessão secundária de florestas tropicais é considerada como um equilíbrio dinâmico, decorrente de diferentes ambientes gerados no ecossistema florestal, principalmente pela abertura de clareiras no dossel (PICKETT et al., 1987; LUKEN, 1990; SCHULZE et al., 2002), pela superação de dormência de diversas sementes e, também, pelo estímulo de crescimento e desenvolvimento em plantas pioneiras no instante de abertura do dossel. Deste modo, existem basicamente dois tipos de ambientes contrastantes numa floresta tropical: as clareiras e o sub-bosque, onde as espécies possuem capacidade diferencial de sobreviver e de se desenvolver (PICKETT et al., 1987; LUKEN, 1990) atribuídos a capacidade plástica das respostas fisiológicas das espécies vegetais frente a fatores ambientais.

Com base na função expressa pelo vegetal no ecossistema, as espécies de diferentes fases da sucessão são classificadas em grupos funcionais. Espécies consideradas como pioneiras da sucessão secundária (sucessionais iniciais) habitam tipicamente o ambiente de clareira, possuindo crescimento rápido e alta demanda de luz, enquanto espécies não pioneiras (sucessionais tardias) habitam tipicamente o sub-bosque e possuem crescimento lento e tolerância ao sombreamento (BAZZAZ e PICKETT, 1980).

O padrão de variabilidade ambiental presente em uma clareira e em um sub-bosque é muito distinto. Assim, espera-se que um ambiente de clareira demande maior flexibilidade fisiológica das pioneiras em relação às não pioneiras em função da maior

heterogeneidade de variações ambientais em uma perspectiva de recursos múltiplos (BAZZAZ e PICKETT, 1980). Por outro lado, o sub-bosque não é homogêneo. As plantas neste ambiente precisam lidar com variações luminosas irregulares e de curta duração, exigindo altos níveis de flexibilidade fotossintética. Este é o modelo de recurso único, que prevê altos níveis de flexibilidade fotossintética nas espécies de sucessão secundárias, por estarem sujeitas a manchas de sol (PEARCY, 1987).

Manchas de sol contribuem com até 90% do total disponível de fótons fotossintetizantes no sub-bosque, constituindo a principal fonte de energia para plantas neste ambiente (CHAZDON, 1988). Uma mancha de sol é caracterizada por um pulso de luz transiente que incide no sub-bosque devido a pequenas aberturas no dossel (CHAZDON e PEARCY, 1991; PEARCY et al., 1994), ocorrendo de acordo com características do dossel (como altura, flexibilidade e distribuição da área foliar) e de condições atmosféricas (como vento e nuvens) (PEARCY et al., 1994). Há extrema variação na intensidade ( $50\text{-}2000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), na duração (segundos a minutos) e na frequência (ocorrendo em blocos ou esporadicamente) de mancha de sol, sendo um recurso de disponibilidade imprevisível e que condicionam respostas únicas de interesse ecofisiológico (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Processos que envolvem as respostas ecofisiológicas de diferentes espécies a padrões de variabilidade luminosa distintos são defasados em informação da trajetória das respostas do vegetal frente ao ambiente (PEARCY, 1987; KÜPPERS et al., 1996). As primeiras manchas de sol que incidem em uma área foliar adaptada ao escuro, ou períodos prolongados de baixa luz, em geral não são utilizadas devido à limitação fisiológica pelo baixo estado de indução fotossintética. Esta limitação é removida gradualmente nos pulsos de luz subsequentes, de modo que as manchas de sol posteriores são utilizadas com maior eficiência (CHAZDON e PEARCY, 1986; KÜPPERS et al., 1996).

Reações rápidas e coordenadas da maquinaria biofísica, de forma geral, são um dos pré-requisitos para a utilização fotossintética de manchas de sol (LÜTTGE, 1997). Muito provavelmente, o que possibilita a ocupação de ambientes distintos é a capacidade das espécies em lidar com diferentes tipos de variabilidade ambiental.

Em uma perspectiva histórica, espécies do gênero *Cattleya* teriam ocupado grande extensão territorial no Brasil durante as glaciações do quaternário. Paralelo às evidências da expansão florestal, houve grande dispersão, processos de vicariância e especiação. Com o retrocesso das geleiras, as florestas ficaram restritas a uma estreita faixa litorânea (Mata Atlântica), a fragmentos no interior do Brasil (Cerrado) e a uma

grande formação florestal (Floresta Amazônica) (VAN DEN BERG, 1996). Estudos filogenéticos (VAN DEN BERG et al., 2000), indicam que *Cattleya warneri* T. Moore pertence ao complexo *Cattleya labiata*. Outro clado comporta todas as outras espécies bifoliadas. Neste segundo clado *C. walkeriana* Gardner está entre as espécies mais primitivas do gênero *Cattleya*. O ancestral comum de *C. walkeriana* dá origem a uma série de derivações, as quais comportam *C. amethystoglossa* Linden e Rchb.f. e *C. gutatta* Lindl. em um mesmo clado; *C. harrisoniana* Batem. ex Lindl. dentro da aliança de *C. intermedia*; ecótipos de *C. granulosa* Lindl. compartilhando o mesmo ancestral comum da aliança de *C. intermedia*; e *C. schofieldiana* Rchb.f. entre as espécies mais derivadas do gênero *Cattleya*.

O habitat fragmentado pode expor espécies de sombra a condições diferentes do regime de luz, temperatura, incidência de vento e ao efeito de borda. Espécies do gênero Orchidaceae apresentam diversas adaptações que convergem para características xeromorfas associadas à evolução impulsionada pela competição por luz. Neste sentido, aspectos ecológicos e biofísicos de *Cattleya* as tornam relevantes no que tange a estudos ecofisiológicos do estresse de luz.

### **1.3 Ecofisiologia de Orchidaceae A. Juss**

O efeito do sombreamento nos processos fisiológicos de diversas espécies vegetais é complexo e envolve a radiação luminosa e, dentre outros fatores, a diminuição da temperatura e do movimento do ar, além de afetar a umidade relativa do ar e a umidade do solo (COSTA et al., 1998; ZHANG et al., 2003; DAMATTA, 2004). Respostas ao aumento da irradiância podem ocorrer em nível de folha e envolvem a rápida aclimação do aparato fotossintético (STRASSER et al., 2000). As plantas adaptam-se à intensidade da luz, regulando a sua estrutura e seu estado fisiológico, e posteriormente a morfologia foliar. Assim, pode ser gerada uma alteração das vias metabólicas primárias e secundárias e, conseqüentemente, originando as mais diferentes respostas no que diz respeito aos seus processos anabólicos e catabólicos, na tentativa de permitir através destas regulações o alcance de seu estado funcional máximo (NOBEL, 1991). A composição do aparato fotossintético é altamente sensível a alterações na quantidade e na qualidade espectral da energia luminosa (MURCHIE e HORTON, 1997).

Estudos comparativos detalhados apresentaram algumas diferenças clássicas na literatura de fisiologia vegetal entre folhas de sol e de sombra quanto à quantidade de diversos componentes, como a Rubisco, citocromos, centros de reação dos fotossistemas I (FSI) e fotossistemas II (FSII) e enzimas respiratórias, todas expressas por unidade de área foliar (BJÖRKMAN, 1981; ANDERSON, 1986; ANDERSON e OSMOND, 1987; TERASHIMA e HIKOSAKA, 1995; NOGUCHI et al., 1996). Em elevadas irradiâncias, o centro de reação do PSII pode aumentar com a expansão do complexo coletor de luz do PSII (HIKOSAKA e TERASHIMA, 1995; STRASSER et al., 2004; STIRBET e GOVINDJEE, 2011). O recrutamento de um número maior de pigmentos acessórios e de moléculas de clorofila pode atuar nos processos de ressonância magnética da antena (FORCE et al., 2003; TAIZ e ZEIGER, 2009) e, desta forma atenuando os efeitos de alta irradiância em folhas de sombra sob influência de manchas de sol ou em folhas de sol durante os períodos de exposição à alta luz.

A emissão de fluorescência da clorofila *a* pode ser utilizada como um mecanismo eficiente para medições da eficiência fotossintética (GENTY et al., 1989; KRAUSE e WEIS, 1991; TÓTH et al., 2007; ANTAL e RUBIN, 2008; HENRIQUES, 2009), especialmente em ambientes que propiciam condições de estresse fisiológico ao vegetal (STRASSER et al., 2004). Os métodos atuais para medições da emissão de fluorescência da clorofila *a* nos fornecem informações rápidas e não destrutivas de amostra a respeito da conversão, transferência e dissipação da energia luminosa em nível de PSII (STIRBET e GOVINDJEE, 2011). Gonçalves et al. (2010) observaram um rápido decréscimo na relação  $F_v/F_m$  em plantas tropicais sob elevadas irradiâncias. A razão  $F_v/F_m$  indica as condições do aparato fotossintético das folhas para o rendimento quântico fotoquímico das etapas primárias da fotoquímica da fotossíntese. Valores de  $F_v/F_m$  entre 0,75 e 0,85 demonstram eficiente conversão da energia luminosa em nível de PSII (TAIZ e ZEIGER, 2009).

A fotoinibição é uma condição fisiológica do vegetal que pode ser definida como a inibição da fotossíntese causada por excessos de luz. A imposição de fatores adicionais de estresse durante a exposição a altas irradiâncias aumenta o potencial de efeitos fotoinibidores. A exposição prolongada das plantas a excessos de luminosidade pode resultar na fotodestruição dos pigmentos fotossintéticos (MAXWELL e JOHNSON, 2000, DIAS e MARENCO, 2006). Esse fenômeno é chamado de foto-oxidação e pode causar a morte de células ou mesmo do organismo (ARAÚJO e DEMICINIS, 2009). Entretanto, o termo fotoinibição tem sido utilizado para definir uma lenta e reversível redução na eficiência fotossintética dependente da irradiância e

leva à diminuição parcial da capacidade de converter a energia radiante em matéria seca (LONG et al., 1994; KRAUSE et al., 1995; LAING et al., 1995). A fotoinibição é um efeito reversível quando em estágios iniciais de exposição ao gradiente de maior intensidade luminosa, no entanto a inibição prolongada pode resultar na completa oxidação do FSII, o qual pode ser reparado (DIAS e MARENCO, 2006; GONÇALVES et al., 2010). Sob moderado excesso de luz pode ser observado fotoinibição dinâmica, no qual o rendimento quântico decresce durante a exposição ao fator de estresse e retorna ao estado base quando as condições do ambiente de luz retornar a um estado de baixa intensidade luminosa. A fotoinibição crônica está associada à destruição da proteína D1, localizada no centro de reação do FSII, os efeitos deste decaimento de rendimento quântico pode persistir por semanas ou meses.

Sob baixa intensidade de radiação luminosa (menos de  $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), mais de 80% da energia quântica absorvida pode ser utilizada pela fotossíntese (BJÖRKMAN e DEMMIG-ADAMS, 1987); quando a intensidade de luz aproxima-se de  $1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (cerca de 50% da luz solar disponível), menos de 25% da energia quântica absorvida é utilizada; e, sob condições de pleno sol, essa taxa diminui para 10% (LONG et al., 1994). No geral, plantas adaptadas a condições de pleno sol são hábeis para aclimatação e crescimento em condições de sombra. A resposta mais rápida ao incremento de luz é o aumento da dissipação térmica do complexo antena e também do centro de reação do PSII (STRASSER et al., 2000; STRASSER et al., 2004).

As plantas apresentam uma grande capacidade para o uso da luz na fotossíntese com o auxílio do ciclo das xantofilas (CLOSE e BEADLE, 2003). Na prática, as conseqüências da fotoinibição são a redução na eficiência quântica máxima de absorção de  $\text{CO}_2$  e liberação de  $\text{O}_2$ ; redução da atividade do PSII; e, em longo prazo, redução na taxa fotossintética máxima (VAN HEERDEN et al., 2007; GONÇALVES et al., 2010).

As clorofilas e os carotenóides são pigmentos presentes nos vegetais, capazes de absorver a radiação visível, desencadeando as reações fotoquímicas da fotossíntese, processo essencial para a sobrevivência vegetal e por isso denominado metabolismo primário (TAIZ e ZEIGER, 2009). O tipo, quantidade e incorporação de carotenóides dentro do aparato fotossintético dependem da qualidade e quantidade de luz (CLOSE e BEADLE, 2003; LICHTENTHALER, 2007). Conforme o pigmento, diferente é a faixa espectral absorvida para desencadear o processo fotossintético. A clorofila a tem absorção máxima na faixa do azul e vermelho (400 a 700 nm), onde se localiza o espectro de ação para a fotossíntese. Os pigmentos acessórios, como os carotenóides, absorvem na faixa do azul e ultravioleta. A combinação das clorofilas (a e b) e dos

pigmentos acessórios capacita as plantas a captarem a maior parte de energia luminosa (LICHTENTHALER e BABANI, 2004; CHOU, 2003; TAIZ e ZEIGER, 2009), sendo esta absorção um dos fatores ligados à eficiência fotossintética das plantas, ao crescimento e à adaptabilidade a diversos ambientes (VALADARES e PEARCY, 2000; LIN e HSU, 2004; ALI et al., 2005; BO e QING, 2008).

O aumento do sombreamento pode provocar alterações, em nível de folha, como por exemplo, na relação dos complexos fotossintéticos, e conseqüente redução na razão de clorofila *a/b* (LICHTENTHALER e BABANI, 2004; LICHTENTHALER, 2007). A diminuição da razão clorofila *a/b* pode ser considerada como uma adaptação cromática para ajudar no balanço da absorção de luz entre os PSI e PSII. A menor razão entre clorofila *a/b*, em folhas submetidas à baixa irradiância, deve-se a maior quantidade de membranas tilacóides (LARCHER, 2004). Assim, a mudança na razão clorofila *a/b* pode ser uma indicação da variação do tamanho da unidade fotossintética. O aumento paralelo do teor de clorofila total e a diminuição na razão clorofila *a/b*, indicam um aumento do tamanho da unidade fotossintética, em conseqüência do maior desenvolvimento das antenas coletoras de luz dos PSII e PSI (STRASSER et al., 2000; STRASSER et al., 2004). A eficiência de absorção de luz pela folha depende do teor de clorofila por unidade de área, pois quanto maior o teor de clorofila maior será a proporção de luz incidente absorvida (STRASSER et al., 2004; STIRBET e GOVINDJEE, 2011).

Uma maior proporção relativa de clorofila *b* em plantas sombreadas é uma característica importante, pois possibilita a captação de energia de outros comprimentos de onda e transferência para uma molécula específica de clorofila *a*, que efetivamente toma parte das reações fotoquímicas da fotossíntese (TAIZ e ZEIGER, 2009). A proporção de luz incidente que é refletida é maior quando a concentração de pigmentos na folha é baixa, porque a luz refletida de uma camada mais interna terá uma menor chance de ser recapturada no seu caminho de volta à superfície. Entretanto, quanto menor a concentração de clorofila na folha, maior será o aumento relativo da absorção de luz devido a um aumento nesta concentração inicial (LICHTENTHALER e BABANI, 2004).

Segundo Araújo e Demicinis (2009), a molécula de clorofila é constantemente sintetizada e destruída (foto-oxidação) em presença de luz, mas sob intensidades luminosas muito altas a velocidade de decomposição é maior, sendo o equilíbrio estabelecido a uma concentração mais baixa. Lichtenthaler e Babani (2004), salientam que as folhas de sombra apresentam maior concentração de clorofila (mg/g) do que

folhas de sol. Porém, se o conteúdo for expresso por unidade de área foliar a concentração é menor nas folhas de sombra (ENGEL e POGGIANI, 1991). Além disso, folhas de sombra investem maior energia na produção de pigmentos fotossintetizantes, permitindo uma otimização na absorção da intensidade de luz incidente (LICHTENTHALER, 2007).

A luz constitui um recurso natural indispensável às plantas (MURCHIE et al., 2005). A importância da energia solar para as plantas não se restringe apenas a sua fixação pela fotossíntese. Ela determina, também, o balanço energético nos ecossistemas. Para uma planta o balanço energético condiciona a sua temperatura e afeta processos fisiológicos como a transpiração, fotossíntese e respiração. Desta forma, a radiação solar pode atuar como: (1) desencadeador de fluxos de tecido, (2) de energia direcionada entre rendimentos quânticos fotoquímicos e emissão de fluorescência de clorofila *a*, (3) da emissão de energia livre sob forma de calor, (4) da regulação fitocrômica pela expressão de desenvolvimento e de tropismos (NOBEL, 1991; STRASSER et al., 2004).

Diversos autores constataram modificações nas características morfo-anatômicas foliares de plantas submetidas a diferentes condições de luminosidade (BOEGER et al., 1998; MENDES et al., 2001; CAMPOS e UCHIDA, 2002; MORAIS et al., 2004; GIVNISH et al., 2004; MONTANARI et al., 2004). Folhas de sol apresentam lâmina foliar e parênquima paliçádico mais espessos (MOREIRA et al., 2009), mais idioblastos (células de estoque de água) e um grande acúmulo de mesofilo por unidade de área foliar, quando comparadas às folhas de sombra (TAIZ e ZEIGER, 2009). O incremento na área do mesofilo por unidade de área foliar em folhas de sol facilita a dissolução do CO<sub>2</sub> dentro da parede celular e diminui a resistência da difusão do CO<sub>2</sub> dos espaços intercelulares para o estroma do cloroplasto (EVANS e LORETO, 2000; TERASHIMA et al., 2001). Todos estes estudos têm revelado que folhas de sol são vantajosas em altas irradiâncias, enquanto que folhas de sombra atuam melhor em ambientes sombreados. Com isso, a diferenciação de folhas de sol e de sombra é de importância ecológica (YANO e TERASHIMA, 2004).

Plantas crescendo sob condições de sombreamentos diferentes estão expostas, também, a diferentes temperaturas e umidades relativas. A temperatura foliar e o déficit de pressão de vapor são, provavelmente, maiores em folhas de sol que em folhas de sombra. Em outras palavras, as folhas de sol são expostas a condições xeromórficas (YANO e TERASHIMA, 2004). A elevada capacidade fotossintética em folhas de sol é suportada pelo desenvolvimento de folhas espessas (TERASHIMA et al., 2001), com

um grande investimento de nitrogênio em enzimas fotossintéticas (BJÖRKMAN, 1981). Partindo do princípio que todas as enzimas fotossintéticas estão localizadas nos cloroplastos, as folhas de sol devem ter um grande número de cloroplastos em suas células do mesofilo, distribuídos próximos à superfície celular (EVANS, 1999). Neste sentido observamos movimentos de pigmentos na folha, pois se uma folha aumenta o número de cloroplastos sem o espessamento do mesofilo, alguns cloroplastos podem afastar-se da superfície celular e qualquer aumento em tais cloroplastos pouco contribui para o aumento da capacidade fotossintética, pois eles não receberão CO<sub>2</sub> suficiente para fixar.

Estudos têm relatado alterações na ultraestrutura dos cloroplastos quando folhas são transferidas de baixa para alta irradiância (PRIOUL et al., 1980; LICHTENTHALER et al., 1981; SEBAA et al., 1987) e, também movimentos dos tilacóides para uma condição desempilhada (OUKARROUM et al., 2007; YUSUF et al., 2010; ZHANG et al., 2010; REDILLAS et al., 2011) sob diferentes tipos de estresse. A capacidade fotossintética pode, também, ser determinado pela quantidade de Rubisco presente nos cloroplastos (LI et al., 2002; VAN HEERDEN et al., 2007; LIN et al., 2009; LI et al., 2010). Oguchi et al. (2003) reforçam o fato que o aumento da capacidade fotossintética em condições de alta irradiância ser devido ao aumento da atividade da Rubisco ou da concentração de Rubisco nos cloroplastos.

Conseqüentemente, existem estreitas correlações entre a capacidade fotossintética e a espessura foliar, entre a capacidade fotossintética e a superfície de área de células do mesofilo e entre a condutância interna de CO<sub>2</sub> e a área de superfície de cloroplastos (MOREIRA et al., 2009). Folhas de orquídeas apresentam plasticidade fenotípica reconhecida, com maior espessamento de cutícula em ambientes com maior intensidade luminosa (OLIVEIRA e SAJO, 1999) e, desta forma, atributos biofísicos do fluxo de energia e bioquímicos da assimilação de CO<sub>2</sub> podem ser ajustados de acordo com o estímulo externo do ambiente de luz. Orchidaceae apresenta diferentes estratégias de uso de energia fotoquímica em resposta ao ambiente, e neste contexto existe forte correlação com a anatomia foliar (MOREIRA et al., 2009).

O gênero *Cattleya* apresenta grande diversidade em seus aspectos anatômicos foliares, que, no entanto convergem para aspectos acentuadamente xeromorfos associados ao epifitismo (ZANENGA-GODOY e COSTA, 2001) e a busca por condições ideais de luz por plantas epífitas em um ambiente notoriamente restritivo. Assim, infere-se que o padrão de resistência a fotoinibição frente à heterogeneidade do ambiente de luz é de natureza singular a cada espécie e, em Orchidaceae pode estar



associado à anatomia foliar. Moreira et al. (2009), observaram diferentes padrões de rendimento quântico fotoquímico entre gêneros de Orchidaceae, o que pode estar associado com o local de ocorrência do material analisado. No contexto do gênero *Cattleya*, de ampla distribuição neotropical, associada a distintos ecossistemas (BARROS et al., 2012) sugere-se diferentes padrões de resistência à heterogeneidade do ambiente de luz.

Em seu ambiente natural, as plantas são expostas a intensidades de luz que flutuam consideravelmente ao longo do dia (ALI et al., 2005). Muitas das espécies de orquídeas tropicais são plantas de sombra (HE et al., 1998) e, por isso, ocorrem em habitat sob baixas intensidades de luz (80 a 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Neste sentido, maior eficiência fotossintética é observada em orquídeas que vegetam sob baixas luminosidades. Por outro lado, altas irradiâncias reduzem a eficiência fotossintética das plantas, ocasionando a fotoinibição (ARAÚJO e DEMICINIS, 2009). Nestas condições, o aparato fotossintético torna-se ineficiente na absorção e uso da energia de excitação, com acidificação do lúmen dos tilacóides, redução da atividade dos transportadores de elétrons fotossintéticos e acúmulo de energia de excitação, o que pode levar a danos oxidativos por meio do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ALI et al., 2005).

No interior de uma floresta, manchas de sol são de curta duração e expõem as folhas do sub-bosque ao sol pleno, favorecendo o crescimento e desenvolvimento das plantas abaixo do dossel (BRANTLEY e YOUNG, 2010). Porém, dependendo da geometria da clareira, a exposição das folhas à luz durante períodos maiores resulta em danos de natureza dinâmica ou crônica. Entretanto, o aparato fotossintético das plantas é notável por sua elevada capacidade de adaptação a diferentes regimes de luz (VALADARES e PEARCY, 2000). O grau em que as plantas adaptam-se ao regime de luz é determinado geneticamente e define sua plasticidade fisiológica frente a um fator ambiental (LIN e HSU, 2004). Assim, indivíduos de uma mesma comunidade podem apresentar diferenças nas respostas fotossintéticas à luz, o que pode estar determinando sua susceptibilidade à fotoinibição (ALI et al., 2005).

A relação existente entre reações luminosas da fotoquímica da fotossíntese e a emissão de fluorescência da clorofila *a* pode ser investigada pela indução de cinética de elétrons nas unidades fotossintéticas em nível de ultra-estrutura de cloroplasto. Strasser et al. (2004) propuseram a leitura do desempenho fotoquímico das plantas fundamentada em parâmetros biofísicos intrínsecos às unidades fotossintéticas, a partir de pulsos de excitação contínua e moduladas pelo uso de fluorômetros portáteis, os

quais induzem a emissão da fluorescência da clorofila *a*. A derivação destes parâmetros biofísicos está de acordo com a Teoria de Fluxo de Energia em Biomembranas, a qual é baseada na ligação entre o comportamento energético do aparato fotossintético e os sinais de fluorescência. Desta forma, é possível um estudo criterioso de todos os processos da distribuição de energia em quaisquer aparatos fotossintéticos. Considerando os fluxos específicos, fenomenológicos, rendimentos quânticos e as probabilidades de transferência de energia. É possível, ainda, estudar alterações na estrutura e funcionalidade das unidades fotossintéticas a partir de análises dos transientes O-L-K-J-I-P e do teste JIP (STRASSER et al., 2004; OUKARROUM et al., 2007; YUSUF et al., 2010; REDILLAS et al., 2011).

Esta técnica passou a ser extensivamente utilizada como ferramenta não invasiva eficiente na investigação das reações fotoquímicas da fotossíntese associadas a diversos cenários ecofisiológicos como o estresse abiótico, como estresse salino (MEHTA et al., 2010; LIU e SHI 2010), déficit hídrico (STRASSER et al., 2010; SHAO et al., 2010), estresse por contaminação por resíduos de óleo (NAIDOO et al., 2010; GAO e TAM 2011), deficiência nutricional (LIN et al., 2009; Li et al., 2010), exposição ao ozônio e alta luminosidade (BUSSOTTI et al., 2007; CASCIO et al., 2010), mitigação de estresse (STRASSER et al., 2004; STRASSER et al., 2007; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER 2008; JIANG et al., 2009; ZUBEK et al., 2009; YUSUF et al., 2010), estresse biótico da infecção por fitopatógenos (BAUER et al., 2000; CHRISTEN et al., 2007) e a cerca do impacto de insetos fitófagos (ZANGERL et al. 2002; TANG et al. 2006). O estudo da fluorescência da clorofila *a* permite o acesso em riqueza de detalhes aos processos ecofisiológicos de dissipação fotoquímica e não fotoquímica da energia de excitação que ocorre nas membranas dos tilacóides na presença da luz (KRAUSE e WEIS, 1991; LAZÁR 1999; ROSENQVIST e VAN KOOTEN 2003; OUKARROUM et al., 2007; REDILLAS et al., 2011; STIRBET e GOVINDJEE 2011), o que é de grande importância no que tange questionamentos ecológicos.

Neste contexto, estudos que avaliem os diferentes padrões de resistência em espécies de orquídeas à fotoinibição são de grande relevância para o entendimento dos processos ecofisiológicos do fluxo de energia destas plantas no ambiente de luz natural, fornecendo subsídios para projetos de conservação e manejo de Orchidaceae neotropical em vias de extinção e de reconhecida funcionalidade ecológica em remanescentes de florestas tropicais. Assim, este estudo buscou responder: Por que padrões biogeográficos de espécies de *Cattleya* parecem refletir os eficientes mecanismos de resistência à fotoinibição fotoquímica frente à heterogeneidade do ambiente de luz de

um habitat? Para isto foram testadas as hipóteses (1) que espécies com características mais derivadas têm maior resistência ao estresse de luz, e (2) que mudanças estruturais e funcionais das unidades fotossintéticas podem resignificar estratégias de manejo e conservação de espécies de *Cattleya* Lindl.

## 2. Metodologia

### 2.1. Material vegetal e condições de amostragem

Plantas adultas de orquídeas (*Cattleya amethystoglossa* Linden e Rchb.f., *Cattleya guttata* Lindl., *Cattleya granulosa* Lindl., *Cattleya walkeriana* Gardner, *Cattleya warneri* T. Moore, *Cattleya shofieldiana* Rchb.f., e *Cattleya harrisoniana* Batem. ex Lindl.) foram fornecidas por orquidários do município de São Mateus-ES. Nestes orquidários, as plantas foram cultivadas sob densidade de fluxo de fótons de 200 a 300  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , com temperatura média de 30/25 °C (dia/noite) e umidade relativa do ar em torno de 85%. Semanalmente as plantas foram fertilizadas via foliar com a aplicação de 1,6 g L<sup>-1</sup> de fertilizante à base de amônia, nitrato, uréia orgânica, ácido fosfórico e carbonato de potássio. O tratamento de cultivo sob baixo fluxo de fótons fotossintetizantes (sombra) conferiu características de plantas com folhas de sombra, modelando de forma próxima a uma condição de planta epífita vegetando em sub-bosque.

O horário de menor intensidade luminosa (o qual ocorreu no início dos experimentos) foi considerado como controle, por ser representativo da completa oxidação das unidades fotossintéticas nas espécies de Orchidaceae estudadas. Os períodos de baixa intensidade luminosidade ao fim do dia foram considerados como recuperação, pois representam o retorno das condições de luz em um nível semelhante àquele observado no início do experimento, encerrando o ciclo diário de exposição ao fluxo de fótons.

Exsicatas foram depositadas no Herbário Setorial VIES lotado no Centro Universitário Norte do Espírito Santo. Materiais testemunhos foram consultados no Herbário CVRD - Reserva Natural Vale, Herbário Central da Universidade Federal do Espírito Santo – VIES e, em bibliografia especializada (LINDLEY, 1830-1840; COGNIAUX, 1893-1896, 1898-1902, 1904-1906; HOEHNE, 1940, 1942, 1945, 1949, 1953; PABST e DUNGS 1975; CHASE et al., 2003) para confirmação de taxa.

### 3.2. Fluorescência da clorofila *a* e Teste JIP

A fluorescência polifásica da clorofila *a* foi obtida de folhas previamente adaptadas ao escuro pelo uso de cliques foliares. As medidas foram feitas utilizando-se um fluorímetro portátil (Handy PEA, Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn,

Norfolk). Os transientes foram induzidos com 1s de iluminação por um pulso de luz saturante com intensidade máxima de  $3000\mu\text{mol (fótons) m}^{-2}\text{s}^{-1}$  em uma área foliar de 4mm de diâmetro. A emissão de fluorescência transiente foi, então, registrada ( $F_0$  até  $F_m$ ) de 10ms a 1s. Em 1s de medição foram registrados 120 pontos de fluorescência (Handy PEA Manual do usuário). A fluorescência aos 50ms foi considerada como  $F_0$  (STRASSER e STRASSER 1995).

O teste JIP (STRASSER e STRASSER 1995; STRASSER e TSIMILLI-MICHAEL 2008; STIRBET e GOVINDJEE, 2011) foi utilizado para analisar cada transiente da fluorescência da clorofila *a*. O conceito do teste JIP é fundamentado na Teoria de Fluxo de Energia em Bio-membranas (STRASSER, 1981), que define o fluxo de energia fotoquímica para os eventos de transdução que incluem: absorção (ABS), captura ( $TR_0$ ), transporte de elétrons ( $ET_0$ ), dissipação ( $DI_0$ ) e redução dos aceptores de elétrons do lado acceptor do fotossistema I ( $RE_0$ ). Esta teoria ainda possibilitou a formulação de links entre sinais de fluorescência ( $F_t$ ) e os eventos biofísicos e bioquímicos da fotoquímica da fotossíntese (Figura 1).

Estes parâmetros transcrevem o status funcional e estrutural como informações do fluxo específico (por centro de reação) e fenomenológico (por sessão transversal), rendimentos quânticos e índices de desempenho fotoquímico. O uso dos sinais de mínima e máxima fluorescência são expressões que definem bem o rendimento quântico fotoquímico das etapas primárias da fotoquímica da fotossíntese,  $F_v/F_m$ , referentes à oxirredução de quinona A ( $Q_A$ ). O emprego de equipamentos de alta resolução, na escala de microssegundos, permite avaliar com precisão os passos de aumento polifásico dos transientes O-J-I-P,  $dV/dt_0$ . Em função deste avanço tecnológico, foi possível calcular as constantes chave para os fluxos específicos de captura,  $TR_0/RC$ , e a partir deste o tamanho efetivo da antena,  $ABS/RC$ . A intensidade de fluorescência no ponto J da curva OJIP (2ms) permite calcular a probabilidade que um elétron, a partir da  $Q_A$  reduzida, tem de se mover adiante na cadeia de transportadores de elétrons, ou seja,  $ET_0/TR_0 = (F_m - F_J)/(F_m - F_0)$ . Isto é determinado pela redução das plastoquinonas componentes desta cadeia.

