

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE DIRETORIA  
DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA

**EFEITO DE IRRADIÂNCIAS CONTRASTANTES NAS  
CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS E NA  
ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM  
PLANTAS JOVENS DE CHICHÁ**

Autora: Vanessa Camargo Soares

Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

Rio Verde - GO  
Agosto - 2013

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE DIRETORIA  
DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA

**EFEITO DE IRRADIÂNCIAS CONTRASTANTES NAS  
CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS E NA  
ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM  
PLANTAS JOVENS DE CHICHÁ (MALVACEAE)**

Autora: Vanessa Camargo Soares

Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado do Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde – Área de concentração Ciências Agrárias, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA .

Rio Verde - GO  
Agosto - 2013

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS-GRONOMIA**

**EFEITO DA IRRADIÂNCIA NA ATIVIDADE DE ENZIMAS  
ANTIOXIDANTES E NAS CARACTERÍSTICAS  
FOTOSSINTÉTICAS DE PLANTAS  
JOVENS DE *Sterculia striata* Hil & Naud.**

Autora: Vanessa Camargo Soares  
Orientador: Dr. Alan Carlos Costa

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de  
Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em 16 de agosto de 2013.

Prof. Dr. Rogério Ferreira Ribas  
*Avaliador externo*  
UFRBA

Dra. Julien da Silva Lima  
*Avaliadora interna*  
(Bolsita DCR) IF Goiano/RV

Prof. Dr. Alan Carlos Costa  
*Presidente da banca*  
IF Goiano/RV

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Juliana de Fátima Sales  
*Avaliadora interna*  
IF Goiano/RV

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida, sabedoria, força e pelas oportunidades.

Ao meu noivo Horácio, pela amizade, cumplicidade, amor e compreensão.

À minha amada mãe, exemplo de mãe, dedicação e sabedoria, além do seu papel especial em minha formação como pessoa, mesmo que, às vezes, sem entender, sempre esteve ao meu lado nos melhores e piores momentos.

À minha querida irmã, que sempre me incentivou e sempre esteve ao meu lado em tudo o que escolhi, pelo amor incondicional em qualquer momento.

A toda a minha família, pelo carinho e apoio nos momentos difíceis, em especial, à minha querida avó Gercina, tia Jucélia e priminha Mariana.

Ao meu orientador Professor Alan Carlos Costa, exemplo de dedicação, pela confiança, apoio e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e à Financiadora de Estudos e Projetos (Finep) – CTINFRA/PROINFA, pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

À minha Coorientadora, Professora Clarice Aparecida Megguer, e à amiga Júlien da Silva Lima, pela amizade, paciência, orientação, companheirismo, conselhos, e, principalmente, pelos ensinamentos.

À Vanilda, secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, pela amizade, dedicação, competência e profissionalismo que sempre empenha em seu trabalho.

A todos os amigos e companheiros do Laboratório de Ecofisiologia - Priscila, Marília, Fábila, Viviane, Hélio, Gabriela, Luciana, Yasmim, Jonatas, Gabriel, Natália, Sueisla e Rodolfo - pelos agradáveis momentos que passamos juntos, pela disponibilidade, dedicação nas análises realizadas e, principalmente, pela amizade. São momentos que deixaram saudades.

Em especial, à querida Priscila, pela amizade, lealdade, convivência, amparo em todos os momentos, principalmente nos difíceis, ajudando a superar obstáculos.

A todos os colegas e amigos de pós-graduação, pela amizade e companheirismo e pelo compartilhamento de conhecimentos.

À Aline Gobbi, amiga que me acolheu com muito carinho em grande parte do período da pós-graduação. À Viviane Specian, que viveu comigo os momentos mais doces e amargos da nossa pós-graduação, desde o primeiro dia da etapa do processo seletivo ao dia final de defesa da dissertação.

## BIOGRAFIA DA AUTORA

VANESSA CAMARGO SOARES, filha de Braz Fidelis Soares (*in memoriam*) e Nilva Maria Camargo, nasceu no dia 24 de dezembro de 1988, na cidade de Iporá, Goiás.

Em fevereiro de 2006, ingressou no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Goiás Unidade de Iporá, graduando – se em dezembro de 2009.

Em janeiro de 2010, ingressou no curso de Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia na Universidade Federal de Goiás, especializando-se em julho de 2011.

Em agosto de 2011, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Câmpus de Rio Verde, sob a orientação do Professor Alan Carlos Costa.

## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE SIMBOLOS, SIGLAS ABREVIACÕES E UNIDADES .....	xi
RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	3
INTRODUÇÃO.....	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	9
OBJETIVO .....	15
CAPÍTULO I.....	16
ABSTRACT .....	19
1.INTRODUÇÃO.....	21
2.MATERIAL E MÉTODO .....	25
2.1. Material vegetal.....	26
2.1.1. Obtenção das mudas e plantio .....	26
2.2. Condições experimentais.....	26
2.2.1. Coleta de dados climáticos.....	26
2.2.2. Ambientes de crescimento .....	27
2.3. Detalhamento dos procedimentos para avaliação das plantas .....	29
2.3.1. Avaliação das trocas gasosas .....	29
2.3.2. Fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	29
2.3.3. Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos .....	31
2.3.4. Atividade Enzimática.....	31
2.3.5. Superóxido dismutase (SOD) .....	32

2.3.6. Catalase (CAT) .....	33
2.3.7. Ascorbato Peroxidase (APX).....	33
2.3.8. Determinação de proteínas.....	34
2.3.9. Conteúdo de Malonaldeído (MDA) .....	34
2.3.10. Taxa de liberação de eletrólitos .....	34
2.3.11. Análise morfológica e biométrica.....	35
3. RESULTADOS .....	36
3.1 Dados climáticos .....	36
3.2. Características visuais das plantas .....	36
3.3. Trocas Gasosas .....	37
3.4. Fluorescência da clorofila <i>a</i> e fotoinibição.....	38
3.5. Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos.....	41
3.6. Atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). .....	44
3.7. Danos celulares.....	45
3.8. Características biométricas .....	46
4. DISCUSSÃO .....	48
5. CONCLUSÃO.....	57
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57



## ÍNDICE DE TABELAS

## Página

<b>Tabela 1.</b> Razão Fv/Fm de plantas jovens de <i>Sterculia striata</i> submetidas aos diferentes níveis de irradiância, no ambiente de crescimento avaliadas aos 74 dias do período de exposição as 8h00min, as 12h00min, e no dia seguinte às 8h00min. Os dados são médias ( $n = 7$ ).....	39
<b>Tabela 2.</b> Resumo da Análise de Variância dos dados de crescimento de plantas jovens de <i>Sterculia striata</i> , sendo: Altura, número de folhas (N° de folhas), área foliar (AF), Comprimento de raiz e caule, número de entrenós (ENT), massa seca de caule (MSC), massa seca de raiz (MSR).....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

Página

### CAPÍTULO I

- Figura 1.** Ambientes de crescimento de plantas jovens de *Sterculia striata*, submetidas a diferentes irradiâncias (A – 25  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; B – 180  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; C - 420  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; D - 1500  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ /1500  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). ..... 288
- Figura 2.** Medidor portátil de fotossíntese, modelo LCi Light Systems (ADC, BioScientific, Herts, England), acoplado a uma fonte de luz LCI (ADC, Bioscientific, Herts, England). ..... 29
- Figura 3.** Fluorômetro portátil modulado, modelo MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), equipado com uma pinça especial para suporte da folha modelo 2030-B. ... 31
- Figura 4.** Câmara com luz fluorescente para avaliação da atividade de SOD..... 33
- Figura 5.** Plantas de *Sterculia striata* submetidas a condições crescentes de irradiâncias no ambiente de crescimento aos 74 dias de exposição aos tratamentos. A) 0,84  $\text{mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ; B) 5,4  $\text{mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ; C) 12,24  $\text{mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ; D) 41,06  $\text{mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$ . ..... 37
- Figura 6.** A) Taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  (A -  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), B) Relação  $C_i/C_a$  e C) Taxa transpiratória ( $E$  -  $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), D) Condutância estomática ( $g_s$  -  $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) em plantas jovens de *Sterculia striata* em função da Irradiâncias de exposição. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre o período de exposição e minúscula entre as irradiâncias, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 38
- Figura 7.** A) Rendimento quântico máximo do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), B) Rendimento quântico efetivo do fotossistema II ( $\Delta F/F_m'$ ), C) Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) e D) Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre o período de exposição e minúscula entre as irradiâncias, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. .... 40
- Figura 8.** A) Fluorescência basal após adaptação no escuro e B) Fluorescência máxima após adaptação no escuro em plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre o

período de exposição e minúscula entre as irradiâncias, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. .... 41

