UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE TROPICAL

LOURDES MARCARINI

Efeito da exposição à alta luminosidade no desempenho fotoquímico de *Cattleya guttata* (CAM) e *Miltonia spectabilis* (C_3) Orchidaceae

São Mateus 2016

LOURDES MARCARINI

Efeito da exposição à alta luminosidade no desempenho fotoquímico de *Cattleya guttata* (CAM) e *Miltonia spectabilis* (C_3) Orchidaceae

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical (PPGBT), da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Orientador: Prof. Antelmo Ralph Falqueto

São Mateus- ES

2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, pelas foças renovadas a cada dia e pela fé em vencer as dificuldades para concluir esta etapa tão importante para a minha vida.

A minha família, que apesar de todas as dificuldades, sempre esteve disposta a ajudar, não medido esforços para fornecer todas as condições necessárias para que eu pudesse me dedicar exclusivamente aos meus estudos. Agradeço aos meus pais, José Antônio e Magdalena, aos meus irmãos, Silvia e Emilio, aos meus sobrinhos Tiago e Gustavo e a todos os meus tios e primos que colaboraram com meus estudos. Muito obrigada!

Ao meu Orientador, Professor Antelmo Ralph Falqueto, pela oportunidade e por todo aprendizado transmitido ao longo deste mestrado. Muito obrigada pelo seu empenho em minha formação.

Ao Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Tropical, por todo apoio e pela oportunidade em cursar este mestrado. Além de agradecer desejo que a qualidade e as condições de pesquisa melhorem a cada dia neste programa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

A todos professores, funcionários e colaboradores da Universidade Federal do Espírito Santo, que durante estes anos de estudo de alguma forma contribuíram com meu aprendizado e atuaram para a melhoria da qualidade de ensino nesta instituição.

A todos amigos do Programa de Pós graduação em Biodiversidade Tropical, pelo carinho, amizade, colaboração e por todos os momentos agradáveis que passamos durante o período deste mestrado.

De modo muito especial, gostaria de agradecer aos integrantes do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, (Veronica, Renata, Jadson, André, Priscila, Thais e Rodrigo) pela colaboração na realização deste trabalho, por todas as risadas e brincadeiras, pela amizade construída ao longo destes anos. Muito obrigada a todos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS v
LISTA DE TABELAS vi
LISTA DE SIGAS E ABREVIAÇÕES vii
RESUMO viii
ABSTRACT x
1. INTRODUÇÃO 12
2. OBJETIVOS 16
2.1. Objetivo geral 16
2.2 Objetivos específicos 16
3. MATERIAIS E MÉTODOS 17
3.1. Materiais vegetal e condições de amostragem 17
3.2. Experimentos para análise do desempenho fotoquímico 17
3.3. Extração e quantificação de pigmentos fotossintéticos 18
3. 4. Cinéticas de emissão da fluorescência dos transientes OJIP e do teste JIP 19
3. 5. Testes preliminar para adequação da metodologia 20
3. 6. Análises estatística 20
4. RESULTADOS 22
4.1 Pigmentos fotossintéticos 22
4.2 Efeitos da exposição das plantas a luz solar nos transientes OJIP 22
4.3 Alterações e recuperação nos valores dos parâmetros do teste JIP em *M. spectabilis* e *C. guttata* provocadas pela exposição a luz solar plena 25
5. DISCUSSÃO 34
6. CONCLUSÃO 40
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS 41
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas de *Miltonia spectabilis* e *Cattleya guttata*..... 22

_Toc445909767

Figura 2. Diferenças cinéticas da fluorescência variável, evidenciando o aparecimento da banda K [ΔV_{OJ} = ($\Delta V_{OJ\ tratamento}$) -($\Delta V_{OJ\ controle}$)] e da banda L [($\Delta V_{OK}$ = ($\Delta V_{OK\ tratamento}$) -($\Delta V_{OK\ controle}$)] em *C. guttata* e *M. spectabilis*, em T_5, T_{35} e T_{120}, logo após a exposição das plantas a alta luz (tempo 0). O controle é referente as medidas da fluorescência da Chl *a*, realizadas 5 horas antes da exposição das planas a luz solar plena
.....24

Figura 3. Diferenças cinéticas da fluorescência variável. Banda K [V_{OJ} 300 = ($F_{300\mu s}$ – F_0) / (F_J – F_0)]. e Banda L[V_{OK} 100 = ($F_{100\mu s}$ – F_0) / (F_{300} – F_0)], em *C. guttata* e *M. spectabilis*, em T_5, T_{35} e T_{120}, logo após a exposição das plantas a alta luz (tempo 0). O controle é referente as medidas da fluorescência da clorofila a, realizadas 5 horas antes da exposição das planas a luz solar plena 25

Figura 4. Fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m) e eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m), em plantas de *C. gutatta* e *M. spectabilis* submetidas à alta luminosidade. As medidas da fluorescência da *Chl a*, referem-se ao controle (-5), a primeira medida após a exposição das plantas a luz solar plena (0h), a recuperação até o final da tarde (5h) e a recuperação após 19, 43 e 91h..... .26

Figura 5. Fluxos de absorção (pelas clorofilas do sistema antena) por centros de reação ativos *ABS/RC*. Fluxos de dissipação de energia de excitação por centro de reação ativos DI_0/RC, em *C. guttata* e *M. spectabilis* submetidas à alta luminosidade. As medidas da fluorescência da Chl *a*, referem-se ao controle (-5), a primeira medida após a exposição das plantas a luz solar plena (0h), a recuperação até o final da tarde (5h) e a recuperação após 19, 43 e 91h. 30

Figura 6. Centro de reação ativo por secção transversal excitada (*RC/CS0*). Índice de desempenho fotoquímico [$PI_{(total)}$], em *C. guttata* e *M. spectabilis* submetidas à alta luminosidade. As medidas da fluorescência da *Chl a*, referem-se ao controle (-5), a primeira medida após a exposição das plantas a luz solar plena (0h), a recuperação até o final da tarde (5h) e a recuperação após 19, 43 e 91h.. 32

LISTA DE TABELAS

Tabela1. Comparação dos parâmetros do teste JIP entre tratamentos (T_5, T_{35} eT_{120}). Os valores de cada parâmetro referem-se as médias obtidas em 5 plantas (± Desvio padrão). As letras representam as diferenças entre os tratamentos apresentados nas colunas, dentro de cada espécie. Teste de *Tukey* 0,05%. Fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (*Fm*) e eficiência fotoquímica máxima (F_v/F_m) 28

Tabela 2. Comparação dos parâmetros do teste JIP entre tratamentos (T_5, T_{35} eT_{120}). Os valores de cada parâmetro referem-se as médias obtidas em 5 plantas (± Desvio padrão). As letras representam as diferenças entre os tratamentos apresentados nas colunas, dentro de cada espécie. Teste de *Tukey* 0,05%. Fluxos de absorção (pelas clorofilas do sistema antena) por centros de reação ativos (*ABS/RC*) e de dissipação de energia de excitação por centros de reação ativos (DI_0/RC). Centros de reação ativos por secção transversal (RC/CS0) e índice de desempenho fotoquímico [$PI_{(TOTAL)}$] 32

LISTA DE SIGAS E ABREVIAÇÕES

ABS/RC	Fluxo de absorção (pelas clorofilas do sistema antena) por centro de reação ativo
CAM	Metabolismo Ácido das Crassulaceae
Car	Carotenóides
CEO	Complexo de Evolução do Oxigênio
Chl a	Clorofila *a*
Chl b	Clorofila *b*
Chl total	Clorofila total
DI_0/RC	Fluxo de dissipação de energia por centro de reação ativo
DMSO	Dimetilsulfóxido
F_0	Fluorescência inicial
F_m	Fluorescência máxima
F_v/F_m	Eficiência fotoquímica do FSII
FSI	Fotossistema I
FSII	Fotossistema II
PI (TOTAL)	Índice de desempenho fotoquímico
RC	Centro de reação
RC/CS_0	Centro de reação ativo por seccão transverval
Vt $[(F_t - F_0) / (F_P - F_0)]$	Fluorescência variável relativa
$\mathbf{\Delta V_{OJ}}$ $[(F_t - F_0) / (F_J - F_0)]$	Banda K
$\mathbf{V_{OK}}$ $[(F_t - F_0) / (F_K - F_0)]$	Banda L

RESUMO

Cattleya guttata Lindll. e *Miltonia spectabilis* Lindll. (Orquidaceae) são epífitas que possuem metabolismo de fixação de carbono CAM e C_3, respectivamente. Assim como todas as plantas, as epífitas têm o crescimento e desenvolvimento diretamente influenciados pela luz. Entretanto, em excesso, a luz pode provocar fotoinibição, a qual, dependendo da intensidade dos danos causados no aparato fotossintético, pode ser dinâmica ou crônica. O presente estudo teve por objetivo analisar o desempenho fotoquímico de *C. guttata* e *M. spectabilis* expostas à alta luminosidade em diferentes intervalos de tempo. Para isso, plantas cultivadas em casa de vegetação (220 ± 9,3 μmol $m^{-2}s^{-1}$) foram transferidas para ambiente aberto, sob irradiância de 2330 ± 76 μmol $m^{-2}s^{-1}$ durante 5, 35 e 120 minutos (considerados como tratamentos T_5, T_{35} e T_{120}). Plantas mantidas na casa de vegetação foram utilizadas como controle. As análises da fluorescência da clorofila *a* foram realizadas no intervalo de: -5 (medida realizada, cinco horas antes da exposição das plantas a luz solar plena), 0 (medida realizada logo após a exposição das plantas a luz solar) e 1, 5, 19, 43 e 93 h (horas decorridas após a exposição das plantas, a fim de avaliar a recuperação). Foram analisadas: a concentração de pigmentos fotossintéticos, as curvas OJIP, banda L, K e os parâmetros do teste JIP. A concentração de pigmentos fotossintético foi maior em *M. spectabilis*. Porém, este resultado não conferiu à espécie melhor desempenho fotoquímico em relação à *C. guttata*. Curvas com amplitude positiva para a banda L foram obtidas em ambas as espécies em todos os tratamentos, indicando perdas de conectividade energética. Observou-se, também, o aparecimento da banda K com valores positivos em T_5 e T_{35} e negativos em T_{120}, mostrando uma tendência de aclimatação do complexo de evolução do oxigênio (CEO) à alta luz tanto para a espécie CAM como para a espécie C_3. O aumento nos valores da fluorescência inicial (F_0) foi acompanhado pela redução da fluorescência máxima (F_m) e da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) em ambas as espécies. O aumento dos valores do fluxo de absorção por centro de reação ativo (*ABS/RC*) foi seguido pelo aumento dos valores do fluxo de dissipação de energia de excitação (DI_0/RC), o que sugere mecanismos de fotoproteção. Reduzidos valores dos centros de reação ativos por seção transversal (RC/CS_0) e do índice de desempenho fotoquímico [$PI_{(total)}$] foram observados em T_{35} e T_{120} em *C. guttata*, o que

ocorreu em *M. spectabilis* apenas em T_{120}. Em geral, as alterações observadas nos parâmetros fotossintéticos em *M. spectabilis* foram diretamente relacionadas com o tempo de exposição à luz solar, assim como o tempo de recuperação foi proporcional ao dano. Para *C. guttata*, a ausência de diferenças significativas entre T_{35} e T_{120} para a maioria dos parâmetros do teste JIP analisados sugere aclimatação à alta luz. O tempo requerido para a recuperação dos valores de F_0, F_m e F_v/F_m indica a ocorrência de fotoinibição dinâmica e crônica em T_{35} e T_{120}, respectivamente, para ambas as espécies. Danos ao aparato fotossintético foram mais severos em *M. spectabilis* devido ao maior tempo requerido para a recuperação dos parâmetros avaliados.