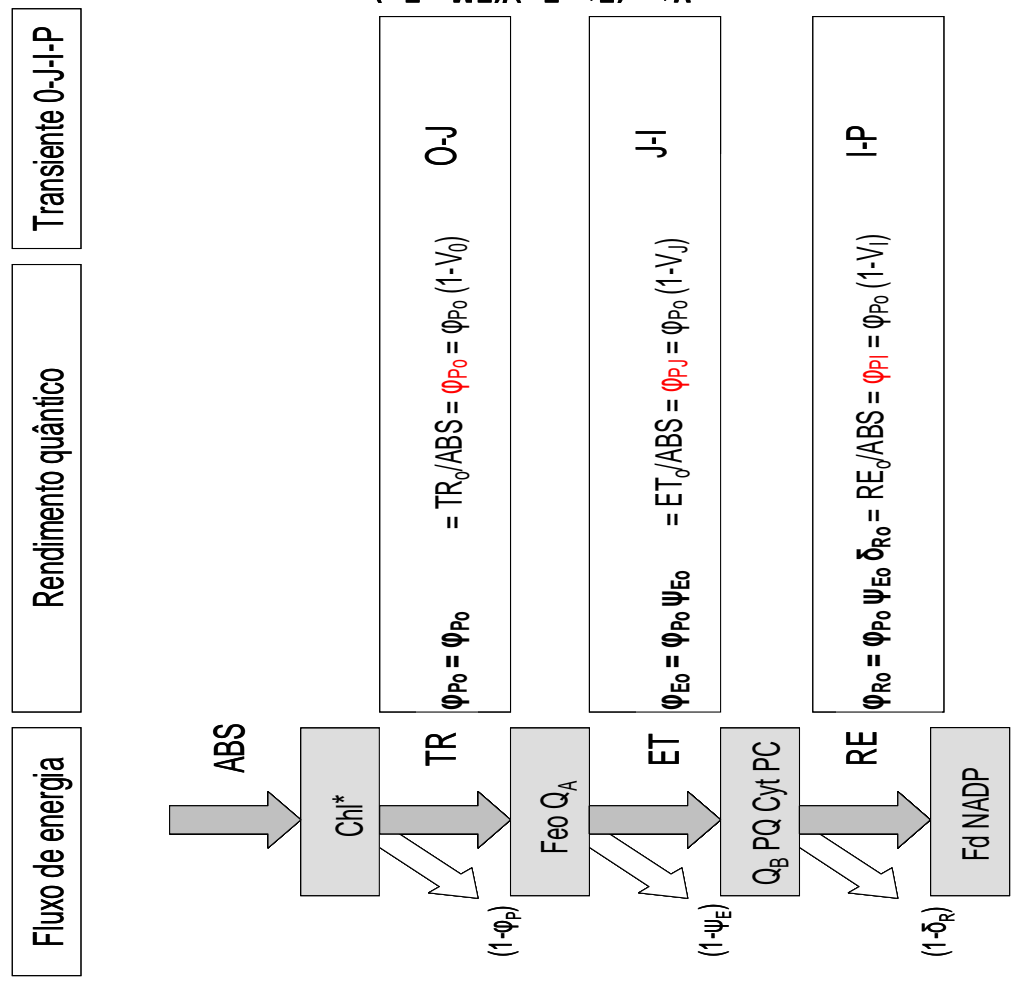
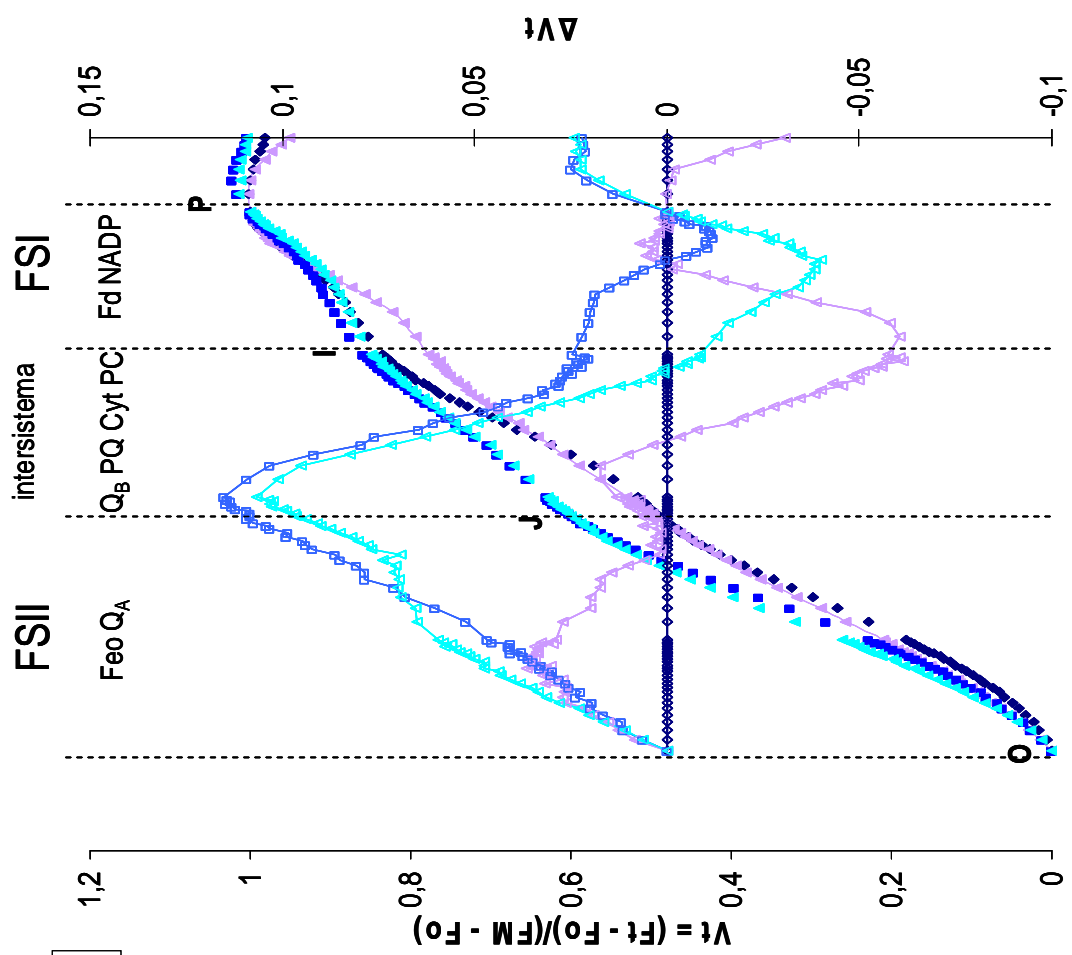


Figura 1: Modelo de alta complexidade do aparato fotossintético correlacionando o fluxo de energia ao longo da transdução de energia e a Teoria de Fluxo de Energia em Biomembranas. Setas verticais representam a energia de influxo que incide no *pool* de aceptores (retângulos), setas diagonais representam a dissipação de energia. Links são apresentados entre os rendimentos quânticos fotoquímicos derivados dos sinais de fluorescência e as fases do transiente O-J-I-P, com ênfase nas reações de redução ao longo da cadeia transportadora de elétrons e respectivas unidades fotossintéticas (FSII, intersistema e FSI). Neste exemplo, três transientes foram normalizados entre a fluorescência basal e terminal (eixo y do lado direito do transiente) e subtraídos do efeito controle (eixo y do lado esquerdo do transiente). Desvios em relação ao eixo x evidenciam acúmulos de  $Q_A$  na forma reduzida (aos 2ms). Adaptado de Strasser et al., 2004; Tsimilli-Michael e Strasser, 2008. Feofitina - Feo;  $Q_A$  - quinona A;  $Q_B$  - quinona B; PQ - plastoquinona; Cyt - citocromo; PC - plastocianina; Fd - ferridoxina; NADP – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato.

Stibert e Govindjee (2011) resumiram as definições e derivações de alguns parâmetros do teste JIP. Os sinais de intensidades de fluorescência ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$  e  $F_m$ ) são medidas experimentais. Parâmetros técnicos adicionais como a fluorescência variável ( $F_v = F_m - F_o$ ), a origem da elevação do aumento polifásico da curva de emissão de fluorescência [ $dV/dt_o = M_o = (F_{300\mu s} - F_o)/(F_m - F_o)$ ], a área relativa entre  $F_m$  e  $F_t$  ( $=$  *pool* de elétrons carregados por centro de reação do fotossistema II,  $S_m$ ) e o número de turnover de  $Q_A$  para redução e re-oxidação [ $N = (S_m)(M_o/V_J)$ ] são sinais normalizados calculados a partir de medidas dos transientes da fluorescência. As expressões biofísicas para os fluxos de energia foram calculadas por centro de reação (indicado pela razão /RC) e por sessão transversal (indicado pela razão /CS). Os rendimentos quânticos fotoquímicos e respectivos parâmetros para conservação de energia durante o transporte de elétrons e índices de desempenho fotoquímico foram calculados a partir de sinais de fluorescência extraídos do transiente O-J-I-P (STRASSER e STRASSER, 1995). Fórmula e glossário de termos utilizados no teste JIP encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1. Derivações do Test - JIP obtidas de análises da fluorescência da clorofila a (O-J-I-P) de acordo com Strasser et al. (2004), Yusuf et al. (2010) e Redillas et al. (2011)

<b>Parâmetros Técnicos</b>	
Intensidade de fluorescência aos 50µs (considerado como F <sub>0</sub> )	F <sub>0</sub> = F <sub>1</sub>
Intensidade de fluorescência aos 100µs, 300µs, 2 ms, e 30 ms	F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , F <sub>4</sub> , e F <sub>5</sub>
Intensidade máxima de fluorescência	F <sub>m</sub>
Fluorescência variável	F <sub>v</sub> = F <sub>m</sub> - F <sub>0</sub>
Origem da inclinação da curva de fluorescência [= taxa relativa de redução de Q <sub>A</sub> (dQ <sub>A</sub> /dt <sub>0</sub> por Q <sub>A total</sub> )]	M <sub>0</sub> = dV/dt <sub>0</sub> = [4 (F <sub>300µs</sub> - F <sub>0</sub> )/(F <sub>m</sub> - F <sub>0</sub> )]
Fluorescência relativa variável aos 300 µs	V <sub>K</sub> = (F <sub>300µs</sub> - F <sub>0</sub> )/(F <sub>m</sub> - F <sub>0</sub> )
Fluorescência relativa variável aos 2ms	V <sub>J</sub> = (F <sub>2ms</sub> - F <sub>0</sub> )/(F <sub>m</sub> - F <sub>0</sub> )
Fluorescência relativa variável aos 30ms	V <sub>I</sub> = (F <sub>30ms</sub> - F <sub>0</sub> )/(F <sub>m</sub> - F <sub>0</sub> )
Area relativa entre F <sub>m</sub> e F <sub>t</sub> (= pool de elétrons)	S <sub>m</sub> = Area/(F <sub>m</sub> - F <sub>0</sub> ) = Area/F <sub>v</sub>
Número de turnover de reduções e re-oxidações de Q <sub>A</sub>	N = (S <sub>m</sub> )(M <sub>0</sub> /V <sub>J</sub> )
Tempo (em ms) para atingir a intensidade máxima de fluorescência F <sub>m</sub>	T <sub>f(max)</sub>
Area complementar total entre a curva de indução de fluorescência e F = F <sub>m</sub>	Area
<b>Os rendimentos ou razões de fluxo de energia</b>	
Rendimento quântico fotoquímico máximo para fotoquímica primária	Φ <sub>P0</sub> = TR <sub>0</sub> /ABS = (F <sub>m</sub> - F <sub>0</sub> )/F <sub>m</sub> = 1 - (F <sub>0</sub> /F <sub>m</sub> )
Probabilidade de um éxciton capturado de se mover para além de Q <sub>A</sub>	Ψ <sub>E0</sub> = ET <sub>0</sub> /TR <sub>0</sub> = 1 - V <sub>J</sub>
Probabilidade de um fóton absorvido tem de se mover além de Q <sub>A</sub>	Φ <sub>E0</sub> = Φ <sub>P0</sub> Ψ <sub>E0</sub> = (TR <sub>0</sub> /ABS)(ET <sub>0</sub> /TR <sub>0</sub> ) = ET <sub>0</sub> /ABS = (1 - F <sub>0</sub> /F <sub>m</sub> )(1 - V <sub>J</sub> )
Rendimento quântico fotoquímico para dissipação de calor	[Φ <sub>D0</sub> = DI <sub>0</sub> /ABS = 1 - Φ <sub>P0</sub> = F <sub>0</sub> /F <sub>m</sub> ]
Eficiência/ Probabilidade que um elétron do intersistema mover-se para o lado acceptor do FSI	δ <sub>R0</sub> = RE <sub>0</sub> /ET <sub>0</sub> = (1 - V <sub>J</sub> )/(1 - V <sub>J</sub> )
Eficiência de um exciton capturado de mover um elétron dentro da cadeia transportadora a partir de Q <sub>A</sub> até os aceptores finais do PSI	ρ <sub>R0</sub> = RE <sub>0</sub> /TR <sub>0</sub> = Ψ <sub>E0</sub> δ <sub>R0</sub>
Rendimento quântico para redução dos aceptores finais do FSI por fóton absorvido	φ <sub>R0</sub> = RE <sub>0</sub> /ABS = Φ <sub>P0</sub> Ψ <sub>E0</sub> δ <sub>R0</sub>
<b>Fluxos específicos</b>	
Fluxo de absorção por centro de reação RC	ABS/RC = M <sub>0</sub> /V <sub>J</sub> /φ <sub>P0</sub>
Fluxo de energia capturada por CR em t = 0	TR <sub>0</sub> /RC = M <sub>0</sub> /V <sub>J</sub>
Fluxo de elétrons transportados por CR em t = 0	ET <sub>0</sub> /RC = (M <sub>0</sub> /V <sub>J</sub> )Ψ <sub>E0</sub> = (M <sub>0</sub> /V <sub>J</sub> )(1 - V <sub>J</sub> )
Dissipação de calor por CR em t = 0	[DI <sub>0</sub> /RC = (ABS/RC) - (TR <sub>0</sub> /RC)]
Redução de aceptores finais do lado acceptor do FSI por CR no t = 0	RE <sub>0</sub> /RC = M <sub>0</sub> (1/V <sub>J</sub> ) Ψ <sub>E0</sub> δ <sub>R0</sub>
<b>Fluxos fenomenológicos</b>	
Absorção por sessão transversal (cross section - CS)	ABS/CS <sub>0</sub>
Captura no instante 0 por CS	TR <sub>0</sub> /CS <sub>0</sub> = (TR <sub>0</sub> /ABS)/(ABS/CS)
Transporte de elétrons no instante 0 por CS	ET <sub>0</sub> /CS <sub>0</sub> = (ET <sub>0</sub> /RC)/(RC/CS)
Dissipação de energia no instante 0 por CS	DI <sub>0</sub> /CS = (ABS/CS) - (TR <sub>0</sub> /CS)
<b>Índices de Desempenho</b>	
Densidade de CR por clorofila	[Y <sub>RC</sub> /(1 - Y <sub>RC</sub> )] = RC/ABS = (RC/TR <sub>0</sub> )(TR <sub>0</sub> /ABS) = (V <sub>J</sub> /M <sub>0</sub> ) (F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub> )
Desempenho para reações redox da fotoquímica primária	[Φ <sub>P0</sub> /(1 - Φ <sub>P0</sub> )] = TR <sub>0</sub> /DI <sub>0</sub> = F <sub>v</sub> /F <sub>0</sub>
Desempenho das reações das fases termais da fotoquímica	[Ψ <sub>E0</sub> /(1 - Ψ <sub>E0</sub> )] = ET <sub>0</sub> /(d Q <sub>A</sub> /dt <sub>0</sub> )
Desempenho das reações para as reações redox dos aceptores finais no lado acceptor do FSI	[δ <sub>R0</sub> /(1 - δ <sub>R0</sub> )]
Índice de vitalidade para conservação de energia para redução do intersistema	PI <sub>ABS</sub> = [Y <sub>RC</sub> /(1 - Y <sub>RC</sub> )] [Φ <sub>P0</sub> /(1 - Φ <sub>P0</sub> )] [Ψ <sub>E0</sub> /(1 - Ψ <sub>E0</sub> )]
Índice de vitalidade para conservação de energia para redução dos aceptores finais do FSI	PI <sub>total</sub> = [Y <sub>RC</sub> /(1 - Y <sub>RC</sub> )] [Φ <sub>P0</sub> /(1 - Φ <sub>P0</sub> )] [Ψ <sub>E0</sub> /(1 - Ψ <sub>E0</sub> )] [δ <sub>R0</sub> /(1 - δ <sub>R0</sub> )]



## 2.3. Avaliação de danos dos processos ecofisiológicos do desempenho fotoquímico de orquídeas em resposta ao ambiente de luz

### 2.3.1. Exposição à alta intensidade luminosa por período prolongado (Experimento 1)

Plantas adultas de *Cattleya amethystoglossa* Linden e Rchb.f., *Cattleya guttata* Lindl., *Cattleya granulosa* Lindl., *Cattleya walkeriana* Gardner sem sinais visíveis de infecção por fitopatógenos foram transferidas do local de cultivo em sombra e expostas à luz solar plena ao longo de um dia, simulando processos de exposição a um gradiente de luz natural de uma grande clareira. A exposição à luz plena iniciou-se às 5 horas da manhã (controle), 8h, 10h, 12h, 14, 16h, 18h, 20h e às 5 horas do dia seguinte. A densidade de fluxo de fótons medidas para cada horário foi 0, 1386, 1892, 2350, 1899, 1301, 347, 0 e 0  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , respectivamente, aferidos por meio de um sensor quântico portátil (QSPAR, *Hansatech*, UK).

As medidas dos sinais de fluorescência foram feitas em folhas jovens totalmente expandidas, previamente adaptadas ao escuro (30min) nos horários supradescritos. Os horários de 20h e 5h do dia seguinte representam a recuperação do aparato fotossintético aos efeitos fotoinibitórios da exposição à alta luz.

Para as espécies de *Cattleya* expostas a pleno sol, as medidas da fluorescência transiente da clorofila *a* foram utilizadas para a construção de curvas plotadas em escala logarítmica, as quais contém os sinais de fluorescência (partindo de um sinal de fluorescência basal  $F_0$ , até um nível máximo  $F_m$ ) para cada um dos horários de exposição à luz natural, formando um plano de dispersão de sinais de fluorescência ( $F_t$ ) ordenado em nove curvas polifásicas. As curvas representam o efeito Kautsky (KRAUSE e WEIS, 1991; LAZÁR, 1999; STRASSER et al., 2004; STIRBET e GOVINDJE, 2011) e referem-se aos distintos eventos de oxidação e redução das unidades fotossintéticas enquanto medida da eficiência fotossintética. A curva O-J-I-P típica mostra um comportamento polifásico ascendente, partindo de um ponto inicial assinalado pela emissão mínima ou basal de fluorescência (O), associada ao estado oxidado do fotossistema II (induzido pela adaptação ao escuro), e um ponto máximo de emissão de fluorescência (P), referente à máxima emissão de fluorescência ocorrente no fotossistema II em estado completamente reduzido (induzido pelo pulso de luz saturante). Entre o ponto basal e terminal existem outros pontos, dentre eles, o ponto J e I, ambos explícitos na curva. Assim, as curvas O-J-I-P da fluorescência da clorofila *a*

representam os processos de oxidação-redução das unidades fotossintéticas de plantas de *Cattleya* sob o efeito da luz.

O transiente O-J-I-P mostra uma riqueza de informações que descrevem as reações fotoquímicas da fotossíntese, as quais somente podem ser melhor visualizadas mediante dupla normalização dos dados entre um ponto e outro da curva. Desta forma, o controle duplamente normalizado e subtraído do seu próprio efeito é sempre igual a zero e as curvas de tratamento serão desvios acima ou abaixo da curva controle.

Com o objetivo de evidenciar a natureza do distúrbio associado à banda J (OUKARROUM et al., 2007; CHRISTEN et al., 2007; STRASSER et al., 2007; YUSUF et al., 2010), foram calculadas as cinéticas relativas derivadas do original O-J-I-P, a partir da subtração da dupla normalização entre  $F_o$  e  $F_m$  controle menos o tratamento de luz:  $\Delta V_t = V_{t(\text{controle})} - V_{t(\text{tratamento})}$ , onde  $V_t = (F_t - F_o)/(F_m - F_o)$  e  $\Delta V_t = 0$  representa o controle.

Adicionalmente, foram calculadas as cinéticas relativas aos distúrbios relativos às etapas de oxidação-redução entre o lado aceptor e doador do FSII (banda K), derivadas a partir da dupla normalização entre os pontos O e J do original O-J-I-P por meio da subtração entre tratamento e controle:  $\Delta W_{OJ} = W_{OJ(\text{controle})} - W_{OJ(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{OJ} = (F_t - F_o)/(F_j - F_o)$  e  $\Delta W_{OJ} = 0$  representa o controle (OUKARROUM et al., 2007). Para a construção da cinética referente aos distúrbios de oxidação-redução do intersistema e FSI, evidenciados na banda I, foram calculados os transientes relativos derivados entre os pontos J e M com a respectiva subtração  $\Delta W_{Jm} = W_{Jm(\text{controle})} - W_{Jm(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{Jm} = (F_t - F_j)/(F_m - F_j)$  e  $\Delta W_{Jm} = 0$  (controle) (SMIT et al., 2009). Distúrbios fotoquímicos sobre a energia de conectividade entre unidades de FSII foram calculados a partir da dupla normalização entre os pontos O e K do transiente original O-J-I-P, representando a banda L:  $\Delta W_{OK} = W_{OK(\text{controle})} - W_{OK(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{OK}$  foi calculado como  $(F_t - F_o)/(F_k - F_o)$  e  $\Delta W_{OK} = 0$  representando o controle (OUKARROUM et al., 2007).

O status de acúmulo de aceptores de elétrons sob formas reduzidas ou oxidadas comparativamente entre FSII e o FSI (YUSUF et al., 2010) foi calculado a partir de normalizações pormenorizadas entre os pontos O e P do transiente original O-J-I-P,  $W_{OI} = (F_t - F_o)/(F_i - F_o)$ . Este método de separação dos eventos de oxidação-redução entre FSII e FSI permitiu focalizar os distúrbios que incidiram sobre o FSI em função dos tratamentos de luz,  $W_{IP} = (F_t - F_i)/(F_i - F_o)$  e  $\Delta W_{IP} = W_{IP(\text{controle})} - W_{IP(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{IP} = (F_t - F_i)/(F_i - F_o)$  e  $\Delta W_{IP} = 0$  representa o controle (YUSUF et al., 2010; REDILLAS et al., 2011).

De acordo com as equações experimentais e biofísicas propostas por Strasser et al. (2004), foram calculados a absorção de fótons por centro de reação:  $ABS/RC =$

$M_o/V_J/\phi_{P_o}$ , captura:  $TR_o/RC = M_o/V_J$ , transporte:  $ET_o/RC = (M_o/V_J)\psi_{E_o} = (M_o/V_J)(1 - V_J)$  e dissipação de energia na forma de calor:  $[DI_o/RC = (ABS/RC)-(TR_o/RC)]$ . Para isto, os horários de exposição ao gradiente de luz foram separados da seguinte forma: (1) para horários com fluxo de fótons em ascensão (durante as primeiras horas de exposição de luz solar plena); (2) para o máximo fluxo fotônico registrado (próximo ao meio-dia); e (3) para horários de exposição com decréscimos dos valores de fluxo de fótons (do meio-dia ao entardecer).

Parâmetros extraídos diretamente da curva original 0-J-I-P, fluorescência basal ( $F_o$ ) e máxima ( $F_m$ ), foram empregados para o estudo das tendências para a fotoinibição crônica ou dinâmica para as espécies estudadas (DIAS e MARENCO, 2006).

A partir dos parâmetros extraídos diretamente da curva original O-J-I-P, foram calculados: (1) o rendimento quântico fotoquímico máximo do FSII,  $\phi_{P_o} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$ , (2) o rendimento quântico da eficiência de transporte de elétrons  $\phi_{ET2o} = \phi_{E_o} = \phi_{P_o} \psi_{E_o} = (TR_o/ABS)(ET_o/TR_o) = ET_o/ABS = (1 - F_o/F_m)(1 - V_J)$ , (3) o rendimento quântico de redução do FSI,  $\phi_{RE1o} = \phi_{R_o} = RE_o/ABS = \phi_{P_o} \psi_{E_o} \delta_{R_o}$ , (4) o rendimento quântico fotoquímico da dissipação de energia na forma de calor:  $[\phi_{D_o} = DI_o/ABS = 1 - \phi_{P_o} = F_o/F_m]$ , (5) a eficiência de conservação de energia de um éxciton capturado mover-se a partir da  $Q_A$  reduzida até  $Q_B$ ,  $\psi_{ET2o} = \psi_{E_o} = ET_o/TR_o = 1 - V_J$ , (6) a eficiência de conservação de energia de um éxciton capturado mover-se a partir intersistema reduzido até o FSI,  $\delta_{RE1o} = \delta_{R_o} = RE_o/ET_o = (1 - V_J)/(1 - V_J)$  e (7) a eficiência de conservação de energia de um éxciton capturado mover-se a partir do FSII reduzido até o FSI,  $\psi_{RE1o} = \rho_{R_o} = RE_o/TR_o = \psi_{E_o} \delta_{R_o}$ . Ainda foram mostrados (8) os parâmetros biofísicos para o total de elétrons carregados ao longo da cadeia transportadora,  $S_m = Area/(F_m - F_o) = Area/F_v$ , (9) o *turnover* de re-oxidação de  $Q_A$ :  $N = (S_m)(M_o/V_J)$  e (10) o índice de desempenho  $PI_{total} = [\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})] [\phi_{P_o}/(1 - \phi_{P_o})] [\psi_{E_o}/(1 - \psi_{E_o})] [\delta_{R_o}/(1 - \delta_{R_o})]$ , o qual expressa a eficiência de conservação de energia de fótons absorvidos a partir do FSII até o FSI (STIBERT e GOVINDJEE, 2011).

O índice  $PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})] [\phi_{P_o}/(1 - \phi_{P_o})] [\psi_{E_o}/(1 - \psi_{E_o})]$  expressa os processos de distúrbios para o índice de desempenho fotoquímico relacionados à eficiência de conservação de energia de fótons absorvidos a partir do FSII até  $Q_B$ . No entanto, esta expressão é fundamentada em três componentes relacionados aos princípios da Equação de Nerst, sendo que o primeiro termo do componente é referente à fração reduzida e o segundo termo à fração oxidada (STRASSER et al., 2004). Para isto, foram analisados, também, os seus componentes: (1)  $[\gamma_{RC2}/(1 - \gamma_{RC2})] = [\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})] = RC/ABS = (RC/TR_o)(TR_o/ABS) = (V_J/M_o) (F_v/F_m)$ , densidade de centros de reação que

funcionaram como redutores de  $Q_A$  ; (2)  $[\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})] = TR_o/DI_o = F_v/F_o$ , performance das reações redox da fotoquímica primária; e, (3)  $[\psi_{ET2o}/(1-\psi_{ET2o})] = [\psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})] = ET_o/(d Q_A^-/dt_o)$  referente à performance das reações das fases termais da fotoquímica (STIBERT e GOVINDJEE, 2011).

### 2.3.2. Exposição de plantas de orquídeas às manchas de sol (Experimento 2)

Plantas adultas de *Cattleya warneri* T. Moore, *Cattleya shofieldiana* Rchb.f., e *Cattleya harrisoniana* Batem. ex Lindl. foram transferidas do local do cultivo para ambientes abertos (pleno sol), onde a radiação fotossinteticamente ativa pode atingir níveis superiores a  $1200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . As plantas foram expostas ao pleno sol durante 5, 35 e 120 minutos (T1, T2 e T3, respectivamente), simulando diferentes situações de manchas de sol, onde o tempo de exposição é referente ao tamanho da abertura no dossel. Para estes tempos de exposição foram registrados  $2259 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  em ambiente aberto e após,  $701 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  às 13 horas, quando as plantas foram colocadas em ambientes sombreados e aproximadamente  $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para os primeiros horários da manhã (controle) e fim da tarde.

As avaliações tiveram início às 8 horas (controle) e seguiram ao longo do dia em intervalos de 2 horas (a partir das 13 até as 19) após a exposição ao sol nos diferentes tratamentos (5, 35 e 120 minutos de exposição à luz plena). Visando verificar a capacidade de recuperação em função da exposição das plantas aos efeitos da luz, as avaliações da fluorescência da clorofila foram repetidas às 8 horas do dia posterior. Plantas de *Cattleya warneri*, *C. harrisoniana* e *C. shofieldiana* foram expostas aos efeitos de manchas de sol e tiveram as medidas da fluorescência transiente da clorofila *a* utilizadas para a construção de gráficos com curvas plotadas em escala logarítmica, contendo os sinais de fluorescência (partindo de  $F_o$  até um nível máximo  $F_m$ ) para cada um dos horários e tratamentos de exposição a manchas de sol, mostrando os efeitos do pulso de luz transiente sob o efeito Kautsky (KRAUSE e WEIS, 1991; LAZÁR, 1999; STRASSER et al., 2004; STIRBET e GOVINDJE, 2011).

Foram calculadas, também, as cinéticas  $\Delta W_{OK} = W_{OK(\text{controle})} - W_{OK(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{OK} = (F_t - F_o)/(F_K - F_o)$  e  $\Delta W_{OK} = 0$  representa o controle; e  $\Delta W_{OJ} = W_{OJ(\text{controle})} - W_{OJ(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{OJ} = (F_t - F_o)/(F_J - F_o)$  e  $\Delta W_{OJ} = 0$  representa o controle (STRASSER et al., 2004; CHRISTEN et al., 2007; OUKARROUM et al., 2007).

De acordo com as equações propostas por Strasser et al. (2004), foram calculados os fluxos de energia (1)  $ABS/RC = M_o/V_J/\phi_{P_o}$  para os eventos de absorção de fótons por centro de reação; (2)  $TR_o/RC = M_o/V_J$ , captura de éxcitons; (3)  $ET_o/RC = (M_o/V_J)\psi_{E_o} = (M_o/V_J)(1 - V_J)$  transporte de elétrons; e, (4)  $[DI_o/RC = (ABS/RC)-(TR_o/RC)]$  para dissipação de energia na forma de calor. Correlações foram feitas entre (5) log relativo de  $ABS/RC = M_o/V_J/\phi_{P_o}$  e log relativo  $TR_o/RC = M_o/V_J$ ; e entre (6) log relativo  $ABS/RC = M_o/V_J/\phi_{P_o}$  e log relativo  $ET_o/RC = (M_o/V_J)\psi_{E_o} = (M_o/V_J)(1 - V_J)$ , onde relativo = tratamento/ controle. Foi utilizada a correlação linear para evidenciar a ordenação de eixos de estratégias ecofisiológicas frente aos estímulos externos, com o objetivo de testar a hipótese de centros de reação silenciosos (STRASSER et al., 2004; OUKARROUM et al., 2007; CHRISTEN et al., 2007; YUSUF et al., 2010).

Foram calculados os fluxos fenomenológicos: (1)  $ABS/CS_o =$  mensurado com valores aproximados por  $F_o$ , relativos à absorção por sessão transversal (cross section – CS);  $TR_o/CS_o = (TR_o/ABS)/(ABS/CS)$  para captura de éxcitons no instante 0 por CS; (2)  $ET_o/CS_o = (ET_o/RC)(RC/CS)$ , transporte de elétrons no instante 0 por CS; e, (3)  $Di_o/CS = (ABS/CS) - (TR_o/CS)$ ; dissipação de energia no instante 0 por CS. Foram calculados, também, o (4) fluxo de rendimento fotoquímico  $\phi_{RE1o} = \phi_{R_o} = R_{E_o}/ABS = \phi_{P_o} \psi_{E_o} \delta_{R_o}$ , relativo ao rendimento quântico fotoquímico de redução do FSI; (5) as eficiências quânticas de conservação de energia fotoquímica  $\psi_{ET2o} = \psi_{E_o} = E_{T_o}/TR_o = 1-V_J$ , intrínseca dos processos de oxi-redução durante a transferência de éxcitons ao longo da cadeia transportadora de elétrons incluindo parâmetros para conservação de energia de um éxciton capturado mover-se a partir da  $Q_A$  reduzida até  $Q_B$ ; (6)  $\delta_{RE1o} = \delta_{R_o} = R_{E_o}/ET_o = (1-V_I)/(1-V_J)$  para a eficiência de conservação de energia de um éxciton capturado mover-se a partir intersistema reduzido até o FSI; (7)  $\psi_{RE1o} = \rho_{R_o} = R_{E_o}/TR_o = \psi_{E_o} \delta_{R_o}$ , eficiência de conservação de energia de um éxciton capturado mover-se a partir do FSII reduzido até o FSI; e os parâmetros diretamente extraídos do original O-J-I-P, (8)  $S_m = Area/(F_m - F_o) = Area/F_v$  para total de elétrons carreados ao longo da cadeia transportadora e, (9)  $N = (S_m)(M_o/V_J)$ , *turnover* de re-oxidação de  $Q_A$  (STIRBET e GOVINDJEE, 2011), o agrupamento destes parâmetros foi feito para melhor compreender as relações entre as sequências de transdução de energia fotoquímica e processos de eficiência/conservação de energia fotoquímica entre unidades fotossintéticas.