**Figura 9.** A) Conteúdo de clorofila *a*, B) Clorofila *b*, C) Carotenoides e D) Razão Clorofila *a/b* em função da irradiâncias de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ). .... 42

**Figura 10.** A) Conteúdo de clorofila total (Clt), B) Razão carotenoides/clorofilas (Car/Clt) e C) Índice de feofitinação (IF) de plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ). ..... 43

**Figura 11.** A) Atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD), B) catalase (CAT) e C) ascorbato peroxidase (APX) em folhas de *Sterculia striata* submetidas a irradiâncias contrastantes no ambiente de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 6$ ). .... 45

**Figura 12.** A) Conteúdo de Malonaldeído (MDA) e B) Taxa de extravasamento de eletrólitos (TLE) em folhas de *Sterculia striata* submetidas a irradiâncias contrastantes no ambiente de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 6$ ). ..... 46

**Figura 13.** A) Altura, B) Área foliar de plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiâncias de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ). ..... 477

**Figura 14.** Massa seca de raiz (MSR) de plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ). ..... 48

## LISTA DE SIMBOLOS, SIGLAS ABREVIACÕES E UNIDADES

$^1\text{O}_2$	Oxigênio Singlete	
<i>A</i>	Taxa fotossintética	( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
ADP	Adenosina difosfato	
AF	Área foliar	( $\text{cm}^2$ )
ANOVA	Análise de variância	
APX	Ascorbato peroxidases	
ATP	Adenosina trifosfato	
BSA	Albumina de soro bovino	
$\text{CaCO}_3$	Carbonato de Cálcio	
Car	Carotenoides	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
Car/Clt	Razão caratenoide clorofila total	
CAT	Catalase	
<i>Ci/Ca</i>	Relação entre concentração interna e externa de $\text{CO}_2$	
CL	Condutividade livre	( $\mu\text{S/ cm}$ )
<i>Cl<sub>a</sub></i>	Clorofila <i>a</i>	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
<i>Cl<sub>a</sub>/Cl<sub>b</sub></i>	Razão clorofila <i>a</i> clorofila <i>b</i>	
<i>Cl<sub>b</sub></i>	Clorofila <i>b</i>	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
Clt	Clorofilas totais	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
Clt/Car	Razão Clorofila total carotenoide	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
$\text{CO}_2$	Dióxido de carbono	
CT	Condutividade total	( $\mu\text{S/ cm}$ )
DFD	Densidade de fluxo de fotons	
DMSO	Dimetilsulfóxido	
DPV	Déficit de pressão de vapor	
<i>E</i>	Taxa Transpiratória	( $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético	
ENT	Número de entrenó	
ERN	Espécie reativa de nitrogênio	
EROs	Espécie reativa de oxigênio	
ETR	Taxa relativa de transporte de elétrons	( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
<i>F<sub>m</sub></i>	Fluorescência máxima	
<i>F<sub>o</sub></i>	Fluorescência mínima	
FSII	Fotossistema II	

$F_v/F_m$	Rendimento quântico máximo do fotossistema II	
gs	Condutância estomática	
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogénio	
IF	Índice de feofitinação	
Km <sup>2</sup>	Quilômetros quadrados	
Kpa	Quilopascal	
m	Metros	
MDA	Malondialdeído	
MSC	Massa seca de caule	(g planta <sup>-1</sup> )
MSF	Massa seca de folha	(g planta <sup>-1</sup> )
MSR	Massa seca de raiz	(mg)
MST	Massa seca total	(g planta <sup>-1</sup> )
NADPH <sub>2</sub>	Nicotinamida-adenina-dinucleótido	
NBT	Azul de nitro-tetrazólio	
NPQ	Coefficiente de extinção não fotoquímica	
O <sub>2</sub>	Oxigênio	
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa	( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
pH	Potencial hidrogeniônico	
PVPP	Polivinil pirrolidona	
qP	Coefficiente de extinção fotoquímica	
RAF	Razão área foliar	(cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )
RRPA	Razão raiz parte aérea	(g planta <sup>-1</sup> )
SAEG	Sistema de Análises Estatísticas Gerais	
SOD	Superóxido dismutase	
T	Temperatura	°C
TBA	Ácido tiobarbitúrico	
TLE	Taxa de liberação de eletrólitos	(%)
UniRV	Universidade de Rio Verde	
UR	Umidade Relativa	(%)
USA	Estados Unidos da América	
$\Delta F/F_m'$	Rendimento quântico efetivo	

## RESUMO

SOARES, C. Vanessa, M.Sc., Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde – GO, Agosto de 2013. **Efeito de irradiâncias contrastantes nas características fotossintéticas e na atividade de enzimas antioxidantes em plantas jovens de chichá.** Orientador: Dsc. Alan Carlos Costa. Coorientadora: Dsc<sup>a</sup>. Clarice Aparecida Megguer.

O Cerrado é caracterizado por alta heterogeneidade estrutural da vegetação, que proporciona gradientes luminosos distintos ao longo da paisagem. Sua vegetação é comumente exposta a altas irradiâncias. A intensidade de luz é um fator determinante para a atividade fotossintética de plantas, em altas irradiâncias, promove decréscimos no rendimento quântico, acarretando fotoinibição. Diante disso, objetivou-se, com este estudo, caracterizar a eficiência fotossintética e a atividade antioxidante de plantas jovens de *Sterculia striata* St. Hill & Naud em condições contrastantes de irradiância no ambiente de crescimento. A caracterização do efeito da irradiância nos processos fotossintéticos de plantas de chichá foi feita em quatro ambientes com condições contrastantes de irradiância: A) 0,84; B) 5,4; C) 12,24 e D) 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Foram feitas avaliações das trocas gasosas, da fluorescência da clorofila *a*, do conteúdo de pigmentos cloroplastídicos das plantas, do acúmulo de matéria seca, da atividade das enzimas antioxidantes (catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase) e dos danos às membranas celulares (conteúdo de malonaldeído e taxa de extravasamento de eletrólitos). Os resultados mostraram que plantas jovens de chichá apresentaram elevada sensibilidade à irradiância no ambiente de crescimento. Plantas jovens de chichá em ambiente de crescimento com irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> apresentaram as menores taxas fotossintéticas, assim como taxa transpiratória e condutância estomática, contudo,

o aumento da razão  $C_i/C_a$  nesta irradiância indicou ocorrência de danos à via metabólica de fixação de carbono. Plantas crescidas em ambiente com irradiância de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  sofreram fotoinibição crônica e maior atividade de enzimas antioxidantes, assim como maiores níveis de danos às membranas celulares, indicando que a maior atividade de enzimas não foi suficiente para impedir a peroxidação de lipídios e o extravasamento do conteúdo celular. Os resultados mostraram que plantas de chichá em condição de baixa irradiância tiveram maior eficiência fotossintética, não apresentando fotoinibição e estresse foto-oxidativo. Deste modo, plantas de chichá apresentaram sensibilidade a elevadas irradiâncias no ambiente de crescimento.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Sterculia striata* St. Hill & Naud; fotoinibição; estresse foto-oxidativo; atividade antioxidante.