Palavras chaves: *Metabolismo CAM*, *Metabilismo C_3, Fotoinibição, Fluorescência da clorofila a.*

ABSTRACT

Cattleya guttata Lindl. and *Miltonia spectabilis* Lindl. (Orchidaceae) are epiphytes that have carbon fixation metabolism CAM and C_3 respectively. The light directly influences the growth and development of plants. However, excess, can cause the light photoinhibition, which, depending on the intensity of damage in the photosynthetic apparatus can be dynamic or chronic. Therefore, this study aimed to analyze the photochemical performance in *C. guttata* and *M. spectabilis* exposed to high brightness at different time intervals. Thus, plants grown in a greenhouse (220 ± 9,3 μmol $m^{-2}s^{-1}$) were transferred to open, in irradiance 2330 ± 76 μmol $m^{-2}s^{-1}$ for 5, 35 and 120 minutes (considered here as treatments T_5, T_{35} and T_{120}). Plants grown in the greenhouse were used as control. The analysis of chlorophyll fluorescence were made in the range of: -5 (measurement performed five hours prior to exposure of the plants to full sunlight). 0 (measured immediately performed after exposure of the plants to sunlight) and 1, 5, 19, 43 and 93 h (hours elapsed after exposure of the plants in order to assess recovery). We analyzed the concentration of photosynthetic pigments, the OJIP curves, L-band, K, and test parameters JIP. The concentration of photosynthetic pigments was higher in *M. spectabilis*, but this result did not give the species best photochemical performance against *C. guttata*. Curves with positive amplitude for the band L were obtained in both species in all treatments, indicating connectivity energy losses. It was observed, also, the appearance of K-band, with positive values T_5 and T_{35} and negative at $T1_{20}$, showing a tendency of acclimatization oxygen evolving complex (OEC) to high light for both the CAM species as for the species C_3. The values of the initial increase in fluorescence (F_0) was accompanied by the reduction of the maximal fluorescence (F_m) and photochemical efficiency (F_v/F_m) in both species. The increase in the flux values of absorption of active reaction center (*ABS/RC*) was followed by increasing values of excitation energy dissipation flux (DI_0/RC), suggesting mechanisms photoprotection. Reduced values of assets reaction centers per cross section (RC/CS_0) and photochemical performance index [$PI_{(total)}$] were observed in T_{35} and T_{120} in *C. guttata*, which occurred in *M. spectabilis* T_{120}. In general, the observed changes in photosynthetic parameters in *M. spectabilis* were directly related to the time of exposure to sunlight, as well as the recovery time was proportional to the damage. For *C. guttata*, the absence of significant

differences between T_{35} and T_{120} for most JIP test parameters analyzed suggests high light acclimation. The time required for the recovery of F_0, F_m and F_v/F_m indicates the occurrence of dynamic photoinhibition and chronic in T_{35} and T_{120}, respectively, for both species. Damage to the photosynthetic apparatus were more severe in *M. spectabilis* due to the increased time required for the recovery of photosynthetic parameters evaluated.

Key words: *Cattleya guttata*, *Miltonia spectabilis*, *CAM metabolism*, *C_3 metabolism*, *Photoinhibition and Performance Photochemical*.

1. INTRODUÇÃO

Orchidaceae A. Juss é uma família de distribuição cosmopolita. Apresenta entre 800 e 1000 gêneros e 20.000 a 25.000 espécies. No Brasil, podem ser encontrados 236 gêneros e pouco mais de 2.430 espécies. A Mata Atlântica destaca-se em riqueza específica, com mais de 1.400 espécies registradas. Orquídeas comumente apresentam flores vistosas e são amplamente cultivadas e comercializadas para fins ornamentais. As principais ameaças estão relacionadas à coleta predatória, destruição de habitat e eliminação dos polinizadores (MARTINELLI e MORAES, 2013).

Cattleya guttata Lindll. e *Miltonia spectabilis* Lindll. são espécies epífitas, como a maioria das Orquidaceae (WAECHTER, 1998; GRAVENDEEL et al., 2004) e ocorrem predominantemente na Mata Atlântica (SPECIESLINK, 2016). A Mata Atlântica vem sofrendo intenso processo de desmatamento e fragmentação, o que resulta em maior incidência de radiação sobre plantas como as epífitas, causando alterações fotoquímicas e fisiológicas. Estas espécies possuem metabolismo distinto de fixação de carbono, *C. guttata* é uma espécie CAM (AVADHANI e AIRDITTI, 1981; AVADHANI et al., 1982) e *M. spectabilis* possui metabolismo C_3 (PIRES et al., 2012).

Plantas de metabolismo C_3, tem como primeiro produto estável da cadeia bioquímica da fotossíntese o ácido 3- fosfoglicérico, uma molécula com três carbonos. Em geral, plantas de metabolismo C_3 possuem folhas finas e ocorrem nas zonas tropicais úmidas. Por outro lado, plantas CAM (Metabolismo Ácido das Crassulaceae) são caracterizadas por fecharem os estômatos durante o dia e assimilarem o CO_2 durante a noite. Também realizam durante o dia a descarboxilação do malato acumulado no vacúolo a noite, permitindo que o CO_2 liberado seja incorporado ao ciclo de Calvin-Benson pela Rubisco (RAVEN, 2013; RODRIGUES et al., 2013; YAMORI et al., 2014). Essas características proporcionam às espécies CAM um ganho máximo de carbono combinado com uma perda mínima de água, favorecendo o seu crescimento e desenvolvimento em locais secos e com alta incidência de luz (DODD et al., 2002; KERBAUY et al., 2012).

Plantas epífitas apresentam adaptações estruturais que garantem flexibilidade diante de diferentes condições ambientais. Uma das adaptações estruturais mais importantes é a presença de um certo grau de suculência nas folhas e pseudobulbos (BENZING, 1990). Além de ser uma maneira eficiente de armazenar água e nutrientes,

a suculência também pode ser um importante requisito para identificar a expressão do metabolismo CAM (DE LA ROSA-MANZANO., et al 2015; GRIFFITHS et al., 2008; SILVERA et al., 2010; BORLAND et al., 2011).

Os metabolismos de fixação de carbono têm vantagens e desvantagens relacionadas ao ambiente onde as plantas vivem (RAVEN, 2013). Diversas característica de plantas CAM e C_3 foram analisadas, a saber, a capacidade de aclimatação dos diferentes metabolismos, submetidas a diversos fatores ambientais como temperatura (YAMORI et al., 2014), baixa concentração de CO_2 (WANG et al., 2015) e disponibilidade de água (RODRIGUES et al., 2013) e aclimatação a diferentes níveis de luz (PIRES et al., 2012).

A luz é uma das condições ambientais que mais interferem no crescimento desenvolvimento das plantas. As quantidades de fótons absorvidos pelas plantas diminuem à medida em que aumenta a intensidade de luz. Dependendo da intensidade e do tempo em que as plantas ficam expostas sob a luz solar plena, pode ocorrer a fotoinibição (LONG et al., 1994).

A fotoinibição consiste de um conjunto complexo de processos moleculares causados pelo excesso de luz e ocorre quando o excesso de excitação chega ao centro de reação do fotossistema II (FSII) causando danos e provocando sua inativação. O FSII é o componente do aparato fotossintético mais afetado pela fotoinibição (LONG et al., 1994). Porém, estudos mais recentes sugerem que a fotoinibição é um processo de dois passos, onde ocorre inicialmente danos no CEO e subsequentemente o FSII é danificado (ZAVAFER et al., 2015; TAKAHASHI e BADGER, 2011).

Além dos danos causados diretamente ao aparato fotossintético, a fotoinibição pode resultar na formação de espécies reativas de oxigênio, reduzir as taxas de fixação de CO_2, levar à diminuição do crescimento, produtividade e até mesmo à morte das plantas (TAKAHASHI e MURATA, 2008; GURURANI et al., 2015 ZAVAFER et al., 2015). Os efeitos da fotoinibição podem ser intensificados por fatores de estresse, como altas e baixas temperaturas, déficit hídrico e salinidade (POWLES, 1984) e podem ser amenizados por meio da dissipação da energia de excitação na forma de calor e da fotorrespiração (SILVA et al., 2015) e também pelo movimento das folhas (EHLERINGER e FORSETH, 1980; GREER e THORPE, 2009), alteração da posição dos cloroplastos nas células (SUETSUGU et al., 2007; SUETSUGU e WADA, 2012) e

acumulação de compostos fenólicos, usados como filtros UV (WINKEL-SHIRLEY, 2002; FERREYRA et al., 2012).

Os danos causados pela fotoinibição são associados ao tempo em que as plantas levam para repor os componentes danificados (OSMOND, 1994; ARO et al., 2005; TAKAHASHI e BADGER, 2011). Desde modo, existem dois tipos de fotoinibição: fotoinibição dinâmica e fotoinibição crônica. A fotoinibição dinâmica ocorre sob excesso de luz moderado. Neste caso, a eficiência quântica diminui, mas as taxas fotossintéticas permanecem inalteradas. Normalmente, a fotoinibição dinâmica ocorre ao meio-dia, quando as folhas ficam expostas a uma quantidade máxima de luz. Geralmente é causada pelo desvio de energia luminosa para a dissipação de calor. Este efeito, em geral, é temporário e as plantas recuperam-se quando a irradiância diminui à tarde ou durante a noite (DIAS e MARENCO, 2006; DEMMING ADAMS et al., 2012).

A fotoinibição crônica é causada pela exposição das plantas a níveis mais altos de luz. Neste caso, o sistema fotossintético é danificado e a eficiência quântica e as taxas fotossintéticas diminuem. Está diretamente associada ao dano e à substituição da proteína D1 do centro de reação do FSII. Ao contrário da fotoinibição dinâmica, a fotoinibição crônica tem efeitos relativamente longos, persistindo por semanas ou meses (DIAS e MARENCO 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013; KATO et al., 2015).

As alterações no desempenho fotoquímico das plantas provocadas por fatores de estresse como a alta luminosidade podem ser mensuradas por meio de análises da fluorescência da clorofila *a* (Chl *a*), pois, quando um pigmento absorve luz pode ocorrer três processos: dissipação de energia em forma de calor, a reemissão de energia em forma de fluorescência e a capturada de energia para a formação de ligações químicas (RAVEN, 2007). Esses três processos ocorrem simultaneamente. Deste modo, é possível obter informações a respeito da eficiência da fotossíntese e sobre a dissipação de calor através de analises da emissão da fluorescência da Chl *a* (MURCHIE e LAWSON, 2013). Estas análises consideram a cinética do aumento dos transientes OJIP e do teste JIP e foram desenvolvidas com base na teoria dos Fluxos Energéticos das Biomembranas e são amplamente utilizadas devido às características não destrutivas, que proporcionam informações rápidas e precisas (STRASSER et al., 1995; STRASSER et al., 2004).

A cinética da fluorescência da clorofila *a* é extremamente sensível a diferentes condições ambientais e tem sido amplamente utilizada na investigação de inúmeros fatores de estresse aos quais as plantas são submetidas como alterações provocadas pela alta luminosidade (DIAS e MARRENCO, 2006; DIAS e MARRENCO, 2007; KALAJI et al., 2014; MARTINS et al., 2015), por substâncias químicas (XIANG et al., 2013; CHEN et al., 2015), altas temperaturas (STRASSER et al., 1997; MATHUR et al., 2011; CHEN et al., 2016), baixas temperaturas (STRAUSS et al., 2007; GURURANI et al., 2015), déficit hídrico (OUKARROUM et al., 2009; STRASSER et al., 2010), alagamento (JURCZK et al., 2016), doenças (TSIMILLI-MICHAEL et al., 2000; CHRISTEN et al., 2007), metais pesados e salinidade (LI e ZANG, 2015; FORIERI et al., 2016; POMPEIANO et al., 2016).

As diferentes fases da cinética da emissão da fluorescência da Chl *a* são registradas em ordem alfabética e ordenadas da parte mais lenta à mais rápida como O, J, I e P, em que O representa o nível de fluorescência inicial ou F_0 (obtida aos 0,05 ms), J (2 ms) e I (30 ms) são os níveis intermediários e P (~300 ms) o nível máximo alcançado (OUKARROUM et al., 2007). Em adição, uma análise quantitativa dos dados OJIP pode ser feita por meio do teste JIP o qual, traduz as mudanças dos transientes OJIP, em dados quantitativos através de parâmetros estruturais, conformacionais e funcionais, possibilitando, deste modo, quantificar o desempenho fotoquímico dos organismos fotossintéticos (STRASSER et al., 2004; STIRBET e GOVINDJEE, 2011).

Considerando a importância ecológica e econômica das espécies, as características dos metabolismos distintos para a fixação do carbono e os aspectos da interferência da luminosidade sobre as plantas, este estudo, através da análise da emissão da fluorescência da Chl *a*, teve por objetivo avaliar o desempenho fotoquímico de *C. guttata* (metabolismo CAM) e *M. spectabilis* (metabolismo C_3) expostas à alta luminosidade em diferentes intervalos de tempo, a fim de verificar a ocorrência de fotoinibição e a capacidade de recuperação destas espécies.

.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o desempenho fotoquímico de espécies de Orquidaceae C_3 e CAM expostas à alta luminosidade.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o conteúdo de pigmentos fotossintéticos em *Miltonia spectabilis* (C_3) e *Cattleya guttata* (CAM);
- Comparar características fotoquímicas entre *M. spectabilis* e *C. guttata* expostas à alta luz durante 5, 35 e 120 minutos;
- Avaliar a influência da exposição a alta luz na conectividade energética entre unidades fotossintetizantes e no complexo de evolução do oxigênio (Bandas L e K, respectivamente);
- Analisar as alterações provocadas pela exposição a alta luminosidade nos parâmetros do teste JIP [F_0, F_m, F_v/F_m, ABS/RC, DI_0/RC, RC/CS_0 e $PI_{(total)}$] nas espécies submetidas a alta luz durante 5, 35 e 120 minutos;
- Verificar a ocorrência de fotoinibição em ambas as espécies de Orquidaceae;
- Avaliar a capacidade de recuperação da atividade fotoquímica das plantas após exposição a alta luminosidade.