Foram calculados: (1) o rendimento quântico fotoquímico  $\phi_{P_o} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1-(F_o/F_m)$  relativo às etapas primárias da fotoquímica da fotossíntese; (2)

$PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})] [\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})] [\psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})]$  índice de desempenho fotoquímico relativo à eficiência de conservação de energia de fótons absorvidos a partir do FSII até  $Q_B$ . Em seguida os valores destes parâmetros foram normalizados em log relativo, em que o valor relativo é obtido a partir da expressão: (tratamento/controle). O modelo proposto para esta leitura de eficiência fotoquímica segue a hipótese de Oukarroum et al. (2007) para estabilidade fotoquímica do rendimento quântico máximo do FSII frente a estresse moderado e insustentabilidade para detecção prévia de sintomas de estresse em plantas do parâmetro  $\phi_{Po} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1-(F_o/F_m)$  (CHRISTEN et al., 2007).

Parâmetros extraídos diretamente da curva original 0-J-I-P, fluorescência basal ( $F_o$ ) e terminal ( $F_m$ ), foram empregados para o estudo das tendências para a fotoinibição crônica ou dinâmica para as espécies estudadas (DIAS e MARENCO, 2006). Diferente do que foi empregado no primeiro experimento sobre exposição à alta luz por período prolongado, para os efeitos de mancha de sol foram estudados modelos lineares compostos por T1, T2 e T3, ao longo do dia.

Foram calculados valores de log relativo para compor a correlação entre (1)  $PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})] [\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})] [\psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})]$ , referente ao índice de desempenho para conservação de energia para redução intersistema e  $\phi_{Eo} = \phi_{Po} \psi_{Eo} = (TR_o/ABS)(ET_o/TR_o) = ET_o/ABS = (1-F_o/F_m)(1-V_J)$ , eficiência de transporte de elétrons ao longo da cadeia transportadora de elétrons a partir de  $Q_A$  reduzida até o intersistema reduzido; e entre (2)  $PI_{TOTAL} = [\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})] [\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})] [\psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})] [\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})]$ , desempenho para conservação de energia para redução dos aceptores finais no lado acceptor do FSI, e  $\rho_{Ro} = RE_o/TR_o = \psi_{Eo} \delta_{Ro}$ , a eficiência de um exciton capturado de mover um elétron dentro da cadeia transportadora a partir de  $Q_A^-$  até os aceptores finais do PSI. Onde relativo = (tratamento/controle), seguido da função log [= log ( $PI_{ABS}$  relativo) e = log ( $\phi_{Eo}$  relativo)] e log [= log ( $PI_{total}$  relativo) e = log ( $\phi_{\rho Ro}$  relativo)]. O modelo de plano de dispersão com dados normalizados em log relativo permitiu avaliar quão eficientes em rendimento quântico fotoquímico, transdução de energia e desempenho fotoquímicos são as espécies em estudo (OUKARROUM et al., 2007; CHRISTEN et al., 2007).

## 2.4. Análise estatística

O delineamento do experimento 1 foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4 x 9 (4 espécies e 9 horários de tratamento de luz). O delineamento do experimento 2 foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 3 x 3 x 6 [3 espécies, 3 tratamentos de luz (manchas de sol) e 6 horários (controle, 1 de alta luz e 4 de pós-distúrbio)].

Os dados foram analisados utilizando-se o programa Sisvar, testados quanto à distribuição normal e comparados usando o teste de Scott Knott (0,05%) para verificar as diferenças entre os tratamentos. As curvas O-L-K-J-I-P foram construídas em escala logarítmica ou temporal, de acordo com Strasser et al. (2004), Yusuf et al. (2010), Redillas et al. (2011) e Stirbet e Govindje (2011).

### 3. Resultados e discussão

#### 3.1 Exposição à alta intensidade luminosa por período prolongado

A fluorescência transiente da clorofila *a* em plantas de *C. amethystoglossa*, *C. granulosa*, *C. guttata* e *C. walkeriana* foram registradas e apresentadas em escala logarítmica (Figura 2).

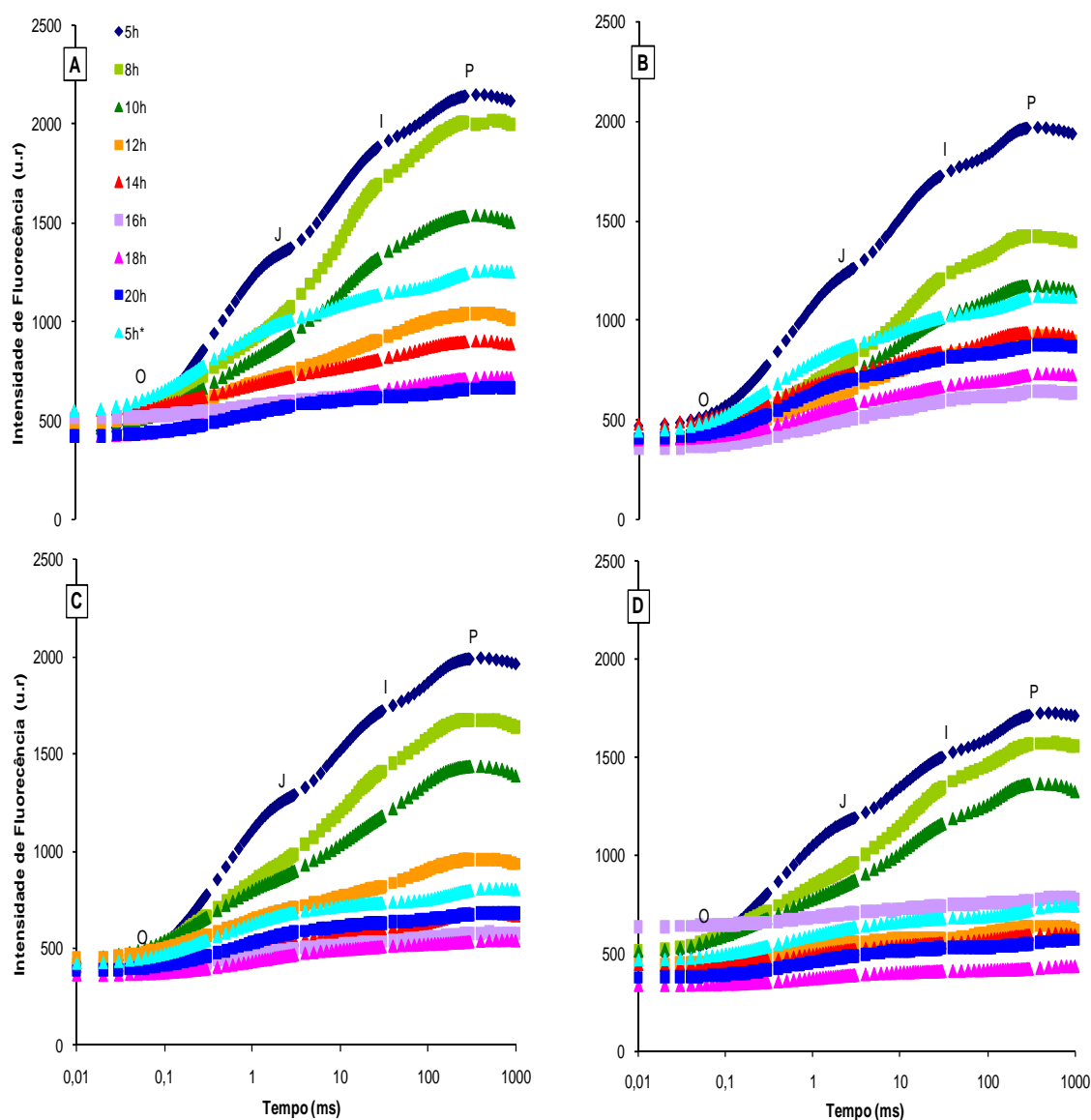


Figura 2: Transientes O-J-I-P em espécies de *Cattleya* Lindl. A refere-se a *C. amethystoglossa*, B a *C. granulosa*, C a *C. guttata* e D a *C. walkeriana*. Símbolo  $\blacklozenge$  refere-se ao controle – 5h;  $\blacksquare$  8h;  $\blacktriangle$  10h;  $\blacksquare$  12h;  $\blacktriangle$  14h;  $\blacksquare$  16h;  $\blacktriangle$  18h;  $\blacksquare$  22h e  $\blacktriangle$  recuperação – 5h\*.



Estas medidas evidenciam o aumento polifásico característico das curvas OJIP, representando o status de transporte de elétrons fotossintéticos ao longo da cadeia transportadora (SCHANKER et al, 2005). A fase O-J (50 $\mu$ s - 2ms) refere-se aos eventos da fotoquímica primária da fotossíntese do lado acceptor do fotossistema II; a fase J-I (2ms - 30ms) evidencia os processos de redução do intersistema (JOLIOT e JOLIOT, 2002; TÓTH et al., 2007). Por fim, a fase I-P (30ms - 300ms) refere-se aos processos de redução do *pool* de aceptores finais no lado acceptor do fotossistema I (REDILLAS et al., 2011). As 4 espécies de *Cattleya* apresentaram curvas transientes O-J-I-P com comportamento típico polifásico (STRASSER et al., 1995) para os horários de 05, 08 e 10h com aumento da magnitude dos sinais de fluorescência desde um nível basal ( $F_0$ ) até um nível máximo ( $F_m$ ) com pontos intermediários J e I bem definidos, demonstrando que a atividade fotossintética das plantas foi mais eficiente nestes horários (Figura 2). No entanto, nestes horários, a área acima da curva de fluorescência foi maior em *C. amethystoglossa* e *C. gutatta* (Figura 2A e 2C), em relação às plantas de *C. granulosa* e *C. walkeriana* sendo observado severo declínio em *C. granulosa* durante às 8 e 10h (Figura 2B). A área acima da curva de indução de fluorescência indica o *pool* de aceptores de elétrons aptos no fluxo de energia a partir do transporte de elétrons, incluindo  $Q_A$ ,  $Q_B$  e *pool* de plastoquinonas (PQ *pool*) (STRASSER et al., 1995; JOLIOT e JOLIOT, 2002).

Mesmo nos horários de maior intensidade luminosa (12 e 14h), *C. amethystoglossa* e *C. gutatta* mantiveram o maior *pool* de aceptores hábeis em transportar elétrons. Nos horários seguintes (16-20h), houve um severo declínio e supressão de fases O-J, J-I e I-P, em *C. amethystoglossa*, *C. granulosa*, *C. gutatta* e *C. walkeriana*, com maior evidência em *C. walkeriana*, a qual também apresentou maior heterogeneidade na emissão de fluorescência basal (Figura 2D). Segundo Jiang et al. (2008), a maior heterogeneidade na emissão da fluorescência basal está associada a eventos de estresse severo, evidenciado pela maior oscilação de  $F_0$  ao longo do periodo de experimento nas espécies estudadas, de forma mais evidente em *C. walkeriana*.

A área acima da curva de indução de fluorescência apresentou depressão máxima em relação ao controle de 32,05% para *C. amethystoglossa* (Figura 2A) e 31,43% de máxima redução às 16h para *C. granulosa* (Figura 2B), durante a exposição à alta luz. Plantas de *C. guttata* (Figura 2C) e *C. walkeriana* (Figura 2D) apresentaram redução máxima da área em torno de 21 e 12%, porém durante as 15h. O decréscimo da curva e a supressão de fases indicam bloqueios parciais ou totais do fluxo de energia (MEHTA et al., 2010). Sinais de recuperação foram observados às 5h do dia seguinte à

exposição à alta luz em todas as espécies estudadas, destacando-se *C. amethystoglossa*, seguida por *C. granulosa* (Figura 2A e 2B).

As implicações ecológicas do bloqueio do fluxo de energia ao longo dos transientes O-J-I-P podem estar associadas à plasticidade fenotípica (BO e QING, 2008) e habilidade em responder de forma rápida e eficiente as condições impostas pela mudança abrupta na intensidade luminosa ocasionadas por aberturas de clareiras no habitat (DENSLOW et al., 1990; TONINI et al., 2008). A modulação do aparato fotossintético para diferentes fluxos de fótons é acompanhada por ajustamentos funcionais e estruturais dos componentes envolvidos na absorção e captura de fótons, transporte e redução de elétrons ao longo da cadeia transportadora (GONÇALVES et al., 2010) e tais alterações podem ser observados pelo distúrbio do transiente O-J-I-P em relação ao controle (STRASSER et al., 2004). No entanto, o ajuste do aparato fotossintético as novas condições de luz excedentes, podem levar a danos irreversíveis e o redirecionamento do uso da energia disponível no ambiente. Assim, esta sequência de processos pode ser denominada de aclimatação (WALTERS, 2005). Os processos de aclimatação, iniciados pela rápida modulação da atividade fotoquímica, são vitais para espécies vegetais frente à heterogeneidade do ambiente de luz de um habitat (FENG et al., 2002; WANG e FENG, 2005) e, desta forma podem selecionar espécies susceptíveis ou determinar diferentes padrões de resistência em espécies tolerantes (BO e QING, 2008).

Neste contexto, pode-se inferir que plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* parecem resistir de forma mais eficiente ao excesso de energia luminosa em função da maior recuperação das atividades fotoquímicas expressas pelo transiente O-J-I-P em comparação as plantas de *C. gutatta* e *C. walkeriana* (Figura 2). Portanto, um habitat fragmentado exposto ao efeito de borda, com maior intensidade luminosa, teria maior êxito em incrementar interações ecológicas a partir da inserção de Orchidaceae que apresentem comportamento semelhante ao das espécies das Figuras 2A e 2B.

Os resultados dos efeitos do estresse de luz sobre os eventos fotoquímicos das fases O-J, J-I e I-P apontam os valores da fluorescência duplamente normalizados entre  $F_0$  e  $F_m$  (Figura 3) como cinéticas relativas variáveis de fluorescência no instante  $t$ ,  $V_t = (F_t - F_0)/(F_m - F_0)$  e a respectiva subtração  $\Delta V_t$  ( $V_{t(\text{tratamento})} - V_{t(\text{controle})}$ ) (STRASSER et al. 2007). Os resultados apresentados na Figura 3A-B sugerem maior resistência à inibição bioquímica das reações de redução e re-oxidação de  $Q_A$  (2ms) (CHRISTEN et al. 2007) para as plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* ao longo do dia.

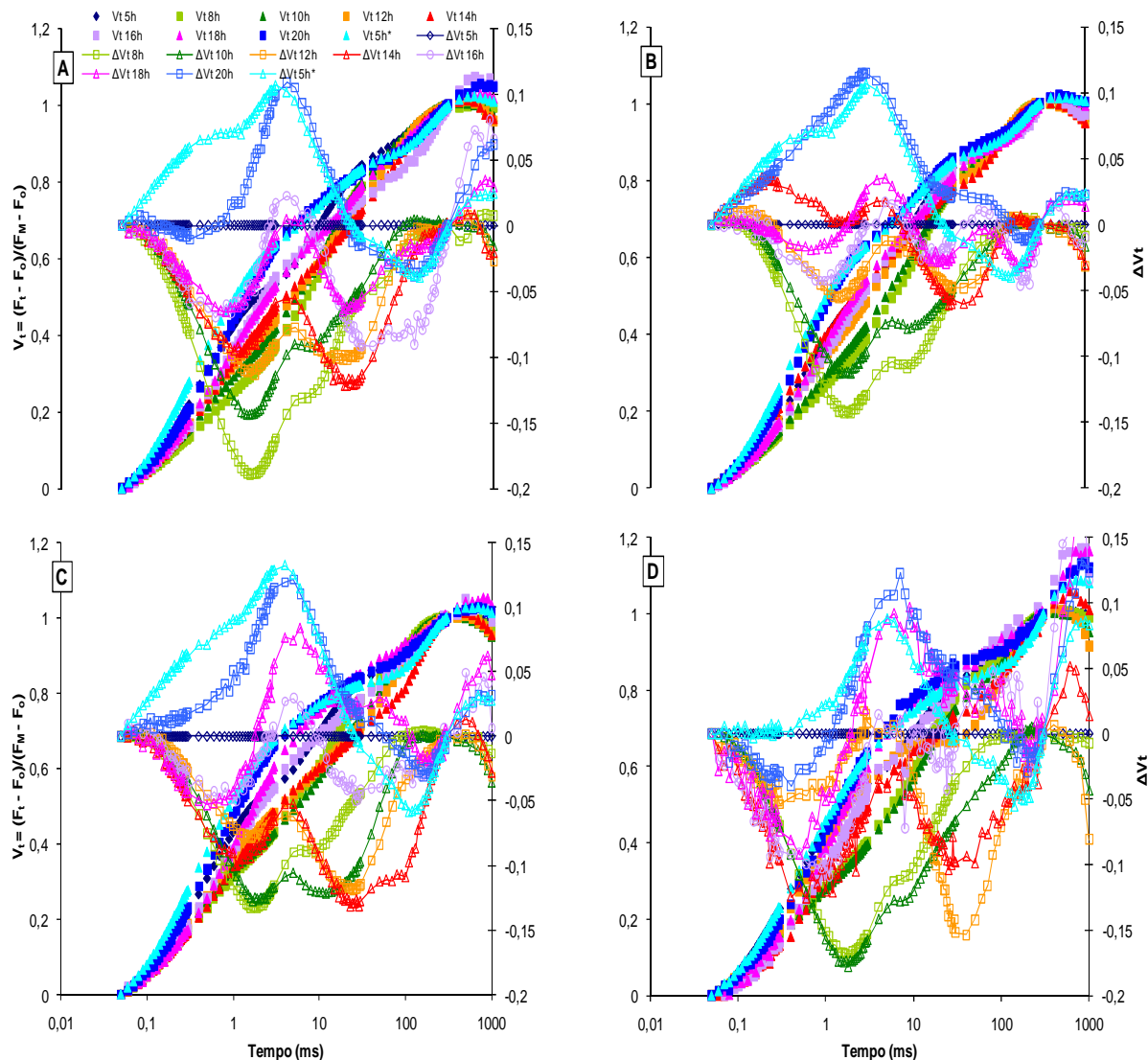


Figura 3: Banda J ou  $V_t$  e  $\Delta V_t$  em espécies de *Cattleya* Lindl A refere-se a *C. amethystoglossa*, B a *C. granulosa*, C a *C. guttata* e D a *C. walkeriana*. Símbolo fechados representam  $V_t$  (eixo y do lado esquerdo),  $\blacklozenge$  refere-se ao controle – 5h;  $\blacksquare$  8h;  $\blacktriangle$  10h;  $\blacksquare$  12h;  $\blacktriangle$  14h;  $\blacksquare$  16h;  $\blacktriangle$  18h;  $\blacksquare$  22h e  $\blacktriangle$  recuperação – 5h\*. Símbolo abertos referem-se ao  $\Delta V_t$  (eixo y do lado direito) sendo que  $\diamond$  refere-se ao controle – 5h;  $\square$  8h;  $\triangle$  10h;  $\square$  12h;  $\triangle$  14h;  $\square$  16h;  $\triangle$  18h;  $\square$  22h e  $\triangle$  recuperação – 5h\*.

O efeito acumulativo de  $Q_A$  no estado reduzido provocado pela exposição à alta luz durante o período de maior intensidade luminosa (Figura 3) está evidenciado pelo desvio do transiente  $\Delta V_t$  aos 2ms. Este comportamento dos transientes é representado pelo desvio positivo em relação ao controle (8h). Durante as primeiras horas de exposição à luz plena, entre 5 e 8h da manhã, foi observado um momentâneo incremento em  $Q_A$  no estado oxidado a partir dos desvios negativos de  $\Delta V_t$ , o que

sugere aumento na capacidade de re-oxidar o *pool* de quinonas para *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* (Figuras 3A e 3B). Enquanto isto, em plantas de *C. gutatta* e *C. walkeriana* foram observados relativa estabilidade deste desvio aos 2ms (Figuras 3C e 3D).

O efeito da exposição à alta intensidade luminosa em plantas de *C. gutatta* e *C. walkeriana* produziram uma perturbação na curva  $\Delta V_t$  que supõe menor resistência ao estresse luminoso sob elevada temperatura e intensidade de fluxo de fótons (Figuras 3C e 3D). Os desvios positivos observados na curva em relação ao controle as 18 h, sugerem um maior acúmulo de  $Q_A$  no estado reduzido ao longo do dia, o que está diretamente ligado à deficiência em re-oxidar o *pool* de quinonas em resposta ao excesso de energia incidente no FSII (CHRISTEN et al., 2007). Em contrapartida, plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* (Figuras 3A e 3B), apresentaram desvios positivos menores, o que pode significar maior resistência ao efeito de acúmulo de  $Q_A$  na forma reduzida. Considerando o horário de recuperação, plantas de *C. walkeriana* (Figura 3D) apresentaram uma tendência de recuperação desta inibição bioquímica mais eficiente que plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa*, as quais mostraram ausência de recuperação (Figuras 3A e 3B). Incrementos do desvio positivo foram observados em *C. gutatta*, sugerindo um agravamento da inibição bioquímica às 5 horas do dia seguinte (Figura 3C).

Em ecossistemas, é notável a plasticidade dos organismos em reajustar a funcionalidade do aparato fotossintético em resposta a um estímulo externo (VALADARES e PEARCY, 2000). Na Figura 3 foi possível observar que existem diferentes estratégias ecofisiológicas entre as espécies estudadas para o acúmulo de formas oxidadas de  $Q_A$  como resposta ao estímulo externo de alta luz. Este comportamento é mais evidente em *C. walkeriana* (Figura 3D), que parece responder mais rápido tanto para o acúmulo deste *pool* oxidado antecedendo o estresse luminoso (desvio negativo da curva  $\Delta V_t$  as 5 e 8h), como uma rápida recuperação ao fim da exposição à alta luz (desvio positivo da curva  $\Delta V_t$  as 5 h da manhã do dia seguinte ao período de exposição à luz plena). A curva  $\Delta V_t$  mostra também que *C. granulosa* responde de forma semelhante às plantas de *C. amethystoglossa*, porém de forma menos eficiente, se for considerado (1) o tempo de resposta de recuperação ao fim do dia às 20h (Figuras 3A e 3B), (2) de resistência durante a exposição à alta luz durante 12 e 16h (Figuras 3A e 3B) e, (3) de resposta rápida ao estímulo externo durante as primeiras horas da manhã, entre 5 e 8h (Figuras 3A e 3B).

Assim, é possível corroborar a hipótese de Lin e Hsu (2004), os quais associam o grau em que as plantas adaptam-se ao regime de luz à genética do indivíduo, o que pode estar definindo sua plasticidade fisiológica frente a um fator ambiental. Esta resposta ecofisiológica pode estar determinando sua susceptibilidade à fotoinibição (ALI et al., 2005) e ao sucesso em projetos de reintrodução, de incrementos em interações ecológicas, nos padrões de resistência e mesmo de sobrevivência de espécies de Orchidaceae nos sítios de recuperação em remanescentes de Mata Atlântica.

Adicionalmente, foram observados outros desvios em relação à curva controle para os transientes da curva  $\Delta V_t$  na Figura 3 após 2ms. Uma maior atividade fotoquímica para o complexo intersistema (para a fase J-I) e dos componentes de oxidação do FSI (fase I-P), possivelmente refletem um deslocamento da energia luminosa excedente sobre o FSII para o FSI, ao longo do dia. Inferências detalhadas acerca desta afirmativa foram feitas a partir das normalizações referentes às bandas K, L e I. Os efeitos da alta luz sobre a estrutura e função das distintas unidades fotossintéticas nas espécies estudadas foram calculados a partir da dupla normalização entre os pontos O-J [as  $W_{OJ} = (F_t - F_o)/(F_J - F_o)$ ] para banda K, e entre J-P [as  $W_{JP} = (F_t - F_J)/(F_m - F_J)$ ] para banda I, ambos plotados com a respectiva cinética subtraída em escala logarítmica:  $\Delta W_{OJ} = W_{OJ(\text{tratamento})} - W_{OJ(\text{controle})}$  (STRASSER et al., 2007) e  $\Delta W_{JP} = W_{JP(\text{tratamento})} - W_{JP(\text{controle})}$  (SMIT et al., 2008) (eixo x das Figuras 4A-B-C-D).

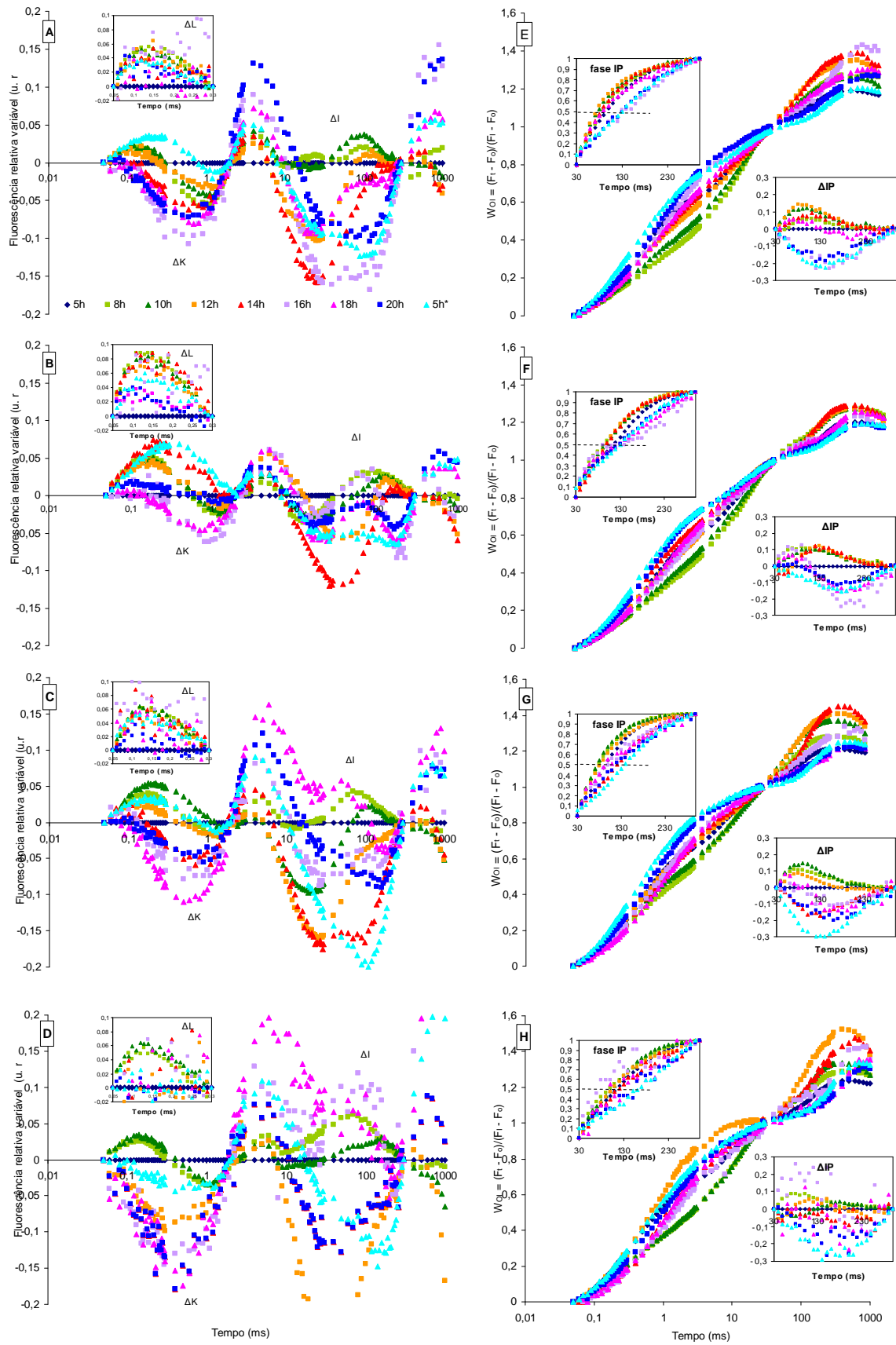


Figura 4: Banda K, Banda L, Banda I, curvas WOI, fase IP e  $\Delta$ IP em espécies de *Cattleya* Lindl. A refere-se a *C. amethystoglossa*, B a *C. granulosa*, C a *C. guttata* e D a *C. walkeriana*. E WOI, fase I-P e  $\Delta$ IP onde E refere-se a *C. amethystoglossa*, F a *C. granulosa*, G a *C. guttata* e H a *C. walkeriana*. Símbolos fechados representam os tratamentos de luz:  $\blacklozenge$  refere-se ao controle – 5h;  $\blacksquare$  8h;  $\blacktriangle$  10h;  $\blacksquare$  12h;  $\blacktriangle$  14h;  $\blacksquare$  16h;  $\blacktriangle$  18h;  $\blacksquare$  22h e  $\blacktriangle$  recuperação – 5h\*.

Plantas de *C. granulosa* apresentaram curvas de banda K positiva para os horários de maior intensidade e às 5 horas do dia seguinte de forma mais evidente (Fig 4B entre o ponto O e J). De uma forma geral, plantas de *C. granulosa* e *C. guttata* apresentam uma tendência a expressar banda K positiva ao longo dos primeiros horários da exposição à alta luz, principalmente entre 8 e 14h e entre 8 e 12h, respectivamente (Figuras 4B e 4D). O contrário acontece com as plantas de *C. amethystoglossa* e *C. walkeriana*, onde existe uma tendência em curvas negativas em resposta à alta luz após o pico máximo de fluxo de fótons (QSPAR), entre 14 e 18h e entre 12 e 18h, respectivamente (Figuras 4A e 4D). Valores positivos na banda K indicam danos ao FSII entre o lado doador e acceptor do fotossistema, resultante de um desbalanço entre o fluxo de elétrons do complexo evolutivo do oxigênio (CEO) para o centro de reação e lado acceptor do FSII em direção ao FSI (STRASSER, 1997; CHEN e CHENG, 2010).

Este fato mostrou que a exposição à alta luz causou diferentes comportamentos ao CEO das espécies estudadas, inibindo parcialmente ou não a doação de elétrons da água para o doador secundário do FSII,  $Y_z$  (SRIVASTAVA et al., 1997, STRASSER, 1997). Mecanismos para a estabilidade do CEO têm sido citados na literatura para diferentes espécies de plantas e tipos de estresses. O osmólito glicina betaina tem sido associado como fator de proteção do CEO sob condições de estresse hídrico e salino (PAPAGEORGIOU e MURATA 1995). De Ronde et al (2004), afirmam que danos ao CEO habilita rotas alternativas para o lado doador de elétrons (como prolina ou ascorbato) para doar elétrons para o FSII desencadeando um acúmulo de formas reduzidas de  $Q_A$  e feofitina, expressos por desvios na banda K em relação ao controle, a qual é proporcional a intensidade e duração do estresse (BUKHOV et al., 2001; DE RONDE et al., 2004).

A banda K é normalmente observada em plantas sob forte estresse de temperatura (GUISSE et al., 1995; SRIVASTAVA et al., 1995; SRIVASTAVA e STRASSER, 1996). Contudo, com o aumento da incidência luminosa também é possível verificar tal comportamento (GONÇALVES et al., 2007; GONÇALVES et al., 2010). A presença da banda K positiva representa inibição do CEO e está associada com

a limitação do lado doador do FSII (SRIVASTAVA et al., 1997; POSPÍSIL e DAU, 2000; TOMEK et al., 2001) Especificamente, neste cenário, a transferência de elétrons do CEO para o complexo  $Y_z$  é mais lenta do que a transferência de elétrons do P680 para a  $Q_A$  (JIANG et al., 2008).