## ABSTRACT

SOARES, C. Vanessa, M.Sc., Instituto Federal Goiano (Federal Instituto of Goiás State) – Rio Verde Campus – Goiás State-GO, Brazil, August, 2013. **Effect of contrasting irradiance on photosynthetic characteristics and on activity of antioxidant enzymes in seedlings of *Sterculia striata* St. Hil. & Naud (chichá).** Advisor: DScAg Alan Carlos Costa. Co-Advisors: DScAg Clarice Aparecida Megguer.

The Brazilian Cerrado is characterized by high structural heterogeneity of vegetation that provides distinct luminous gradients along the landscape. Its vegetation is commonly exposed to high light intensities. The light intensity is a determining factor for the photosynthetic activity of plants at high irradiances that promotes decreases in quantum yield resulting in photoinhibition. Considering this fact, this study aimed to characterize the photosynthetic efficiency and antioxidant activity of young plants of *Sterculia striata* St. Hill & Naud (chichá) under contrasting irradiance conditions on the growth environment. The characterization of the irradiance effect on the photosynthetic processes of chichá plants was performed in four environments under contrastant irradiance conditions: (a) 0.84; (b) 5.4; (c) 12.24; and (d) 41.06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Evaluations were made of gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, chloroplastid pigment content of plants, dry matter accumulation, activity of antioxidant enzymes (catalase, dismutase superoxide, and peroxidase ascorbate), and damage to cell membranes (*malondialdehyde content* and rate of electrolyte leakage). Results showed that young plants of chichá showed high sensitivity to irradiance in the growing environment. Young plants of chichá in growing environment with irradiance from 41.06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> showed the lowest photosynthetic rates as well as transpiration rate and stomatal conductance; however, the increase in *Ci/Ca* in these irradiances indicated the



occurrence of damage to the metabolic pathway of carbon fixation. Plants grown under irradiance environment of  $41.06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  experienced chronic photoinhibition and increased activity of antioxidant enzymes as well as higher damage levels to cell membranes indicating that the higher enzyme activity was not enough to prevent the lipids peroxidation and cellular content leakage. Results of this study showed that chichá plants under condition of low irradiance had higher photosynthetic efficiency and did not show significant photoinhibition and photo-oxidative stress. Thus, chichá plants showed sensitivity to high irradiance in the growth environment.

**KEYWORDS:** *Sterculia striata* St. Hill & Naud, photoinhibition, photo-oxidative stress, antioxidant activity.

## INTRODUÇÃO

A espécie nativa *Sterculia striata* St. Hil. & Naud pertence à família Malvaceae, é conhecida popularmente como chichá, amendoim-da-mata ou castanha-de-macaco. Destaca-se em diversas características por sua utilização como ornamental, na medicina popular, alimentação, sendo sua noz consumida crua ou torrada, na fabricação de papel e potencial para produção de biodiesel (COSTA et al., 2010). A *Sterculia striata* é encontrada no Cerrado desde formações primárias até secundárias e, devido a seu rápido desenvolvimento, tem potencial para programas de regeneração de áreas degradadas (LORENZI, 2000). Até o presente, nenhum estudo mais detalhado sobre *Sterculia striata* parece ter sido realizado acerca da associação entre condições contrastantes de irradiâncias e mecanismos de fotoproteção.

A heterogeneidade estrutural da vegetação de Cerrado proporciona gradientes luminosos distintos ao longo da paisagem e ao longo da estrutura vertical da vegetação, resultando em diferenças acentuadas no nível de sombreamento a que uma planta pode estar exposta ao longo do seu desenvolvimento. Desta maneira, plantas lenhosas do cerrado possuem uma variedade de estratégias de utilização de água e luz, com efeitos marcantes da sazonalidade no balanço de carbono e no crescimento (GOODLAND E FERRI, 1979).

A vegetação do Cerrado é exposta a altas irradiâncias, que podem alcançar valores de 1500 a 1700  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , com temperaturas variando de 0,84 a 40 °C, ao meio dia e, durante a estação seca, uma baixa umidade relativa do ar, podendo alcançar de 10 a 20% (FRANCO, 2004). Entre estas condições naturais em que as plantas estão inseridas, podem ocorrer diversos tipos de estresses ambientais que prejudicam seu desenvolvimento (LARCHER, 2005; JUNIOR et al., 2010).

O estresse é entendido como um desvio significativo das condições ótimas para a vida que induz respostas e mudanças em todos os níveis do organismo (LARCHER, 2005). Assim que ocorre o estresse, seu reconhecimento pelas plantas ativa mecanismos de sinalização que resultam na alteração da expressão genética nas células, tendo influência no metabolismo e no desenvolvimento de toda a planta (BRAY et al., 2000; SZECHYNSKA-HEBDA e KARPINSKI, 2013). A tolerância ao estresse consiste na aptidão da planta em enfrentar um ambiente desfavorável. Caso a tolerância aumente como consequência de exposição anterior ao estresse, diz-se que a planta está aclimatada (LARCHER, 2005).

Entre os fatores determinantes para o estabelecimento de plantas está a irradiância, que é um componente fundamental para a distribuição das espécies ao longo do gradiente de vegetação, servindo como forma para organizar as espécies em grupos sucessionais (MÜLLER et al., 2001; FUN et al., 2013). Quantidade excessiva de irradiância envolve processos fotoenergéticos (LARCHER, 2005).

Em condição de forte radiação, caracterizada por uma quantidade de energia fotoquímica incidente, maior do que a capacidade de utilização na fotossíntese, ocorre o sobrecarregamento dos processos fotossintéticos que, finalmente, resulta na baixa utilização quântica e no rendimento assimilatório, denominado de fotoinibição (ANDERSSON et al., 1994; MÜLLER et al., 2001; LARCHER, 2005; SÁEZ et al., 2013). A fotodestruição de cloroplastos nas camadas superiores do parênquima paliádico também é responsável pelo declínio da capacidade fotossintética das folhas (LARCHER, 2005).

Um dos primeiros locais afetados em situação de estresse ocasionado por forte radiação excessiva é o centro de reação do fotossistema II, em que subunidades de proteínas são rapidamente quebradas. O transporte de elétrons é interrompido e a eficiência do fotossistema II é diminuída (MÜLLER et al., 2001; MURATA et al., 2012). Todavia, como tentativa de proteção, ocorre um desvio acentuado de energia via fluorescência da clorofila *a* na forma de calor (CARBONERA et al., 2012).

A dissipação do excesso de energia absorvida pelo aparelho fotossintético é essencial para evitar danos foto-oxidativos, quando o maior estado de energia é transferido ao oxigênio molecular, convertendo-os a moléculas reativas ou radicais tóxicos (ASADA, 1999; MULLINEAUX E KARPINSKI, 2002; RIZHSKY et al., 2003). Para manter o fluxo de elétrons através da membrana fotossintética em momento de estresse, existem caminhos que cooperam na proteção do maquinário fotossintético

contra o estresse foto-oxidativo. Entre estes caminhos, estão incluídos o ciclo das xantofilas, o ciclo da água e a fotorrespiração (ASADA, 1999; HEBER, 2001; RIZHSKY et al., 2003).

Por meio do ciclo das xantofilas, o excesso de energia pode ser dissipado (CHANG et al., 2013) pela participação do ascorbato e do NADPH<sub>2</sub>, sendo a violaxantina diepoxida reduzida a zeaxantina via anteraxantina monoepoxida (MÜLLER et al., 2001; CARBONERA et al., 2012). Esta conversão de violaxantina a zeaxantina ocorre em poucos minutos, num momento de maior radiação. A reconversão da violaxantina, em que são consumidos redutores, ocorre sob fraca radiação ou no escuro (CARBONERA et al., 2012).