.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais vegetal e condições de amostragem

Plantas adultas de *Miltonia spectabilis* (espécie C_3) e de *Cattleya guttata* (CAM) saudáveis, sem sinais visíveis de infecção por fito patógenos, deficiência nutricional e/ou efeitos de outros fatores de estresse abiótico, provenientes de um orquidário localizado no município de João Neiva, com idade similar (aproximadamente quatro anos de idade), foram transferidas para uma casa de vegetação, localizada no Campus da Universidade Federal do Espírito Santo do município de São Mateus. As plantas foram aclimatadas durante 3 meses sob baixa luminosidade 220 ± 9,3 μmol $m^{-2}s^{-1}$, aferida por meio de um sensor quântico (Li-191 SA, Li-Cor, Lincoln, NE, EUA), temperatura média de 34/ 24 (dia/noite) e umidade relativa do ar média de 80% (dados da estação metrológica da UFES-São Mateus). No período de aclimatação, as plantas foram irrigadas diariamente por meio da aplicação de aproximadamente 100 ml de água, por vaso. Durante a irrigação, buscou-se não umedecer as folhas evitando-se, por esta prática, favorecer a infecção por patógenos (especialmente fungos). As plantas foram adubadas quinzenalmente com fertilizante contendo proporções equilibradas de NPK (nitrogênio, fosforo e potássio), conforme especificações do fabricante do produto.

3.2. Experimentos para análise do desempenho fotoquímico

Para analisar as alterações no desempenho fotoquímico, as plantas foram transferidas da casa de vegetação (220 ± 9,3 μmol $m^{-2}s^{-1}$) para ambiente aberto, sob irradiância de 2330 ± 76 μmol $m^{-2}s^{-1}$ $_e$ permaneceram nesta condição durante 5, 35 e 120 minutos (T_5, T_{35} e T_{120}) conforme procedimentos propostos por DIAS e MARENCO. (2006). Foram usadas 20 plantas para cada espécie, distribuídas em quatro grupos (5 plantas/grupo): controle (T_0), T_5, T_{35} e T_{120}. Plantas mantidas na condição de controle, permaneceram na casa de vegetação, sob baixa luminosidade, como descrito acima. As 8 horas da manhã, previamente à exposição das plantas a luz solar plena foi realizada a primeira medida da emissão da fluorescência da Chl *a*, ás 13 horas foram realizadas as medidas nas plantas submetidas a luz solar plena, para isso os grupos de plantas foram

transferidos para a condição de luz solar plena por 5, 35 e 120 minutos, de modo que, ao final destes respectivos períodos, as medidas pudessem ser feitas simultaneamente. Logo em seguida, as plantas foram transferidas novamente para a casa de vegetação onde foram realizadas medidas da florescência da Chl *a* após 1, 2, 3, 4, 5, 19, 43 e 67 e 91 horas.

Para a descrição dos resultados, as análises da fluorescência da Chl *a* que foram realizadas as 8 horas da manhã, 5 horas antes da exposição das plantas a luz solar plena, foram consideradas como -5, as medidas realizada às 13 h, após a exposição a luz solar plena, foram consideradas como tempo 0 e os demais horários (1, 2, 3, 4, 5, 19, 43, 67 e 91 h) referentes ao tempo decorrido após a exposição das plantas à alta irradiância, foram considerados para as análises da capacidade de recuperação das plantas aos diferentes tratamentos. As alterações nos valores dos parâmetros analisados em decorrência da exposição a alta luz foram quantificadas por meio de comparações entre os valores obtidos do controle (-5) com os valores obtidos após a exposição (0). Foram considerados como recuperados os valores dos parâmetros analisados que sofreram alterações e que após determinado período de tempo retornaram aos valores obtidos no tratamento controle (DIAS e MARENCO, 2006).

3.3. Extração e quantificação de pigmentos fotossintéticos

A extração e quantificação dos pigmentos fotossintéticos foi feita somente nas plantas do tratamento controle, utilizando-se o método espectrofotométrico sugerido por ISRALSTAM. (1978), com modificações. Foram usadas 5 plantas de cada espécie e retiradas frações das folhas somando-se 100 mg, cada fração foi transferida para um tubo de ensaio envolvido com papel alumínio contendo 7 ml de dimetilsulfóxido (DMSO), mantidos em banho-maria a 65˚C por 24 horas.

As leituras da densidade ótica foram feitas em espectrofotômetro (ThermoScientific®, Genesys10S, EUA) a 470 (A_{470}), 645 (A_{645}) e 663 (A_{663}) nm. A concentração de clorofila *a* e *b* e de pigmentos carotenóides foram determinadas de acordo com as equações de HISCOX e ISRAELTAM (1979):

Chl a = [(12,7 x A_{663}) – (2,69x A_{645})]. V/ (1000 x MS)

Chl *b* = [(22,9 x A_{645}) – (4,68 x A_{663})]. V/ (1000 x MS)

Chl total = [(20,2 x A_{663}) – (2,69 x A_{645})]. V/ (1000 x MS)

Car = [(1000 x A_{470}) – (1,82 x Clor *a* – 85,02 x Clor *b*)]. V/ (198 x1000 x MS)

Onde: V = volume do extrato e MS = massa seca do tecido vegetal, obtida em estufa de circulação forçada. Para obter a massa seca, após a extração dos pigmentos, os discos foliares foram secos em estufa a ± 60ºC por 24 horas.

3. 4. Cinéticas de emissão da fluorescência dos transientes OJIP e do teste JIP

Os sinais de fluorescência foram registrados utilizando-se um fluorômetro portátil Handy-PEA (Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK) conforme descrito por STRASSER e STRASSER (1995). Previamente às medidas, as folhas foram adaptadas ao escuro por meio do uso de clipes foliares (Hansatech, UK) durante 20 minutos (determinado em experimento prévio). A fluorescência OJIP foi induzida pela exposição das amostras a um pulso de luz vermelha (650nm) saturante de 3.000 µmol m^{-2} s^{-1}, suficiente para gerar a fluorescência máxima em todos os tratamentos. Os sinais de florescência foram registrados durante 1s. Os sinais da fluorescência aos 50 µs (considerados F_0) 100 µs, 300µs, 2 ms (F_J), 30 ms (F_I) e a fluorescência máxima (F_m) foram medidos e usados para o cálculo dos parâmetros do teste JIP pelo software Biolyzer (Laboratory Of Bioenergetics, University of Geneva, Switzerland).

As curvas da fluorescência transiente OJIP foram normalizadas como fluorescência variável relativa entre os pontos O (50 µs) e K (300 µs) [$V_{OK} = (F_t – F_0) / (F_K – F_0)$] e entre os pontos O e J (2 ms) [$V_{OJ} = (F_t – F_0) / (F_J – F_0)$] Obtida a fluorescência variável (V_t, V_{OK} e V_{OJ}), calculou-se as diferenças cinéticas entre os tratamentos ($\Delta_V = V_{tratamento} – V_{controle}$) (YUSUF et al., 2010).

Também foram calculadas a fluorescência relativa variável em 100ms (transiente normalizado entre F_0 e F_K), que expressa a conectividade energética, calculada de acordo com a seguinte equação: [$V_{OK} = 100(F_{100\mu s} – F_0) / (F_{300} – F_0)$], expressando a banda L. A Fluorescência relativa variável em 300 ms (transiente normalizado entre F_0 e F_K), que representa a variação do CEO, foi calculada pela equação [V_{OJ} 300 = ($F_{300\mu s} – F_0$) / ($F_J – F_0$)] (SRIVASTAVA et al., 1997; STRASSER, 1978; STRASSER e STIRBET, 2001; CHEN et al., 2016).

3. 5. Testes preliminar para adequação da metodologia

Para determinar o tempo ideal de adaptação das folhas ao escuro foram realizados testes preliminares. A fluorescência da clorofila *a* foi medida em diferentes tempos de adaptação ao escuro (10, 15, 20, 30 e 60 minutos) em três horários (8 12 e 17 h). Foram feitas três repetições em dias diferentes e analisados dados das curvas OJIP e parâmetros do teste JIP (F_0, F_m, F_v/F_m, ABS/RC e DI_0/RC). Os resultados, deste teste, mostraram ausência de diferenças significativas ($p \geq 0,05$) entre os tempos de adaptação ao escuro de 20, 30 e 60 minutos. Porém, foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre estes intervalos de tempo em relação aos tempos de 10 e 15 minutos. Assim, optou-se por usar no experimento 20 minutos de adaptação ao escuro.

Também foram realizadas análises de variância para os dados da emissão da fluorescência da clorofila *a* nos grupos de plantas mantidos como controle durante o experimento (T_0), as quais foram comparadas com os dados obtidos para as plantas medidas no início da manhã (-5). Foram usados para as análises os dados do teste JIP (F_0, F_m, F_v/F_m, ABS/RC e DI_0/RC). Como os dados entre estas plantas não diferiram estatisticamente ($p \geq 0,05$), optou-se por usar como controle os dados obtidos das análises realizadas nas plantas no início da manhã.

A fim de aperfeiçoar a apresentação dos resultados, os dados referentes aos diferentes horários das medidas de fluorescência da Chl *a* (-5, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 19, 43, 67 e 91 h) foram submetidos a análise estatística. Por meio desta destas análises, foram selecionados para plotagem dos gráficos somente os horários que apresentaram resultados estatísticos significativos relevantes para a apresentação dos resultados. Por isso, optou-se por utilizar somente os seguintes horários: -5, 0, 1, 5, 19, 43, 91 h.

Em todos os testes preliminares foi usada analise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3. 6. Análises estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualisado, com três tratamentos por espécie (T_5, T_{35} e T_{120}) com cinco plantas (repetições) por tratamento e sete horários de medidas de fluorescência da clorofila *a*: 1 controle, 1 exposição à luz e 5 horários

para análise da recuperação. Os testes foram realizados separadamente para cada espécie.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e testados quanto à distribuição normal. Para verificar as diferenças entre os tratamentos os dados foram comparados pelo teste de *Tukey* (0,05%).

Foram realizadas duas repetições independentes dos experimentos a fim de confirmar os resultados obtidos. Os dados de ambos os experimentos foram comparados estatisticamente (ANOVA, teste de *Tukey,* 0,05%) para verificar a correspondência entre os resultados. As mesmas plantas foram usadas em ambas as repetições, que foram realizadas com um intervalo de 15 dias entre o fim de um teste e inicio do outro, assim todas as plantas encontravam-se na condição de controle. Foram comparados estatisticamente os dados do teste JIP (F_0, F_m, F_v/F_m, ABS/RC e DI_0/RC), as curvas OJIP e as bandas L e K (V_{OK} e V_{OJ}). Como os resultados das duas repetições foram semelhantes, foram usados para a apresentação dos resultados os dados de apenas um experimento.

4.RESULTADOS

Durante a realização dos experimentos, as condições climáticas mantiveram-se constantes. As plantas submetidas a alta irradiância (2330 ± 76 μmol $m^{-2}s^{-1}$) não apresentaram nenhuma alteração visível, como murcha das folhas ou lesões provocadas pela exposição a alta luminosidade.

4.1 Pigmentos fotossintéticos

A concentração de clorofila *a* clorofila *b* e de pigmentos carotenoides diferiu ($p \leq 0,05$) entre as espécies avaliadas, com os maiores valores obtidas para a espécie C_3, *Miltonia spectabilis*. A concentração de clorofila total não diferiu entre as espécies (Figura 1).

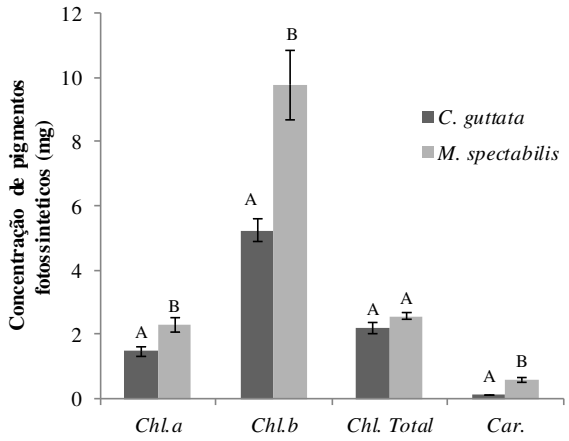

Figura 1. Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas de *Miltonia spectabilis* e *Cattleya guttata.* Clorofila *a*, (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofilas totais (Chl Total) e carotenóides (Car) (*Tukey* 0,05%).

4.2 Efeitos da exposição das plantas a luz solar nos transientes OJIP

Em *C. guttata* e *M. spectabilis* ocorreram alterações na estabilidade do complexo de evolução do oxigênio-CEO, evidenciando o aparecimento da banda K (ΔV_{OJ}) (Figura 2 A e B). Em T_5 e $T_{35,}$ valores positivos da banda K foram observados em ambas as espécies. Em *C. guttata*, um leve aumento dos valores da banda K (0,02) em T_5 foi observado. Em $T_{35,}$ por tanto os valores apresentaram com uma amplitude mais elevada

(0,06). Em *M. spectabilis,* os valores da banda K foram mais elevados (0,05) em T_5 (0,05) do que em T_{35} (0,02). Ao contrário, as curvas da banda K em T_{120} foram negativas em ambas as espécies (Figura 2 A e B).