Portanto, qualquer natureza de distúrbio fisiológico sobre o lado doador do FSII (STRASSER, 1997) em resposta à heterogeneidade de luz em um habitat pode ser evidenciada pela banda K. Para o período de exposição à alta luz (durante os primeiros horários do dia e entre 12 e 14h), foi observado em *C. granulosa* maiores danos ao CEO (Figura 4C). As outras espécies estudadas mostraram uma tendência em aumento da velocidade de reposição de elétrons para o complexo  $Y_z$  em relação à transferência de P680 para  $Q_A$ , resultando em maior estabilidade do FSII frente ao estímulo externo (STRASSER et al., 2004; TSMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008). Foi evidenciado incremento progressivo nesta estabilidade a partir dos desvios negativos entre 12 e 18h (Figuras 4A-C-D), principalmente em *C. walkeriana*.

Foram verificados desvios positivos da curva entre os pontos O e K para plantas de *C. granulosa* durante todos o período do experimento, de forma mais hiperbólica durante 8 e 14h. A inserção de um Box em cada uma das Figuras 4A-B-C-D representa a banda L,  $\Delta W_{OK} = W_{OK(\text{tratamento})} - W_{OK(\text{controle})}$ , [ $W_{OK} = (F_t - F_o)/(F_K - F_o)$ ]. Esta dupla normalização expressa de forma clara a perturbação do fluxo de elétrons a partir da emissão basal em  $F_o$  e da emissão aos 0,3 ms. Assim, as cinéticas relativas referentes ao fluxo de energia entre unidades de FSII ficam restritas entre os pontos O e K. Os distúrbios fisiológicos experimentalmente associados aos transientes, portanto, mostram-se mais evidentes do que no original O-J-I-P. A banda L em *C. granulosa* pode ser interpretada como indicativo para energia de conectividade entre unidades de FSII (Box da Figura 4B), o que representa menor energia de conectividade entre unidades de FSII e baixa estabilidade e utilização de energia nas unidades de FSII. Em plantas de *C. walkeriana*, foram observadas curvas positivas somente entre 8 e 10h e, que houve retorno da energia de conectividade ao fim do experimento em torno de 5h do dia seguinte, em um nível semelhante à condição controle (Box da Figura 4D).

Curvas negativas observadas na banda L representam alta energia de conectividade entre unidades de FSII, melhor aproveitamento de energia de excitação com alta estabilidade do sistema (OUKARROUM et al., 2007; YUSUF et al, 2010). A exposição à alta luz provocou distúrbios nos transientes da emissão de fluorescência de clorofila *a* em  $\Delta W_{OK}$  de forma semelhante para *C. amethystoglossa* e *C. gutatta* (Box da banda L, Figura 4A-C) ao longo do dia de exposição à luz solar plena, porém maior



amplitude de desvio positivo foi observado em *C. gutatta*. Os efeitos da banda L positiva associados a perdas no uso de energia de excitação podem estar associados ao desempilhamento de tilacóides (OUKARROUM et al., 2007).

O mecanismo de dissipação de energia não-fotoquímica é um excelente mecanismo de regulação do aparato fotossintético, evitando, assim, danos ao complexo coletor de luz e suas distintas subunidades pela exposição à alta luz (TAIZ e ZEIGER, 2009). O processo de perda de energia a partir do desvio positivo na banda L pode estar associado aos movimentos dos tilacóides que envolvem a degradação da proteína D1. Neste cenário o complexo de oxidação da água dissocia-se do PSII, seguido da dissociação das antenas periféricas. O PSII, então, migra da região granal para a região lamelar onde um precursor da proteína D1 é inserido. A etapa seguinte envolve o retorno do PSII para a região granal do tilacóide. O processamento e acilação da nova proteína D1 permitem que o PSII reassocie-se com as antenas periféricas e com o complexo de oxidação da água, sendo assim reativado (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009).

Desta forma, o estudo da associação entre o movimento de tilacóides e os desvios da banda L (OUKARROUM et al., 2007) e dos danos ao CEO do oxigênio pelos desvios da banda K (STRASSER et al., 2004) constituem indicadores em potencial para distúrbios fisiológicos antes do aparecimento de sintomas de estresse. Assim, o uso destas normalizações torna-se um eficiente instrumento científico relacionadas ao entendimento do estresse em plantas.

Distúrbios foram observados sobre a banda I,  $\Delta W_{Jm} = W_{Jm(\text{controle})} - W_{Jm(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{Jm} = (F_t - F_j) / (F_m - F_j)$  e  $\Delta W_{Jm} = 0$ , ao longo do dia. O efeito do tratamento de luz produziu sobre estes transientes desvios positivos e graduais entre 8 e 20h em *C. amethystoglossa* (Figura 4A entre 2 e 30ms) e *C. gutatta* (Figura 4C entre 2 e 30ms), porém mais pronunciado em *C. walkeriana* (Figura 4D entre 2 e 30ms). O distúrbio destes transientes em *C. granulosa* (Figura 4B entre 2 e 30ms) foi caracterizado por menor intensidade em comparação as outras 3 espécies estudadas, durante o período de exposição à alta luz. Após a fluência de fótons atingirem  $2350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e a temperatura foliar ficar em torno de  $41^\circ\text{C}$ , plantas de *C. granulosa* pareceram apresentar menor incremento para atividades de oxi-redução do intersistema e danos às atividades fotoquímicas em resposta a intensidade do estímulo externo (Figura 4B entre 2ms e 30ms).

No entanto, após este estímulo de alta irradiância, plantas de *C. amethystoglossa*, *C. gutatta* e *C. walkeriana* apresentaram severo incremento em desvios positivos da banda I entre 14 e 20h, considerando os transientes entre 2 e 30ms. Sinais de

recuperação foram mais pronunciados em *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* (Figura 4A e 4B entre 2 e 30ms) Existe, portanto, uma tendência de recuperação do *pool* de quinonas no intersistema. Desta forma, análises da banda I podem sugerir distúrbios sobre os eventos de oxi-redução da curva original O-J-I-P (SMIT et al., 2009), estabelecendo uma ligação entre o comportamento da banda L, K e os eventos associados a restrições funcionais da fotoquímica sobre o FSI (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009).

Observando a curva normalizada  $\Delta W_{Jm} = W_{Jm(\text{controle})} - W_{Jm(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{Jm} = (F_I - F_J)/(F_m - F_J)$  e  $\Delta W_{Jm} = 0$  no instante 30ms, foi verificado um  $\Delta I$  mais negativo para os horários de maior intensidade luminosa (eixo x das Figuras 4A-B-C-D). Este comportamento se deve tanto a incrementos em  $F_I$  ou a decréscimos em  $F_m$ . Representando, desta forma, mudanças relativas na proporção de  $Q_B$  não redutores, os quais são mais uma característica de fotoinibição do lado acceptor do FSII (SETLIK et al., 1990). Strasser et al. (2004), apontam este comportamento funcional como um mecanismo eficiente em dissipar calor ou energia excessiva para reduzir danos às subunidades do aparato fotossintético.

Foram observados distúrbios nos transientes O-L-K-I-P a partir da indução da fluorescência da clorofila *a* evidenciados pela dupla normalização que separa (1) os eventos de captura de energia que iniciam pelo FSII a partir da redução de plastoquinonas [fase O-I,  $W_{OI}$  de 0 até 1,  $W_{OI} = (F_I - F_o)/(F_I - F_o)$ , de acordo com YUSUF et al., 2010], (2) dos eventos de transferência de energia para os aceptores finais no lado acceptor do FSI, partindo do plastoquinol,  $PQH_2$  [fase I-P,  $W_{OI} \geq 1 = (F_I - F_I)/(F_I - F_o)$ , de acordo com LIN et al., 2009], os quais compõem as cinéticas médias para  $W_{OI}$  (Figuras 4E-F-G-H).

De maneira geral os resultados mostraram comportamento semelhante para as 4 espécies de Orchidaceae estudadas para curvas  $W_{OI}$ , com desvios abaixo da curva controle entre as 8 e 10h. No entanto, plantas de *C. amethystoglossa* mantiveram este desvio até as 12h e, neste mesmo período foi observado um desvio positivo acentuado em *C. walkeriana*. O desvio das curvas tratamento acima da curva controle observado nas espécies sob efeito de exposição à alta luz durante 16 e 5h do dia seguinte mostrou uma tendência de maior redução do lado acceptor do FSII. Pois, o FSII apresentou-se mais reduzido (lado em que os valores normalizados para  $W_{OI}$  estão entre 0 e 1) do que do lado acceptor do FSI, o qual tende a ser mais oxidado (lado em que  $W_{OI}$  é maior que 1). Estes resultados sugerem que houve maiores danos no lado acceptor do FSII que no lado acceptor do FSI (LIN et al., 2009). No entanto, as cinéticas relativas  $W_{OI}$

corroboram em parte a hipótese que o FSII é mais danificado por excesso de luz do que o FSI (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Ao longo do dia, quando a irradiância atingiu 2350 e 1899  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e a temperatura foliar ficou em torno de 41 e 40°C (12 e 14h) foram observados desvios positivos em ambos os lados de WOI. Este comportamento sugere um acúmulo de formas reduzidas do *pool* de quinonas e de aceptores finais do FSI e danos em ambas as unidades de fotossistemas. Em função destas inferências, supõe-se que durante os primeiros horários de exposição à alta luz o FSI tenha sido mais afetado do que FSII, o que pode ser verificado em função do acúmulo de formas reduzidas de aceptores finais (Ferridoxina e outros intermediários) durante 8 e 10h, de forma mais acentuada em *C. gutatta* (Figura 3G, WOI > 1).

O desvio positivo da fase I-P, representada por WOI > 1 ou pela banda I, é reportado a limitações associadas pelo FSI a partir da inativação de Ferridoxina NADP<sup>+</sup> oxidoreductase (FNR) (SCHANSKER et al., 2003; REDILAS et al., 2011). O lado de WOI > que 1, também, referem-se ao *pool* de aceptores finais no lado acceptor do FSI (YUSUF et al., 2010). Desta forma, foram observados incrementos no *pool* de aceptores finais do FSI ao longo do dia, de forma proporcional à intensidade da irradiância e temperatura foliar em *C. amethystoglossa*, *C. gutatta* e *C. walkeriana* (Figuras 4E-G-H, WOI > 1), com decréscimos neste *pool* às 20 e 5h do dia seguinte para *C. granulosa* (Figura 4F, WOI > 1).

Houve aumento de amplitude da fase IP nas 4 espécies estudadas entre 8 e 14h (Box da fase I-P, Figuras 4E-F-F-G). Decréscimos nas atividades de re-oxidação de aceptores finais da cadeia transportadora de elétrons no lado acceptor do FSI (TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER 2008, YUSUF et al., 2010) foram mais expressivos e com maior persistência de baixa taxa de re-oxidação em *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* (Box da fase I-P, Figura 4E-F). Nestas plantas os decréscimos foram observados a partir das 16h e 5h do dia seguinte, respectivamente.

Os resultados expressos no Box da fase I-P são corroborados pelas cinéticas de  $\Delta W_{IP}$ . Assim, estes resultados sugerem que plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* apresentem menor valor  $K_m$ ,  $\Delta W_{IP}$  ( $W_{IP(\text{tratamento})} - W_{IP(\text{controle})}$ ), entre 8-14h e 8-20h, respectivamente. A linha tracejada nos Box inseridos nas Figuras 4E-F-F-G refere-se à meia-vida da cinética de enzimas e está relacionada à força de atração de uma enzima por seu substrato (TAIZ e ZEIGER, 2009). Neste estudo meia-vida refere-se à afinidade para redução dos aceptores finais do lado acceptor do FSI. Assim, foi estabelecida uma ligação entre o valor  $k_m$  e os sinais de fluorescência transiente da fase

IP e  $\Delta W_{IP}$  (YUSUF et al., 2010; REDILLAS et al., 2011). Plantas de plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* que apresentaram foram associadas com maior afinidade de enzimas associadas à redução dos aceptores de elétrons do lado acceptor do FSI. No entanto, menor taxa de redução de aceptores finais do lado acceptor do FSI (ferredoxina-Fd, outros intermediários e NADP) (YUSUF et al., 2010, REDILLAS et al., 2011). Análises a partir da curva  $\Delta W_{IP}$  ( $W_{IP(\text{tratamento})} - W_{IP(\text{controle})}$ ) para *C. gutatta* e *C. walkeriana* entre 14 e 5 horas do dia seguinte evidenciaram maior valor  $K_m$ . Desta forma, observaram-se respostas semelhantes entre *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* que sugerem menor valor  $K_m$  (ca. 70% dos horários de exposição em alta luz) e, menor afinidade e taxa de oxi-redução em plantas de *C. gutatta e walkeriana* em resposta à alta luz (ca. 70% dos horários de exposição em alta luz), ao longo do experimento.

Por fim, quando se relacionou  $W_{OI} \geq 1$  com  $W_{IP}$  (veja detalhes nas Figuras 4E-F-G-H e respectivos Box inseridos), foi verificada independência entre as taxas de redução dos aceptores finais de elétrons no lado acceptor do FSI (Box inserido contendo Fase I-P, Figuras 4E-F-G-H) em relação ao tamanho do *pool* de aceptores finais ( $WOI > 1$ , Figuras 4E-F-G-H). Isto se deve ao fato que a taxa de redução não foi proporcional ao tamanho do *pool* destes aceptores (YUSUF et al., 2010; REDILLAS et al., 2011).

Neste estudo pode-se observar que determinadas condições depressivas da habilidade do FSII em reduzir o *pool* de aceptores de elétrons durante a exposição à alta luz, tais como os desvios positivos aos 2ms do original O-J-I-P e as cinéticas relativas, podem estar associadas ao declínio do montante de centros de reação (CRs) reduzidos expressos por meio da análise do ponto J da curva O-J-I-P. Assim, o distúrbio dos transientes apresentados neste estudo funcionou como uma medida para o número total de centros de reação que poderiam ser reduzidos  $V_J [= (F_J - F_o)/(F_m - F_o)]$ . O parâmetro  $V_J$  é associado à perda da capacidade de re-oxidar  $Q_A$  nas 4 espécies de orquídea estudadas (FORCE et al., 2003). Porém, *C. walkeriana* apresenta uma melhor recuperação deste potencial (Detalhes presentes nas Figuras 2, 3 e 4 durante o ponto J, 2ms, dos transientes do original O-J-I-P e cinéticas relativas).

O fator luz é essencial à sobrevivência de vegetais, inclusive de Orchidaceae. No entanto pode, também, representar limitações ao crescimento e desenvolvimento. Neste contexto, as propriedades fotoquímicas podem fornecer evidências valiosas a respeito de modulações do aparato fotossintético e respostas ecofisiológicas ao regime de luz do habitat (TAIZ e ZEIGER, 2009). As unidades fotossintéticas representam o sítio das reações fotoquímicas, as quais envolvem uma série de reações de separação e recombinação de cargas. Estes eventos fotoquímicos são mediados por um *pool* de

quinonas transportadoras de elétrons entre as unidades de FSII e FSI (STRASSER et al., 2004). Evidências experimentais associam distúrbios da fluorescência transiente O-J-I-P ao acúmulo de formas reduzidas de  $Q_A$  (KRAUSE e WEIS, 1991; LAZAR, 1999; GOVINDJEE, 1995; STIRBET e GOVINDJE, 2011) devido à atividade redutora do FSII e atividade de re-oxidação exercida pelo FSI. Assim, torna-se evidente a importância da manutenção do *pool* de quinonas primárias para um fluxo de energia com baixa entropia, ou seja, alta estabilidade entre as reações de redução de  $Q_A$  no FSII e re-oxidação pelo FSI ao custo de baixa perda de energia na forma de calor.

O acúmulo de formas reduzidas de  $Q_A$  pode levar à ocorrência de espécies reativas de oxigênio e a danos irreversíveis das proteínas do lado doador do FSII (CHEN et al., 2012). Danos ao FSII podem estar associados com baixa energia de conectividade. Assim, o tilacóide migra da região empilhada do cloroplasto, para outra desempilhada (OUKARROUM et al., 2007). Desta forma, a ação do FSI sob estas espécies reativas de oxigênio tende a reequilibrar as reações redox, fazendo com que os tilacóides voltem para a região empilhada (ARAÚJO e DEMICINIS, 2009) depois de cessado o fator de estresse. Assim, os desvios positivos da banda L e baixo valor Km observado em *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* (Box da Figura 3A-B e Figura 3E-F), podem sugerir que o fluxo de elétrons durante os horários de maior intensidade luminosa esteve associado a um super complexo envolvendo o FSI, citocromo  $b_6/f$  e FNR (JOILLOT e JOLIOT, 2002).

A prevenção de danos ao aparato fotossintético e suas subunidades ativas pode ser feito a partir da dissipação de energia excedente por meio de centros não redutores de quinonas, assim, a energia capturada é rapidamente perdida na forma de calor (ÖQUIST et al., 1992). O estímulo à alta luz em *C. granulosa* promoveu maior eficiência em dissipar energia excessiva durante as 12h ( $DI_0/RC$ , Figura 5B). Foi observada maior estabilidade para os distúrbios fisiológicos durante o fluxo de energia entre as unidades fotossintéticas, evidenciadas pela menor amplitude de desvios das curvas relativas em relação ao controle em *C. granulosa* (Figura 4B).

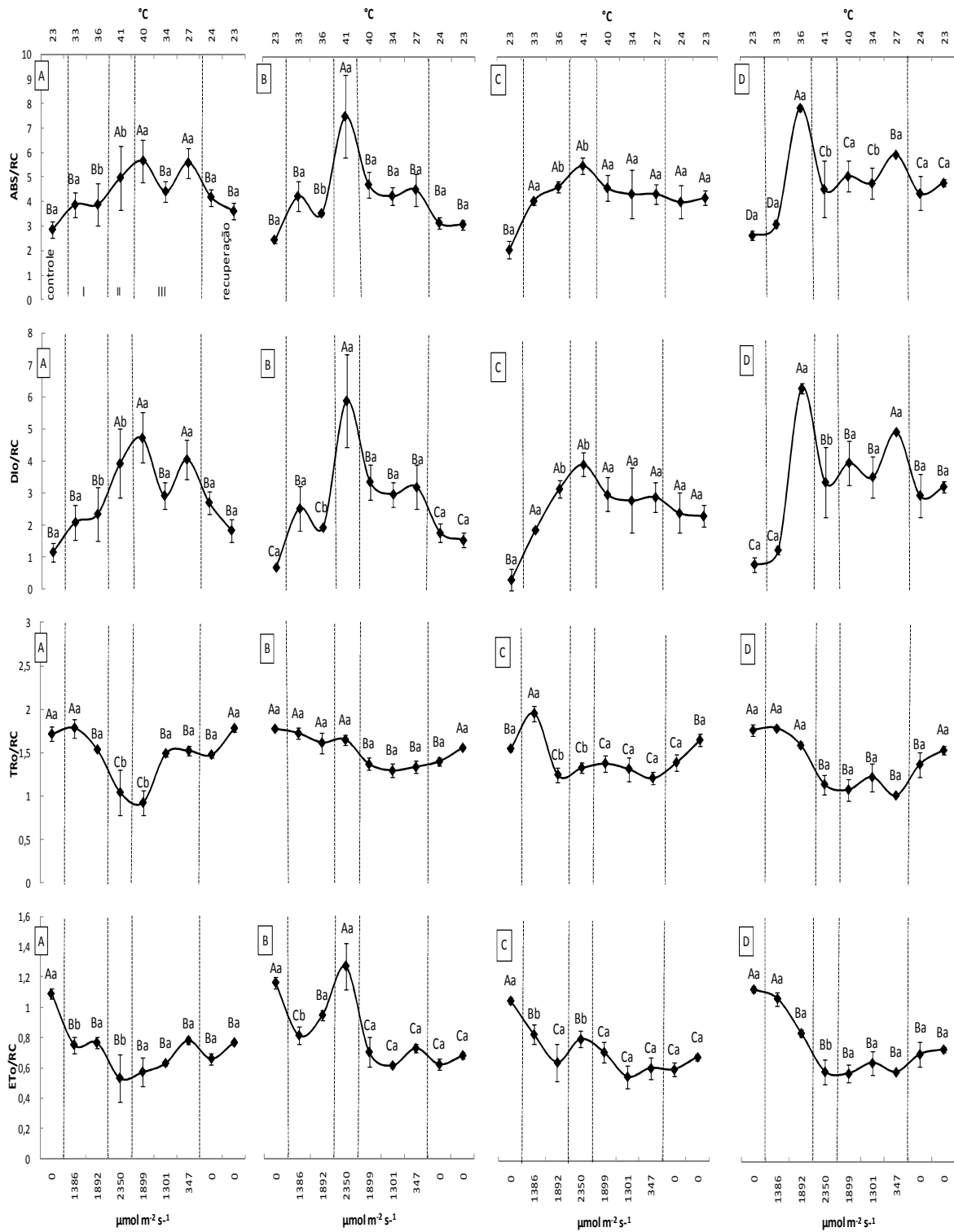


Figura 5: Parâmetros da transdução de energia por centro de reação em espécies de *Cattleya* Lindl. A refere-se a *C. amethystoglossa*, B a *C. granulosa*, C a *C. guttata* e D a *C. walkeriana*. I representa os horários da manhã, II o horário de mais alta fluência de fótons – meio dia, III média dos horários da tarde. Letras maiúsculas diferença significativa entre cada horário dentro da espécie. Letras minúsculas diferença significativa entre as espécies. Scott Knott 0,05%.

Adicionalmente, foi observado que nas 3 espécies que apresentaram menor eficiência em dissipar calor em resposta ao estímulo de luz às 12h, maior *pool* de aceptores finais do lado acceptor do FSI. Assim, foram gerados desvios mais positivos da curva nestas plantas em relação a *C. wakeriana* (Figuras 4E-F-G-H) e maiores amplitudes nos transientes relativos (Figuras 4A-B-C-D). Plantas de *C. amethystoglossa* e de *C. granulosa* mostram uma estratégia ecofisiológica semelhante ao longo do dia, respondendo à exposição da alta luz pela dissipação do excesso de energia de excitação na forma de calor e reestabelecendo a funcionalidade do uso deste mecanismo protetor ao fim do experimento.

Os fluxos específicos de energia em plantas de *C. gutatta* ( $DI_o/RC$ , Figura 5C) e *C. walkeriana* ( $DI_o/RC$ , Figura 5D) mostram estabilidade nos parâmetros de dissipação de energia, [ $DI_o/RC = (ABS/RC) - (TR_o/RC)$ ] e, na absorção de fótons por centro de reação,  $ABS/RC = M_o/V_J/\phi_{P_o}$ , ao longo do período de exposição a alta luz. Desta forma, foi observado menor habilidade em reajustar o aparato fotoquímico a mudanças bruscas no gradiente de luz natural, de forma menos eficiente em *C. gutatta* ( $ABS/RC$  e  $DI_o/RC$ , Figuras 5C).

Desta forma, indivíduos de *C. amethystoglossa* ( $ABS/RC$  e  $DI_o/RC$ , Figuras 5A) e de *C. granulosa* ( $ABS/RC$  e  $DI_o/RC$ , Figuras 5B) em ambientes sujeitos a alterações bruscas não fluxo de fótons apresentariam maior controle fisiológico de mecanismos protetores das unidades fotossintéticas, como foi observado por ÖQUIST et al., (1992) e STRASSER et al., (2004) em plantas sob efeito de alta luminosidade. Assim, plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa*, apresentaram maior plasticidade fisiológica que plantas de *C. gutatta* e *C. walkeriana*, para modular o aparato fotossintético em respostas aos distúrbios nas condições ambientais.

Foi observado recuperação nas taxas de captura de elétrons por centro de reação,  $TR_o/RC = M_o/V_J$ , e decréscimos para o transporte de elétrons capturados ao longo das subunidades fotossintéticas,  $ET_o/RC = (M_o/V_J)\psi_{E_o} = (M_o/V_J)(1 - V_J)$  nas 4 espécies estudadas ( $TR_o/RC$  e  $ET_o/RC$ , Figura 5), ao longo do dia. No entanto, foi verificado que plantas de *C. granulosa* apresentaram maior resistência à exposição à alta luz e, surpreendentemente, incrementos na taxa de transporte de elétrons quando à irradiância atingiu  $2350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e a temperatura foliar ficou em torno de  $41^\circ\text{C}$ . A estabilidade do transporte de elétrons em um patamar inferior ao controle em todas as espécies mostra ineficiência em regular as reações de transporte de elétrons ao longo de um dia, após a exposição à alta luz. Estes resultados reforçam a hipótese de que mecanismo

protetor em plantas sob o efeito de alta luz pode estar associado à maior dissipação da energia de excitação como o calor (ÖQUIST et al., 1992; STRASSER et al., 2004; TAIZ e ZEIGER, 2009), contribuindo em parte com decréscimos de energia transportada,  $ET_o/RC = (M_o/V_J)\psi_{Eo} = (M_o/V_J)(1 - V_J)$ .

Plantas de *Cattleya* estudadas puderam ser separadas em dois grupos, de acordo com a tendência apresentada para fotoinibição crônica (*C. gutatta* e *C. walkeriana*) ou dinâmica (*C. amethystoglossa* e *C. granulosa*) (Figura 6).

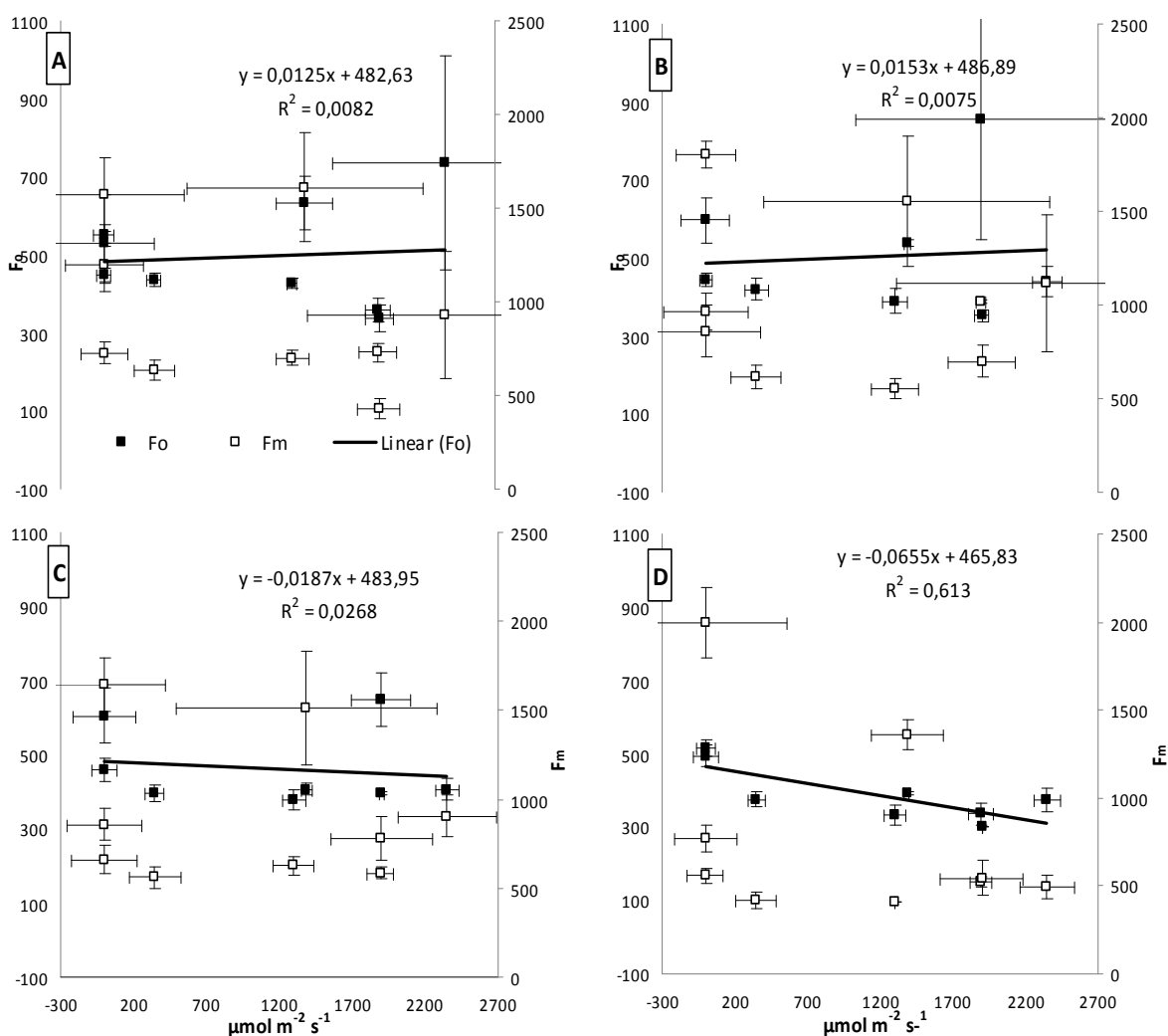


Figura 6: Fotoinibição dinâmica e crônica fundamentada na emissão de fluorescência basal em espécies de *Cattleya* Lindl. A refere-se a *C. amethystoglossa*, B a *C. granulosa*, C a *C. gutatta* e D a *C. walkeriana*. ■ refere-se a  $F_o$  e □ a  $F_m$ . Barras verticais representam erro padrão e horizontais o desvio padrão.



A ordenação de sinais de fluorescência basal sugere que as estratégias ecofisiológicas foram unidas em um eixo que pode indicar danos a proteína D1, seguido da ativação do ciclo da xantofila (DEMMING et al., 1987; GILMORE et al., 1996; YUSUF et al., 2010) ou a danos severos ao aparato fotossintético pela destruição da proteína 33-kDa e D1 (DEMMING-ADAMS et al., 1992; BARBER e ANDERSON, 1992; XU e WU, 1996). O estudo dos sinais da emissão de fluorescência basal possibilita inferir tendências à fotoinibição dinâmica ou crônica (DIAS e MARENCO, 2006).

Neste estudo, plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* apresentaram incrementos em  $F_o$  durante a exposição à alta luz e recuperaram os níveis iniciais de emissão de fluorescência basal (Figura 6A-B). Estes resultados permitem sugerir a ocorrência de fotoinibição dinâmica, em função da tendência em recuperação a um patamar próximo ao estado controle observado neste experimento.

Em estudos realizados por Hong e Xu (1999), Aro et al., (1993) e corroborados por Dias e Marenco (2006), a fotoinibição dinâmica fundamentada na emissão de fluorescência basal está associada à recuperação da eficiência fotoquímica do vegetal exposto à alta luz. No entanto, plantas de *C. gutatta* e *C. walkeriana* apresentaram declínio para os sinais de  $F_o$ , em função de um coeficiente angular negativo (Figura 6C-D). Fotoinibição crônica pode ser inferida pelo declínio em  $F_o$  para plantas de *C. gutatta* e *C. walkeriana*, podendo estar relacionado com danos irreversíveis das proteínas do lado doador do FSII (CHEN e CHENG, 2010). Fotoinibição crônica é também associada à relativa estabilidade na emissão de  $F_o$  frente a um fator de estresse abiótico pela alta luz (DIAS e MARENCO, 2006). Estes achados podem ser corroborados pela recuperação no rendimento quântico fotoquímico ( $\phi_{P_o} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$ ) significativamente maior durante o processo de resistência à alta luz (ARO et al., 1993) em plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* ( $\phi_{P_o}$ , Figura 7A-B).