O ciclo de água mantém o fluxo de elétrons através do maquinário fotossintético, mesmo quando o CO<sub>2</sub> fixado é limitado ou inibido, permitindo o bombeamento de prótons através da membrana de tilacoide e o fluxo de elétrons através de plastoquinona (ASADA, 1999; MULLINEAUX E KARPINSKI, 2002; RIZHSKY et al., 2003).

Outro mecanismo de proteção pelo qual a energia pode ser desviada é o metabolismo do glicolato, conhecido como fotorrespiração (LARCHER, 2005). A fotorrespiração é um importante mecanismo para remoção de elétrons em momento de alta intensidade luminosa. A reação da Rubisco oxigenase com o O<sub>2</sub> libera CO<sub>2</sub> e consome poder redutor (NADPH<sub>2</sub>) e ATP produzidos sob altos níveis de radiação (LAWLOR e CORNIC, 2002).

Contudo, se a fotossíntese e a fotorrespiração não forem suficientes para utilizar a maior fração do poder redutor e ATP gerados na fase fotoquímica, pode ser gerada uma acumulação de elétrons na cadeia de transporte e, assim, os elétrons podem ser usados para reduzir o oxigênio molecular, levando à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais resultam em danos fotoinibitórios e foto-oxidativos (LIMA et al., 2002; PINHEIRO et al., 2004; KRUK e SZYMANSKA, 2012; CHANG et al., 2013).

As EROs podem danificar as células, assim, as plantas possuem mecanismos antioxidantes altamente eficientes de remoção destas espécies para impedir danos celulares severos (SLATER, 1984; GILL e TUTEJA, 2010). Como proteção, as plantas possuem mecanismos enzimáticos e não enzimáticos que protegem suas células dos efeitos tóxicos das EROs. Os antioxidantes não enzimáticos são, geralmente, moléculas pequenas e entre estas substâncias se incluem glutatona, cisteína, hidroquinonas,

manitol, vitamina C, vitamina E, flavonoides e alguns alcaloides e carotenoides (LARSON, 1988; DEMMIG-ADAMS e ADAMS, 1992; GILL e TUTEJA, 2010).

Os carotenoides são componentes essenciais das membranas dos tilacoides, podendo eliminar eficientemente o oxigênio singlete mediante o ciclo das xantofilas (KNOX e DODGE, 1985; GILL e TUTEJA, 2010; CARBONERA et al., 2012). A vitamina C (ascorbato) e a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) podem eliminar radicais hidroxila, oxigênio singlete e superóxido. A glutathione atua como um redutor, em virtude de seu grupo dissulfeto, para proteger grupos tios em enzimas, bem como regenerar ascorbato e reagir com o oxigênio singlete e radicais hidroxilas (FOYER et al., 1994; GILL e TUTEJA, 2010).

As defesas enzimáticas incluem a atividade da catalase, da ascorbato peroxidase, da superóxide dismutase, da monodeidroascorbato-redutase, da deidroascorbato redutase e da glutathione redutase (FOYER et al., 1994; GILL e TUTEJA, 2010).

Caso o sistema antioxidante não seja eficiente, as EROs resultam na oxidação de componentes celulares como tióis, cofatores enzimáticos, proteínas, nucleotídeos e lipídeos, principalmente ácidos graxos poli-insaturados (GILLER e SIGLER, 1995; ROMERO et al., 1998; GILL e TUTEJA, 2010). Nas várias alterações provocadas nas células vegetais, as membranas celulares parecem ser primeiramente afetadas (MONFERRÁN et al., 2009). A reação das EROs com os ácidos graxo poli-insaturados inicia um processo em cadeia conhecido como peroxidação lipídica ou lipoperoxidação, que também pode ser avaliado e utilizado como indicador de estresse oxidativo celular (LIMA e ABDALLA, 2001).

Deste modo, o regime luminoso influencia diretamente na dinâmica da população vegetal e, além de fonte de energia para a planta, a irradiância, assim como sua intensidade, tem forte influência na fotossíntese, atuando como forte estressor, e quando em excesso, pode gerar um efeito destrutivo (SMITH e HUSTON, 1990; ORT, 2001).

Relacionando as repostas à irradiância e ao estágio sucessional, as espécies que necessitam de maior irradiância apresentam altas taxas de crescimento e altos valores de fotossíntese máxima, sendo também conhecidas como pioneiras. Por outro lado, espécies tolerantes ao sombreamento apresentam taxas fotossintéticas mais baixas, sendo também classificadas em espécies não pioneiras ou secundárias (STRAUSS-DEBENEDETI e BAZZAZ, 1996). Deste modo, ocorrem variações morfo-estruturais

nas plantas presentes nos diferentes estágios sucessionais que garantem sua sobrevivência em cada ambiente (SOUZA et al., 2009).

Plantas exigentes ao sombreamento têm a taxa fotossintética limitada em ambientes de alta irradiância, devido à incapacidade de aumentar a quantidade de rubisco, enquanto em plantas desenvolvidas ao sol ocorre o contrário. Plantas desenvolvidas à sombra investem mais em complexos coletores de luz, e plantas desenvolvidas ao sol, em proteínas do ciclo de Calvin e do transporte de elétrons (LAISK et al., 2005).

Espécies de sombra são mais susceptíveis à fotoinibição e se recuperam em menor extensão que as espécies pioneiras ou dependentes de luz, espécies de clareiras ou ambientes abertos (RIDDOCH et al., 1991; LOVELOCK et al., 1998; KRAUSE et al., 2001). Essas características influenciam diretamente na escolha das espécies em programas de recuperação de áreas degradadas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSSON, B.; PONTICOS, M.; BARBER, J.; KOIVUNIEMI, A.; ARO, E. M.; HAGMAN, A.; SALTER, A. H.; DAN-HUI, Y.; LINDHAL, M. Light-induced proteolysis of photosystem II reactioncentre and light-harvesting complex II proteins in isolated preparations. In: Baker N.R.; Bowyer J.R. (Eds.), *Photoinhibition of Photosynthesis: from molecular mechanisms to the field*. **Oxford: Bios Scientific Publishers**, p. 143-15,49. 1994.

ASADA, K.; THE WATER-WATER CYCLE IN CHLOROPLASTS: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 50, p. 601-639. 1999.

BRAY E. A.; BAILEY-SERRES J.; WERETILNYK E. Response to abiotic stresses. In *Biochemistry and Biology of Plants* (Buchanam B., Grisse W., Jones R., eds.), **American Society of Plant Physiologists**. p.1158-1203. 2000.

CARBONERA, D.; GEROTTO, C.; POSOCCO, B.; GIACOMETTI, G. M.; MOROSINOTTO, T.; NPQ activation reduces chlorophyll triplet state formation in the

moss *Phycomitrella patens*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, p. 1608-1615, 2012.

CHANG, H. L.; KANG, C. Y.; LEE, T. M.; Hydrogen peroxide production protects *Chlamydomonas reinhardtii* against light-induced cell death by preventing singlet oxygen accumulation through enhanced carotenoid synthesis. **Journal of plant physiology**, v. 170, p. 976-986, 2013.

COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; SILVA, W. C. S.; COSTA, C. L. S. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. et Naudin. **Acta Amazonica**, v.40, n.1, p.207-212, 2010.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. Photoprotection and others responses of plants to high light stress. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** v.43, p.599-626. 1992.

FAN, X. X.; XU, Z. G.; LIU, X. Y.; TANG, C. M.; WANG, L. W.; MAN, X. L.; Effect of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. **Scientia Horticulture**, v. 153, p. 50-55, 2013.

FOYER, C. H.; DESCOURVIÉRES, P.; KUNERT, K. J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell and Environment** v.17, p.507-523. 1994.