A exposição à luz solar plena resultou em valores da banda L (ΔV_{0K}) com amplitudes positivas em todos os tratamentos (Figura 2 C e D) também para ambas as espécies. Apesar dos valores de ΔV_{0K} serem positivos, as variações entre os diferentes tempos de exposição foram pequenas. Para *M. spectabilis*, espécie C_3, valores máximos da banda L próximos de 0,04 (unidade relativa) foram obtidos para os três tratamentos. Por outro lado, em *C. guttata,* os valores variaram positivamente entre 0,03 e 0,06.

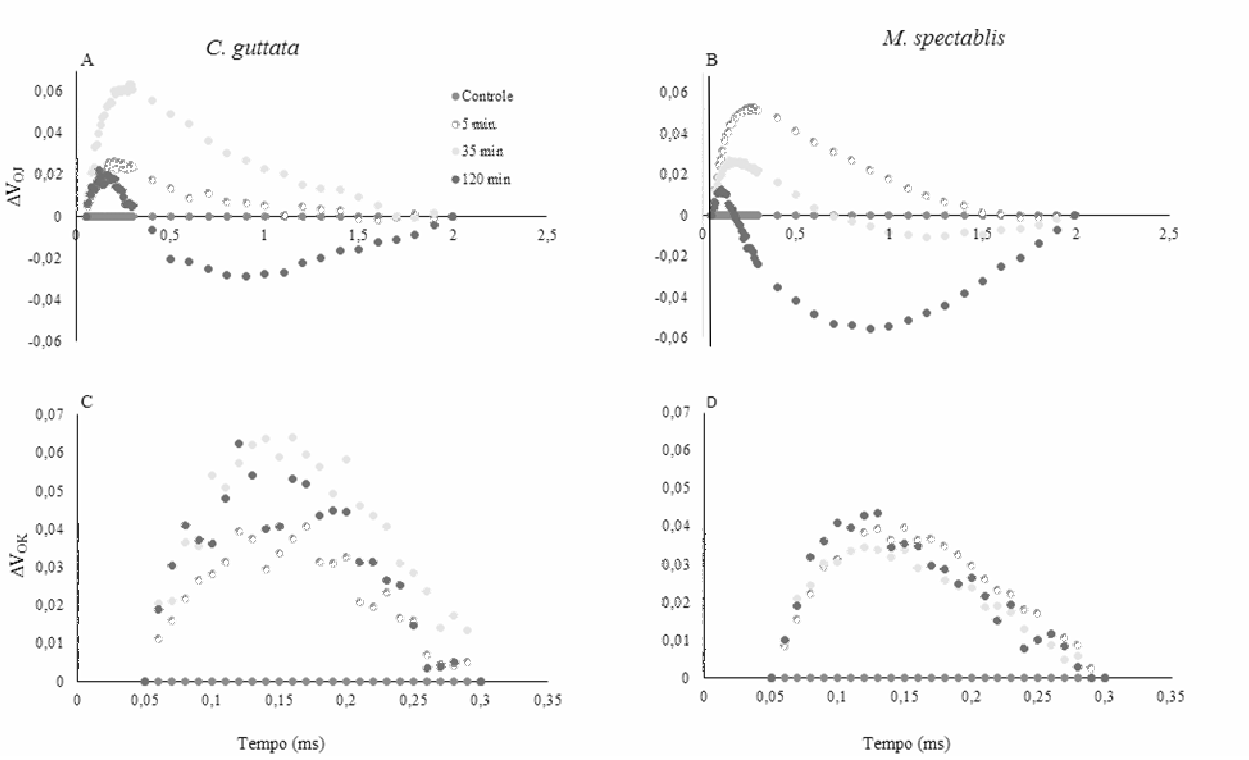

Figura 2. Diferenças cinéticas da fluorescência variável, evidenciando o aparecimento da banda K [$\Delta V_{OJ} = (\Delta V_{OJ\ tratamento}) - (\Delta V_{OJ\ controle})$] e da banda L [$(\Delta V_{OK} = (\Delta V_{OK\ tratamento}) - (\Delta V_{OK\ controle})$] em *C. guttata* (A e C) e *M. spectabilis* (B e D). As curvas mostram o efeito em T_5, T_{35} e T_{120}, logo após a exposição das plantas a alta luz (tempo 0). O tratamento controle é referente às medidas da fluorescência da Chl *a*, realizadas 5 horas antes da exposição das plantas a luz solar plena. As curvas representam a média de 8 medida em 5 plantas.

A Figura 3 mostra os cálculos em forma em parâmetro para as bandas K e L. Estes cálculos permitem quantificar as alterações ocorridas nos valores das bandas, assim como é feito para os parâmetros do teste JIP (SRIVASTAVA et al., 1997; CHEN et al., 2016). Os resultados apresentados na figura 3 A-C mostram que não ocorreu variação para os valores da banda K em ambas as espécies, exceto para *C. guttata* em $T_{35,}$ onde houve um aumento de 18% com recuperação ao final da tarde.

Por outro lado, alterações na banda L (Figura 3 D-F) em resposta à exposição a alta luminosidade ocorreram em todos os tratamentos para ambas as espécies. Em *C. guttata*, não houve relação entre o tempo de exposição e o aumento dos valores da banda L, pois T_5 e T_{120} apresentaram aumento de 13,5% e em T_{35} o aumento foi de 28%. Em *M. spectabilis,* os valores da banda L aumentaram 33% em T_5 e T_{35} e 75% em T_{120}.

Os sinais de recuperação em *C. guttata* para os valores da banda L em T_5 e T_{120} ocorreram após 5h (Figura 3 D e F). Em *M. spectabilis*, a recuperação dos valores da banda L em T_5 e em T_{35} também ocorreram após 5h. Porém as alterações ocorridas em valores de T_{120} para *M. spectabilis* e em T_{35} para *C. guttata*, não apresentaram recuperação até o final do experimento, ou seja, a recuperação ocorreu após 91h.

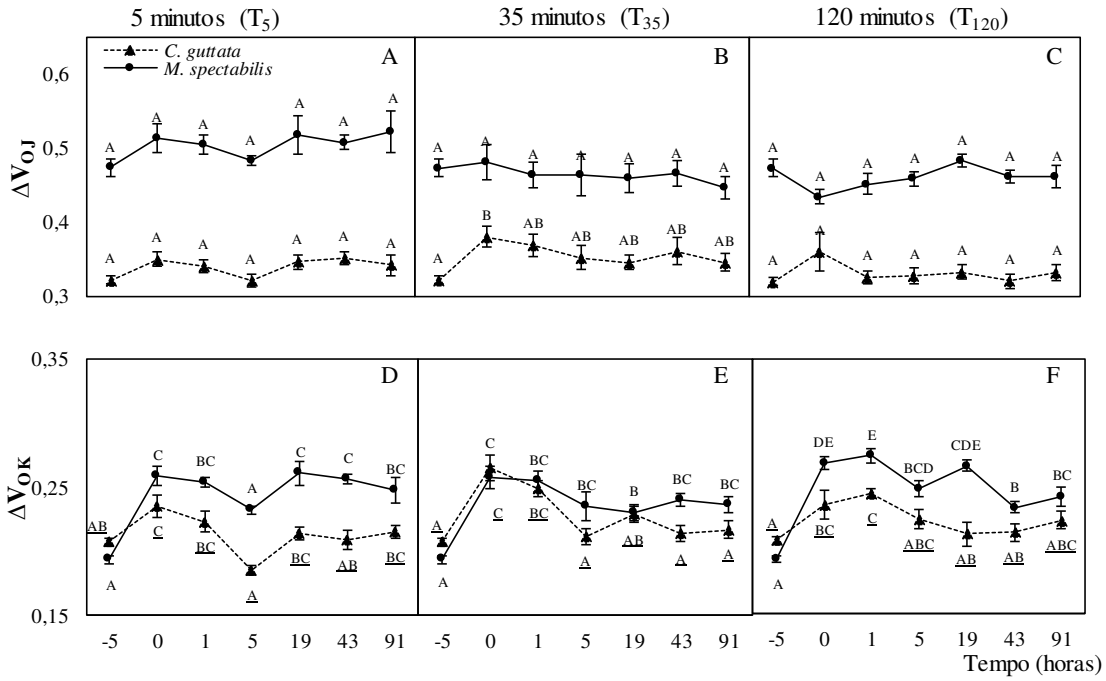

Figura 3 Diferenças cinéticas da fluorescência variável. Banda K [V_{OJ} 300 = ($F_{300\mu s}$ – F_0) / (F_J – F_0). (A, B e C)] e Banda L [V_{OK} 100 = ($F_{100\mu s}$ – F_0) / (F_{300} – F_0). (D, E e F)] em *C. guttata* e *M. spectabilis* submetidas à alta luminosidade. As medidas da fluorescência da Chl *a* referem-se ao controle (-5), a primeira medida após a exposição das plantas a luz solar plena (0h), a recuperação até o final da tarde (5h) e a recuperação após 19, 43 e 91h. As barras indicam o erro padrão e as letras as diferenças entre os horários dentro de cada espécie separadamente. As letras sublinhadas representam *C. guttata*. Teste de *Tukey* 0,05%. Média de 5 plantas/8 medidas.

.

4.3 Alterações e recuperação nos valores dos parâmetros do teste JIP em *M. spectabilis* e *C. guttata* provocadas pela exposição a luz solar plena

As alterações causadas pela exposição das plantas a luz solar plena nos parâmetros do teste JIP foram constatadas através da comparação, dentro de cada espécie, das medidas da fluorescência da Chl *a* entre os valores obtidos das plantas do controle (-5) mantidas sob baixa irradiância (220 ±9,3 μmol $m^{-2}s^{-1}$) com os valores obtidos no tempo zero, após a exposição das plantas a alta irradiância (2330 ± 76μmol $m^{-2}s^{-1}$). Foram considerados como recuperados os valores que, após determinado período de tempo, estabilizaram-se (estatisticamente) nas mesmas condições do tratamento controles.

A comparação das alterações ocorridas nos valores dos parâmetros entre *C. guttata* e *M. spectabilis* foi obtida através de cálculos de porcentagem, onde os valores do tratamento controles de cada espécie foram tomados como referência para determinar as alterações ocorridas nos demais horários (DIAS e MARENCO, 2006; DIAS e MARENCO, 2007).

Os dados apresentados na Tabela 1, mostram as diferenças estatísticas decorrentes da exposição das plantas a luz solar plena entre os intervalos de tempo (T_5, T_{35} e T_{120}) em cada espécie. É possível observar que os valores de F_0, F_m e F_v/F_m diferiram-se significativamente entre os intervalos de tempo, exceto para os valores de F_0 em *C. guttata*, onde as alterações ocorridas entre T_{35} e T_{120} não foram significativas.

Verificou-se diferenças significativas nos valores da fluorescência inicial (F_o) entre as espécies, com os maiores valores registrados para a espécie C_3 (*M. spectabilis*) (Figura 4 A-C). Ao serem expostas à alta luz em diferentes intervalos de tempo, um aumento em F_0 de 22 e 16% em T_{120} e T_{35} respectivamente foi observado em *M. spectabilis* (Figura 4 B-C). Ao contrário, aumentos em F_0 em *C. guttata* foram observados apenas em T_{35} (16%) sem diferenças significativas para T_5 e T_{120} (Figura 4 B). Este aumento nos valores de F_0 persistiram após a exposição das plantas a alta luminosidade. Em *M. spectabilis*, os valores de F_0 em T_{120} retornaram à condição inicial somente após 43 h.

Por outro lado, a exposição das plantas a alta luz causou reduções significativas ($p \leq 0,05$) nos valores da fluorescência máxima (F_m) de maneira similar em ambas as espécies. Esta redução teve relação direta com o tempo de exposição das plantas à luz. Em *M. spectabilis*, a redução de F_m foi de aproximadamente 17,5, 36 e 50% e em *C. guttata*, 16,7, 26 e 48% para T_5, T_{35}, T_{120}, respectivamente (Figura 4 D-F). Em T_5 e T_{35}, a recuperação total dos valores de F_m ocorreu já no final da tarde (5 h após a exposição a luz solar plena) em ambas as espécies. Em T_{120}, porém, a recuperação de F_m foi mais rápida em *C. guttata* e ocorreu após 43 h, enquanto que em *M. spectabilis*, a recuperação dos valores de F_m só ocorreu após 91 h (Figura 4 D-F).

Analogamente aos resultados obtidos para F_m, plantas expostas a alta luz apresentaram redução significativa nos valores da eficiência fotoquímica máxima do FSII, F_v/F_m, a qual foi dependente do tempo de exposição. Em T_{120}, a redução de F_v/F_m foi de 33% e 28% em *M. spectabilis* e *C. guttata*, respectivamente. Ao contrário, a

redução dos valores de F_v/F_m em T_{35} foi maior em *C. guttata* (18%) comparativamente à *M. spectabilis* (13%) (Figura 5 G-I). Em T_5 ocorreu uma pequena redução (7%) em *M. spectabilis*. O tempo requerido para a recuperação dos valores da eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m) em *C. guttata* foi menor em T_{35} e ocorreu após 5 h. Em *M. spectabilis*, a recuperação de F_v/F_m só ocorreu após 19 h. Em T_{120}, F_v/F_m recuperou-se após 19 e 91 h em *C. guttata* e *M. spectabilis*, respectivamente.