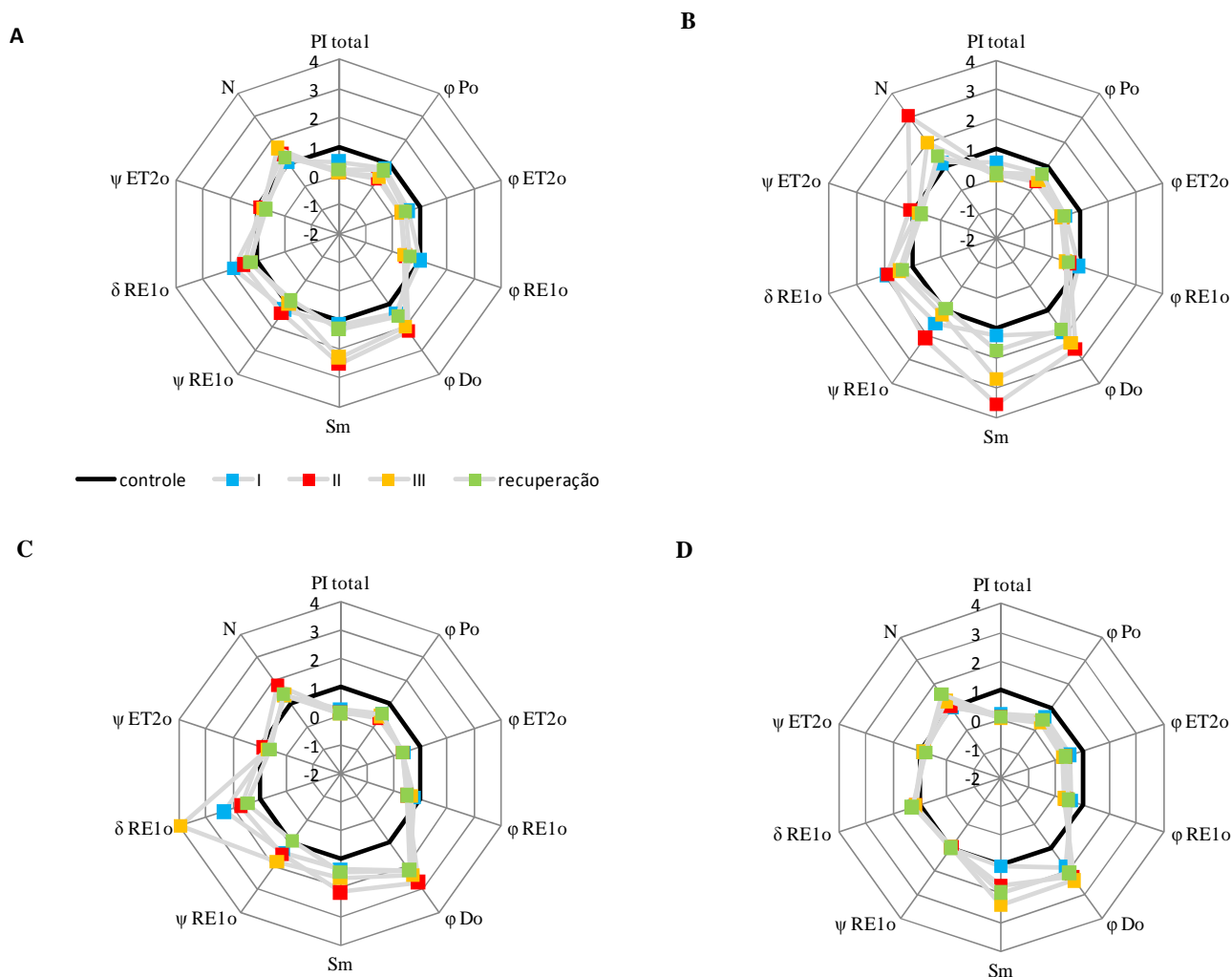


Figura 7: Radar composto parâmetros rendimento quântico fotoquímico do lado direito e parâmetros de eficiência de conservação de energia durante as reações redox do lado esquerdo. A refere-se a *C. amethystoglossa*, B a *C. granulosa*, C a *C. guttata* e D a *C. walkeriana*. ■ representa média dos horários da manhã, ■ o horário de mais alta fluência de fótons – meio-dia, ■ média dos horários da tarde e, ■ média da recuperação.

Foram observados decréscimos significativos no rendimento quântico fotoquímico máximo do FSII,  $\phi_{Po} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$  para as quatro espécies estudadas, porém com recuperação parcial mais elevada em *C. amethystoglossa* e *C. guttata* do que em *C. granulosa* e *C. walkeriana* (Figura 7), podendo estar relacionado à conversão de centros redutores de  $Q_A$  em centros não redutores ou dissipadores (HERMANS, 2003) durante o período de maior exposição à alta luz, e respectiva retomada de atividades redutoras (STRASSER et al, 2004) ao fim

do experimento. Para BAKER e ROSENQVIST (2004), decréscimos em  $\phi_{Po} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$ , podem ser considerados como indicadores de danos fotoinibitórios ao complexo FSII, alterando a forma das curvas OJIP, a qual pode ser desencadeada tanto por decréscimos em  $F_m$  ou em acréscimos de  $F_o$  (LIN *et al.* 2009).

No entanto, fotoinibição é melhor explicada quando é observado incrementos na dissipação de energia na forma de calor,  $DI_o/RC$ , [ $DI_o/RC = (ABS/RC) - (TR_o/RC)$ ], e decréscimos significativos na eficiência de conservação de energia para as reações redox após  $Q_A^-$ ,  $\psi_{Eo} = ET_o/TR_o = 1 - V_J$ , do que simplesmente declínios em  $\phi_{Po} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$  (FORCE *et al.*, 2003; JIANG *et al.*, 2008). Neste estudo, a partir da leitura dos processos ecofisiológicos expressos em rendimentos quânticos fotoquímicos, foi possível separar as espécies de orquídeas em dois grupos quanto à eficiência fotossintética. Assim, plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* mostraram estratégia ecofisiológica de maior eficiência no padrão de resistência ao excesso de luz, e plantas de *C. granulosa* e *C. walkeriana* apresentando baixa eficiência para resistência ao estresse induzido por alta luz. Porém, não é possível explicar totalmente fotoinibição fundamentando os resultados exclusivamente em rendimento quântico fotoquímico das reações primárias da fotoquímica da fotossíntese (CHRISTEN *et al.*, 2007).

A baixa sensibilidade no parâmetro biofísico  $\phi_{Po} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$  foi também observada por Oukarroum *et al.* (2007) que estudaram o estresse hídrico e recuperação após a re-hidratação em plantas de *Hordeum vulgare* L.  $DI_o/RC$ , [ $DI_o/RC = (ABS/RC) - (TR_o/RC)$ ] representa a energia total dissipada e não capturada por centros de reação ativos (FORCE *et al.*, 2003). A fotoinibição observada neste estudo pode ser associada ao aumento gradual na fluorescência relativa variável no ponto I do transiente O-J-I-P,  $V_I = (F_{30ms} - F_o)/(F_m - F_o)$ ; pela dissipação de energia fotoquímica na forma de calor ao longo do gradiente de luz (estabilizado em *C. amethystoglossa* e *C. granulosa*); e pelo decréscimo na eficiência de conservação de energia capturada durante os processos redox das unidades fotossintéticas.

Com a exposição à alta luz, a absorção de fótons por centro de reação ativos,  $ABS/RC = M_o/V_J/\phi_{Po}$ , aumentou significativamente durante o período de maior intensidade luminosa (Figura 5). O incremento em  $ABS/RC$  foi acompanhado pelo decréscimo na eficiência fotossintética,  $\phi_{Po} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$ , e da densidade de centros de reação ativos,  $\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})$ , (Figura 7 e tabela 2). O tamanho efetivo da antena,  $ABS/RC$ , é calculado como o número total de fótons absorvidos por

molécula de clorofila de todos os CRs dividido pelo número total de CRs ativos (MEHTA et al., 2010). Neste contexto, valores de ABS/RC podem ser influenciados pela razão de centros de reação ativos e inativos. Assim, o parâmetro ABS/RC pode representar (I) CRs inativos transformados em  $Q_A$  não redutores de FSII, quando decréscimos em ABS/RC são observados em associação com a estabilidade da captura de elétrons,  $TR_o/RC$  e decréscimos em  $\phi_{P_o}$  e  $\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$ ; ou (II) o tamanho funcional da antena quando existe um comportamento proporcional entre  $\phi_{P_o}$  e ABS/RC (YUSUF et al., 2010). Este estudo mostrou que em plantas expostas à alta luz, houve um empenho fisiológico entre as espécies de orquídeas em aumentar o montante de  $Q_A$  não redutores de FSII como forma de dissipar a energia excedente do meio, acompanhado pela estabilidade da captura de elétrons. No entanto, o esforço fisiológico foi ineficiente em *C. gutatta* e *C. walkeriana*, em função da modulação da antena em recrutar um maior contingente de pigmentos acessórios permanecerem acima da condição controle ao fim do experimento (Figura 5C-D), resultado que implica a redução no rendimento quântico fotoquímico e em índices de desempenho (Figura 7 e tabela 2).

Tabela 2: Mudanças nos parâmetros componentes do índice de desempenho no Fotossistema II

Mudanças nos parâmetros componentes do índice de vitalidade no Fotossistema II							
Espécies	Tratamentos	Irradiância	Parâmetros do teste JIP				
			$[\gamma_{RC2}/(1-\gamma_{RC2})]$	$[\phi_o/(1-\phi_o)]$	$[\Psi_{ET2o}/(1-\Psi_{ET2o})]$	PI <sub>ABS</sub>	
<i>Cattleya amethystoglossa</i>	controle	0	<sup>A</sup> 3,82 ± 0,37 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 2,09 ± 0,35 (100) <sup>b</sup>	<sup>A</sup> 2,01 ± 0,32 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 17,21 ± 3,88 (100) <sup>c</sup>	
		1386	<sup>B</sup> 2,78 ± 0,22 (72) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,21 ± 0,22 (59) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,86 ± 0,15 (42) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 2,61 ± 0,60 (15) <sup>b</sup>	
	I	1892	<sup>B</sup> 3,11 ± 0,37 (81) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 1,02 ± 0,18 (48) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,04 ± 0,09 (51) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 4,06 ± 0,97 (23) <sup>a</sup>	
		2350	<sup>C</sup> 2,45 ± 0,95 (64) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,25 ± 0,02 (11) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,14 ± 0,10 (56) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 0,70 ± 0,24 (4) <sup>a</sup>	
	II	1899	<sup>C</sup> 2,09 ± 0,31 (54) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,23 ± 0,07 (11) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 1,67 ± 0,22 (83) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,76 ± 0,25 (4) <sup>a</sup>	
		1301	<sup>C</sup> 2,40 ± 0,20 (62) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,59 ± 0,09 (28) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,73 ± 0,02 (36) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,18 ± 0,30 (6) <sup>a</sup>	
	III	347	<sup>C</sup> 1,97 ± 0,25 (51) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,44 ± 0,07 (21) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,09 ± 0,08 (54) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,13 ± 0,46 (6) <sup>a</sup>	
		0	<sup>C</sup> 2,49 ± 0,18 (65) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,61 ± 0,08 (29) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,82 ± 0,07 (40) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,41 ± 0,33 (8) <sup>a</sup>	
	recuperação	0	<sup>B</sup> 2,92 ± 0,23 (76) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,17 ± 0,17 (55) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,76 ± 0,03 (37) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 2,78 ± 0,52 (16) <sup>a</sup>	
		0	<sup>A</sup> 4,05 ± 0,18 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 2,52 ± 0,18 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 1,93 ± 0,11 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 21,08 ± 3,70 (100) <sup>b</sup>	
<i>Cattleya granulosa</i>	controle	1386	<sup>B</sup> 2,59 ± 0,28 (63) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,15 ± 0,30 (52) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 1,04 ± 0,19 (53) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 2,64 ± 0,59 (12) <sup>b</sup>	
		1892	<sup>B</sup> 2,78 ± 0,03 (68) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,81 ± 0,03 (32) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,51 ± 0,16 (78) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 3,38 ± 0,26 (16) <sup>a</sup>	
	I	2350	<sup>B</sup> 1,69 ± 0,30 (41) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 0,37 ± 0,10 (14) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,45 ± 0,12 (75) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,14 ± 0,42 (5) <sup>a</sup>	
		1899	<sup>B</sup> 2,33 ± 0,32 (57) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,56 ± 0,15 (22) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 1,06 ± 0,05 (54) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 1,92 ± 0,93 (9) <sup>a</sup>	
	II	1301	<sup>B</sup> 2,46 ± 0,24 (60) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,50 ± 0,08 (19) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,92 ± 0,05 (47) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,21 ± 0,32 (5) <sup>a</sup>	
		347	<sup>B</sup> 2,51 ± 0,32 (61) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,59 ± 0,12 (23) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,33 ± 0,24 (68) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,93 ± 0,50 (9) <sup>a</sup>	
	III	0	<sup>A</sup> 3,24 ± 0,23 (80) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,97 ± 0,18 (38) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,81 ± 0,05 (41) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 2,65 ± 0,62 (12) <sup>a</sup>	
		0	<sup>A</sup> 3,27 ± 0,19 (80) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,14 ± 0,16 (45) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,78 ± 0,02 (40) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 3,05 ± 0,61 (14) <sup>a</sup>	
	<i>Cattleya guttata</i>	controle	0	<sup>A</sup> 4,74 ± 0,38 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 2,66 ± 0,11 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 2,10 ± 0,13 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 27,30 ± 3,54 (100) <sup>a</sup>
			1386	<sup>B</sup> 2,45 ± 0,13 (51) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,06 ± 0,17 (39) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,94 ± 0,22 (44) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 1,79 ± 0,21 (6) <sup>b</sup>
I		1892	<sup>B</sup> 2,19 ± 0,18 (46) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,41 ± 0,07 (15) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 1,07 ± 0,11 (50) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 1,22 ± 0,42 (4) <sup>a</sup>	
		2350	<sup>B</sup> 1,88 ± 0,15 (39) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 0,36 ± 0,05 (13) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,64 ± 0,28 (78) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,23 ± 0,34 (4) <sup>a</sup>	
II		1899	<sup>B</sup> 2,56 ± 0,33 (54) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,77 ± 0,20 (28) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 1,06 ± 0,06 (50) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 2,67 ± 0,94 (9) <sup>a</sup>	
		1301	<sup>B</sup> 2,36 ± 0,17 (49) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,52 ± 0,09 (19) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,73 ± 0,10 (34) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,10 ± 0,27 (4) <sup>a</sup>	
III		347	<sup>B</sup> 2,54 ± 0,30 (53) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,45 ± 0,06 (16) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 1,04 ± 0,08 (49) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,34 ± 0,27 (4) <sup>a</sup>	
		0	<sup>B</sup> 2,51 ± 0,19 (52) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,63 ± 0,12 (23) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,77 ± 0,04 (36) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,25 ± 0,30 (4) <sup>a</sup>	
recuperação		0	<sup>B</sup> 2,57 ± 0,24 (54) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 0,84 ± 0,12 (31) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 0,76 ± 0,13 (36) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,51 ± 0,27 (5) <sup>a</sup>	
		0	<sup>A</sup> 3,82 ± 0,18 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 2,20 ± 0,24 (100) <sup>b</sup>	<sup>A</sup> 1,83 ± 0,17 (100) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 17,13 ± 3,74 (100) <sup>c</sup>	
<i>Cattleya walkeriana</i>	controle	1386	<sup>A</sup> 3,24 ± 0,11 (84) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,44 ± 0,12 (65) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 1,49 ± 0,05 (81) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 7,17 ± 0,84 (41) <sup>a</sup>	
		1892	<sup>B</sup> 1,54 ± 0,27 (40) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 0,31 ± 0,05 (14) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 1,14 ± 0,10 (62) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 0,72 ± 0,26 (4) <sup>a</sup>	
	I	2350	<sup>B</sup> 2,59 ± 0,37 (67) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,39 ± 0,06 (17) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,14 ± 0,08 (62) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 1,31 ± 0,29 (7) <sup>a</sup>	
		1899	<sup>B</sup> 1,59 ± 0,85 (41) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,36 ± 0,11 (16) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,22 ± 0,08 (66) <sup>b</sup>	<sup>C</sup> 1,18 ± 0,59 (6) <sup>a</sup>	
	II	1301	<sup>B</sup> 2,08 ± 0,00 (54) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,34 ± 0,00 (15) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,12 ± 0,00 (61) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,79 ± 0,00 (4) <sup>a</sup>	
		347	<sup>B</sup> 1,45 ± 0,49 (37) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,22 ± 0,04 (10) <sup>a</sup>	<sup>A</sup> 1,43 ± 0,12 (78) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,51 ± 0,16 (4) <sup>a</sup>	
	III	0	<sup>B</sup> 2,29 ± 0,07 (59) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,47 ± 0,03 (21) <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 1,06 ± 0,03 (57) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 1,17 ± 0,13 (6) <sup>a</sup>	
		0	<sup>B</sup> 2,15 ± 0,16 (56) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 0,53 ± 0,09 (24) <sup>b</sup>	<sup>B</sup> 0,93 ± 0,03 (50) <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 1,13 ± 0,25 (6) <sup>a</sup>	

I média dos horários da manhã, II horário de mais alta fluência de fótons, III média dos valores da tarde. Letras maiúsculas diferença significativa entre cada horário dentro da espécie. Letras minúsculas diferença significativa entre as espécies. Scott Knott 0,05%.

Os resultados da Figura 7 descrevem os decréscimos em todos os parâmetros de rendimento quântico fotoquímico do FSII, do intersistema e do FSI ( $\phi_{P_0} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$ ,  $\phi_{E_0} = \phi_{P_0} \psi_{E_0} = (TR_o/ABS)(ET_o/TR_o) = ET_o/ABS = (1 - F_o/F_m)(1 - V_J)$  e  $\phi_{R_0} = RE_o/ABS = \phi_{P_0} \psi_{E_0} \delta_{R_0}$ ). Foram observados incrementos nos parâmetros de eficiência de conservação de energia para as três subunidades fotossintéticas ( $\psi_{E_0} = ET_o/TR_o = 1 - V_J$ ,  $\delta_{R_0} = RE_o/ET_o = (1 - V_I)/(1 - V_J)$  e  $\rho_{R_0} = RE_o/TR_o = \psi_{E_0} \delta_{R_0}$ ), de forma semelhante entre as 4 espécies. Isto significou que todas as atividades fotoquímicas e não fotoquímicas foram perturbadas de forma negativa. No entanto, expressando a mesma estratégia em aumentar a eficiência de conservação de energia das reações de oxi-redução de quinonas para compensar a perda por energia na forma de calor [ $\phi_{D_0} = DI_o/ABS = 1 - \phi_{P_0} = F_o/F_m$ ]. Este fato pode ser comprovado pela maior expressão de turnover de re-oxidação de  $Q_A$ ,  $N = (S_m)(M_o/V_J)$ , em relação ao controle. Durante os períodos de maior intensidade luminosa, plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* apresentaram incremento para o total de elétrons carregados,  $S_m = Area/(F_m - F_o) = Area/F_v$ , que pareceu ser maior que o montante de energia dissipada, [ $\phi_{D_0} = DI_o/ABS = 1 - \phi_{P_0} = F_o/F_m$ ]. Fato contrário se expressou em *C. gutatta* e em *C. walkeriana*.

Danos foram mais concentrados sobre o FSII do que no FSI. Como observado na tabela 2, os componentes do índice de desempenho em *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* apresentaram maior recuperação da densidade de centros de reação redutores de  $Q_A$  o que implica o melhor desempenho de resistência das fases termais e fotoquímicas dos eventos de oxi-redução das subunidades fotossintéticas (YUSUF *et al.*, 2010), com 76 e 80% de recuperação, respectivamente para a densidade de centros de reação por clorofila [ $\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC}) = RC/ABS = (RC/TR_o)(TR_o/ABS) = (V_J/M_o)(F_v/F_m)$ ]. Assim, observou-se também que a perda da capacidade de absorver, capturar, transportar elétrons e reduzir subunidades fotossintéticas pode ser evidenciada pelos parâmetros de índice de desempenho de conservação de energia para redução do intersistema,  $PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})] [\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})] [\psi_{E_0}/(1 - \psi_{E_0})]$  e pelo índice de desempenho para conservação de energia para redução dos aceptores finais do FSI,  $PI_{total} = [\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})] [\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})] [\psi_{E_0}/(1 - \psi_{E_0})] [\delta_{R_0}/(1 - \delta_{R_0})]$ , (Figura 7 e tabela 2).

O índice de desempenho (CHRISTEN *et al.*, 2007) é um dos parâmetros empregados na análise de respostas de plantas ao estresse (OUKARROUM *et al.*, 2007). O índice de desempenho (PI) melhor descreve as respostas de uma planta a um determinado tipo de estresse. Este índice é composto pelas reações redox da fase fotoquímica O-J e, pelas fases termais J-I e I-P (LAZÁR 1999) durante o transiente

original O-J-I-P. Valores de PI podem ser calculados a partir de três ( $PI_{ABS}$ ) ou quatro ( $PI_{total}$ ) componentes os quais incluem: (1)  $\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$ , uma expressão relacionada à densidade de centros de reação ativos no FSII; (2)  $\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$ , relativo à fotoquímica primária; (3)  $\psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})$ , um componente que descreve as reações redox do intersistema; (4) e  $\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})$  relativo à oxidação e redução dos aceptores finais no lado acceptor do FSI (STRASSER et al., 2004; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER 2008). Valores de PI são alterados quando um estresse ambiental afeta um destes componentes de forma isolada ou combinada, mostrando o quão eficiente é este parâmetro para descrever o comportamento ecofisiológico de espécies vegetais sob algum efeito de estresse (STIRBET e GOVINDJEE 2011).

### 3.2 Exposição de plantas de orquídeas às manchas de sol

A fluorescência transiente da clorofila *a* em plantas de *C. warneri*, *C. harrisoniana* e em *C. schofieldiana* foram registradas e apresentadas em escala logarítmica. Estas medidas evidenciaram o aumento polifásico característico das curvas O-J-I-P, representando o status do transporte de elétrons ao longo da cadeia transportadora (SCHANKER et al., 2005). As fases O-J (50 $\mu$ s - 2ms), J-I (2ms - 30ms) e, I-P (30ms - 300ms) referem-se aos eventos da fotoquímica primária da fotossíntese do lado acceptor do fotossistema II, os processos de redução do intersistema e aos processos de redução do *pool* de aceptores finais no lado acceptor do fotossistema I, respectivamente (JOLIOT e JOLIOT, 2002; CHRSTEM et al., 2007; TÓTH et al., 2007). A banda L,  $\Delta W_{OK} = W_{OK(\text{tratamento})} - W_{OK(\text{controle})}$ , [ $W_{OK} = (F_t - F_o)/(F_K - F_o)$ ] e, Banda K,  $\Delta W_{OJ} = W_{OJ(\text{controle})} - W_{OJ(\text{tratamento})}$ , onde  $W_{OJ} = (F_t - F_o)/(F_J - F_o)$  e  $\Delta W_{OJ}$ , foram associadas à energia de conectividade entre unidades de FSII e distúrbios no complexo evolutivo do oxigênio, respectivamente (OUKARROUM et al., 2007; STRASSER et al., 2004).

As 3 espécies de *Cattleya* apresentaram curvas transientes O-J-I-P com comportamento típico polifásico (STRASSER et al., 1995) durante T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> (correspondente à exposição ao pleno sol durante 5, 35 e 120 minutos, respectivamente) com aumento da magnitude dos sinais de fluorescência desde um nível basal (F<sub>o</sub>) até um nível máximo (F<sub>m</sub>) com pontos intermediários J e I bem definidos. Este resultado demonstra que todas as amostras analisadas permaneceram fotossinteticamente ativas (MEHTA et al., 2010; YUSUF et al., 2010) (Figuras 8,9 e 10).



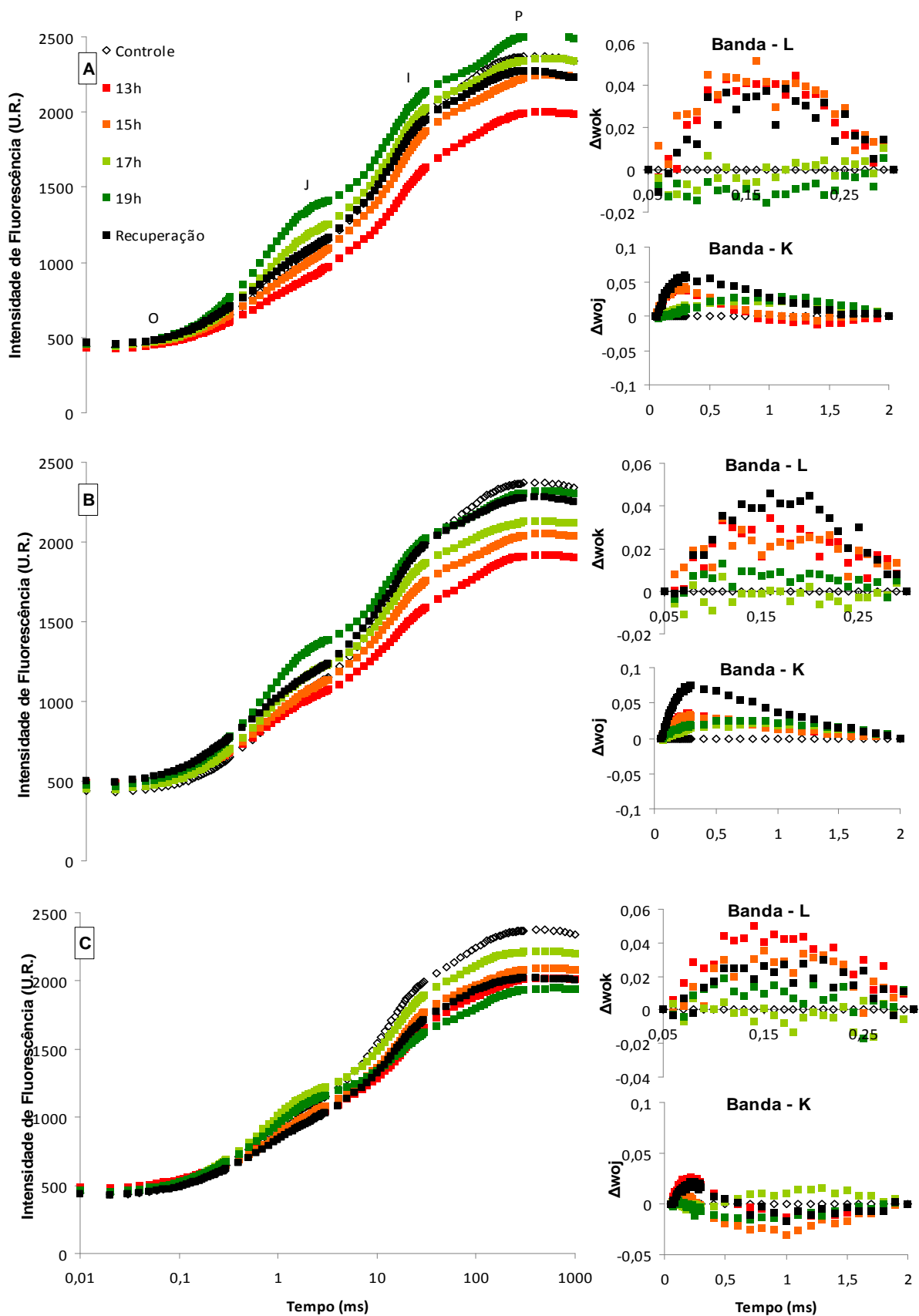


Figura 8: Curva O-L-K-J-I-P em *C. warneri* após 5 min (A –  $T_1$ ), 35 min (B –  $T_2$ ) e 120 min (C –  $T_3$ ) de exposição às manchas solares.  $\diamond$  - controle; ■ - mancha solar às 13h (distúrbio); ■ - pós-distúrbio 15h; ■ - pós-distúrbio 17h; ■ - pós-distúrbio 19h; ■ - recuperação.

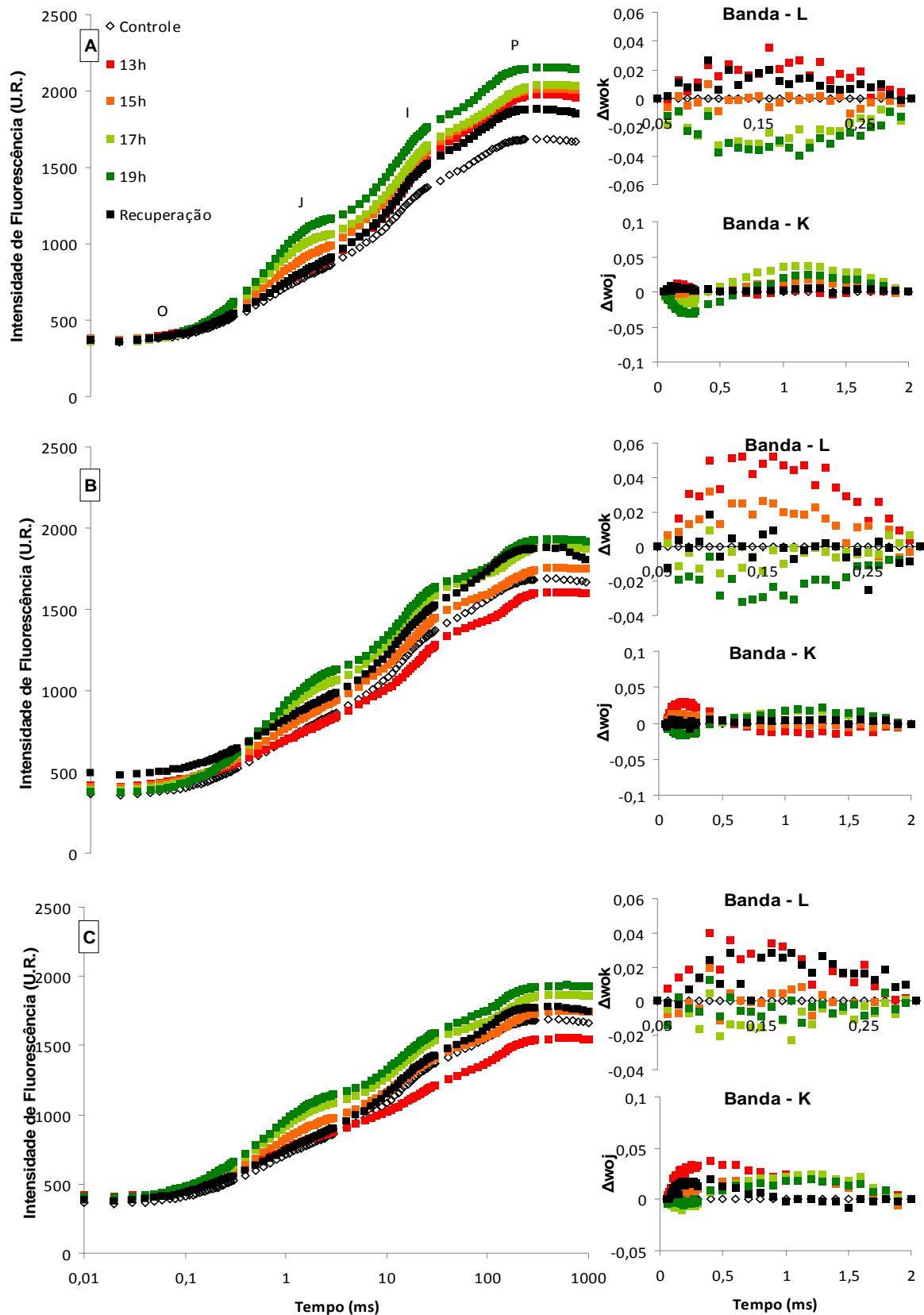


Figura 9: Curva O-L-K-J-I-P em *Cattleya harrisoniana* após 5 min (A –  $T_1$ ), 35 min (B –  $T_2$ ) e 120 min (C –  $T_3$ ) de exposição às manchas solares.  $\diamond$  - controle;  $\blacksquare$  - mancha solar às 13h (distúrbio);  $\blacksquare$  - pós-distúrbio 15h;  $\blacksquare$  - pós-distúrbio 17h;  $\blacksquare$  - pós-distúrbio 19h;  $\blacksquare$  - recuperação.