FRANCO, A. C. Estratégias funcionais de plantas lenhosas das savanas do Brasil Central: relação ao déficit hídrico e ao regime luminoso. In: CABRERA, H.M. (ed). **Fisiologia Ecológica en Plantas, Mecanismos y Respuestas a Estrés en los Ecosistemas** Valparaíso (Chile): EUV. 2004.

GILL, S. G.; TUTEJA, N. R. Eactive oxygen species and antioxidante machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v.48, p. 909-930, 2010.

GILLER, G., SINGLER, K. Oxidative stress and living cells. *Folia. Microbiol.*, v.40, n.2, p.131-152, 1995.

GOODLAND, R.; FERRI, M. G. **Ecologia do Cerrado**. Editora da Universidade de São Paulo. São Paulo. 1979.

HEBER, U.; Bukhov, N. G.; Shuvalov, V. A.; Kobayashi, Y.; Lange, O. L.; Protection of the photosynthetic apparatus against damage by excessive illumination in homoiohydric leaves and poikilohydric mosses and lichens. **J. Exp. Bot.** v. 52, p.1999-2006. 2001.

JUNIOR, A. M. M.; OLIVEIRA, A. C. de; SILVEIRA, C. F.; BRAGA, E. J. B.; FONSECA, G. de M. da; BENITEZ, L. C.; MAIA, L. C. da; LUZ, V. K.; **Ácido abscísico e o estresse abiótico**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.

KNOX, J. P.; DODGE, A. D. Singlet oxygen and plants. **Phytochemistry** v.24, p.889-896, 1985.

KRAUSE, G. H.; KOROLEVA, O. Y.; DALLING, J. W.; WINTER, K. Acclimation of tropical tree seedlings to excessive light in simulated tree-fall gaps. **Plant. Cell and Environment**, v.24, p.1345-1352, 2001.

KRUK, J.; SZYMANSKA, R.; Singlet oxygen and non-photochemical quenching contribute to oxidation of the plastoquinone-pool under high light stress in *Arabidopsis*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, p. 705-710, 2012.

LAISK, A.; EICHELMANN, H.; OJA, V.; RASULOV, B.; PADU, E.; BICHELE, I.; PETTAI, H.; KULL, O. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. **Plant, Cell & Environment**, v.28, p.375-388, 2005.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos, Rima, 2005.

LARSON, R. A. The antioxidants of higher plants. **Phytochemistry** v.27, p.969-978, 1988.



LAWOR, D. W.; CORNIC, G.; Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, cell & environment**, v. 35, p. 275-294, 2002.

LIMA, A. L. S.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TOTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environ. Exp. Bot.**, v. 47, p.239-247, 2002.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 37, n.3, 2001.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. V.1. 3ªed. Editora Plantarum. Nova Odessa – SP, 2000.

LOVELOCK, C. E.; KURSAR, T. A.; SKILLMAN, J. B.; WINTER, K. Photoinhibition in tropical forest understorey species with short- and long-lived leaves. **Functional Ecology**, v.12, p.553-560, 1998.

MONFERRÁN, M. V.; AGUDO, J. A. S.; PIGNATA, M. L.; WUNDERLIN, D. A. Copper-induced response of physiological parameters and antioxidant enzymes in the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus*. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 3570-3576, 2009.

MÜLLER, P.; LI, X. P.; NIYOGI, K. K.; Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. **Plant Physiology**, v. 135, p. 1558-1566, 2001.

MULLINEAUX, P.; KARPINSKI, S.; Signal transduction in response to excess light: getting out of the chloroplast. **Current Opinion in Plant Biology**. v. 5, p.43-48. 2002.

MURATA, N.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; NISHIYAMA, Y.; The mechanism of photoinhibition in vivo: Re-evaluation of the roles of catalase,  $\alpha$ -tocopherol, non-photochemical quenching, and electron transport. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, p. 1127-1133, 2012.

- ORT, D. R. When there is too much light. **Plant Physiology**, v.135, p.29-32, 2001.
- PINHEIRO, H. A.; DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; FONTES, E. P. B.; LOUREIRO, M. E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Sci.**, 167, 1307-1314. 2004.
- RIDDOCH, I.; GRACE, J.; FASEHUN, F. E.; RIDDOCH, B.; LADIPO, D. O. Photosynthesis and successional status of seedlings in a tropical semideciduous rainforest in Nigeria. **Journal of Ecology**, v.79, p.491-503, 1991.
- RIZHSKY, L.; LIANG, H.; MITTLER, R.; The Water-Water Cycle Is Essential for Chloroplast Protection in the Absence of Stress. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 278, 40, p. 38921–38935, 2003.
- ROMERO, F. J.; BOSCH-MORELL, F.; ROMERO, M. J.; ROMERO, B.; MARIN, N.; ROMA, J. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. **Environ. Health. Perspect.**, v.106, p.1229-1234, 1998.
- SÁEZ, P. L.; BRAVO, L. A.; LATSAGUE, M. I.; TONEATTI, M. J.; SÁNCHEZ-OLATE, M.; RÍOS, D. G.; Light energy management in micropropagate plants of *Castanea sativa*, effects of photoinhibition. **Plant Science**, v.201-202, p. 12-24, 2013.
- SLATER, T. F. Review Article. Free-radical mechanisms in tissue injury. **Biochemical Journal**, v. 1-15 p. 222, 1984.
- SMITH, T.; HUSTON, M.; A theory of the spatial and temporal dynamics of plant communities. **Progress in theoretical vegetation science**, v.11, p. 49-69, 1990.
- SOUZA, G. M.; BALMANT, B. D.; VÍTOLO, H. F.; GOMES, K. B. P.; FLORENTINO, T. M.; CATUCHI, T. A.; VIEIRA, W. de L. Estratégias de utilização de luz e estabilidade do desenvolvimento de plântulas de *Cordia superba* Cham. (Boraginaceae) crescidas em diferentes ambientes luminosos. **Acta Bot. bras.** v.23 n.2 p.474-485. 2009.

STRAUSS-DEBENEDETTI, S.; BAZZAZ, F. A. Photosynthetic characteristics of tropical trees along successional gradients. In: S.S. Mulkey; R.L. Chazdon & A.P. Smith (eds.). **Tropical forest plant ecophysiology**. New York, Chapman & Hall. p. 162-186. 1996.

SZECHYNSKA-HEBDA, M.; KARPINSKI, S.; Light intensity-dependent retrograde signalling in higher plants. **Journal Plant Physiol**, 2013.

## OBJETIVO

Objetivou-se com este estudo caracterizar a eficiência fotossintética e a atividade antioxidante de plantas jovens de *Sterculia striata* St. Hill & Naud em condições contrastantes de irradiâncias no ambiente de crescimento.

## CAPÍTULO I

### EFEITO DE IRRADIÂNCIAS CONTRASTANTES NAS CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS E ESTRESSE FOTO- OXIDATIVO DE PLANTAS JOVENS DE CHICHÁ

## RESUMO

SOARES, C. Vanessa, M. Sc., Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde – GO, Agosto de 2013. **Efeito de irradiâncias contrastantes nas características fotossintéticas e estresse foto-oxidativo de plantas jovens de chichá.** Orientador: Dsc. Alan Carlos Costa. Coorientadora: Dsc<sup>a</sup>. Clarice Aparecida Megguer.