Tabela 1. Comparação dos parâmetros do teste JIP entre tratamentos (T_5, T_{35} eT_{120}). Os valores de cada parâmetro referem-se as médias obtidas em 5 plantas (± Desvio padrão). As letras representam as diferenças entre os tratamentos apresentados nas colunas, dentro de cada espécie. Teste de *Tukey* 0,05%. Fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m) e eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m).

		C. guttata							***M. spectabilis***						
		-5	0	1	5	19	43	91	-5	0	1	5	19	43	91
F_0	$T_{(5)}$	397±6^{a}	418±11^{a}	424±11.-^{a}	394±8^{a}	435±11^{a}	426±16^{ab}	399±0,01^{a}	504±6^{a}	547±9^{a}	533±5^{a}	511±8^{ab}	501±18^{a}	513±12^{a}	477±13^{a}
	$T_{(35)}$	397±6^{a}	461±13^{b}	464±17^{b}	437±9^{b}	420±12^{a}	430±18^{b}	417±17^{a}	504±6^{a}	598±23^{b}	589±18^{b}	551±28^{bc}	514±13^{a}	531±14^{a}	498±8^{ab}
	$T_{(120)}$	397±6^{a}	441±10^{ab}	437±12^{ab}	431±15^{ab}	406±6^{a}	385±6^{a}	403±15^{a}	504±6^{a}	616±13^{a}	660±16^{c}	596±21^{c}	597±24^{b}	522±15^{a}	536±13^{a}
F_m	$T_{(5)}$	2311±44^{a}	1907±81^{c}	2034±85^{c}	2326±67^{c}	2322±73^{b}	2342±59^{b}	2269±41^{a}	3032±48^{a}	2526±62^{c}	2634±73^{b}	2980±85^{b}	2629±114^{b}	2823±67^{a}	2617±72^{a}
	$T_{(35)}$	2311±44^{a}	1482±70^{b}	1608±76^{b}	2053±118^{b}	1926±89^{a}	2354±99^{b}	2406±77^{a}	3032±48^{a}	2236±87^{b}	2500±60^{b}	2889±94^{b}	2911±56^{c}	3064±79^{b}	2843±44^{b}
	$T_{(120)}$	2311±44^{a}	1203±123^{a}	1242±131^{a}	1488±162^{a}	1842±138^{a}	2044±75^{a}	2187±53,6^{a}	3032±48^{a}	1503±160^{a}	1748±159^{a}	2273±180^{a}	2003±160^{a}	2628±62^{a}	2807±83^{ab}
F_v/F_m	$T_{(5)}$	0,81±0,001^{a}	0,76±0,01^{c}	0,77±0,009^{c}	0,81±0,006^{b}	0,79±0,008^{a}	0,79±0,008^{a}	0,81±0,005^{a}	0,79±0,003^{a}	0,74±0,007^{c}	0,75±0,008^{c}	0,78±0,005^{b}	0,76±0,16^{b}	0,77±0,005^{a}	0,77±0,009^{a}
	$T_{(35)}$	0,81±0,001^{a}	0,66±0,01^{b}	0,68±0,01^{b}	0,75±0,01^{b}	0,76±0,006^{a}	0,79±0,004^{a}	0,81±0,003^{a}	0,79±0,003^{a}	0,69±0,02^{b}	0,72±0,01^{b}	0,76±0,01^{b}	0,78±0,005^{c}	0,79±0,004^{b}	0,79±0,004^{b}
	$T_{(120)}$	0,81±0,001^{a}	0,58±0,05^{a}	0,60±0,04^{a}	0,65±0,05^{a}	0,75±0,02^{a}	0,79±0,006^{a}	0,80±0,006^{a}	0,79±0,003^{a}	0,53±0,04^{a}	0,57±0,04^{a}	0,68±0,03^{a}	0,65±0,02^{a}	0,76±0,009^{a}	0,77±0,01^{a}

O aumento nos valores de *ABS/RC* foi acompanhado pelo aumento dos valores do fluxo de dissipação de energia de excitação por centro de reação ativo (*DI_0/RC*) em ambas as espécies. Assim como em *ABS/RC*, o aumento dos valores de *DI_0/RC* foram maiores em *C. guttata* (160 e 272% para T_{35} e T_{120}, respectivamente). Em *M. spectabilis*, o aumento de *DI_0/RC* foi de 57, 87 e 243% para T_5 e T_{35} T_{120}, respectivamente (Figura 5 D-F).

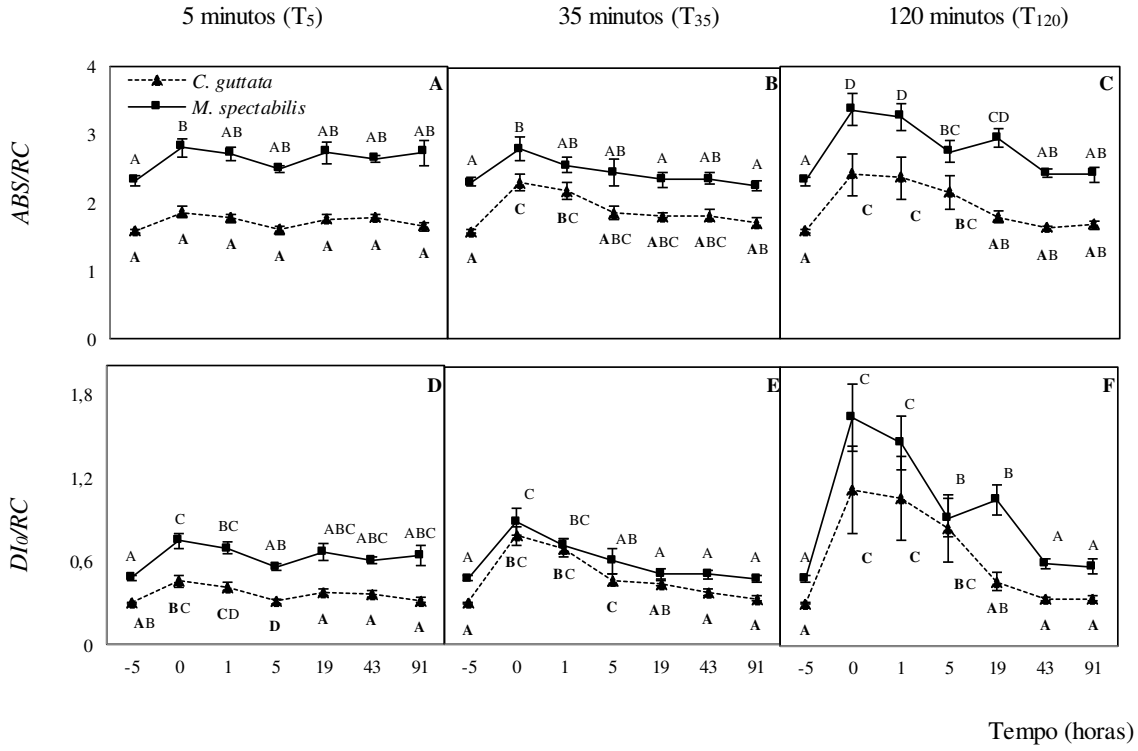

Figura 5. Fluxos de absorção (pelas clorofilas do sistema antena) por centros de reação ativos, *ABS/RC* (A, B e C) e de dissipação de energia de excitação por centros de reação ativos *DI_0/RC* (D, E e F) em *C. guttata* e *M. spectabilis* submetidas à alta luminosidade. As medidas da fluorescência da Chl *a* referem-se ao controle (-5), a primeira medida após a exposição das plantas a luz solar plena (0h), a recuperação até o final da tarde (5h) e a recuperação após 19, 43 e 91h. As barras indicam o erro padrão e as letras as diferenças entre os horários dentro de cada espécie separadamente. *Tukey* 0,05%. Média de 5 plantas/8 medidas.

Apesar de ter sofrido maior alteração em T_{120}, o tempo de recuperação de *ABS/RC* em *C. guttata* foi menor, ou seja, 19 h em relação ao mesmo tratamento em *M. spectabilis,* onde a recuperação ocorreu somente após 91h. Em T_{35}, a alterações em *ABS/RC* em *C. guttata* também foram maiores, mas a recuperação ocorreu ao final da

Tabela 2. Comparação dos parâmetros do teste JIP entre tratamentos (T_5, T_{35} eT_{120}). Os valores de cada parâmetro referem-se as médias obtidas em 5 plantas (± Desvio padrão). As letras representam as diferenças entre os tratamentos apresentados nas colunas, dentro de cada espécie. Teste de *Tukey* 0,05%. Fluxos de absorção (pelas clorofilas do sistema antena) por centros de reação ativos (*ABS/RC*) e de dissipação de energia de excitação por centros de reação ativos (DI_0/RC). Centros de reação ativos por secção transversal (RC/CS_0) e índice de desempenho fotoquímico ($PI_{(total)}$).

		C.guttata							***M. spectabilis***						
		-5	0	1	5	19	43	91	-5	0	1	5	19	43	91
ABS/RC	$T_{(5)}$	1,58±0,03^{a}	1,85±0,08^{a}	1,77±0,06^{a}	1,60±0,05^{a}	1,76±0,06^{a}	1,77±0,05^{a}	1,65±0,06^{a}	2,32±0,06^{a}	2,80±0,1^{a}	2,71±0,09^{a}	2,49±0,04^{a}	2,73±0,2^{a}	2,64±0,06^{a}	2,73±0,2^{b}
	$T_{(35)}$	1,58±0,03^{a}	2,31±0,1^{b}	2,17±0,1^{ab}	1,86±0,09^{ab}	1,82±0,05^{a}	1,82±0,01^{a}	1,71±0,07^{a}	2,32±0,06^{a}	2,81±0,1^{a}	2,57±0,1^{a}	2,45±0,2^{a}	2,35±0,1^{a}	2,37±0,01^{a}	2,25±0,07^{a}
	$T_{(120)}$	1,58±0,03^{a}	2,42±0,3^{b}	2,37±0,3^{b}	2,15±0,2^{b}	1,79±0,08^{a}	1,62±0,05^{a}	1,67±0,05^{a}	2,32±0,06^{a}	3,38±0,2^{b}	3,27±0,2^{b}	2,76±0,2^{a}	2,95±0,1^{b}	2,43±0,06^{a}	2,42±0,1^{a}
DI_0/RC	$T_{(5)}$	0,30±0,006^{a}	0,46±0,04^{a}	0,41±0,03^{a}	0,31±0,02^{a}	0,37±0,02^{a}	0,37±0,02^{a}	0,32±0,02^{a}	0,48±0,02^{a}	0,75±0,06^{a}	0,69±0,04^{a}	0,56±0,02^{a}	0,66±0,06^{a}	0,61±0,03^{a}	0,64±0,07^{b}
	$T_{(35)}$	0,30±0,006^{a}	0,79±0,06^{ab}	0,70±0,07^{a}	0,46±0,04^{a}	0,44±0,01^{a}	0,38±0,02^{a}	0,33±0,02^{a}	0,48±0,02^{a}	0,89±0,09^{a}	0,71±0,06^{a}	0,60±0,08^{a}	0,52±0,03^{a}	0,51±0,03^{a}	0,48±0,03^{a}
	$T_{(120)}$	0,30±0,006^{a}	1,12±0,3^{b}	1,06±0,3^{b}	0,84±0,2^{b}	0,46±0,07^{a}	0,34±0,01^{a}	0,34±0,02^{a}	0,48±0,02^{a}	1,64±0,2^{b}	1,46±0,2^{b}	0,92±0,1^{b}	1,05±0,1^{b}	0,59±0,03^{a}	0,57±0,06^{ab}
RC/CS	$T_{(5)}$	278±3^{a}	248±8^{b}	263±8^{b}	284±8^{b}	277±4^{a}	271±4^{a}	268±6^{a}	271±6^{a}	241±8^{b}	247±7^{ab}	268±7^{a}	235±15^{a}	246±5^{a}	226±12^{a}
	$T_{(35)}$	278±3^{a}	217±9^{a}	233±8^{a}	270±11^{b}	255±7^{a}	270±5^{a}	273±5^{a}	271±6^{a}	248±10^{b}	269±9^{a}	284±14^{a}	272±11^{b}	278±10^{b}	267±8^{b}
	$T_{(120)}$	278±3^{a}	205±18^{a}	209±18^{a}	230±17^{a}	251±10^{a}	261±5^{a}	265±9^{a}	271±6^{a}	203±16^{a}	225±12^{a}	257±12^{a}	232±12^{a}	259±5a^{b}	269±9^{b}
$PI_{(total)}$	$T_{(5)}$	14,4±1,3^{a}	13,7±1,4^{b}	10,9±0,8^{a}	9,8±1,2^{a}	11,0±1,5^{a}	9,5±1,5^{a}	13,7±1,8^{a}	3,7±0,4^{a}	2,6±0,4^{a}	2,1±0,3^{a}	2,1±0,1^{a}	2,5±0,4^{ab}	2,4±0,2^{a}	2,6±0,5^{a}
	$T_{(35)}$	14,4±1,3^{a}	8,4±1,5^{a}	7,7±1,3^{a}	6,6±1^{a}	8,2±0,7^{a}	8,4±0,9^{a}	11,6±1^{a}	3,7±0,4^{a}	3,1±0,5^{a}	3,1±0,5^{ab}	2,9±0,5^{a}	3,5±0,6^{b}	4,0±0,8^{b}	4,3±0,6^{b}
	$T_{(120)}$	14,4±1,3^{a}	8,3±2,2^{a}	7,3±1,8^{a}	6,6±1,7^{a}	8,4±1,3^{a}	12,4±1,4^{a}	8,5±1,4^{a}	3,7±0,4^{a}	1,7±0,3^{a}	1,5±0,2^{a}	2,0±0,3^{a}	1,9±0,2^{a}	2,9±0,2^{ab}	3,6±0,5^{ab}

Os valores de RC/CS_0 reduziram 22 e 26% em T_{35} e T_{120} respectivamente em *C. guttata*. Para *M. spectabilis*, reduções de RC/CS_0 de aproximadamente 25% ocorrera em T_{120}. Os sinais de recuperação de RC/CS_0 ocorreram ao final da tarde em T_{120} para ambas as espécies. Em T_{35}, a recuperação de RC/CS_0 ocorreu após 19 h em *C. guttata*.