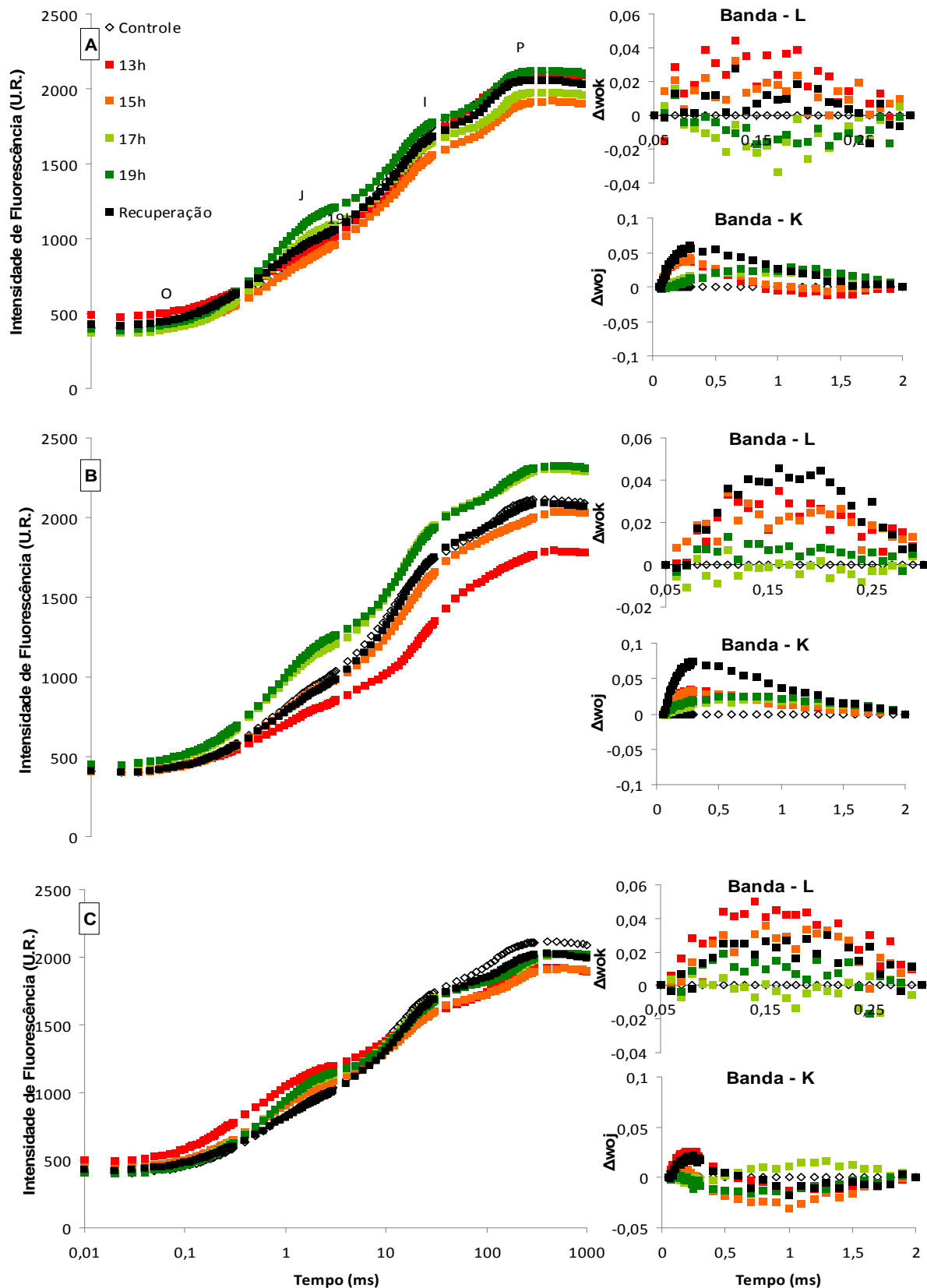


Figura 10: Curva O-L-K-J-I-P em *C. schofieldiana* após 5 min (A – T<sub>1</sub>), 35 min (B – T<sub>2</sub>) e 120 min (C – T<sub>3</sub>) de exposição às manchas solares.  $\diamond$  - controle;  $\color{red}\blacksquare$  - mancha solar às 13h (distúrbio);  $\color{orange}\blacksquare$  - pós-distúrbio 15h;  $\color{lightgreen}\blacksquare$  - pós-distúrbio 17h;  $\color{darkgreen}\blacksquare$  - pós-distúrbio 19h;  $\blacksquare$  - recuperação.

No entanto, verificou-se maior *pool* de aceptores de elétrons nas plantas de *C. warneri*, representado pela área acima da curva de fluorescência, a qual foi maior em relação às plantas de *C. harrisoniana* e *C. schofieldiana* ao longo do experimento (área acima da curva de fluorescência entre  $F_0$  e  $F_m$ , Figuras 8-9-10). O efeito de exposição das plantas à mancha solar (às 13h, distúrbio) reduziu a Area (Area complementar total entre a curva de indução de fluorescência e  $F_m$  – parâmetro técnico do teste JIP) nas plantas de *C. warneri* após o distúrbio (15, 17 e 19h), e, também, sobre a área acima da curva de emissão de fluorescência (área acima da curva O-J-I-P), quando a mancha solar foi de 35 e 120' ( $T_2$  e  $T_3$ , respectivamente - Figuras 8B-C). Entretanto, em  $T_1$  foi observado aumento no *pool* de aceptores de elétrons. Desta forma, a mancha solar de 5' favoreceu a eficiência fotossintética de *C. warneri* (Figura 8A).

O comportamento dos transientes na banda L de *C. warneri* (Box inserido na Figura 8) durante as 17 e 19h sugeriram um aumento na energia de conectividade entre unidades de FSII em função das curvas negativas da banda L, as quais representaram alta energia de conectividade entre unidades de FSII e melhor aproveitamento de energia de excitação com alta estabilidade do sistema (YUSUF et al., 2010), de forma mais evidente em  $T_1$ . Entretanto, curvas positivas observadas em *C. warneri* às 13 e 15h sugerem perdas no uso de energia de excitação (STRASSER, 1997; OUKARROUM et al., 2007). A curva referente à recuperação, avaliada durante os primeiros horários da manhã do dia seguinte, indicou que reduções na energia de conectividade podem representar uma estratégia eficiente para manter um elevado *pool* de aceptores de elétrons em estado oxidado, como indicado pelo transiente O-J-I-P e banda L para *C. warneri*, os quais se mostraram mais hiperbólicas em  $T_1$  e  $T_2$  (Figura 8A-B). Assim, inferiu-se que o deslocamento dos tilacóides para a região desempilhada (sugerido pelo desvio positivo da banda L), redistribuiu a energia para o FSI, e este atuou na re-oxidação do *pool* de quinonas (JOLIOT e JOLIOT, 2006), contribuindo para maior área acima da curva O-J-I-P.

Os desvios positivos na banda K observados em  $T_1$  e  $T_2$  para *C. warneri* (Box inserido na Figura 8A-B), sugerem decréscimos na velocidade de reposição de elétrons no complexo de evolução do oxigênio (CEO) associado ao fotossistema II. Este fato possivelmente reflete aumentos na fluorescência relativa aos 2ms,  $V_J$ , em função de acúmulo de  $Q_A$  na forma reduzida em resposta à exposição à alta luz, o que pode estar bloqueando parcialmente o fluxo de elétrons (MEHTA et al., 2010) entre  $Q_A$  e  $Q_B$  (MSILINI et al., 2011). Estes resultados podem ser confirmados com a redução da área acima da curva de indução de fluorescência, como observado na Figura 8. Entretanto,

em T<sub>3</sub> (Figura 8C), foram observados ausência de desvio positivo na banda K em relação ao controle. Este resultado pode explicar, em parte, a maior estabilidade nos distúrbios do transiente O-J-I-P observados em *C. warneri*, o que pode estar associado à tendência em aumentar a energia de conectividade entre unidades de FSII, de forma menos hiperbólica em T<sub>3</sub> em comparação a T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> (Box inseridos na Figura 8).

Manchas de sol produziram aumento no *pool* de aceptores de elétrons em *C. harrisoniana* nos três tratamentos de luz. Porém, em T<sub>1</sub> (Figura 9A) foi observado maior *pool* de aceptores de elétrons e maior energia de conectividade, banda L pronunciada de forma mais negativa em comparação aos outros tratamentos T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> (Figura 9B-C). Foi possível verificar, também, para esta espécie que em T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> ocorreu a mesma estratégia ecofisiológica para dinâmica do *pool* de aceptores de elétrons após o distúrbio da mancha solar. Assim, foi observado incremento na área acima da curva de indução de emissão de fluorescência em relação ao controle. Entretanto, a conservação do *pool* de aceptores de elétrons ao longo do período pós-distúrbio apresentou-se de forma mais eficiente em T<sub>3</sub> em relação a T<sub>2</sub>, devido à menor heterogeneidade de emissão de fluorescência basal F<sub>0</sub> (JIANG et al., 2008) e estabilidade na energia de conectividade entre unidades de FSII (OUKARROUM et al., 2007).

Desvios positivos da banda K foram semelhantes para os horários pós-distúrbio em T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, ou seja, durante os períodos de sombra subsequentes à mancha solar nos distintos tratamentos de luz em *C. schofieldiana* e *C. warneri* (Box inseridos nas Figuras 8-10). Desta forma, sugere-se uma estratégia ecofisiológica semelhante para distúrbios no complexo Y<sub>z</sub> relativos a uma menor velocidade de reposição de elétrons durante T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>. Maior estabilidade de transferência de elétrons entre o lado doador e receptor do FSII (STRASSER et al., 2004; TSMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008) foram observados em T<sub>3</sub> para estas espécies, porém com um desvio positivo mais pronunciado em *C. schofieldiana* seguido de retorno à condição controle ao fim do experimento. Plantas de *C. Schofieldiana* apresentaram maior *pool* de elétrons durante T<sub>2</sub>, mostrando que manchas solares de aproximadamente 35 minutos são mais eficientes em incrementar o rendimento de uso de energia de excitação (Figura 9B). No entanto, foram observados danos mais expressivos ao CEO (Box da banda K, Figura 10) e menor energia de conectividade durante T<sub>2</sub> (Box da banda L, Figura 10).

Plantas de *C. harrisoniana* apresentaram desvios negativos para banda K (Box da Figura 9), o que sugere maior estabilidade para transferência de elétrons entre o lado doador e receptor do FSII (SRIVASTAVA et al., 1997; STRASSER, 1997). Durante as manchas solares (Box da Figura 9A), foi observado que os desvios positivos da banda K

em  $T_2$  e  $T_3$  foram pouco expressivos (Box das Figuras 9B-C). Desta forma, espécies de *C. harrisoniana* apresentam maior estabilidade a ambientes com maior fluência de fótons em comparação as outras duas espécies de *Cattleya*, para separação e recombinação de cargas do FSII.

Banda K positiva é usualmente observada em plantas sob o efeito de estresse luminoso (GONÇALVES et al., 2007). A presença de banda K positiva representa inibição do complexo evolutivo do oxigênio (CEO) e está associado com a limitação do lado doador do FSII (SRIVASTAVA et al., 1997; POSPÍSIL e DAU, 2000; TOMEK et al., 2001). Assim, o desvio positivo em relação à curva controle  $\Delta W_{OJ} = W_{OJ(\text{tratamento})} - W_{OJ(\text{controle})} = 0$ , onde  $W_{OJ} = (F_T - F_o)/(F_J - F_o)$ , resulta de uma velocidade de transferência de elétrons do CEO para o complexo  $Y_z$  menor que a velocidade de transferência de elétrons do P680 para a  $Q_A$ . Este distúrbio de funcionalidade provoca oscilações nos transientes entre  $F_o$  e  $F_J$ . Desta forma, qualquer natureza deste distúrbio é evidenciada pela banda K (STRASSER, 1997).

Rotas secundárias de menor eficiência funcional podem ser responsáveis por suprir ou substituir os eventos fotoquímicos relacionados ao CEO e ao complexo  $Y_z$  (De RONDE et al., 2004). As consequências do bloqueio parcial ou total de elétrons entre 0 e 2ms do transiente O-J-I-P devido ao acúmulo de formas reduzidas de  $Q_A$  e feofitina, podem estar associadas ao desvio positivo da banda K, a qual é proporcional à intensidade e duração do estresse (BUKHOV et al., 2001, DE RONDE et al., 2004; OUKARROUM et al., 2007).

Durante este experimento foi observado um lento e contínuo aumento na dissipação de energia de excitação fotoquímica sob a forma de calor após a exposição à mancha solar em plantas de *C. warneri*. O incremento na dissipação foi proporcional ao tempo de exposição da espécie a mancha solar (Figura 11A). Segundo Van Heerden et al. (2007), o sinal de perda de energia é proporcional ao tempo de exposição ao fator de estresse. No entanto, a perda de energia na forma de calor pode ser um eficiente mecanismo de proteção das unidades fotossintéticas frente a um ambiente com luz excessiva (STRASSER et al., 2004). A alta luz proporcionou incrementos para o fluxo fenomenológico de dissipação de calor por cessão transversal,  $Di_o/CS = (ABS/CS) - (TR_o/CS)$  em plantas de *C. warneri*, onde a magnitude dos sinais de perda de energia também foi proporcional ao tempo de exposição à luz (Figura 12A).

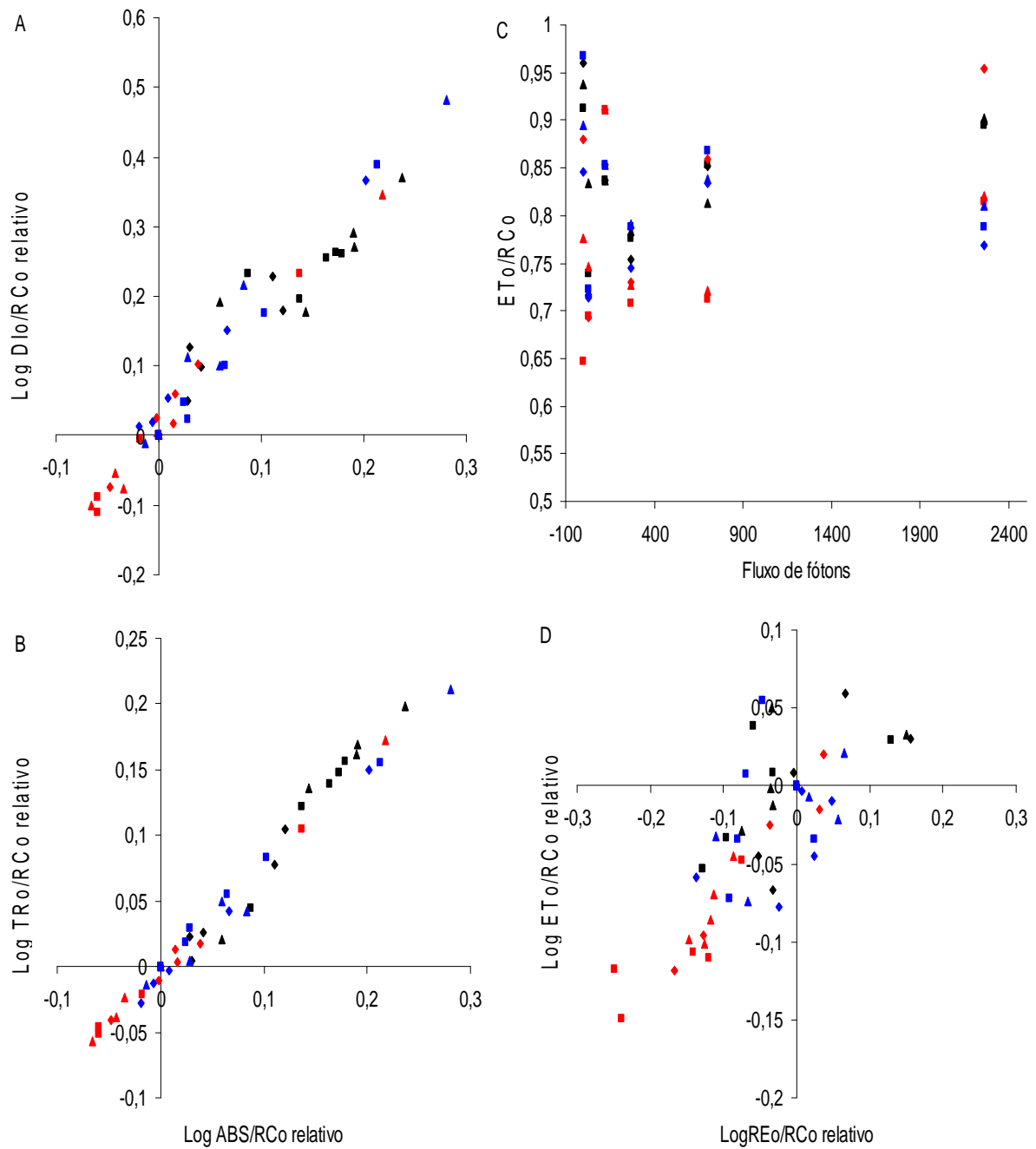


Figura 11: Transdução de energia por centro de reação em espécies de *Cattleya Lindl.* A refere-se à correlação entre  $ABS/RC$  e  $DI_o/RC$ ; B refere-se a correlação entre  $ABS/RC$  e  $TR_o/RC$ ; C refere-se  $ET_o/RC$  em função do fluxo de fótons; D refere-se à correlação entre a redução da cadeia transportadora de elétrons e  $ET_o/RC$ . Símbolos ◆ - T<sub>1</sub>, ■ - T<sub>2</sub> e ▲ - T<sub>3</sub> referem-se a *C. warneri*; ◆ - T<sub>1</sub>, ■ - T<sub>2</sub> e ▲ - T<sub>3</sub> referem-se a *C. harrisoniana* e, ◆ - T<sub>1</sub>, ■ - T<sub>2</sub> e ▲ - T<sub>3</sub> referem-se a *C. schofieldiana*.

Öquist et al. (1992) relatam que o efeito protetor para danos ao aparato fotossintético e suas subunidades ativas pode ser feito a partir da dissipação de energia excedente através de centros não redutores de quinonas. Estas reações protetoras apresentam-se nas espécies estudadas na forma de dissipação de calor como eficientes mecanismos de dissipação de calor por centro de reação,  $[DI_o/RC = (ABS/RC) - (TR_o/RC)]$ , por cessão transversal,  $Di_o/CS = (ABS/CS) - (TR_o/CS)$  e, por rendimento quântico fotoquímico para dissipação de calor,  $[\phi D_o = DI_o/ABS = 1 - \phi_{P_o} = F_o/F_m]$ .

Por outro lado, incrementos na dissipação de calor foram observados em *C. harrisoniana* após 4 horas de exposição à alta luz em T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> (dados não mostrados). Entretanto, não houve variação da dissipação em resposta à mancha solar quando as plantas foram expostas a 5'. Este padrão de resposta pode sugerir que ocorram danos fotoinibitórios severos em indivíduos desta espécie em um ambiente natural em resposta à dinâmica de clareiras semelhantes a T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> (Figura 11A e Figura 12B). No entanto, é mais provável que plantas de *C. harrisoniana* venham a apresentar este tipo de resposta (dissipação de energia na forma de calor), como um mecanismo protetor de unidades fotossintéticas, em função da forte correlação entre dissipação de calor e o aumento do tamanho efetivo da antena, como observado na Figura 11A.

De acordo com Strasser et al. (2004), centros de reação podem ser convertidos em eficientes dissipadores de energia de excitação em resposta a um fator de estresse, e retornar à condição de redutores de Q<sub>A</sub> após o estímulo do ambiente promotor de estresse. Neste cenário, um maior contingente de pigmentos (clorofilas e carotenóides) pode ser recrutado, aumentando, assim, o tamanho efetivo da antena (STRASSER et al., 2004; YUSUF et al., 2010).

Plantas de *C. schofieldiana* apresentaram as maiores magnitudes e amplitude de sinais para perda de energia na forma de calor, sugerindo maior eficiência na modulação do aparato fotossintético frente à exposição às manchas solares de 5, 35 e 120' (Figura 11A e Figura 12C). Estes resultados foram baseados na rápida resposta do aumento do tamanho efetivo da antena, ABS/RC e atividade de centros não redutores de Q<sub>A</sub> (STRASSER et al., 2004; LIN e HSU, 2004; ALI et al., 2005; BO e QING, 2008), seguido do reestabelecimento das condições fisiológicas próximas ao controle. Manchas solares de maior duração proporcionaram comportamento semelhante ao observado em T<sub>1</sub>, mas com recuperação parcial para os parâmetros de dissipação analisados (Figuras 11A e 12C). Assim, pode-se sugerir que plantas de *C. schofieldiana* apresentam maior plasticidade dos mecanismos protetores das unidades fotossintéticas



(ÖQUIST et al., 1992; STRASSER et al., 2004; TAIZ e ZEIGER, 2009) em comparação às outras espécies.

Os processos ecofisiológicos dos fluxos específicos de absorção e captura de energia  $ABS/RC$  e  $TR_o/RC$ , respectivamente, seguem um padrão no pós-distúrbio de forma proporcional à duração da mancha de sol e distinta entre as espécies estudadas: (1) lento e gradual em *C. warneri*, (2) acentuado ao fim do experimento em *C. harrisoniana* e (3) com incremento abrupto em *C. schofieldiana* (dados não mostrados). No entanto, o fluxo específico de transporte de elétrons,  $ET_o/RC$ , não apresentou correlação com o incremento do tamanho efetivo da antena (dados não mostrados). Plantas de *C. warneri* e *C. harrisoniana* apresentaram elevados valores de  $ET_o/RC$  durante a mancha solar para os três tratamentos mostrando maior eficiência para transdução de energia fotoquímica (YUSUF et al., 2010) em alta luz em comparação a *C. schofieldiana* (Figura 10C). Plantas de *C. warneri* apresentaram maior estabilidade para as sequências de transformações de energia através do FSII para as três situações de simulação de clareira ao longo do experimento (Figura 11C). A Figura 10C sugere, ainda, que o efeito do distúrbio elevou a taxa de transporte de elétrons em *C. schofieldiana* para as três situações e, que em *C. harrisoniana* foi observado este incremento em  $T_1$ .

Os resultados da Figura 11A-B corroboram a hipótese de Yusuf et al. (2010), em que  $ABS/RC$  pode representar aumento no tamanho funcional da antena para maior captura e dissipação de energia excedente como mecanismo protetor. No presente estudo, espécies de *Cattleya* mostram uma forte correlação entre absorção e dissipação (Figura 11A) e absorção e captura (Figura 11B) como estratégia ecofisiológica em resposta ao estímulo de mancha solar. Foi possível também inferir, com base nos resultados apresentados na Figura 11A-B-C, que plantas de *C. schofieldiana* apresentaram maior plasticidade fisiológica em modular o FSII para os 3 cenários de mancha de sol, onde a magnitude dos sinais relativos aos parâmetros estudados foram proporcionais ao tempo de exposição ao distúrbio. Os resultados apresentados na Figura 11A-B corroboram os resultados descritos por Strasser et al. (2004), os quais afirmam que centros de reação são convertidos em dissipadores como mecanismo protetor do FSII em eventos onde não são observadas correlações fortes e significativas entre  $ABS/RC$  e  $ET_o/RC$ .

O tamanho efetivo da antena,  $ABS/RC$ , é calculado a partir do número total de fótons absorvidos por molécula de clorofila de todos os CRs dividido pelo número total de CRs ativos (MEHTA et al., 2010) estando, este parâmetro, sujeito a variações da razão de centros de reação ativos e inativos. Assim, o parâmetro  $ABS/RC$  pode

representar (1) CRs inativos transformados em  $Q_A$  não redutores de FSII, quando decréscimos em ABS/RC são observados em associação com a estabilidade da captura de elétrons,  $TR_o/RC$  e decréscimos em  $\phi_{P_o}$  e  $\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$ ; ou (2) o tamanho funcional da antena quando existe um comportamento proporcional para incrementos em  $\phi_{P_o}$  e ABS/RC (YUSUF et al., 2010). Este experimento mostrou que em plantas de *C. warneri* e *C. schofieldiana* expostas à mancha solar, nos três tratamentos, houve a conversão de centros de reação redutores de  $Q_A$  em centros não redutores de  $Q_A$  no FSII. Desta forma, foi observado dissipação da energia excedente do meio, acompanhada pela captura de elétrons de forma proporcional à taxa de absorção, seguida pela estabilidade do transporte de elétrons (Figura 11).

Por fim, a Figura 11D mostra que os eventos de redução das unidades fotossintéticas da cadeia de transporte de elétrons foi influenciada pelo fluxo de transportes de elétrons partindo do FSII até o FSI de forma mais significativa e ordenada em *C. harrisoniana* ( $r^2 = 0,94, 0,83$  e  $0,93$  para T1, T2 e T3, respectivamente). Neste contexto foram observados incrementos no *pool* de aceptores nos três cenários de tratamento nos trasientes O-J-I-P, e maior estabilidade da energia de conectividade e dos danos ao CEO, em relação às outras espécies estudadas. Os resultados expressos na Figura 12A evidenciam incrementos para as reações de transdução de energia por sessão transversal em *C. warneri*:  $ABS/CS_o$ ,  $TR_o/CS_o = (TR_o/ABS)/(ABS/CS)$  e estabilidade em  $ET_o/CS_o = (ET_o/RC)(RC/CS)$ , os quais fazem referência à absorção de fótons, captura e transporte de elétrons, em *C. warneri* entre os horários de 15 e 17h de forma mais pronunciada em T<sub>3</sub> (Figura 12A-T<sub>3</sub>). Assim, a exposição de *C. warneri* a pleno sol durante 5, 35 e 120' resultou na conversão de centros redutores de  $Q_A$  em dissipadores de calor, sugerindo que esta espécie foi hábil em estabilizar o transporte de elétrons durante o pós-distúrbio. Ainda, foi possível verificar que houve incrementos significativos no transporte de elétrons durante a recuperação da exposição à mancha solar, de forma mais eficiente em T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, devido à baixa perda de energia por dissipação de calor  $DI_o/CS = (ABS/CS) - (TR_o/CS)$  (Figura 12A-T<sub>3</sub>).

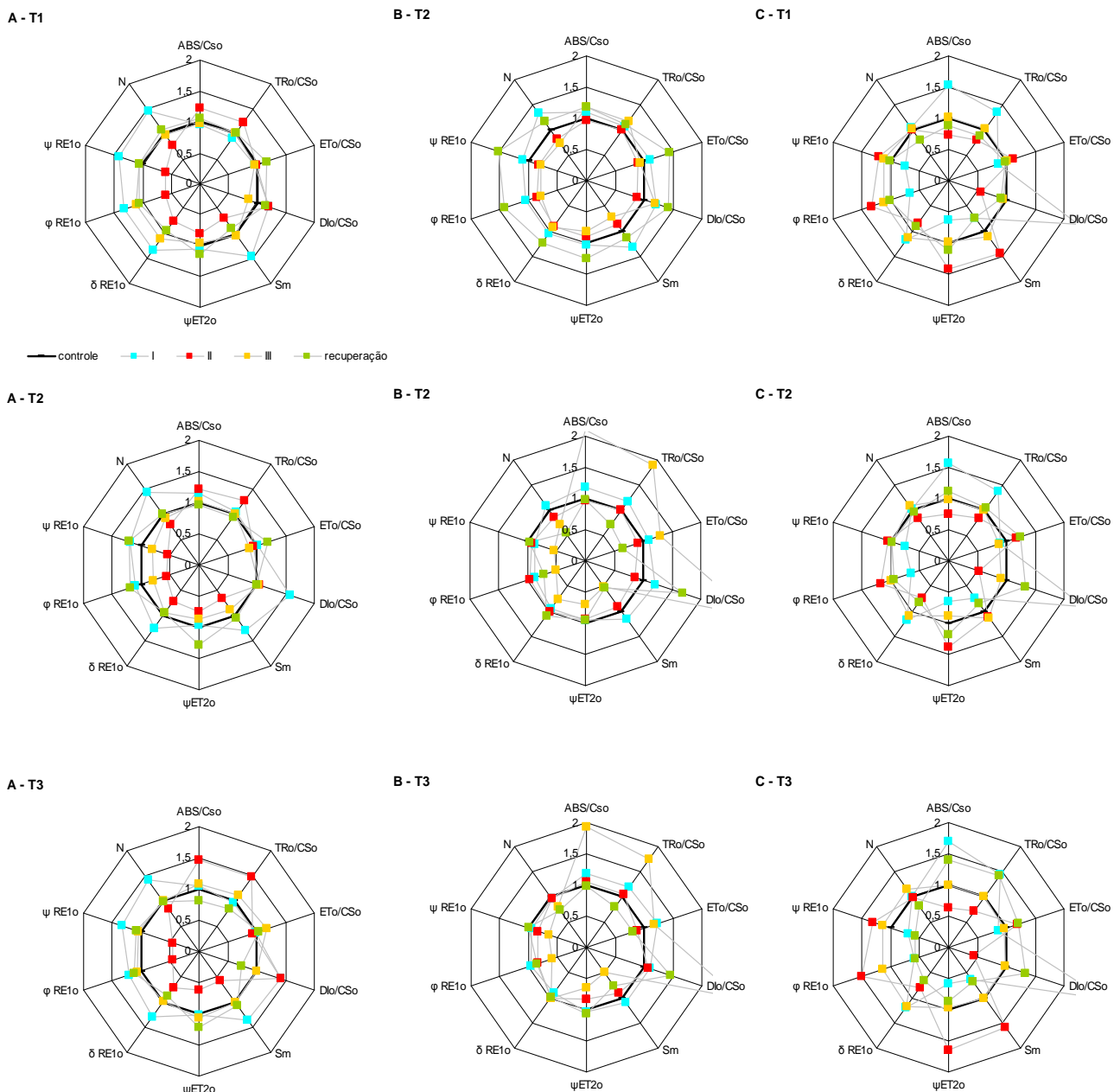


Figura 12: Radar composto parâmetros de transdução de energia fotoquímica por cessão transversal, eficiências de conservação de energia, rendimento quântico fotoquímico para redução de aceptores finais do lado acceptor do FSI, turnover de  $Q_A$  e total de elétrons carregados ao longo da cadeia transportadora de elétrons. A refere-se a *C. warneri*, B a *C. harrisoniana* e C a *C. schofieldiana*. ■ representa o horário de exposição à mancha solar – 13 horas, ■ média entre os horários da tarde: 15 e 17 horas, ■ às 19 horas e, ■ à recuperação.  $T_1 = 5$  minutos de exposição a sol pleno,  $T_2 = 35$  minutos e  $T_3 = 120$  minutos.

Por conseguinte, em *C. harrisoniana* os fluxos fenomenológicos apresentaram-se mais estáveis na absorção de fótons ( $ABS/CS_0$ ), na captura de elétrons ( $TR_0/CS_0$ ) e

no transporte de elétrons ( $ET_o/CS_o$ ) no pós-distúrbio dos três cenários de manchas solares entre 15 e 17h (Figuras 12B-T<sub>1</sub>, 12B-T<sub>2</sub> e 12B-T<sub>3</sub>, respectivamente). O maior tempo de mancha solar (120') produziu efeitos de aumento no sinal de magnitude em  $TR_o/CS_o$  e  $ET_o/CS_o$ , com decréscimos significativos em relação ao controle ao fim do experimento. No entanto, foram observados incrementos significativos na absorção de fótons, captura de éxcitons e dissipação de energia em T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> às 19h, com recuperação parcial em relação ao controle após 11 horas de pós-distúrbio (Figuras 12B-T<sub>2</sub> e 12B-T<sub>3</sub>).

Foi possível verificar, também, que plantas de *C. harrisoniana* reestabeleceram o tamanho efetivo da antena ( $ABS/CS_o$ ) ao custo de reduções nos fluxos fenomenológicos de captura e transporte de elétrons e incrementos em perdas de energia na forma de calor ( $DI_o/CS_o$ ), quando expostas a manchas solares de 35 e 120', após 11 horas do pós-distúrbio. Entretanto, 5' de mancha solar causou um aumento em todos os parâmetros de transdução de energia (absorção, captura e transporte) ao longo das observações. Reações rápidas e coordenadas da maquinaria biofísica são um dos pré-requisitos para a utilização fotossintética de manchas de sol (LÜTTGE, 1997). No entanto a limitação fotossintética imposta pela exposição à alta luz é removida gradualmente nos pulsos de luz subsequentes ou durante o pós-distúrbio. Assim o vegetal pode apresentar ganhos na eficiência fotossintética a partir de manchas de sol (CHAZDON e PEARCY, 1986; KÜPPERS et al., 1996).