Algumas plantas expostas a alta irradiância recebem uma quantidade de energia maior do que aquelas cujo maquinário fotossintético é capaz de utilizar, sobrecarregando os processos fotossintéticos, reduzindo a utilização quântica e acarretando baixo rendimento assimilatório. Assim, objetivou-se, com este estudo, caracterizar a capacidade fotossintética, a atividade antioxidante e os danos celulares em plantas jovens de chichá em condições contrastantes de irradiância. A caracterização do efeito da irradiância foi feita em quatro condições de crescimento quanto à incidência da radiação fotossintética: 1) 0,84, 2) 5,4, 3) 12,24 e 4) 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Foram avaliados as trocas gasosas, a fluorescência da clorofila *a*, o conteúdo de pigmentos, a atividade das enzimas catalase, dismutase do superóxido, peroxidase do ascorbato, o conteúdo de malonaldeído, a taxa de extravasamento de eletrólitos e o acúmulo de matéria seca. A irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup> promoveu fotoinibição crônica da fotossíntese, evidenciada pela baixa razão  $F_v/F_m$ , menor  $\Delta F/F_m'$  e menor ETR, seguida de maior NPQ. Nesta mesma condição, foram observados decréscimos nos valores da taxa fotossintética, da condutância estomática e da taxa transpiratória, bem como redução no conteúdo de clorofilas *a*, *b*, *total* e no índice de feofitinação. Somado a isso, ocorreu maior razão  $C_i/C_a$  em plantas no ambiente de crescimento de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, o que pode ser indicativo de danos metabólicos ao maquinário fotossintético. Os maiores valores encontrados para a atividade das enzimas antioxidantes e danos celulares foram observados também no ambiente de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. A alta atividade de mecanismos antioxidantes das enzimas catalase, dismutase do superóxido e peroxidase do ascorbato não foi suficiente para proteger as folhas contra danos celulares, visto terem apresentado os maiores valores de malonaldeído e taxa de extravasamento de eletrólitos. Deste

modo, plantas cultivadas em condição de baixa irradiância apresentaram maior eficiência fotossintética, não apresentando fotoinibição e estresse oxidativo.

PALAVRAS-CHAVE: *Sterculia striata* St. Hill & Naud.; fotossíntese; irradiâncias.

## ABSTRACT

SOARES, C. Vanessa, M.Sc., Instituto Federal Goiano (Federal Instituto of Goiás State) –Rio Verde Campus – Goiás State-GO, Brazil, August, 2013. **Effect of contrasting irradiance on photosynthetic characteristics and photooxidative stress in young plants of *Sterculia striata* St. Hil. & Naud (chichá).** Advisor: DScAg Alan Carlos Costa. Co-Advisors: DScAg Clarice Aparecida Megguer.

Some plants exposed to high light intensities receive a greater amount of energy than those ones whose photosynthetic machinery is able to use, saturating the photosynthetic processes, reducing the quantum usage, and resulting in low assimilatory yield. Thus, this study aimed to characterize the photosynthetic capacity, antioxidant activity, and cellular damage in young plants of chichá under contrasting irradiance conditions. The irradiation effect characterization was performed under four growing conditions, regarding the incidence of photosynthetic radiation: (1) 0.84; (2) 5.4; (3) 12.24; and (4) 41.06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Evaluations were performed of gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, pigment content, catalase enzymes activity, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, malondialdehyde content, electrolyte leakage rate, and dry matter accumulation. The irradiance of 41.06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> stimulated chronic photoinhibition of photosynthesis evidenced by the low *Fv/Fm* ratio, lower  $\Delta f/Fm'$ , and lower Electron Transport Rate-ETR followed by higher Non-photochemical Quenching-NPQ. Under the same condition, decreases were observed in the values of photosynthetic rate, stomatal conductance, and transpiration rate as well as reduction in the chlorophyll *a*, *b*, and *total* content and in the pheophytinization index. In addition, higher *Ci/Ca* occurred in plants in the growing environment of 41.06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, which may be indicative of metabolic damage to the photosynthetic machinery. The highest found values for the



antioxidant enzymes activity and cellular damage were also observed in the of 41.06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> environment. The high activity of antioxidant mechanisms of catalase enzymes, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase was not sufficient to protect the leaves against cell damage, since they showed the highest rate of malondialdehyde and electrolyte leakage rate. Thus, plants grown under conditions of low irradiance had higher photosynthetic efficiency, no significant photoinhibition, and no oxidative stress.

**KEYWORDS:** *Sterculia striata* St. Hill & Naud; photosynthesis; irradiances.

## 1. INTRODUÇÃO

O Chichá (*Sterculia striata* St. Hil. & Naud), espécie nativa do Cerrado, pertencente à família Malvaceae, ocorre desde florestas semidecíduas às formações fechadas. Seu rápido crescimento e ocorrência tanto em formações primárias como secundárias demonstram seu potencial para programas de recuperação de áreas degradadas (COSTA et al., 2010; LORENZI, 2000). É uma espécie utilizada como ornamental, na alimentação, tendo suas nozes consumidas cruas ou torradas, na medicina popular, no tratamento de furúnculos (COSTA et al., 2010). Porém, poucas são as informações acerca das respostas fisiológicas desta espécie em diferentes condições contrastantes de irradiâncias.

Em ambiente natural, as plantas estão expostas a condições ambientais adversas, como alterações drásticas de temperatura, umidade, radiação solar, entre outras (SOARES e MACHADO, 2007). Estes fatores ambientais promovem estresses nas plantas, os quais podem ser entendidos como condições que tendem a alterar o seu equilíbrio normal e que reduzem o crescimento e o rendimento da planta (NILSEN e ORCUTT, 1996; CRAMER et al., 2011; FAN et al., 2013). Plantas expostas a estresse tendem a apresentar limitações severas de crescimento e desenvolvimento vegetal, comprometendo sua sobrevivência (SOARES e MACHADO, 2007; CARVALHO et al., 2010).

As plantas, em resposta às contínuas mudanças do ambiente, desenvolveram uma série de mecanismos que promovem um equilíbrio entre a energia da luz absorvida e a energia utilizada no transporte de elétrons da fotossíntese (SÁEZ et al., 2013; WITUSZYNSKA et al., 2013). A sobrevivência das plantas envolve várias respostas de mecanismos de defesa, desde metabólicas a fisionômicas, que tornam potenciais sua aclimação e sobrevivência (LAWLOR, 2009). Os mecanismos de defesa

compreendem rápidas respostas mesmo a pequenas alterações ambientais (CHAVES et al., 2009). As respostas são moduladas também pela intensidade e duração do estresse (PINHEIRO, 2011).

Entre os fatores que promovem estresse nas plantas no domínio Cerrado, está a ocorrência de duas estações bem definidas, uma seca e outra chuvosa, que são fatores determinantes para a sobrevivência das plantas neste ambiente (WALTER, 2006). O período de seca é geralmente acompanhado por alta intensidade luminosa, com pouca ou nenhuma precipitação e baixa umidade relativa do ar (FRANCO, 2004; WALTER, 2006).

Também durante o período de seca, muitas espécies apresentam diminuição na taxa de assimilação de carbono, em até 50%, e ocorrência de fotoinibição, principalmente ao meio dia, período de maior irradiância solar e temperatura, menor umidade relativa do ar e maior déficit de pressão de vapor (PALHARES et al., 2010; SANTOS et al., 2013).

Considerando a vegetação rala que proporciona uma mínima produção de sombra (ARENS, 1963), a radiação solar no domínio do Cerrado é comumente intensa (COUTINHO, 2002). A luminosidade está entre os fatores essenciais para o estabelecimento de plantas (SOUZA et al., 2009) e uma das principais funções da luz nas plantas é servir como fonte de energia para o processo fotossintético (ESSEMINE et al., 2012). Nesse sentido, algumas plantas expostas a altas irradiâncias recebem uma quantidade de energia fotoquímica maior do que o maquinário fotossintético é capaz de utilizar, sobrecarregando, deste modo, os processos fotossintéticos, reduzindo a utilização quântica, acarretando um baixo rendimento assimilatório, ou seja, promovendo a fotoinibição (MURATA et al., 2012; SÁEZ et al., 2013; SANTOS et al., 2013).