As reduções no índice de desempenho fotoquímico, $PI_{(total)}$, em *C. guttata*, foi de 41,5 e 42,5% em T_{35} e T_{120}, respectivamente. Porém, estes valores continuaram reduzindo até o final da tarde, atingindo valores próximos a 54,5 e 54% (Figura 6 F). Em *M. spectabilis*, os valores de $PI_{(total)}$ só apresentaram redução em T_{120} (54,5%). A recuperação dos valores de $PI_{(total)}$ ocorreu ao final da tarde. Em *C. guttata*, a recuperação de $PI_{(total)}$ ocorreu na manhã do dia seguinte, após19h, para as alterações ocorridas em T_{120}. Porém, em T_{35}, só foram observados sinais de recuperação após 43h.

5. DISCUSSÃO

Neste estudo foram usadas curvas OJIP e os dados dos parâmetros do teste JIP para determinar as alterações fotoquímicas em *C. guttata* e *M. spectabilis* expostas à alta luminosidade durante 5, 35 e 120 minutos. Diversos estudos combinam dados da cinética das curvas dos transientes OJIP com análises do teste JIP como um método útil e prático para avaliar a tolerância de plantas ao estresse abiótico (OUKARROUM et al., 2007; MEHTA et al., 2010; MARTINS et al., 2015; CHEN et al., 2016).

Durante o período de recuperação, as plantas permaneceram em ambiente iluminado, sob baixa irradiância (220 ± 9,3 μmol $m^{-2}s^{-1}$) A ausência de luz durante a fase de recuperação, pode impedir um reparo completo dos danos (TÓTH et al., 2005). A luz é necessária para a síntese de ATP, que por sua vez é necessária para a síntese da proteína D1 (EDHOFER et al., 1998; KATO et al., 2015). Assim a baixa intensidade de luz gera a produção de ATP, necessária para o reparo do FSII e não induz uma fotoinibição adicional, proporciona uma recuperação mais eficaz, do que se a recuperação ocorresse na ausência total de luz solar (ELSHEERY et al., 2007).

O resultado da análise de pigmentos fotossintéticos mostrou que *M. spectabilis* apresentou maior concentração de clorofila *a*, *b* e pigmentos carotenóides (Figura 1). Porém, estes resultados não conferiram à espécie melhor desempenho fotoquímico, comparativamente à *C. guttata*. Os pigmentos fotossintéticos absorvem luz para impulsionar a fotossíntese. Eles constituem o complexo antena, absorvendo luz e transferindo a energia de excitação para os centros de reação constituídos por moléculas de clorofila *a*. Os centros de reação, então, são ativados e liberam elétrons, dando início aos processos fotoquímicos (HALLIK et al., 2012). O fato de *M. spectabilis* ter apresentado maior concentração de pigmentos fotossintéticos, mas não ter apresentado melhor desempenho fotoquímico que *C. guttata* pode ser justificado porque, as concentrações de pigmentos, principalmente clorofilas, não podem ser diretamente relacionados ao desempenho fotoquímico, pois o tamanho das antenas, por centro de reação ativos *(ABS/RC)* é mais importante para determinar o desempenho fotoquímico do que o conteúdo de pigmentos encontrados nos cloroplastos das folhas (DINÇ et al., 2012). Isto é sustentado pelas alterações nos valores de *ABS/RC*, que foram maiores em *C. guttata*.

As variações nos transientes OJIP mostraram que ambas as espécies apresentaram curvas ΔV_{OK} (banda L) positivas na primeira medida da fluorescência da Chl *a* após a exposição à luz solar plena, independente do tempo de exposição (Figura 2 C e D). Curvas positivas para a banda L sugerem a ocorrência de perda de conectividade energética provocada pelo excesso de luz (STRASSER, 1997). O aparecimento de curvas positivas para a banda L, está relacionado com efeito negativo provocado por fatores de estresse (CHEN e CHENG, 2010; ADAMSKI et al., 2011; GOMES et al., 2012; CUCHIARA et al., 2015;).

O aparecimento da banda K é descrito como indicador de alterações no lado doador de elétrons do FSII causado geralmente pelo déficit hídrico e por altas temperaturas (STRASSER et al., 2004). Porém, o aparecimento da banda K também pode ser associado a alta luminosidade, que provoca inibição do CEO e alteração na estrutura do complexo antena do FSII (FISHER et al., 2006; MATHUR et al., 2014). Neste estudo, em ambas as espécies, foi observado o aparecimento da banda K com valores positivos para os tratamentos de T_5 eT_{35} e valores negativos T_{120} (Figura 2 A e B). Os valores positivos obtidos nos tratamentos de T_5 eT_{35} indicam danos entre o lado doador e aceptor do FSII, resultante de um desequilíbrio entre o fluxo de elétrons do CEO para o centro de reação e do lado aceptor do FSII em direção ao FSI (STRASSER, 1997; CHEN e CHENG, 2010). Por outro lado, os desvios negativos observados em T_{120} são indicativos de maior estabilidade do sistema fotossintético relacionada à velocidade de reposição de elétrons para o complexo Y_z e a transferência de P_{680} para a Q_A (STRASSER et al., 2004). Isso mostra uma tendência de aclimatação do CEO a alta luz, que ocorreu ao longo do tempo de exposição tanto para a espécies CAM como para a espécie C_3.

O aumento ocorrido nos valores de F_0 para T_{35}, para ambas as espécies (Figura 4 A-C), podem ser atribuídos ao aumento do número de clorofilas funcionais que não estão ligadas aos Centros de Reação do FSII (ČAJÁNEK et al., 1998; STIRBET, 2013). Este aumento, provoca inibição da transferência de elétrons da Plastoquinoma A para a Plastoquinoma B, o que indica que ocorreu danos na proteína D_1 como consequência da fotoinibição (ARO et al., 1993; DIAS e MARENCO, 2006).

O fato dos valores de F_0 em T_{120} não terem apresentado alterações significativas em *C. guttata* (Figura 4 B) está de acordo com os resultados descritos por DIAS e MARENCO. (2006). Estes autores, analisaram o efeito da exposição à luz solar plena em

Minquartia guianensis (espécie tolerante a sombra) e *Swietenia macrophylla* (espécie tolerante ao sol) e constataram que ambas as espécies apresentaram aumento significativo de F_0 para T_{35}, mas, em T_{120}, aumentos dos valores de F_0 ocorreu somente em *M. guianensis.* Este resultado foi relacionado com a capacidade de aclimatação da espécie tolerante ao sol.

Ao contrário do observado em F_0, reduções significativas e graduais dos valores de F_m foram observadas em ambas as espécies para todos os tratamentos de exposição à luz solar plena (Tabela 1 e Figura 4 D-F). A redução dos valores de F_m é atribuída a dissipação não fotoquímica da energia de excitação que ocorre principalmente através do ciclo das xantofilas, no qual a violaxantina é convertida em zeaxantina. Por meio da ação do ciclo das xantofilas, o excesso de energia absorvida é dissipado, retardando danos oxidativos ao FSII causados pela exposição a luz solar (DEMMING-ADAMS e ADAMS, 1992).

O aumento dos valores de F_0 associado com a redução em F_m resultou em uma redução dos valores da eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m). Essa redução também ocorreu de forma gradual em ambas as espécies (Figura 4 G-I). A redução dos valores de F_v/F_m está diretamente relacionada com a inativação dos centros de reação do FSII e, portanto, à ocorrência de fotoinibição (SCHANSKER et al., 2014).

A redução dos valores de F_v/F_m é apresentada como consequência do efeito de diferentes fatores de estresse aos quais as plantas são submetidas. FORIERI et al. (2016) atribui a redução de F_v/F_m como consequência do estresse em plantas de Milho (*Zea mays*) provocadas pelo aumento da concentração de sal. POMPEIANO et al. (2016) relacionou a redução de F_v/F_m ao aumento no tempo de exposição a salinidade em *Paspalum vaginatum.* A redução de F_v/F_m também é atribuída ao estresse provocada pela alta luminosidade (DIAS e MARENCO, 2006; DIAS e MARENCO, 2007, LAVINSKY et al., 2014).

O aumento dos valores de F_0 e redução nos valores de F_v/F_m e de *Fm*, principalmente nos tratamentos de maior tempo de exposição a luz solar plena (T_{35} e T_{120}) estão de acordo com os resultados obtidos por DIAS e MARENCO. (2007). Os autores analisaram o efeito da alta radiação em espécies arbóreas aclimatadas a ambiente de baixa irradiância e também relataram que o aumento dos valores de F_0 foram acompanhados pela redução dos valores de F_m *e de* F_v/F_m. LAVINSKY et al. (2014) analisaram o efeito da alta luminosidade na aclimatação de *Euterpe edulis* após as plantas

serem transferidas para uma clareira aberta no sub bosque de uma floresta e também constataram aumento de F_0 e redução de F_m *e de* F_v/F_m logo após a transferência das plantas.

As alterações nos valores de F_0, F_m, F_v/F_m em T_{35} observadas em *M. spectabilis* e *C. guttata* caracterizam o evento de fotoinibição dinâmica considerando que as plantas recuperaram-se ao final da tarde. No entanto, as alterações em T_{120} para ambas as espécies são consideradas como fotoinibição crônica, devido ao maior tempo de recuperação observado (DEMMING ADAMS et al., 2012). A recuperação dos valores destes parâmetros em T_{120} ocorreu entre 19 e 43 horas em *C. guttata*. Em *M. spectabilis*, a recuperação ocorreu entre 43 e 91 horas, mostrando que, embora as duas espécies tenham sofrido fotoinibição crônica em T_{120}, os danos foram mais severos em *M. spectabilis.*

Os resultados obtidos neste estudo para a banda K, que mostra a evolução do complexo do oxigênio, não confirmam a hipótese de que os danos provocados pela fotoinibição inicialmente afetam o CEO e posteriormente danificam o FSII, proposta por TAKAHASHI e BADGER. (2011) e por ZAVAFER et al. (2015), pois, o CEO apresentou tendências para a aclimatação em ambas as espécies e os parâmetros F_0, F_m e F_v/F_m, mostraram que ocorreu danos no FSII, que resultaram em fotoinibição.

Por conseguinte, o aumento significativo dos valores de *ABS/RC* obtidos para *C. guttata* e *M. spectabilis* está relacionado com o aumento do tamanho efetivo do sistema antena associado a um centro de reação ativo e é calculado como o número total de fótons absorvidos por molécula de clorofila de todos os centros de reação divididos pelo número total de centros de reação ativos, sendo, portanto, influenciado pela razão de centros de reação ativos/inativos (MEHTA et al., 2010). Este resultado representa uma estratégica adaptativa das espécies para melhorar a absorção de energia de excitação (SMIT et al., 2009). Porém o aumento dos valores de *ABS/RC* foram acompanhados por aumentos na dissipação de energia *(DI_0/RC),* o que sugere a existência de mecanismos que proporcionam a fotoproteção. A recuperação dos valores de *ABS/RC* e DI_0/RC em *M. spectabilis* foi proporcional ao tempo de exposição. Mas, em *C.guttata* os valores de DI_0/RC, nos tratamentos de 35 e 120 minutos, recuperaram-se no mesmo intervalo de tempo, indicando que o maior tempo de exposição não resultou em uma maior taxa de dissipação de energia para a espécie.