Ao contrário das outras espécies avaliadas, plantas de *C. schofieldiana* apresentaram reduções significativas em  $ABS/CS_o$  e  $TR_o/CS_o$  e incrementos em  $ET_o/CS_o$  entre 15 e 17 horas do pós-distúrbio, com maior taxa de transporte de elétrons e menor perda de energia na forma de calor, resultados proporcionais ao período de exposição à alta luz da mancha solar de 5, 35 e 120' (Figuras 12C-T<sub>1</sub>, 12C-T<sub>2</sub> e 12C-T<sub>3</sub>, respectivamente). A partir das 19h e durante a recuperação da exposição destas plantas a mancha solar, foi observado estabilidade das reações de transdução próximas da condição controle nos três tratamentos.

De forma geral, a mancha solar induziu nas três espécies de *Cattleya* estudadas aumentos significativos no tamanho efetivo da antena, incrementos nas taxas de captura de elétrons e de dissipação de energia por cessão transversal, independente do tamanho simulado da clareira. No entanto, as diferenças se apresentaram durante o pós-distúrbio. Assim, plantas de *C. schofieldiana* mostraram-se mais hábeis no uso de energia excedente no ambiente enquanto *C. warneri* e *C. harrisoniana* apresentaram eficientes mecanismos de dissipação de energia do ambiente, re-estabelecendo as funções de

redução de  $Q_A$  após o estímulo externo da clareira. Foi também observado que a magnitude do distúrbio sobre os fluxos fenomenológicos em *C. warneri* e *C. harrisoniana* foram proporcionais ao fator de estresse (VAN HERDEEN et al., 2007), neste caso, o tempo de exposição às manchas solares.

Ainda de acordo com a Figura 12 (A-T<sub>1</sub>, A-T<sub>2</sub> e A-T<sub>3</sub>), incrementos (1) para os parâmetros de conservação de energia (probabilidade de um éxciton capturado de se mover para além de  $Q_A^-$ ,  $\psi_{E_0} = ET_0/TR_0 = 1-V_J$ ; eficiência/ probabilidade de um elétron do intersistema mover-se para o lado acceptor do FSI,  $\delta_{R_0} = RE_0/ET_0 = (1-V_I)/(1-V_J)$ ); (2) eficiência de um éxciton capturado de mover um elétron dentro da cadeia transportadora a partir de  $Q_A^-$  até os aceptores finais do PSI,  $\rho_{R_0} = RE_0/TR_0 = \psi_{E_0} \delta_{R_0}$ ) e (3) para o rendimento quântico fotoquímico de redução de aceptores finais do lado acceptor do FSI,  $\phi_{R_0} = RE_0/ABS = \phi_{P_0} \psi_{E_0} \delta_{R_0}$ , ocorreram em plantas de *C. warneri*, de forma mais acentuada quando as plantas foram submetidas a 5' de distúrbio. Entretanto, para esta mesma espécie de Orchidaceae os valores de  $\delta_{R_0}$  mantiveram-se inalterados, indicando estabilidade das reações de conservação de energia entre o intersistema e os aceptores finais no lado acceptor do FSI.

Ao contrário, decréscimos em  $\psi_{E_0}$ ,  $\delta_{R_0}$ ,  $\rho_{R_0}$  e  $\phi_{R_0}$  foram observados em *C. harrisoniana* durante T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, com incrementos destes fluxos para o cenário T<sub>1</sub>. Em *C. schofieldiana* foi observado maior plasticidade fisiológica frente o excedente de luz momentâneo da mancha solar, respondendo com decréscimos nos parâmetros de conservação de energia e aumento dos parâmetros de rendimento em resposta à exposição a pleno sol durante a mancha de sol. Posteriormente, incrementos foram observados para os fluxos de eficiência de conservação de energia com decréscimo no rendimento quântico fotoquímico do FSI, evidenciados por meio da análise conjunta dos parâmetros biofísicos mostrados na Figura 12 (C-T<sub>1</sub>, C-T<sub>2</sub> e C-T<sub>3</sub>). Esta afirmativa se deve ao deslocamento da energia excedente para as reações redox do FSI ( $\phi_{R_0} = RE_0/ABS = \phi_{P_0} \psi_{E_0} \delta_{R_0}$ ). A natureza mais estável do FSI (JOLIOT e JOLIOT, 2002; TAIZ e ZEIGER, 2009), em resposta a fatores de estresse de luz, pode estar associada à retomada dos rendimentos e eficiências fotoquímicas sobre o FSII após o período promotor do estresse estudado, neste caso a mancha solar, porém de forma mais eficiente e gradual para os três cenários (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>).

Os resultados desse estudo mostram que, em resposta à mancha de sol, especialmente nas condições de luz às 13h, plantas de *C. warneri* e *C. harrisoniana* parecem investir mais no *turnover* de re-oxidação de  $Q_A$ ,  $N = (S_m)(M_0/V_J)$  para aumentar o total de elétrons carregados,  $S_m = Area/(F_m - F_0) = Area/F_v$ , em função da maior

disponibilidade de energia de excitação fotoquímica no ambiente (Figuras 12AB-T<sub>1</sub>, AB-T<sub>2</sub> e AB-T<sub>3</sub>). Porém, a comparação entre as espécies revelou que *C. warneri* mostrou-se mais eficiente em reajustar o maquinário fotossintético após o período de mancha de sol nos três cenários. *C. harrisoniana* recuperou a funcionalidade das reações redox e de transporte de elétrons apenas em T<sub>1</sub> (Figura 12B-T<sub>1</sub>). A estratégia observada *C. schofieldiana* para incrementos em S<sub>m</sub> em resposta à mancha solar parece não estar associada ao incremento em N, e sim ao rendimento quântico fotoquímico do FSI,  $\phi_{R_o} = R_{E_o}/ABS = \phi_{P_o} \psi_{E_o} \delta_{R_o}$ . Esta correlação entre S<sub>m</sub> e  $\phi_{R_o}$  pode ser devido à fosforilação cíclica, de forma proporcional ao tempo de mancha solar (Figura 12C-T<sub>1</sub>, C-T<sub>2</sub> e C-T<sub>3</sub>). Assim, os resultados de S<sub>m</sub> e  $\phi_{R_o}$  e dos distúrbios observados para a banda L sugerem que o fluxo de elétrons pode estar organizado em super complexos envolvendo o FSI, citocromo b<sub>6</sub>f e FNR (JOILIOT e JOLIOT, 2002).

Variações em ABS/RC resultaram em decréscimos ou acréscimos na eficiência fotossintética,  $\phi_{P_o} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$  (Figura 13A, B e C) e no índice de desempenho para conservação de energia para redução do intersistema,  $PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})] [\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})] [\psi_{E_o}/(1-\psi_{E_o})]$ , (Figura 13A, B e C).

Não foram observados alterações significativas no rendimento quântico fotoquímico máximo do FSII,  $\phi_{P_o} = TR_o/ABS = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$ , em *C. warneri* (Figura 13A). Christen et al. (2007) afirmam que o rendimento quântico fotoquímico pode não ser um parâmetro sensível o suficiente para demonstrar sinais de estresse em estudos ecofisiológicos, e sugerem, então, o uso da expressão  $PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})] [\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})] [\psi_{E_o}/(1-\psi_{E_o})]$  para aferir a magnitude do sinal de distúrbio de estresse. Assim, foram observados decréscimos significativos no índice de desempenho de *C. warneri*, onde a amplitude de respostas foi proporcional à intensidade da mancha de sol, de forma gradual ao longo do dia (período pós-distúrbio), com recuperação parcial após 11 horas a partir da exposição das plantas à mancha solar (distúrbio).

Manchas de sol não produziram efeito sobre a eficiência quântica fotoquímica máxima em *C. harrisoniana* durante a mancha solar e as primeiras 6h de pós-distúrbio. Entretanto, foram observados decréscimos significativos após 11 horas do pós-distúrbio (recuperação), precedidos de um decréscimo não significativo às 19h (Figura 13B). A estratégia ecofisiológica em alterar a estrutura da antena a partir do recrutamento de um maior contingente de pigmentos clorofila e acessórios para aumentar a captura de fótons não foi eficiente em *C. harrisoniana* durante a mancha solar de 35'.

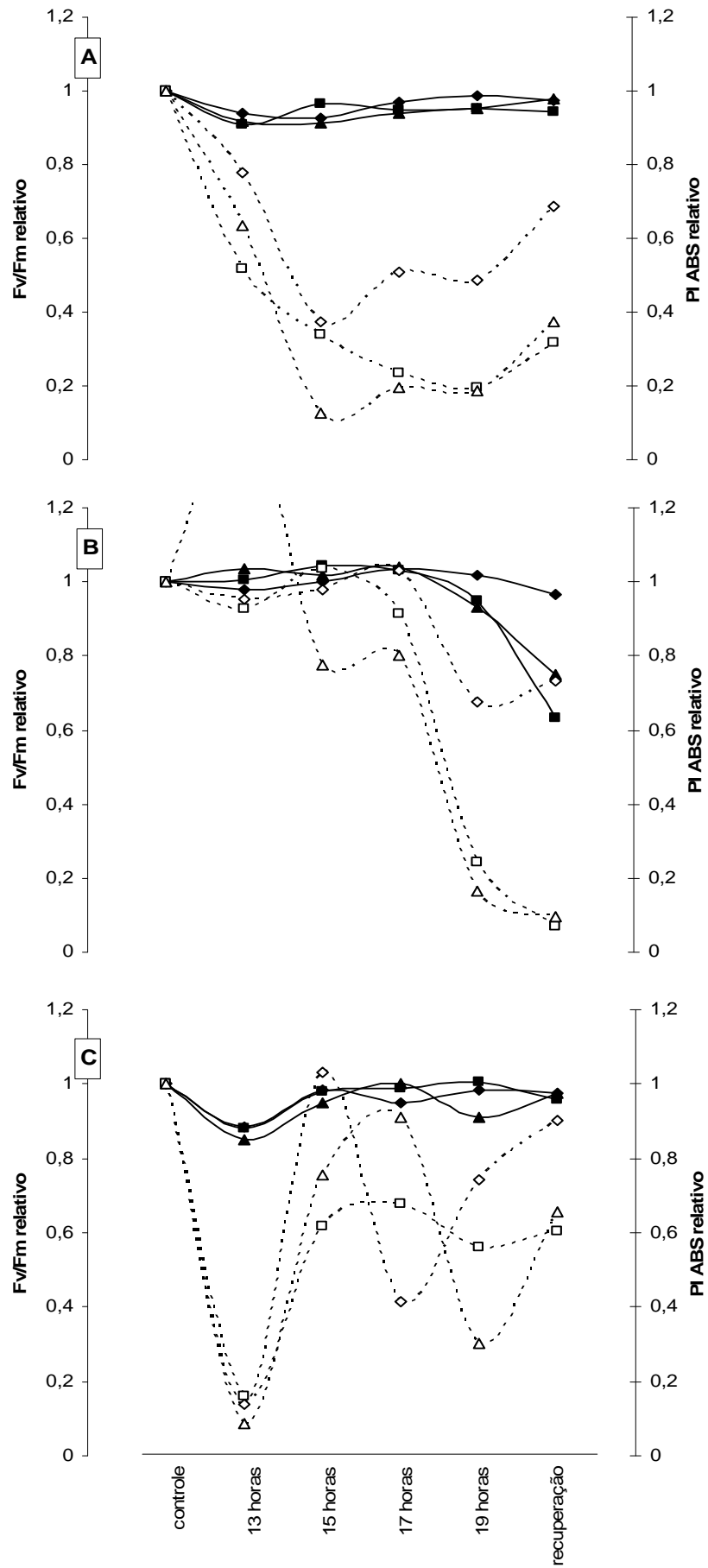


Figura 13: Parâmetros de rendimento quântico fotoquímico máximo e índice de desempenho fotoquímico. A refere-se a *C. warneri*, B a *C. harrisoniana* e C a *C. schofieldiana*. ♦ refere-se a T<sub>1</sub>, ▲ a T<sub>2</sub> e ■ refere-se a T<sub>3</sub>, considerando o rendimento quântico fotoquímico. ◇ refere-se a T<sub>1</sub>, △ a T<sub>2</sub> e □ refere-se a T<sub>3</sub>, considerando o desempenho fotoquímico. Os dados normalizados são relativos ao controle (tratamento normalizado/ controle normalizado).

Esta afirmação foi baseada na observação de decréscimos no rendimento quântico fotoquímico máximo para fotoquímica primária,  $\phi_{P_0} = TR_o/ABS = F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$  e no índice de desempenho  $PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})] [\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})] [\psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})]$  (Figura 13B), 11 horas após o período de pós-distúrbio. Maior estabilidade ao longo do pós-distúrbio sobre o índice de desempenho fotoquímico foi observada durante a mancha solar de 5', precedida de um vertiginoso incremento (Figura 13B).

Foram observados decréscimos significativos em *C. schofieldiana* durante a mancha solar e recuperação do rendimento quântico fotoquímico,  $\phi_{P_0} = TR_o/ABS = F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m = 1 - (F_o/F_m)$ , durante todo o período pós-distúrbio incluindo a recuperação (Figura 13C). A variação dos valores de  $PI_{ABS}$  observada nos tratamentos de 5, 35 e 120' em *C. schofieldiana* indica que o tempo de exposição à mancha solar (relativo ao tamanho de uma clareira) causou redução deste parâmetro com uma tendência à estabilidade a um patamar inferior à condição de 5' (Figura 13C) em T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>.

De acordo com Hermans (2003), os decréscimos do rendimento quântico fotoquímico podem estar relacionados à conversão de centros redutores de Q<sub>A</sub> em centros não redutores ou dissipadores, o que pode ser corroborado pelos distúrbios nos parâmetros de dissipação de energia sob a forma de calor,  $[DI_o/RC = (ABS/RC) - (TR_o/RC)]$ ,  $DI_o/CS = (ABS/CS) - (TR_o/CS)$  (Figuras 11 e 12) e  $[\phi D_o = DI_o/ABS = 1 - \phi_{P_0} = F_o/F_m]$  (dados não mostrados). Neste sentido, pode-se afirmar que *C. warneri* e *C. schofieldiana* mostraram-se mais hábeis em modular a eficiência quântica máxima do FSII em função da mancha solar, para os três tratamentos. Além disso, a mancha solar de 5' permitiu às 3 espécies de *Cattleya* relativa estabilidade sobre as atividades fotoquímicas intrínsecas ao FSII, avaliadas por meio do rendimento quântico fotoquímico, porém, com recuperação total em *C. schofieldiana* (Figura 13C).

Plantas de *C. warneri* apresentaram incrementos em F<sub>o</sub> em resposta à exposição à mancha de sol de forma gradual para os três cenários de tratamento de luz (Figura 14).



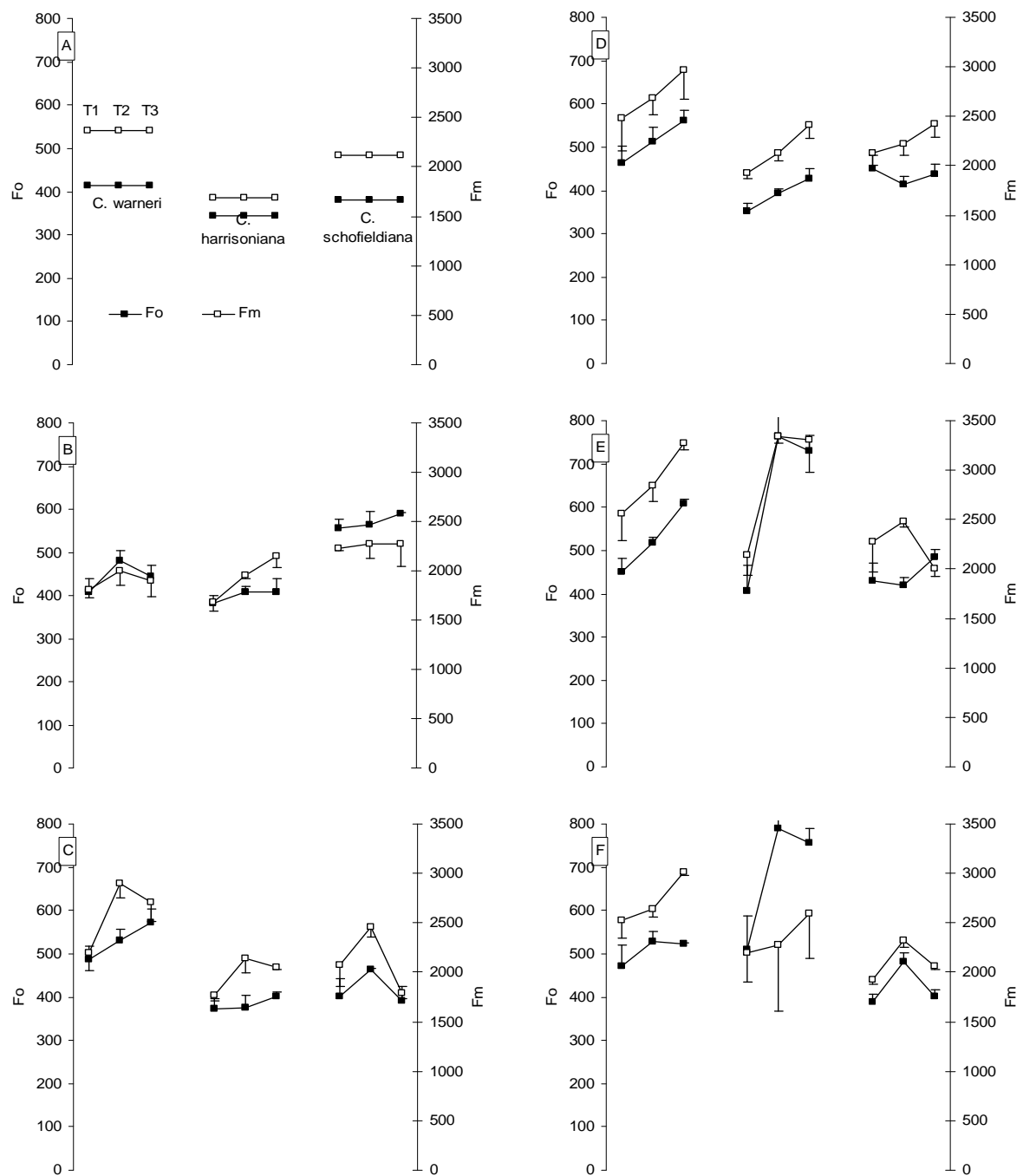


Figura 14. Fotoinibição em espécies de *Cattleya* Lindl. A refere-se ao controle, B à exposição à mancha de sol, C às 13 horas, C às 15 horas, D às 17 horas, E às 19 horas e F a recuperação. ■ refere-se a F<sub>0</sub> e □ refere-se a F<sub>m</sub>. O primeiro grupo de três pontos refere-se a *C. warneri*, o segundo grupo de três pontos a *C. harrisoniana* e o último grupo de três pontos a *C. schofieldiana*. T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> estão apresentados em sequência dentro de cada grupo de três pontos, como evidenciado em A. Barras representam erro padrão.

Porém, foram observadas recuperações em torno de 87,8%, 78,14% e 79,01% em relação à condição controle após o tempo de experimento em  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$ , respectivamente (Figura 14D-E-F), o que pode indicar danos à proteína D1 seguido da ativação do ciclo da xantofila (DEMMING et al., 1987; GILMORE et al., 1996; YUSUF et al., 2010). Em *C. shofieldiana* foi observado um eficiente mecanismo de regulação do aparato fotossintético em resposta ao estímulo ambiental excedente em luz durante a mancha de sol, pelo incremento na emissão de fluorescência basal  $F_0$  durante a mancha de sol, seguido de decréscimos em  $F_0$  nos horários de retorno à condição sombreada, com maior estabilidade em  $T_2$ . Entretanto, o comportamento da emissão de fluorescência basal em *C. harrisoniana* caracterizou fotoinibição dinâmica para  $T_1$ , com severo aumento de  $F_0$  durante a exposição das plantas às manchas solares de 35 e 120' ( $T_2$  e  $T_3$ , respectivamente), os quais estão mais relacionados à fotoinibição crônica, em função do severo aumento deste sinal de fluorescência ao fim do experimento. Estes resultados podem estar associados a danos severos ao aparato fotossintético pela destruição da proteína 33-kDa e D1, como sugerido por Demming-Adams et al. (1992), Barber e Anderson (1992) e Xu e Wu (1996).

Plantas de *C. warneri* e *C. shofieldiana*, apresentaram incrementos em  $F_0$  durante a exposição de alta luz (Figura 13A-B), e recuperaram parcialmente os níveis iniciais de emissão de fluorescência basal, sugerindo fotoinibição dinâmica (HONG e XU 1999; ARO et al., 1993; DIAS e MARENCO, 2006). Assim, foram corroborados os resultados observados anteriormente, como os incrementos para a dissipação de energia na forma de calor [ $DI_o/RC = (ABS/RC) - (TR_o/RC)$ ] e decréscimos significativos na eficiência de conservação de energia para as reações redox após  $Q_A^-$ ,  $\psi_{Eo} = ET_o/TR_o = 1 - V_J$ , (FORCE et al., 2003, JIANG et al., 2008). Assim, plantas de *C. warneri* e *C. shofieldiana* apresentaram fotoinibição dinâmica, em função da recuperação se aproximar do controle ao fim do período de observações em todos os cenários. Por outro lado, plantas de *C. harrisoniana* apresentaram fotoinibição crônica pela ineficiência de operacionalização do aparato fotossintético nos cenários  $T_2$  e  $T_3$  (Figura 13B).

Foram observados efeitos distintos sobre a capacidade de absorver, capturar, transportar elétrons e de reduzir subunidades fotossintéticas, evidenciada pela correlação log-relativa entre índice de desempenho para conservação de energia para redução intersistema,  $PI_{ABS}$  e sobre a eficiência de transporte de elétrons ao longo da cadeia transportadora de elétrons a partir de  $Q_A$  reduzida até o intersistema reduzido,  $\phi_{Eo}$  (Figura 15A-B-C). Evidências a partir desta análise distinguiram o desempenho

fotoquímico entre *Cattleya* estudadas a partir de inferências da correlação log relativa entre índice de desempenho para conservação de energia para redução dos aceptores finais no lado acceptor do FSI,  $PI_{ABS} = [\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})] [\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})] [\psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})] [\delta_{R_0}/(1-\delta_{R_0})]$  e entre a eficiência de um éxciton capturado de mover um elétron dentro da cadeia transportadora a partir de  $Q_A^-$  até os aceptores finais do PSI  $\rho_{R_0} = RE_0/TR_0 = \psi_{E_0} \delta_{R_0}$ , (Figura 15D-E-F).

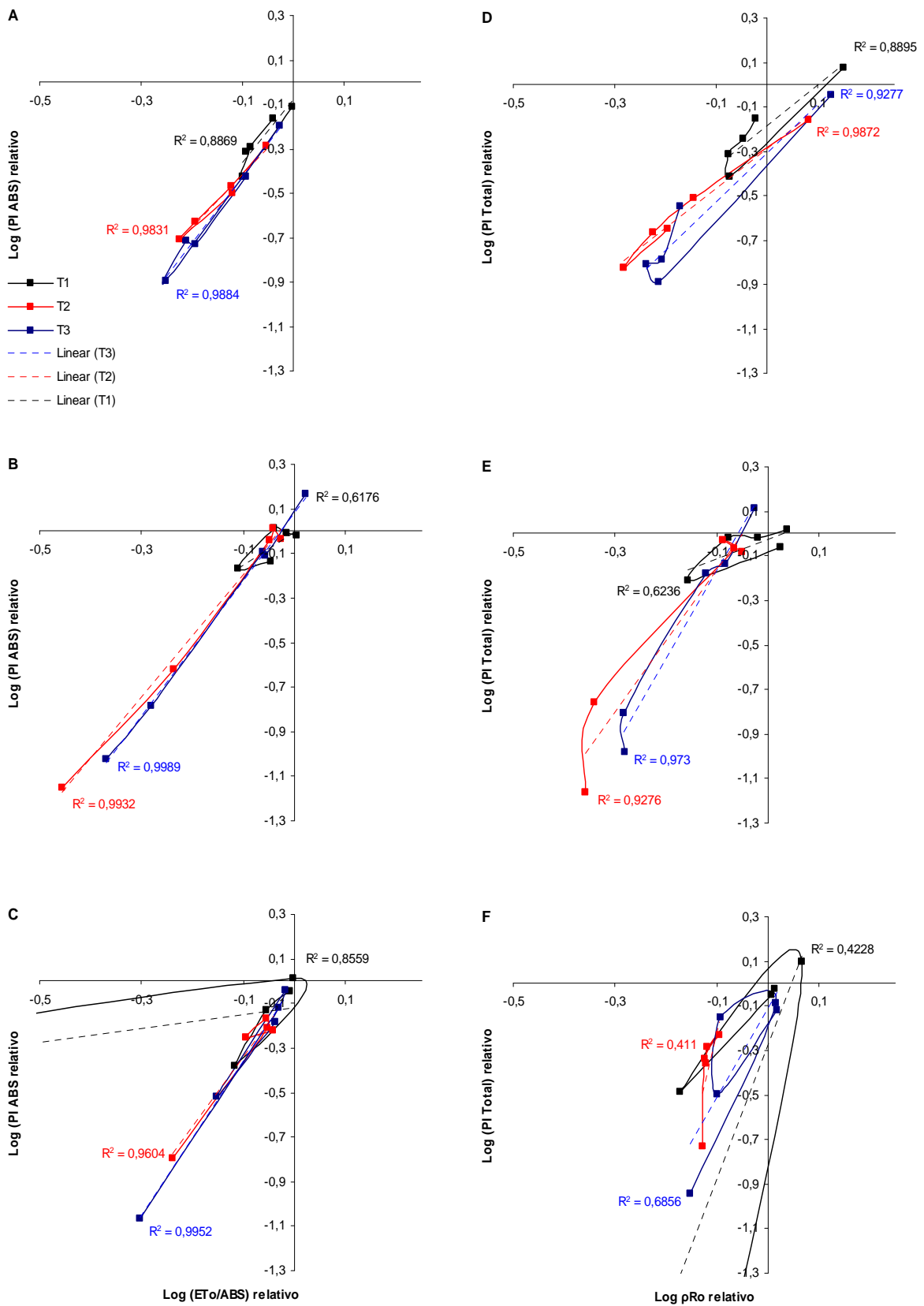


Figura 15: Correlações entre desempenho fotoquímico e fluxo de energia em espécies de *Cattleya* Lindl. A e D referem-se a *C. warneri*, B e F a *C. harrisoniana*, e C e F a *C. schoufieldiana*. Símbolo ■ refere-se a T<sub>1</sub>, ■ a T<sub>2</sub> e ■ refere-se a T<sub>3</sub>.

Os resultados sugerem que mudanças no transporte de elétrons após  $Q_A$  reduzida determinam os distúrbios sobre o índice de desempenho fotoquímico (OUKARROUM et al., 2007; CHRISTEN et al., 2007; STIRBET et al., 2011), estabelecendo distintas trajetórias para os cenários de tratamento de luz ( $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$ ) com diferenças marcantes entre as três espécies, com (1) maior plasticidade fisiológica em *C. schofieldiana*, (2) menor plasticidade em *C. harrisoniana* e (3) trajetórias semelhantes com recuperação parcial em *C. warneri*. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos de plantas em resposta ao fator de estresse hídrico e biótico por infecção de fungos fitopatogênicos, corroborando a correlação entre PI e  $\phi_{E_0}$  (OUKARROUM et al., 2007; CHRISTEN et al., 2007) para explicar a associação entre o fluxo de energia e o desempenho fotoquímico da amostra em estudo. Plantas de *C. warneri* e *C. harrisoniana* apresentaram maior desempenho para os efeitos de manchas de sol em  $T_1$ , sendo que em *C. harrisoniana* o decréscimo no desempenho apresentou drástica redução para  $T_2$  e  $T_3$  (Figura 15).

Os resultados mostrados para *C. schofieldiana* sugerem que outras rotas fisiológicas (provavelmente ascorbato e prolina, conforme citado por Bukhov et al., 2001 e De Ronde et al., 2004) tenham contribuído para o desempenho durante os 3 cenários, em função da baixa correlação entre os índices. O índice de desempenho (CHRISTEN et al., 2007; OUKARROUM et al., 2007) é um dos parâmetros empregados na análise de respostas de plantas ao estresse e melhor descrevem as respostas de uma planta a um determinado tipo de estresse. Este índice é composto pelas reações redox da fase fotoquímica O-J e pelas fases termais J-I e I-P (LAZÁR 1999). De acordo com STRASSER et al. (2004), PI pode ser calculado a partir de três ( $PI_{ABS}$ ) ou quatro ( $PI_{total}$ ) componentes os quais incluem: (1)  $\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$ , uma expressão relacionada à densidade de centros de reação ativos no FSII; (2)  $\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$ , relativo à fotoquímica primária; (3)  $\psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})$ , um componente que descreve as reações redox do intersistema; e (4)  $\delta_{R_0}/(1-\delta_{R_0})$  relativo à oxidação e redução dos aceptores finais no lado acceptor do FSI (STRASSER et al., 2004; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008). Valores de PI são alterados quando um estresse ambiental afeta um destes fatores de forma isolada ou combinada, mostrando o quão eficiente este parâmetro se mostra para descrever o comportamento ecofisiológico de plantas em condições de estresse (STRASSER et al., 2004; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008; STIRBET e GOVINDJEE, 2011).

Biofísicos (STRASSER et al., 2004; OUKARROUM et al., 2007; STRASSER et al., 2008, STIRBET e GOVINDJEE, 2011) e fisiologistas vegetais (TAIZ e ZEIGER,

2009) definem que as perdas de energia fotoquímica podem ser sob a forma de calor ou fluorescência. Ecólogos, no entanto, referem-se às perdas de energia associando os sistemas naturais às relações tróficas entre os componentes das interações em diversas escalas (ODUM e BARRET, 2007). Ambos estão embasados na segunda lei da termodinâmica, a qual diz que todo sistema sempre apresentará alguma perda de energia sob uma forma não disponível, por exemplo, o calor e a fluorescência. A leitura de um padrão de resistência em plantas sob um determinado estresse, durante a aclimação e a respectiva recuperação pode definir em parte a resiliência de uma comunidade vegetal. Assim, ecofisiologistas vegetais podem atribuir aos seus resultados, que a maior resiliência de plantas em resposta ao fator de estresse do ambiente está associado ao restabelecimento das estruturas e funções fisiológicas após um determinado distúrbio. Neste estudo, o distúrbio foi representado pela alta intensidade luminosa durante um breve período em espécies de sombra. Por tanto, a estabilidade das funções fisiológicas fotoquímicas abaixo da condição controle pode refletir a resiliência nas espécies de *Cattleya*, observado especialmente durante T<sub>3</sub>.

Considerando o contexto da imprevisibilidade de abertura de clareiras em uma floresta tropical (PICKETT et al., 1987; LUKEN, 1990; SCHULZE et al., 2002), plantas que apresentem respostas rápidas podem ter maiores eficiências fotoquímicas, bioquímicas e, conseqüentemente, sucesso na resistência as flutuações intrínsecas da heterogeneidade do ambiente de luz (VALADARES e PEARCY, 2000; ALI et al., 2005). Assim, plantas de *C. warneri* e *C. harrisoniana* podem estar mais sujeitas aos efeitos fotoinibitórios da fotossíntese, em função da menor recuperação das reações fotoquímicas ou menor plasticidade, respectivamente.

#### 4. Considerações finais

A fluorescência transiente da clorofila *a* pode ser uma ferramenta eficiente nas avaliações de respostas ecofisiológicas das espécies de Orchidaceae estudadas sob influência de alta luz e manchas de sol. A partir da caracterização e distinção de distúrbios de natureza biofísica e bioquímica do fluxo de energia fotoquímica entre as unidades fotossintéticas foi possível detectar os danos fotoinibitórios antes de tornarem-se visíveis. Além disso, o uso de fluorômetros permite avaliações não invasivas da amostra a campo sobre os padrões de resistência ou tolerância de Orchidaceae em diferentes regimes de luz.