Se a energia absorvida pela clorofila for superior à capacidade fotoquímica, o excesso de energia pode ser dissipado por fluorescência da clorofila *a* ou por extinção não fotoquímica (NPQ) via ciclo das xantofilas (WITUSZYNSKA et al., 2013; KIM e APEL, 2013). O NPQ reduz a eficiência das reações fotoquímicas e é um dos principais componentes de fotoproteção (KIM e APEL, 2013). No entanto, em certas condições ambientais, o excesso de energia pode reduzir a eficiência quântica e levar à fotoinibição (ESSEMINE et al., 2012; SÁEZ et al., 2013).

A fotoinibição é um processo fisiológico que caracteriza a redução lenta e reversível ou não da fotossíntese como resultado da exposição à luz solar plena (LONG

et al., 1994; SANTOS et al., 2013). A intensidade da fotoinibição pode ser monitorada pela redução da eficiência quântica do fotossistema II (relação  $F_v/F_m$ ) por meio da emissão da fluorescência da clorofila *a*. Este método fornece o rendimento da fluorescência da clorofila *a* através do nível de excitação da energia no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese, fornecendo subsídios para estimar a inibição ou o dano no processo de transferência de elétrons do fotossistema II (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989; SANTOS et al., 2013).

Além disso, a avaliação da fluorescência da clorofila *a* é uma técnica rápida, não destrutiva e sensível, constituindo importante avanço em estudos fisiológicos e em ecologia de plantas (KRAUSE e WEISS, 1991; THOREN et al., 2010; MARTINAZZO et al., 2013). Em condições extremas de estresse ambiental, os eventos nos tilacoides podem ser afetados interferindo na eficiência da fotossíntese e inativando o fotossistema II e a cadeia de transporte de elétrons que dá origem ao ATP e  $NADPH_2$  (KRAUSE e WEISS, 1991; COSTA et al., 2003; CHRISTEN et al., 2007; MARTINAZZO et al., 2013).

Quando uma planta está com seu maquinário fotossintético em condições normais, a razão  $F_v/F_m$  normalmente varia entre 0,75 e 0,85, dependendo da espécie, enquanto o decréscimo nesta razão reflete a presença fotoinibição nos centros de reação do FSII (BJÖRKMAN e DEMMING, 1987; BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989; SANTOS et al., 2013).

A fotoinibição pode ser dinâmica ou crônica (TAIZ e ZEIGER, 2009). A fotoinibição dinâmica ocorre sob excesso de luz moderado, ocorrendo decréscimo da razão  $F_v/F_m$ , mas com taxa fotossintética normal, assim, ocorre a recuperação, a fotoinibição é considerada temporária, e a eficiência quântica pode retornar ao seu valor inicial mais alto (LARCHER, 2005; ARAÚJO e DEMINICIS, 2009; SERTORIO, 2013).

A fotoinibição crônica é geralmente resultado da absorção de altos níveis de irradiâncias, que danificam o sistema fotossintético e diminuem a razão  $F_v/F_m$  e a taxa fotossintética máxima (LARCHER, 2005; ARAÚJO e DEMINICIS, 2009; SERTORIO, 2013). A fotoinibição crônica está associada ao dano da proteína D1 do centro de reação do FSII, e seus efeitos têm duração relativamente longa, de semanas ou meses (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009).

Sob condição de estresse, em que a energia absorvida excede a capacidade de utilização para assimilar  $CO_2$ , ocorre aumento no suprimento de elétrons que, em

consequência, reagem com o oxigênio molecular e atuam na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (CHANG et al., 2013).

Nas plantas, as EROs podem ser produzidas em diferentes compartimentos celulares, como os cloroplastos, mitocôndrias, membrana plasmática, peroxissomos, parede celular e apoplasto (MITTLER, 2002). As EROs são continuamente produzidas e removidas nas células por mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, no entanto, quando em condição de estresse, pode ocorrer a superprodução destas espécies reativas, resultando num estresse oxidativo (MITTLER, 2002). Estas espécies reativas podem oxidar diversas macromoléculas, tais como pigmentos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, podendo desencadear até a morte celular (MITTLER, 2002; ASADA, 2006; CHANG et al., 2013).

Para neutralizar a toxicidade das EROs, as plantas desenvolveram diversos mecanismos de defesa antioxidantes (ASADA, 1999; CHANG et al., 2013). Assim, a elevação no nível e a atividade dos antioxidantes podem ser consideradas um reflexo no aumento da formação de EROs (ODJEGBA e FASIDI, 2007). Entre os mecanismos antioxidantes utilizados em momento de estresse, estão as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), podendo atuar sozinhas, ou em conjunto, para reduzir os níveis de oxigênio reativo nas células (LARCHER, 2005; XU et al., 2008; LIU e PANG, 2010).

A SOD, enzima associada ao tilacoide, promove a fotorredução do dioxigênio em água, formando peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) no fotossistema I (FSI), e uma das suas funções fisiológicas é proteger as enzimas antioxidantes, as enzimas estromais e o complexo do FSI de danos oxidativos causados por este ânion (ASADA, 1999; SINHA et al., 2005; CHANG et al., 2013).

O  $H_2O_2$  resultante da reação com a SOD pode ser degradado pela CAT, principalmente nos peroxissomos, e pela APX, ligada à membrana do tilacoide (SCANDALIOS, 1990; AZEVEDO et al., 1998). A reação do  $H_2O_2$  com a APX produz radicais monodesidroascorbatos produzidos pela APX, os quais são convertidos a ascorbato via ferredoxina, ou pela enzima monodesidroascorbato redutase (FOYER et al., 1994).

Caso o sistema antioxidante não seja eficiente, as EROs tornam-se altamente reativas e citotóxicas para todos os organismos vivos, uma vez que elas podem reagir com ácidos graxos insaturados das membranas e promover peroxidação lipídica (CHANG et al., 2013). O Malonaldeído (MDA) é um dos principais aldeídos formados

pela oxidação de ácidos graxos poli-insaturados, sendo um dos produtos secundários da peroxidação de lipídios mais conhecidos, além disso, apresenta ação citotóxica e genotóxica (GROTTO, et al., 2008).

O acúmulo de MDA é um indicativo da ocorrência de danos na membrana por estresse oxidativo. O principal método de detecção do MDA é a reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA), que forma um complexo cromógeno (TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) que pode ser facilmente quantificado por métodos espectrofotométricos (FANG e LIN, 2008; LINDEN et al., 2008).

De acordo com as respostas apresentadas pelas plantas em condições de diferentes irradiâncias, elas são classificadas em plantas de sol e plantas de sombra (BJÖRKMAN, 1981). Espécies exigentes à luz, chamadas de pioneiras, e outras exigentes ao sombreamento, chamadas de secundárias, têm respostas diferentes às alterações no ambiente luminoso (OGUCHI et al., 2005).

Segundo Laisk et al. (2005), plantas adaptadas à baixa luminosidade apresentam taxas fotossintéticas limitadas em condição de alta irradiâncias como resultado da incapacidade de aumentar a atividade da rubisco, enquanto em plantas adaptadas ao sol ocorre o contrário. Plantas de sombra investem mais em complexos coletores de luz e plantas desenvolvidas ao sol investem em proteínas do ciclo de Calvin e do transporte de elétrons (LAISK et al., 2005). Estas variações nos mecanismos promovem diferenças nas taxas fotossintéticas, na velocidade máxima de carboxilação da rubisco, assim como sua taxa máxima de regeneração dependente do transporte de elétrons, e as taxas de difusão de CO<sub>2</sub> para os cloroplastos (BJÖRKMAN, 1981; DANIELS et al., 2013).

Objetivou-se com este estudo caracterizar a eficiência fotossintética e a atividade antioxidante de plantas jovens de *Sterculia striata* St. Hill & Naud em condições contrastantes de irradiâncias no ambiente de crescimento.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio

Verde. O estudo teve como fonte de variação a irradiância no ambiente de crescimento em plantas jovens de Chichá (*Sterculia striata* St. Hil. & Naud).