Os resultados obtidos para $PI_{(total)}$ após a exposição das plantas à luz solar, revelaram reduções similares em *C. guttata* ao longo do dia em T_{120} e T_{35}. Em *M.*

spectabilis, os valores de $PI_{(total)}$ só reduziram em T_{120} e a recuperação se deu em um período de tempo menor do que aquele requerido para *C. guttata* (Figura 6 F; Tabela 2). O índice de desempenho fotossintético [$PI_{(total)}$] é um indicador de "vitalidade" da planta que combina a densidade de centros de reação, o fluxo de energia máximo que chega ao FSII, o transporte de elétrons e a redução dos aceptores finais do FSI (METHA et al., 2010). A redução dos valores de $PI_{(total)}$ revela os danos ocorridos no aparato fotossintético devido o estresse causado pela luz solar (TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008; YUSUF et al., 2010; MARTINS. et al 2015).

As análises dos resultados permitem sugerir que *C.guttata* apresentou plasticidade fisiológica para aclimatar-se ao estresse continuo provocado pela luz. Essa aclimatação pode ser notada através dos dados das alterações sofridas em F_0, onde os valores de T_{120} não apresentaram variação significativa. Este resultado foi confirmado pelo aparecimento de curvas negativas da banda K em T_{120} e pelo aumento nos valores da banda L em T_{35} terem sido maiores do que em T_{120}. Soma-se a estes dados as alterações que ocorreram nos valores de $PI_{(total)}$, RC/CS_0, *ABS/RC* e em DI_O/RC, para os quais, também não foram observadas diferenças significativas entre os valores de T_{35} e T_{120} (Tabela 1 e 2). O mesmo pode ser verificado nos sinais de recuperação dos valores destes parâmetros (banda L, DI_0/RC, $PI_{(total)}$ e RC/CS_0), que ocorreu em um intervalo de tempo menor em T_{120} do que em T_{35}. Este comportamento de *C. guttata* em resposta à exposição a luz solar plena em diferentes intervalos de tempo é explicado por LARCHER. (2006). Segundo o autor, as plantas, ao serem submetidas a estresse, inicialmente perdem a estabilidade e as funções que mantém as atividades vitais. Se a intensidade do estresse não se altera, ocorre processos de reparo, onde substâncias de proteção são rapidamente produzidas. Após essa fase, as plantas adquirem resistência mesmo sob estresse continuo e ocorre estabilidade e normalização das funções que resulta na aclimatação.

Plantas CAM, como *C. guttata*, evoluíram a partir de plantas C_3 e apresentam convergência evolutiva em termo de características anatômicas e metabólicas, como um alto grau de suculência nas folhas e pseudobulbos. Estas características conferem às espécies CAM resistência ao déficit hídrico e também à alta luminosidade (BORLAND et al., 2011). A aclimatação de *C. guttata* também pode ser atribuída ao fato da espécie possuir folhas mais resistentes com um período de vida mais logo do que *M. spectabilis*, espécie C_3. De acordo com LOVELOCK et al. (1998), plantas que possuem folhas mais resistentes com períodos mais longos de vida, dissipam mais energia através de mecanismos das vias fotoquímicas comparativamente àquelas que possuem tempo de

vida mais curto. O aumento na dissipação de energia (DI_0/RC) observada neste estudo sustenta esta afirmação, pois as porcentagens de aumento dos valores deste parâmetro foram maiores em *C. guttata* do que em *M. spectabilis.* Assim, sugere-se que a longevidade da folha de *C. guttata* confere maior resistência a danos causados pela alta irradiação (KRAUSE et al., 2003).

Por fim, a aclimatação de *M. spectabilis* à luz também já foi constatada em estudo realizado por PIRES et al. (2012), os quais analisaram características fisiológicas e morfológicas de *M. spectabilis* cultivadas em diferentes níveis de luz. Os autores constataram que a espécie possui plasticidade para aclimatar-se a diferentes níveis de luz, porém, esta aclimatação ocorreu ao longo de 90 dias.

6. CONCLUSÃO

A concentração de pigmentos obtidos nas plantas controle em ambas as espécies não está diretamente relacionada a eficiência no desempenho fotoquímico.

As curvas da banda L indicam que ocorre perda conectividade energética em ambas as espécies e para todos os tratamentos de exposição à luz solar plena.

As curvas da banda K revelam uma tendência de aclimatação do CEO à alta luz tanto para a espécie CAM como para a espécie C_3.

Os dados dos parâmetros do teste JIP, mostram que em *M. spectabilis*, as alterações são diretamente relacionadas com o tempo de exposição à luz solar plena. Assim como o tempo de recuperação também é proporcional ao dano, ou seja, quanto maior as alterações, maior o tempo para recuperação.

C. guttata, apresenta aclimatação a exposição à alta luz, isso é constatado pela ausência de diferenças significativas entre os diferentes tratamentos, T_{35} e T_{120}, na maioria dos parâmetros do teste JIP analisados.

Ambas as espécies sofrem fotoinibição dinâmica nos tratamentos de T_{35} e fotoinibição crônica em T_{120}. No entanto, os danos são mais severos em *M. spectabilis* devido a necessidade de maior de tempo para a recuperação.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, além dos dados dos parâmetros do teste JIP, apresentados, outros parâmetros também foram analisados, como: *AREA* (área complementar total entre a curva de indução de fluorescência e F = F_m), S_m (área normalizada, acima do transiente OJIP) *Sm/Tfmax* (o tempo (em ms) para atingir a intensidade máxima de fluorescência em F_m), TR_0/RC (Fluxo de energia capturada por centro de reação) e ET_0/RC (Fluxo de energia para o transporte de elétron). Porém, os valores destes parâmetros não apresentaram sensibilidade a exposição a alta luz, isso permite sugerir que não são bons indicadores de alterações provocadas pela alta luminosidade.

Na apresentação dos resultados foi possível verificar que os valores de alguns parâmetros, não apresentaram recuperação dentro do tempo máximo estipulado para a realização das medidas da fluorescência da Chl *a*. Apesar deste fato não ter comprometido os resultados, sugere-se que em experimentos futuros as análises sejam realizadas em um período de tempo maior.

Os estudos que investigam os diferentes metabolismos de fixação de carbono, em geral estão relacionados ao déficit hídrico, variações de temperatura, concentrações de CO2 e luminosidade, deste modo, seria importante a realização de experimentos que investigasse o efeito simultâneo destes fatores sobre o desempenho fotossintético das plantas, a fim, de elucidar de forma mais precisa o efeito destes fatores no crescimento, desenvolvimento e aclimatação das espécies.

Os dados apresentados neste trabalho são importantes, para os conhecimentos do desempenho fotoquímico das espécies submetidas a luz solar plena e podem ser usados na tomada de decisão a respeito da preservação e reintrodução das espécies estudadas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSKI, J. M.; PETERS, J. A.; DANIELOSKI, R.; BACARIN, M. A. Excess iron-induced changes in the photosynthetic characteristics of sweet potato. **Journal of Plant Physiology**, v.168, n.17, p.2056-2062. 2011.

ARO, E. M.; MCCAFFERY, S.; ANDERSON, J. M. Photoinhibition and D1 protein degradation in peas acclimated to different growth irradiances. **Plant Physiol** 103: 835-843. 1993.

AVADHANI, P.N.; ARDITTI, J. Carbon fixation in orchids. In: Proceedings of World Orchid Symposium, pp. 79-85, **Harbour Press**, Sydney. 1981.

AVADHANI, P.N.; GOH, C.J.; RAO, A. N.; ARDITTI, J. Carbon fixation in orchids. In: Orchid Biology, Reviews and Perspectives II, **J. Arditti**, (Ed.), Vol.123, No.3,January 1973), pp. 173-193, Cornell University Press, Ithaca, New York. 1982.

BENZING, D. H. Vascular epiphytes: general biology and related biota. **Cambridge University Press**, ISBN 0-521-26630-0, Cambridge, England. 1990.

BORLAND, A. M.; ZAMBRANOVA, B.; CEUSTERS, J.; SHORROCK, K. The photosynthetic plasticity of crassulacean acid metabolism: an evolutionary innovation for sustainable productivity in a changing world. **New Phytologist** 191: 619–633. 2011.

ČAJÁNEK, M.; ŠTROCH, M.; LACHETOVÁ, I.; KALINA, J.; SPUNDA, V. Characterization of the photosystem II inactivation of heat-stressed barley leaves as monitored by the various parameters of chlorophyll a fluorescence and delayed fluorescence. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v.47, p.39-45. 1998.

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 cholorosis. **Acta Physilogy** Plant, v. 32, p. 253-261. 2010

CHEN, S. G.; KANG, Y.; ZHANG, M.; WANG, X. X.; STRASSER, RJ.; ZHOU, B.; QIANG S. Differential sensitivity to the potential bioherbicide tenuazonic acid probed by the JIP-test based on fast chlorophyll fluorescence kinetics. **Environ. Exp. Bot**, 112, 1–15. 2015.

CHEN, S.; YANG, J.; ZHANG, M.; STRASSER, R. J.; QIANG, S. Classification and characteristics of heat tolerance in *Ageratina adenophora* populations using fast chlorophyll a fluorescence rise O-J-I-P. **Environmental and Experimental Botany**, 122, 126–140. 2016.

CHRISTEN, D.; SCHÖNMANN, 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. **Environ. Exp. Bot**, 60, 504–514. 2007.

CUCHIARA, C.; SILVA, I. M.; DALBERTO, D.; BACARIN, M.; PETERS, J. Chlorophyll a fluorescence in sweet potatoes under different copper concentrations**. Journal of soil science and plant nutrition**, (ahead). 2015.

DE LA ROSA-MANZANO, E.; ANDRADE, J. L.; GARCÍA-MENDOZA, E.; ZOTZ, G.; REYES-GARCÍA, C. Photoprotection related to xanthophyll cycle pigments in epiphytic orchids acclimated at different light microenvironments in two tropical dry forests of the Yucatan Peninsula. Mexico. **Planta**, 242(6). 2015.

DEMING-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol**, 43:599–626. 1992.

DEMMING-ADAMS, B.; COHU, C.; MULLER, O.; ADAMS, W. W. Modulation of photosynthetic energy conversion efficiency in nature: from seconds to season. **Photosynth Res**, 113:75–88. 2012.

DIAS, D. P.; MARENCO, R. A. Photoinhibition of photosynthesis in *Minquartia guianensis* and *Swietenia macrophylla* inferred by monitoring the initial fluorescence. **Photosynthetica,** 44:235–240. 2006.

DIAS, D. P.; MARENCO, R. A. Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 42:305–311. 2007.

DINÇ, E.; CEPPI, M. G.; TÓTH, S. Z.; BOTTKA, S.; SCHANSKER, G. The Chl *a* fluorescence intensity is remarkably insensitive to changes in the chlorophyll content of

the leaf as long as the Chl *a*/b ratio remains unaffected. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1817, n.5, p.770-779. 2012.

DODD, A. N.; BORLAND, A. M.; HASLAM, R. P.; GRIFFITHS, H.; MAXWELL, K. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. **Journal of Experimental Botany**, 53: 1–12. 2002.

EDHOFER, I.; MUHLBAUER, S. K.; EICHACKER, L. A. Light regulates the rate of translation elongation of chloroplast reaction center protein D1. **Eur J Biochem**, 257:78–84. 1998.

EHLERINGER, J. R.; FORSETH, I. N. Solar tracking by plants. **Science**, 210, 1094–1098. 1980.

ELSHEERY, N. I.; WILSKE, B.; ZHANG, J. L.; CAO, K. F. Seasonal variations in gas exchange and chlorophyll fluorescence in the leaves of five mango cultivars in southern Yunnan, China. **J Hort Sci Biotechnol**, 82:855–862. 2007.

FERREYRA, M. L.; RIUS, S. P.; CASATI, P. Flavonoids : biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. **Frontiers in plant science**, 1–15. 2012.

FISHER, R. A.; WILLIANS, M.; DO VALE, R. L.; DA COSTA, A. L.; MEIR, P. Evidence from Amazonian forests is consistent with isohydric control of leaf water potential. **Plant Cell Environment**, V.29, n.2, p.151-165. 2006.

FORIERI, I.; HILDEBRANDT, U.; ROSTÁS, M. Salinity stress effects on direct and indirect defence metabolites in maize. **Environmental and Experimental Botany**, 122:68–77. 2016.

GOMES, M. T. G.; DA LUZ, A. C.; DOS SANTOS, M. R.; DO CARMO, P. B. M.; SILVA, D. M.; FALQUETO, A. R. Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll a fluorescence transient. **Sci. Hortic**, (Amsterdam). 142, 49–56.2012.04.026. 2012.

GRAVENDEEL, B.; SMITHSON, A.; SLIK, F. J. W.; SCHUITEMAN, A. Epiphytism and pollinator specialization: drivers for orchid diversity? **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, 359:1523–1535. 2004.

GREER, D. H.; THORPE, M. R. Plant Physiology and Biochemistry Leaf photosynthetic and solar-tracking responses of mallow, *Malva parviflora* , to photon flux density. **Plant Physiology et Biochemistry**, 47(10), 946–953. 2009.

GRIFFITHSH, R.; GIRNUSJ, M. Leaf succulence determines the inter play between carboxylase system sand light use during crassulacean acid metabolism in Kalancho¨e species. **Journal of Experimental Botany**, 59:1851–1861. 2008.