Durante o experimento I, evidências sobre a fotoinibição fotoquímica separaram plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa* (as quais apresentaram incrementos em  $F_0$  durante a exposição à alta luz e recuperaram os níveis iniciais de emissão de fluorescência basal) de plantas de *C. gutatta* e *C. walkeriana* (as quais apresentaram declínio para os sinais de  $F_0$  a partir da exposição contínua em alta intensidade luminosa). Assim, a detecção prévia de eventos de estresse fisiológico associados à fluorescência basal, como acúmulo de formas reativas de oxigênio e danos irreversíveis das proteínas do lado doador do FSII, são de grande relevância para projetos de manejo e conservação destas espécies de Orchidaceae. Assim, locais de maior intensidade luminosa ou sob o efeito de borda seriam mais apropriados para plantas de *C. amethystoglossa* e *C. granulosa*; e locais mais sombreados para *C. gutatta* e *C. walkeriana*.

Estudos da fotoinibição fotoquímica a partir de estudos fundamentados em  $F_0$  evidenciaram a importância das reações de oxi-redução de  $Q_A$  enquanto informações valiosas a respeito de modulações do aparato fotossintético na forma de respostas ecofisiológicas ao regime de luz do habitat. Assim, a manutenção do *pool* de quinonas primárias estabilizou o fluxo de energia com baixa entropia, ou seja, alta estabilidade entre as reações de redução de  $Q_A$  no FSII e re-oxidação pelo FSI, especialmente em *C. granulosa*.

Durante o experimento 2, ficou evidente a importância da plasticidade fisiológica em resposta ao estímulo de luz excedente da mancha solar a partir de centros de reação silenciosos. Estes centros não redutores de  $Q_A$  atuam como eficientes dissipadores de energia fotoquímica, e retornam à condição de redutores de  $Q_A$  após o estímulo do ambiente promotor de estresse cessar. Associado a esta eficiência em

dissipar energia excedente do ambiente que inside no aparato fotossintético está a habilidade da espécie vegetal em recrutar um maior contingente de pigmentos clorofila e pigmentos acessórios, aumentando, assim, o tamanho efetivo da antena e a função de mecanismo protetor.

Neste contexto, plantas de *C. schofieldiana* apresentaram as maiores magnitudes e amplitude de sinais para perda de energia na forma de calor, sugerindo maior eficiência na modulação do aparato fotossintético frente à exposição às manchas solares de 5, 35 e 120', em função da rápida resposta e reestabelecimento das condições fisiológicas próximas ao controle em comparação as outras espécies. O desempenho e a eficiência do transporte de elétrons mostraram-se dependentes das reações de centros de reação silenciosos, pois comportamentos ecofisiológicos semelhantes foram observados sobre os fluxos de energia e desempenho fotoquímico de *C. schofieldiana*, devido à maior plasticidade.

O comportamento fotoquímico em *C. warneri* parece estabelecer forte relação com a distribuição geográfica atual, restringindo o avanço para Matas mais abertas com predomínio de forófitos caducifólios e mesmo para o Cerrado. Assim é esperado maior rendimento das reações fotoquímicas da fotossíntese em habitats típicos das espécies do clado complexo *Cattleya labiata* (floresta Amazônica). Plantas de *C. walkeriana* apresentaram fotoinibição crônica, no entanto uma forte tendência em re-estabelecer o *pool* de quinonas ao fim do distúrbio de uma grande clareira. Isto pode contribuir com questionamentos a respeito da distribuição atual, associada a florestas ripárias e em afloramentos rochosos no Cerrado. Entretanto, são necessários estudos a respeito dos distúrbios fotoquímicos em função do sombreamento nesta espécie de *Cattleya* Lindl. para compreender a limitação da dispersão para regiões de floresta ombrófila densa. *C. amethystoglossa* e *C. gutatta* pertencem a um mesmo clado, entretanto apresentaram respostas distintas. Respostas fotoquímicas refletem a distribuição de *C. gutatta* e *C. harrisoniana*, para regiões de floresta ombrófila densa, ou associadas ao corredor central da Mata Atlântica e do corredor da Serra do Mar. O comportamento ecofisiológico em *C. amethystoglossa* parece estar associado a eventos de vicariância e especiação (endêmica do estado da Bahia), em função de semelhanças com as respostas ao distúrbio à alta luz em *C. granulosa* e *C. Schofieldiana* de maior representatividade no corredor do nordeste da Mata Atlântica.

As implicações ecológicas do bloqueio do fluxo de energia ao longo dos transientes O-J-I-P podem estar associadas à plasticidade fisiológica e a habilidade em responder de forma rápida e eficiente as condições impostas pela mudança abrupta e



imprevisível na intensidade luminosa ocasionadas por aberturas de clareiras no habitat. Por tanto, estudos sobre os aspectos fotoquímicos da fotossíntese podem contribuir com estratégias de manejo e conservação de Orchidaceae em sítios de recuperação.

## 5. Referências bibliográficas

ALI, M. B., HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Effect of intensities on antioxidant Enzymes and malondialdehyde content during short – term acclimatization on micropropagated *Phalaenopsis* plantlet. **Journal of Environmental and Experimental Botany**, v. 54, p. 109-120. 2005.

ANDERSON, J. M. Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 37, p. 93-136, 1986.

ANDERSON, J. M.; OSMOND, C. B. Shade-sun responses: compromises between acclimation and photoinhibition. In: KYLE, D.J.; OSMOND C.B.; ARNTZEN, C.J. (Eds.) **Photoinhibition**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p 1-38.

ANTAL, T.; RUBIN, A. In vivo analysis of chlorophyll *a* fluorescence induction. **Photosynthesis Research**, v. 96, p. 217-226. 2008.

ARDITTI, J. **Fundamentals of orchid biology**. 1.ed. New York. John Wiley e Sons, Inc., 1992. 691p.

ARO, E-M.; VIRGIN, I.; ANDERSON. B. Photoinhibition and D1 protein degradation in peãs acclimated to different growth irradiances. **Plant Physiology**, v. 103, p. 835-843. 1993.

ARAÚJO, S. A. C.; DEMICINIS, B. B. Foinibição da Fotossíntese. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 7 (4), p. 463-472. 2009.

BARROS, F. de; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A.; FRAGA, C. N.; PESSOA, E. M. Orchidaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000179>>. Acesso em: 30 jan. 2012.

BAZZAZ, F. A.; PICKETT, S. T. A. Physiological ecology of tropical succession: a comparative review. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 11, p. 287-310. 1980.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecology: from individuals to ecosystems**. Blackwell publishing, Oxford. 2006.

BETCHEL, H.; CRIBB, P.; SAUNERT, E. **The manual of cultivated orchid species**. MIT Press, Cambridge. 1981.

BJÖRKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: **Encyclopedia of Plant Physiology**. Vol. I. New Series. LANGE, O.L.; NOBEL, P.S.; OSMOND, C.B.; ZIEGLER, H. (Eds.) Berlin: Springer-Verlag, 1981. p. 57-107.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG-ADAMS, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v. 170, p. 489-504. 1987.

- BO, L.; QING, L. Plastic responses of 4 tree species of successional subalpine coniferous Forest serals to different light regimes. **Acta Ecologica Sínica**, v. 28 (10), p. 4665-4675. 2008.
- BOEGER, M. R. T.; ALVES L. C.; NEGRELLE R. R. B. Variações morfo-anatômicas dos folíolos de *Tapirira guianensis* Aubl. em relação a diferentes estratos da floresta. **Biotemas**, v.11, p. 27-38, 1998.
- BRANTLEY, S. T.; YOUNG D. R. Linking light attenuation, sunflecks, and canopy architecture in mesic shrub thickets. **Plant Ecology**, v. 206, 225-236. 2010.
- BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, v. 145, n. 185, 24 set. 2008. Seção 1, p. 75-83.
- BUSSOTTI, F.; STRASSER, R. J.; SCHAUB, M. Photosynthetic behavior of woody species under high ozone exposure probed with the JIP-test: A review. **Environmental Pollution**, v. 147, p. 430-437. 2007.
- CAMPOS, M. A. A.; UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 281-288. 2002.
- CARDIM, D. C.; CARLINI-GARCIA. L. A.; MONDIN. M.; MARTINS. M.; VEASEY, E. A.; ANDO, A. Variabilidade intra-específica em cinco populações de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae . Oncidiinae) em Minas Gerais. **Revista brasileira de Botânica**, v. 24, p. 553-560. 2001.
- CHASE, M. W., CAMERON, K. M., BARRETT, R. L.; FREUDENSTEIN, J. V. DNA data and Orchidaceae systematics: A new phylogenetic classification. *In*: K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett & P.J. Cribb (eds.). **Orchid Conservation**. Kota Kinabalu, Natural History Publications, Sabah, p. 69-89. 2003.
- CHAZDON, R. L. Sunflecks and their importance to forest understory plants. **Advances in Ecological Research**, v. 18, p. 1-63. 1988.
- CHAZDON, R. L.; PEARCY, R. W. Photosynthetic responses to light variation in rainforest species. I. Induction under constant and fluctuating light conditions. **Oecologia**, v. 69, p. 517-523. 1986.
- CHAZDON, R. L.; PEARCY, R. W. The importance of sunflecks for forest understory plants. **BioScience**, v. 41, p. 760-766. 1991.
- CHEN, L-S.; CHENG, L. The acceptor side of photosystem II is damaged more severely than the donor side of photosystem II in 'honeycrisp' apple leaves with zonal chlorosis. **Acta Physiology Plant**, v. 32, p. 253-261. 2010.
- CHEN, S.; YIN, C.; STRASSER, R. J.; GOVINDJEE.; YANG, C.; QIANG, S. Reactive oxygen species from chloroplasts contribute to 3-acetyl-5-isopropyltetramic acid-induced leaf necrosis of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. (52), p. 38-51. 2012.

CHRISTEN, D.; SCHONMANN, S.; JERMINI, M.; STRASSER, R. J.; DÉFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by *in situ* chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 504-514. 2007.

CI- BRASIL (CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL DO BRASIL); FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS; IPÊ; SMA-SP; SEMAD-MG. **Avaliação e ações prioritárias para conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos**. MMA/SBF, Brasília. 2000.

CLOSE, D.C. & BEADLE, C.L. The Ecophysiology of Foliar Anthocyanin. **The Botanical Review**, v. 69, p. 149–161. 2003.

COGNIAUX, A. Orchidaceae. *In*: C.F.P. Martius, A.G. Eichler & I. Urban (eds.). **Flora Brasiliensis**. Typographia Regia, Monachii, v3, pt. 4, p. 1-672, t. 1- 133. 1893-1896.

COGNIAUX, A. Orchidaceae. *In*: C.F.P. Martius, A.G. Eichler & I. Urban (eds.). **Flora Brasiliensis**. Typographia Regia, Monachii, v.3, pt. 5, p. 1-663, t. 1- 119. 1898-1902.

COGNIAUX, A. Orchidaceae. *In*: C.F.P. Martius, A.G. Eichler & I. Urban. (eds.). **Flora Brasiliensis**. R. Oldenbourg, Monachii, v.3, pt. 6. p. 1-604, t. 1-120. 1904-1906.

COSTA, L. C. B.; ALMEIDA, A. A. F.; VALLE, R. R. Crescimento, teor de clorofila e estrutura anatômica em plântulas de *Theobroma cacao* submetidas a diferentes irradiâncias e doses de nitrogênio. **Agrotrópica**, v. 10, (1), p. 21-30. 1998.

COXSON, D. S.; NADKARNI, N. M. Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. *In*: M. D. Lowman ; N. M. Nadkarni. **Forest canopies**. 1st ed. Academic Press, San Diego, 1995.

DAMATTA, F. M. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Research**, v. 86, p. 99-114. 2004.

DENSLOW, J. S.; SCHULTZ, J. C.; VITOUSEK, P. M.; STRAIN, B. R. Growth responses of tropical shrubs to treefall gap environments. **Ecology**, v. 71, p. 165-179. 1990.

DIAS, D. P.; MARENCO, R. A. Photoinhibition of photosynthesis in *Minuartia guianensis* and *Swietenia macrophylla* inferred by monitoring the initial fluorescence. **Photosynthetica**, v. 44 (2), p. 235-240. 2006.

DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Deoscorides Press, Portland. 1993.

DUNSTERVILLE, G. C. K.; GARAY, L. A. **Venezuelan orchids illustrated**, v. 6. André. Deutsch, London. 1976.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3 (1), p. 39-45. 1991.

EVANS, J. R. Leaf anatomy enables more equal access to light and CO<sub>2</sub> between chloroplasts. **New Phytologist**, v. 143, p. 93-104. 1999.

EVANS, J. R.; LORETO, F. Acquisition and diffusion of CO<sub>2</sub> in higher plant leaves. In: LEEGOOD, R.C.; SHARKEY, T.D.; VON CAEMMERER, S. (Eds.) **Photosynthesis: Physiology and Metabolism**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 321-351.

FARIA L.A.; RIBEIRO, R. Pôster apresenta orquídeas na Mata Atlântica. **Revista O mundo das orquídeas**, v. 13, p. 43-45. 2000.

FENG, Y. L.; CAO, K. F.; FENG, Z. L.. Acclimation of lamina mass per unit área, photosynthetic characteristics and dark respiration to growth light regimes in four tropical rain Forest species. **Acta Ecologica Sinica**, v. 22 (2), p. 901-910. 2000

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA e INPE. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica e ecossistemas associados no período de 1995-2000**. Relatório final, São Paulo. 2002.

GAO, Q. T.; TAM, N. F. Y. Growth, photosynthesis and antioxidant responses of two microalgal species, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum*, to nonylphenol stress. **Chemosphere**, v. 82, p. 346-354. 2011.

GENTRY, A. H.; DODSON, C. H. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. **Annals of Missouri Garden**, v. 74, p. 205- 233. 1987.

GIVNISH, T. J.; MONTGOMERY, R. A.;GOLDSTEIN, G. Adaptive radiation of photosynthetic physiology in the Hawaiian lobeliads: light regimes, static light responses and whole-plant compensation points. **American Journal of Botany**, v. 91, p. 228-246. 2004.

GONÇALVES, J. F. C.; SILVA, C. E.; GUIMARÃES, D. G.; BERNARDES, R. J. Análise dos transientes da fluorescência da clorofila a de plantas jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* submetidas a dois ambientes de luz. **Acta Botânica Brasileira**, v. 40 (1), p. 89-98. 2010.

HE, J.; KHOO, G. H.; HEW, C. S. Susceptibility of CAM *Dendrobium* leaves and flowers to high light and high temperature under natural tropical conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 40, p. 255-264. 1998.

HENRIQUES, F. S. Leaf Chlorophyll Fluorescence: Background and Fundamentals for Plant Biologists. **Botanical Review**, v. 75, p. 249-270. 2009.

HOEHNE, F.C. Orchidáceas. In: F.C. Hoehne (ed.). **Flora Brasileira**. Instituto de Botânica, São Paulo, v.12, pt. 1, pp. 1-254, t. 1-153. 1940.

HOEHNE, F.C. Orchidáceas. In: F.C. Hoehne (ed.). **Flora Brasileira**. Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio de São Paulo, São Paulo, v. 12, pt. 6, pp. 1-218, t. 1-137. 1942.

HOEHNE, F.C. Orchidáceas. *In*: F.C. Hoehne (ed.). **Flora Brasílica**. Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio de São Paulo, São Paulo, v. 12, pt. 2, pp. 1-389, t. 1-210. 1945.

HOEHNE, F.C. **Iconografia das Orchidáceas do Brasil**. Secretaria da Agricultura. São Paulo, 1949. 302p.

HOEHNE, F.C. Orchidáceas. *In*: F.C. Hoehne (ed.). **Flora Brasílica**. Instituto de Botânica, São Paulo, v.12, pt. 7, pp. 1-397, tab. 1-181. 1953.

JIANG, H. X., TANG, N., ZHENG, J. G., LI, Y., CHEN, L. S. Phosphorus alleviates aluminum-induced inhibition of growth and photosynthesis in *Citrus grandis* seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 137, p. 298-311. 2008.

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

KRAUSE, G. H.; VIRGO, A.; WINTER, K. High susceptibility to photoinhibition of young leaves of tropical forest trees. **Planta**, v. 197, p. 583-591. 1995.

KÜPPERS, M.; TIMM, H.; ORTH, F.; STEGEMANN, J.; STÖBER, R.; SCHNEIDER, H.; PALIWAL, K.; KARUNAICHAMY, K. S. T. K.; ORTIZ, R. Effects of light environment and successional status on lightfleck use by understory trees of temperate and tropical forests. **Tree Physiology**, v. 16, p. 69-80. 1996.

LAING, W. A.; GREER, D. H.; SCHNELL, T. Photoinhibition of photosynthesis causes a reduction in vegetative growth rates of dwarf bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p. 511-520. 1995.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531p.

LAZÁR, D. Chlorophyll *a* fluorescence induction. **Biochimica et biophysica Acta**, v. 1412, p. 1-28, 1999.

LI, C. R.; LIANG, Y. H.; HEW, C. S. Responses of Rubisco and sucrose-metabolizing enzymes to different CO<sub>2</sub> in a C<sub>3</sub> tropical epiphytic orchid *Oncidium Goldiana*. **Plant Science**, v. 163, p. 313-320. 2002.

LI, Q.; CHEN, L. S.; JIANG, H-X.; TANG, N.; YANG, L-T.; LIN, Z-H.; LI, Y., YANG, G-H. Effects of manganese-excess on CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport of leaves, and antioxidant systems of leaves and roots in *Citrus grandis* seedlings. **BMC Plant Biology**, v. 10 (42), p. 1-16. 2010.

LICHTENTHALER, H. K. Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids,  $\alpha$  tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. **Photosynthesis Research**, v. 92, p. 163-179. 2007.

LICHTENTHALER, H. K.; BABANI, F. Light adaptation and senescence of the photosynthetic apparatus. Changes in pigment composition, chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic activity. *In*: **Chlorophyll fluorescence: a signature of**

**photosynthesis**, G.C. Papageorgiou & Govindjee (eds.), Springer, Dordrecht, 2004. p. 713-736.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; DÖLL, M.; FIETZ, H.-J.; BACH, T.; KOZEL, U; MEIER, D; RAHMSDORF U. Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. **Photosynthesis Research**, v. 2 (2), p. 115-141. 1981.

LIN, M. J.; HSU, B. D. Photosynthetic of Phalaenopsis in response to different light environments. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1259-1268. 2004.

LIN, Z.H., CHEN, L.S., CHEN, R.B., ZHANG, F.Z., JIANG, H.X., TANG, N.: CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply. **BMC Plant Biology**, v. 9 (43), p. 1-12. 2009.

LINDLEY, J. **Genera and species of Orchidaceous plants**. Ridgways, London. 1830-1840.

LIU, J.; SHI, D. C. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. **Photosynthetica**, v. 48, p. 127-134. 2010.

LONG, S. P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. Annual Review of Plant Physiology and **Plant Molecular Biology**, v. 45, p. 633-662. 1994.

LUKEN, J.O. **Directing ecological succession**. Chapman e Hall, New York, 1990. 251 p.

LÜTTGE, U. **Physiological ecology of tropical plants**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1997. 387 p.

MAXWELL, K. & JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668. 2000.

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

MENDES, M. M.; GAZARINI, L. C.; RODRIGUES, M. L. Acclimatation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 45, p. 165-178. 2001.

MONTANARI, R. M.; SOUSA, L. A.; LEITE, M. N.; COELHO, A. D. F.; VICCINI, L. F.; STEFANINI, M. B. Plasticidade fenotípica da morfologia externa de *Lippia alba* (Mill.) N.E.BR. ex Britt. e Wilson (Verbenaceae) em resposta a níveis de luminosidade e adubação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, p. 96-101. 2004.

MORAIS, H.; MEDRI, M. E.; MARUR, C. J.; CARAMORI, P. H.; RIBEIRO, A. M. A.; GOMES, J.C. Modifications on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of

- Pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, p. 863-871. 2004.
- MOREIRA, A. S. F. P.; FILHO, J. P. L.; ZOTZ, G.; ISAIAS, R. M. S. Anatomy and photosynthetic parameters of roots and leaves of two shade-adapted orchids, *Dichaea cogniauxiana* Shltr. and *Epidendrum secundum* Jacq. **Flora**, v. 204, p. 604-611. 2009.
- MURCHIE, E. H.; HUBBART, S.; PENG, S.; HORTON, P. Acclimation of photosynthesis to high irradiance in rice: gene expression and interactions with leaf development. **Journal of Experimental Botany**, v. 56 (411), p. 449-460. 2005.
- MURCHIE, E. H.; HORTON, P. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, capacity and habitat preference. **Plant, Cell and Environment**, v. 20, p. 438-448. 1997.
- MSILINI, N.; ZAGHDOUDI, M.; GOVINDACHARY, S.; LACHAÂL, M.; OUERGLI, Z.; CARPENTIER, R. Inhibition of photosynthetic oxygen evolution and electron transfer from the quinone acceptor  $Q_A^-$  to QB by iron deficiency. **Photosynthesis Research**, v. 107, p. 247-256. 2011.
- MYERS, N. R.; MITTERMEIER, C.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 853-858. 2000.
- NADKARNI, N. M. An ecological overview and checklist of vascular epiphytes in the Monteverde cloud forest reserve. Costa Rica. **Brenesia**, v. 24, p. 55-632. 1986.
- NAIDOO, G. N.; NAIDOO, Y.; ACHAR, P. Responses of the mangroves *Avicennia marina* and *Bruguiera gymnorhiza* to oil contamination. – **Flora**, v. 205, p. 357-362. 2010.
- NICOLIS, G., PRIGOGINE, I. **Self-organization in nonequilibrium systems**. John Wiley e Sons, New York. 1977.
- NOBEL, P.S. **Physicochemical and Environmental Plant Physiology**. New York: Academic Press, 1991.
- NOGUCHI, K., SONOIKE, K.; TERASHIMA, I. Acclimation of respiratory properties of leaves of *Spinacia oleracea* L., a sun species, and of *Alocasia macrorrhiza* (L.) G. Don., a shade species, to changes in growth irradiance. **Plant and Cell Physiology**, v. 37, p. 377-384. 1996.
- OGUCHI, R.; HIKOSAKA, K.; HIROSE, T. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 505-512. 2003.
- OLIVEIRA, V. DEL C.; SAJO, M. G. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. **Revista brasileira de Botânica**, v. 22, p. 365-374. 1999.
- OUKARROUM, A.; MADIDI, S. E. L.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 438-446. 2007.



- PABST, G.; DUNGS, F. **Orchidaceae Brasilienses**. Band. I-II. Brucke, Hildesheim. (1975-1977).
- PABST, G.; DUNGS, F. **Orchidaceae Brasilienses** v.1. Kurt Schmiersow, Hildesheim. 1975.
- PABST, G.; DUNGS, F. **Orchidaceae Brasilienses** v.2. Kurt Schmiersow, Hildesheim. 1977.
- PEARCY, R. W. Photosynthetic gas exchange responses of Australian tropical forest trees in canopy, gap and understory micro-environments. **Functional Ecology**, v. 1, p.169-178. 1987.
- PEARCY, R. W., CHAZDON, R. L., GROSS, L. J., MOTT, K. A. Photosynthetic utilization of sunflecks: a temporally patchy resource on a time scale of seconds to minutes. In: CALDWELL, M.M., PEARCY, R.W. (Eds.). **Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiology Processes Above and Below Ground**: Academic Press, New York. 1994. p. 175-208.
- PICKETT, S. T. A.; COLLINS, S. L.; ARMESTO, J. J. Models, mechanisms and pathways of succession. **Botanical Review**, v. 53 (3), p. 335-371. 1987.
- PRIOUL, J. L.; BRANGEON, J.; REYSS, A. Interactions between external and internal conditions in the development of photosynthetic features in a glass leaf. **Plant Physiology**, v. 66, p. 770-774. 1980.
- RAMALHO, A. M. Z.; PIMENTA, H. C. D. valoração econômica do dano ambiental ocasionado pela extração ilegal da orquídea *Cattleya granulosa* no parque natural Dom Nivaldo Monte, Natal/RN. *Holus*, v. 1, p. 62-82. 2010.
- REDILLAS, M.C.F.R., STRASSER, R.J., JEONG, J.S., KIM, Y.S., KIM, J.K.: The use of JIP test to evaluate drought-tolerance of transgenic rice overexpressing OsNAC10. **Plant Biotechnology Report**, v. 5, p.169-175. 2011.
- ROSENQVIST, E., VAN KOOTEN, O.: Chlorophyll fluorescence: a general description and nomenclature. In: DeEll, J.R., Toivonen, P.M.A. (ed), **Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003. p. 31-77.
- SCHNEIDER, E. D.; KAY, J. J. Life as a manifestation of the second law of thermodynamics. **Mathematical and Computer Modelling**, v.19, p. 25-48. 1994.
- SCHULTZ, S. G. Homeostasis, Humpty Dumpty, and Integrative Biology. **News Physiology Science**, v. 11, p. 238-246. 1996.
- SCHULZE, E. D.; BECK, E.; MÜLLER-HOHENSTEIN, K. **Plant Ecology**. Springer-Verlag, Heidelberg. 2002.
- SEBAA, E. D.; PRIOUL, J. L.; BRANGEON, J. Acclimation of adult *Lolium multiflorum* leaves to changes in irradiance effect on leaf photosynthesis and chloroplast ultrastructure. **Journal of Plant Physiology**, v. 127, p. 431-442. 1987.

SINGER, R. B. . Abelhas nativas e orquídeas no Brasil. In: IX Encontro Estadual de Apicultores, 2006, Ijuí, RS. **Anais do IX Encontro Estadual de Apicultores**, 2006.

SINGER, R. B.; KOEHLER, S. Pollinarium Morphology and Flora Rewards in Brazil Maxillariinae (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 93, p. 39-51. 2004.

SINGER, R. B.; SAZIMA, M. The Pollination Mechanism of Three Sympatric Prescottia (Orchidaceae: Prescottinae) Species in Southeastern Brazil. **Annals of Botany**, v. 88, p. 999-1005. 2001.

SMIT, M. F.; HEERDEN VAN, P. D. R.; PIENAARB, J. J.; WEISSFLOGC, L.; STRASSER, R. J.; KRÜGERA, G. H. J. Effect of Trifluoroacetate, a Persistent Degradation Product of Fluorinated Hydrocarbons, on C3 and C4 Crop Plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 2623-634. 2009.

SOUZA, G. M., BUCKERIDGE, M. S. Sistemas complexos: novas formas de ver a botânica. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p. 407-19. 2004.

SOUZA, G. M., OLIVEIRA, R. F. Estabilidade e complexidade em sistemas biológicos. In: SOUZA, G.M., D'OTTAVIANO, I.M.L., GONZALES, M.E.Q. (Eds.). **Auto-organização: estudos interdisciplinares**. CLE/UNICAMP, Campinas, 2004. v. 38, p. 123-136.

STIRBET, A., GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and PhotoBiology**. 2011 (in press.)

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transiente as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In YUMUS, M.; PATHRE, U.; MOHANTY, P (eds), **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation**, Taylor & Francis, 2000. 445-483 p.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. Analysis of fluorescence transient, In: G. Papageogiou, Govindjee (eds.), **Chlorophyll Fluorescence: a Signature of Photosynthesis, Advances in Photosynthesis and Respiration**, Springer, Dordrecht, 2004. v. 19, p. 321-362.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; DANGRE, D.; RAI, M. Biophysical phenomics reveals functional building blocks of plants systems biology: a case study for the evaluation of the impact of Mycorrhization with Piriformospora indica, In: A. Varma, R. Oelmüller (Eds.), **Advanced Techniques in Soil Microbiology**, Soil Biology, Berlin Heidelberg, 2007. p. 319-341.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. São Paulo: Artmed, 2009. p. 848.

TANG, J. Y., ZIELINSKI, R. E., ZANGERL, A. R., CROFTS, A. R., BERENBAUM, M. R, DELUCIA, E. M. The differential effects of herbivory by first and fourth ;Istars

of *Trichop/usia nl* (Lepidoptera: Noctuidae) on photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 57, p. 527-536, 2006.

TERASHIMA, I.; HIKOSAKA, K. Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis. **Plant, Cell and Environment**, v. 18, p. 1111-1128.1995.

TERASHIMA, I.; MIYAZAWA, S. I.; HANBA, Y. T. Why are sun leaves thicker than shade leaves? Consideration based on analyses of CO<sub>2</sub> diffusion in the leaf. **Journal of Plant Research**, v. 114, p. 93-105. 2001.

TONINI, H.; OLIVEIRA JR, M. M. C.; SCHWENGBER, D. Crescimento de espécies nativas da Amazônia submetidas ao plantio no estado de Roraima. **Ciência Florestal**, v. 18, p. 151-158. 2008.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo assessment of plants' vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants, In: A. Varma (ed.), **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**, 3rd edition, Springer, Dordrecht, 2008. p. 679-703.

VALLADARES, F.; PEARCY, R. The role of crown architecture for light harvesting and carbon gain in extreme light environments assessed with a realistic 3-D model. W. In **Anales Jadin Botanico De Madrid**. - dialnet.unirioja.es. 2000.

VAN DEN BERG, C. **Estudo dos padrões de variabilidade intra e interespecífica em espécies brasileiras de *Cattleya Lindl.* (Orchidaceae - Laeliinae)**. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Universidade Estadual de Campinas, 1996.

VAN DEN BERG, C.; HIGGINS, W. E.; DRESSLER, R. L.; WHITTEN, W. M.; SOTO ARENAS, M. A.; CULHAM, A.; CHASE, M. W. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. **Lindleyana**, v. 15 (2), p. 96-114. 2000.

VAN HERDEEN, P. D. R.; SWANEPOEL, J. W.; KRÜGER, G. H. J. Modulation of photosynthesis in two desert scrub species exhibiting C<sub>3</sub>-mode CO<sub>2</sub> assimilation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, p. 124-136. 2007.

WAECHTER, J. L. Epiphytic orchids in eastern subtropical South America. In: **15th World Orchid Conference**, 1998, Rio de Janeiro. Proceedings. Turriers: Naturalia. p. 332-341. 1996.

WAECHTER, J. L. **O epifitismo vascular na Planície Costeira do Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade de São Carlos, 1992.

WALTERS, R. G. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 435-447. 2005.

WARREM, D. **A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica Brasileira**. Tradução Cid Knipel Moreira; revisão técnica José Augusto Drummond – São Paulo: Companhia das Letras, 1996.

WANG, B. Y.; FENG, Y. L. Effect of growth light intensity on photosynthesis in seedlings of two tropical rainforest species. **Acta Ecologica Sinica**, v. 25 (1), p. 23-30. 2005.

WITHNER, C. L.; NELSON, P. K.; WWJKSNORA, P. J. The anatomy of orchids. In: C.L. Withner (Ed.), **The orchids: scientific studies**. John Wiley Co, New York, 1974. p. 267-334.

YANO, S.; TERASHIMA, I. Separate localization of light signal perception for sun or shade type chloroplast and palisade tissue differentiation in *Chenopodium album*. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, p. 1303-1310. 2001.

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

ZANENGA-GODOY, R.; COSTA, C. G. Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) do planalto central brasileiro. **Acta botanica brasílica**, v. 17 (1), p. 101-103. 2003.

ZANGERL, A. R.; HAMILTON, J. G.; MILLER, T. J.; CROFTS, A. R.; OXBOROUGH, K.; BERCLLBAUM, M. R.; DELIICIA, E. H. Impact of folivory on photosynthesis is greater than the sum of its holes. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 99, p. 1088-1091. 2002.

ZHANG, S.; MA, K.; CHEN, L. Response of photosynthetic plasticity of *Paeonia suffruticosa* to changed light environments. **Environmental and Experimental Botany**, v. 49, p. 121-133. 2003.

ZHANG, M-P.; ZHANG, C-J.; YU, G-H.; JIANG Y-Z, STRASSER, R. J.; YUAN, Y-Z.; YANG, X-S.; CHEN, G-X. Changes in chloroplast ultrastructure, fatty acid components of thylakoid membrane and chlorophyll a fluorescence transient in flag leaves of a super-high-yield hybrid rice and its parents during the reproductive stage. **Journal of Plant Physiology**, v. 167 (4), p. 277-285. 2010.

ZUBEK, S., TURNAU, K., TSIMILLI-MICHAEL, M., STRASSER, R. J. Response of endangered plant species to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. **Mycorrhiza**, v. 19, p. 113-123. 2009.