GURURANI, M. A.; VENKATESH, J.; TRAN, L. P. Regulation of Photosynthesis during Abiotic. **Molecular Plant**, 1–17. 2015.

HALLIK, L.; NIINEMETS, U.; KULL, O. Photosynthetic acclimation to light in woody and herbaceous species: a comparison of leaf structure, pigment content and chlorophyll fluorescence characteristics measured in the field. **Plant Biology**, v.14, n.1, p.88-99. 2012.

HISCOX, J. D.; ISRAELTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v.57,n.12, p.1332-1334. 1979.

ISRAELSTAM, A. N. D. G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **National Research Council of Canada**, 1332–1334. 1979.

JURCZYK, B.; RAPACZ, M.; POCIECHA, E. K. O. J. Changes in carbohydrates triggered by low temperature waterlogging modify photosynthetic acclimation to cold in *Festuca pratensis.* **Environmental and Experimental Botany**, 122, 60–67. 2016.

KALAJI, H. M.; OUKARROUM, A.; ALEXANDRO, V. V.; KOUZMANOVA, M.; BRESTIC, M.; ZIVCAK M, SAMBORSKA IA, CETNER MD, ALLAKHVERDIEV SI, GOLTSEV V. Of nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll a fluorescence measurements. **Plant Physiol. Biochem**, 81, 16–25. 2014.

KATO, Y.; YUICHIRO, S. O.; WATARU, T. D1 fragmentation in photosystem II repair caused by photo-damage of a two-step model. **Photosynthesis Research**. 2015.

KERBAUY, G. B.; TAKAHASHI, C. A.; LOPEZ, A. M.; MATSUMURA, A. T.; HAMACHI, L.; FÉLIX, L. M.; PEREIRA, P. N. Crassulacean Acid Metabolism in

Epiphytic Orchids : Current Knowledge, Future Perspectives. **Applied Photosynthesis**. 2012.

KRAUSE, G. H.; GALLÉ, A.; GADEMANN, R.; WINTER, K. Capacity of protection against ultraviolet radiation in sun and shade leaves of tropical forest plants. **Funct. Plant Biol**, 30: 533-542. 2003.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. In Capitulo 6 A Planta sob Estresse, 550p. 2006.

LAVINSKY, A. O.; GOMES, F. P.; MIELKE, M. S.; FRANÇA, S. Photosynthetic acclimation in shade-developed leaves of *Euterpe edulis* Mart (Arecaceae) after long-term exposure to high light. **Photosynthetica**, 52:351–357. 2014.

LI, X.; ZHANG, L. Endophytic infection alleviates Pb_2 stress effects on photosystem II functioning of Oryza sativa leaves. **J. Hazard. Mater**, 295, 79–85. 2015.

LONG, S. P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 45, 633–662. 1994.

LOVELOCK, C. E.; KURSAR, T. A.; SKILLMAN JB, WINTER K. Photoinhibition in tropical forest understorey species with short-and long-lived leaves. **Funct. Ecol**, 12: 553-560. 1998.

MARTINELLI, G. E.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1 ed. 1100p. Rio de Janeiro. 2013.

MARTINS, J. P. R.; SCHIMILDT, E. R.; ALEXANDRE, R. S.; FALQUETO, A. R.; OTONI, W. C. Chlorophyll a fluorescence and growth of *Neoregelia concentrica* (Bromeliaceae) during acclimatization in response to light levels. In Vitro. **Cellular & Developmental Biology - Plant**, 471–481. 2015.

MATHUR, S.; ALLAKHVERDIEW, S. I.; JAJOO. A. Analysis of high temperature stress on the dynamic of antenna size and reducing side heterogeneity of photosystem II in wheat leaves (*Triticum aestivum*). **Biochim. Biophys Acta**, 1807, 22–29. 2011.

MATHUR, S.; AGRAWAL, D.; JAJOO, A. Photosynthesis: Response to high temperature stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.137, p.116-126. 2014.

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

MURCHIE, E. H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of Experimental Botany**, 64:3983–3998. 2013.

OSMOND, C. B. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: Baker NR, Bowyer JR (eds) Photoinhibition of photosynthesis: from molecular mechanisms to the field. **BIOS Scientific Publishers**, Oxford, pp 433–447. 1994.

OUKARROUM, A.; 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**, 60, 438–446. 2007.

OUKARROUM, A.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using *Chl a* fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. **Physiol Plant**, 137, 188–199. 2009.

PIRES, M. V.; ALMEIDA, A. A. F.; ABREU, P. P.; COSTA, S. D. Does shading explain variation in morphophysiological traits of tropical epiphytic orchids grown in artificial conditions? **Acta Physiol Plant**, 34:2155–2164. 2012.

POMPEIANO, A.; DI PATRIZIO, E.; VOLTERRANI, M.; SCARTAZZA, A.; GUGLIELMINETTI, L. Growth responses and physiological traits of seashore paspalum subjected to short-term salinity stress and recovery. **Agricultural Water Management**, 163, 57–65. 2016.

POWLES, S. B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light, 15–44. 1984.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Biologia Vegetal, 7ª edição. **Editora Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro. 2007.

RODRIGUES, M. A.; MATIZ, A.; CRUZ, A. B.; MATSUMURA, A. T.; TAKAHASHI, C. A.; HAMACHI, L.; KERBAUY, G. B. Spatial patterns of photosynthesis in thin-and thick-leaved epiphytic orchids: Unravelling C_3-CAM plasticity in an organ-compartmented way. **Annals of Botany**, 112, 17–29. 2013.

SCHANSKER, G.; THÓT, S. Z.; HOLZWARTH, A. R.; GARAB, G. Chlorophyll a fluorescence: beyond the limits of the QA model. **Photosynthesis Resarch**, v.120, p.43-58.2014.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RIBEIRO, R. V.; VIEIRA, S. A. Photoprotective function of energy dissipation by thermal processes and photorespiratory mechanisms in *Jatropha curcas* plants during different intensities of drought and after recovery. **Environ Exp Bot**, 110:36–45.2015.

SILVERA, K. N.; WHITTEN, W. M.; WINTER, K. C. Evolution along the crassulacean acid metabolism continuum. **Functional Plant Biology**, 37: 995–1010. 2010.

SMIT, M. F.; HEERDEN, P. D. R. V.; PIENAAR, J. J.; WEISSFLOG, L.; STRASSER, R. J.; KRUGER, G. H. J. Effect of trifluoroacetate, a persistent degradation product of fluorinated hydrocarbons, on Phaseolus vulgaris and Zea mays. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 623–634. 2009.

SPECIESLINK, (http://www.splink.org.br). Herbário da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB), Herbário do Jardim Botânico da Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte (BHZB), Herbário do Centro de Pesquisas do Cacau(CEPEC), Coleção de Plantas Vivas do Jardim Botânico da Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte (CVJBFZB), Herbário da Reserva Natural Vale (CVRD), Herbário Jaime Coelho de Moraes(EAN), Herbário da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESA), University of Florida Herbarium (FLAS) (FLAS), Herbário Dr. Roberto Miguel Klein (FURB), Herbarium Hamburgense(HBG), Herbário Virtual Flora Brasiliensis (HbVirtFlBras), Orquidário do Laboratório de Biologia Molecular e Biossistemática de Plantas (LBMBP), Herbário do Museu Botânico Municipal (MBM),Herbário Mello Leitão (MBML-Herbario), Missouri Botanical Garden

- Brazilian records (MOBOT_BR), Botanical Collections (NHM-London-BOT), The New York Botanical Garden - Brazilian records (NY), MNHN - Herbário Virtual A. de Saint-Hilaire (P), Herbário do Museu Nacional (R), Herbário de São José do Rio Preto (SJRP), Herbário do Estado "Maria Eneyda P. Kaufmann Fidalgo" - Coleção de Fanerógamas (SP), Herbário Dom Bento José Pickel (SPSF), Herbário da Universidade de Brasília (UB), Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC), Herbário Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Herbário do Departamento de Botânica (UPCB), Herbário Central da Universidade Federal do Espírito Santo VIES (VIES) disponível na redespeciesLink **(http://www.splink.org.br)** em 31 de Março de 2016

SRIVASTAVA, A.; GUISSÉ, B.; GREPPIN, H.; STRASSER, R. J. Regula- tion of antenna structure and electron transport in Photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP. **Biochim. Biophys**, Acta 1320: 95-106.1997.

STIRBET, A.; GOVINDJEE, STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Chlorophyll a fluorescence induction in higher plants: modelling and numerical simulation. **J. Theor. Biol**, 193: 131-151. 1998.

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 Photo Biology**. 2011.

STIRBET, A. Excitonic connectivity between photosystem II units: what is it, and how to measure it? **Photosynthesis Research**, 116(2-3), 189–214. 2013.

STRASSER, B. J. Donor side capacity of Photosystem II probed by chlorophyll *a* fluorescence transients. **Photosynth. Res**, 52, 147–155.1978

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: Mathis P (ed) Photosynthesis: from Light to Biosphere. **Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands**, p. 977– 980, 1995.

STRASSER, R. J.; STIRBET, A. D. Estimation of the energetic connectivity of PS II centres in plants using the fluorescence rise O-J-I-P. Fitting of experimental data to three different PSII models. **Math. Computer Simul**, 56: 451-461.2001.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the fluorescence transient. In: George C., Papageorgiou C., Govindjee (eds.): Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration Series. **Springer, Dordrecht**, p.321–362. 2004

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*. **Biochim. Biophys. Acta**, 1313–1326.2010..

STRAUSS, A. J.; KRÜGER, G. H. J.; STRASSER, R. J.; VAN HEERDEN, P. D. R. The role of low soil temperature in the inhibition of growth and PSII function during dark chilling in soybean genotypes of contrasting tolerance**. Physiol. Plant,** 131, 89– 105. 2007.

SUETSUGU, N.; WADA, M. Chloroplast photorelocation movement mediated by phototropin family proteins in green plants. **Biological Chemistry**, Vol.388, No.9, pp. 927-935. 2007.

SUETSUGU, N.; WADA, M. Chloroplast photorelocation movement mediated by phototropin family proteins in green plants. **Biological Chemistry**, 388, 927–935. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5 ªedição. Porto Alegre. Editora: **ArtMed**. 2013.

TAKAHASHI, S.; MURATA, N. How do environmental stresses accelerate photoinhibition ? **Trends in Plant Science** (March), 178–182. .2008.

TAKAHASHI, S.; BADGER, M. R. Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. **Trends in Plant Science**, 16(1), 53–60.2011.

TÓTH, S. Z.; SCHANSKER, G.; KISSIMON, J.; KOVÁCS, L.; GARAB, G.; STRASSER, R. J. Biophysical studies of photosystem II-related recovery processes after

a heat pulse in barley seedling (*Hordeum vulgare* L). **J Plant Physiol**, 162:181–194.2005.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; EGGENBERG, P.; BIRO, B.; KÖVES-PECHY, K.; VÖRÖS, I.; STRASSER, R. J. Synergistic and antagonistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers on the photosynthetic activity of alfalfa, probed by the polyphasic chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. **Appl. Soil Ecol**, 15, 169–182. 2000.

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**, p. 679-703.2008.

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

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Heat tolerance in plants. An overview. **Environ. Exp. Bot**, 61, 199–223. 2007.

WANG, M.; XIE, B.; FU, Y.; DONG, C.; HUI, L.; GUANGHUI, L.; LIU, H. Effects of different elevated CO2 concentrations on chlorophyll contents, gas exchange, water use efficiency, and PSII activity on C_3 and C_4 cereal crops in a closed artificial ecosystem. **Photosynthesis Research**, 126 (2-3), 351–362. 2015.

WINKEL-SHIRLEY, B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Curr. Opin. **Plant Biol**, 5, 218–223.2002.

WONG, S. L.; CHEN, C. W.; HUANG, H. W.; WENG, J. H. Using combined measurents for comparison of light induction of stomatal conductance electron transportrate ande CO_2 fixation in woody and fer species adapted to different light regimes. **Tree Physiol**, 32:535-544. 2012.

XIANG, M. M.; CHEN, S. G.; WANG, L. S.; DONG, Z. Y.; HUANG, J. H.; ZHANG, Y. X.; STRASSER, R. J. Effect of vulculic acid produced by *Nimbya alternantherae* on the photosynthetic apparatus of *Alternanthera philoxeroides*. **Plant Physiol. Biochem**, 65, 81–88.2013.

YAMORI, W.; HIKOSAKA, K. E.; WAY, D. A. Temperature response of photosynthesis in C_3, C_4, and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation. **Photosynthesis Research**, 119 (1-2), 101–117.2014.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLIMICHAEL, M. GOVINDJEE; SARIN NB. Overexpression of γ-tocopherol methyltransferase 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.

ZAVAFER, A.; CHEAH, M. H.; HILLIER, W.; CHOW, W. S.; TAKAHASHI, S. Photodamage to the oxygen evolving complex of photosystem II by visible light. **Nature Publishing Group**, 1–8. 2015.