## 2.1. Material vegetal

### 2.1.1. Obtenção das mudas e plantio

Para obtenção das mudas de *Sterculia striata*, foram coletadas sementes de indivíduos presentes em um fragmento de cerrado, no Parque Ecológico da Cachoeirinha, situado no município de Iporá - GO (16°26'36" – sul, 51°08'06" – oeste). As sementes foram extraídas, secas em local ventilado e sombreado e armazenadas em saco de papel no Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal – Instituto Federal Goiano - Câmpus Rio Verde. Posteriormente, elas foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2% por 3 minutos e lavadas com água. Em seguida, foram submetidas à escarificação mecânica no lado oposto à micrópila, com lixa n° 40, por 1 minuto, para a quebra de dormência. Foi feito um teste de germinação em papel gerbox e germinador a 30 °C por 30 dias, segundo a metodologia descrita por Brasil (2009). Após a germinação, as plântulas foram transferidas para vasos de polietileno, com capacidade para dez litros, contendo oito quilos de substrato obtido pela mistura de uma parte de areia e duas partes de solo. As características físico-químicas do substrato foram determinadas pela análise do conteúdo de macronutrientes, pH e percentual de argila e areia. Os vasos foram então mantidos em ambiente com sombreamento natural por 60 dias até a formação de um par de folhas completamente expandidas. Após este período, as plantas foram alocadas nas condições experimentais descritas adiante.

## 2.2. Condições experimentais

### 2.2.1. Coleta de dados climáticos

Foram obtidos dados climáticos da área de estudo, compreendendo a temperatura máxima (°C) e mínima (°C), umidade relativa (UR%) e precipitação (mm). Os dados climáticos da região foram coletados durante os meses de maio a julho de

2012,24 e são originados da estação meteorológica da Universidade de Rio Verde (UniRV).

### 2.2.2. Ambientes de crescimento

O estudo foi realizado tendo como fontes de variação a irradiância do ambiente de crescimento de plantas jovens de *Sterculia striata*. Este fator foi escolhido na tentativa de reproduzir as condições naturais de luminosidade encontradas no ambiente de cerrado. Neste sentido, na área experimental do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, foram instaladas três estruturas nas dimensões de 2,10 m de comprimento, 1,60 m de largura e 2,10 m de altura. Cada uma das estruturas foi coberta com diferentes camadas de sombrite na parte superior e nas laterais, objetivando a obtenção de diferentes níveis de irradiâncias. Um quarto ambiente foi estabelecido ao ar livre, sem nenhuma cobertura ou estrutura que amenizasse a irradiâncias natural.

A irradiância (RFA), em cada ambiente, foi registrada diariamente, durante o desenvolvimento do experimento, às 8:00 h, 12:00 h e 16:00 h, por meio de um sensor de radiação modelo Decagon Devices, Pullman – USA, em todos os ambientes. Para cada dia, foi calculado o total diário de RFA ( $\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ).

Assim, foram obtidos quatro ambientes com diferentes níveis de irradiâncias: A)  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; B)  $5,4 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; C)  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  e D)  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (Figura 1). Estes valores de irradiâncias foram utilizados na relação com as características morfofisiológicas avaliadas durante o período experimental.

Após a montagem das estruturas, sete vasos contendo plantas homogêneas quanto à altura foram transferidos para cada um dos ambientes com diferentes níveis de irradiâncias para a condução do experimento. As plantas permaneceram nestas condições por um período de 75 dias, no período de 10 de maio a 23 de julho de 2012, mantendo a irrigação do solo nos vasos em capacidade de campo.





**Figura 1.** Ambientes de crescimento de plantas jovens de *Sterculia striata*, submetidas a diferentes irradiâncias (A)  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; B)  $5,4 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; C)  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; D)  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ).

Foram feitas três avaliações fisiológicas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, aos 4, 34 e 74 dias de imposição dos tratamentos, sempre em dias ensolarados. Ao final dos 74 dias, foram feitas, nos tratamentos, três medidas das características da fluorescência da clorofila *a*, objetivando avaliar a ocorrência e a dinâmica da fotoinibição das plantas. A primeira medida foi feita às 8h00min, a segunda, ao meio-dia (12h00min), e a terceira, no dia seguinte, às 8h00min. As medidas foram feitas em plantas com três meses de idade que apresentassem ao menos um par de folhas. As avaliações foram feitas sempre na mesma folha em cada planta, sendo escolhida uma folha totalmente expandida, com diagnóstico fitossanitário. A metodologia para as avaliações das trocas gasosas e da fluorescência da clorofila *a* será detalhada posteriormente.

Para a avaliação da atividade de enzimas antioxidantes e da peroxidação de lipídios nas plantas dispostas nos ambientes descritos, foi feita coleta de amostras de folhas completamente expandidas localizada no terço superior das plantas, evitando as nervuras, aos 75 dias do período experimental.

Com base nas amostras foliares, foram então avaliadas a atividade de catalase (EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (EC 1.11.1.11) e superóxido dismutase (EC 1.15.1.1) e também da peroxidação de lipídios mediante o conteúdo de malonaldeído (MDA) e da estabilidade de membranas por meio da taxa de extravasamento de eletrólitos.

## 2.3. Detalhamento dos procedimentos para avaliação das plantas

### 2.3.1. Avaliação das trocas gasosas

As trocas gasosas das plantas jovens de *Sterculia striata* foram avaliadas para registro da taxa fotossintética ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), transpiratória ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), da condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e da relação entre a concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ). Estas avaliações foram feitas utilizando um medidor portátil de fotossíntese, modelo LCI Light Systems (ADC, BioScientific, Herts, England), acoplado a uma fonte de luz LCI (ADC, Bioscientific, Herts, England) (Figura 2). A fonte de luz consiste de um suporte com ventilação contendo uma lâmpada halógena dicróica de 20W, incidindo uma densidade de fluxo de fótons igual a  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Em todas as avaliações, foi utilizada uma folha completamente expandida.



**Figura 2.** Medidor portátil de fotossíntese, modelo LCI Light Systems (ADC, BioScientific, Herts, England), acoplado a uma fonte de luz LCI (ADC, Bioscientific, Herts, England).

### 2.3.2. Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada na mesma folha, paralelamente às medições de trocas gasosas, utilizando um fluorômetro portátil modulado, Figura 3, modelo MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), equipado com uma pinça especial para suporte da folha modelo 2030-B. As análises foram feitas segundo a metodologia proposta por Bilger et al., (1995) e Rascher et al., (2000). Inicialmente, as folhas foram adaptadas ao escuro por 30 minutos, após este período, os tecidos foliares foram expostos a uma luz vermelha modulada ( $0,03 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e foi determinada a fluorescência inicial ( $F_0$ ). Seguiu-se a aplicação de um pulso de 0,8s de luz actínica saturante ( $>6000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e foi determinada a fluorescência máxima ( $F_m$ ). Com estes dados, pôde-se estimar o rendimento quântico potencial do fotossistema II, utilizando a equação  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ .

O rendimento quântico efetivo do fotossistema II (GENTY et al., 1989) foi determinado por meio da sobreposição de um pulso de saturação em folhas previamente adaptadas à luz ambiente, sendo calculado como  $\Delta F/F_m' = (F_m' - F)/F_m'$ , em que  $F$  é o rendimento da fluorescência máxima durante o pulso de saturação. O  $\Delta F/F_m'$  foi utilizado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), de acordo com Bilger et al. (1995), mediante o uso da equação  $\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times \text{DFF} \times 0,5 \times 0,84$ , em que DFF é a densidade de fluxo de fótons ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) incidente sobre a folha; 0,5 é o valor correspondente à fração da energia de excitação distribuída para o FSII (LAISK e LORETO, 1996); e 0,84 é o valor correspondente à fração de luz incidente absorvida pelas folhas (EHLEINGER, 1981). O coeficiente de extinção não fotoquímica de Stern-Volmer foi calculado como  $\text{NPQ} = (F_m - F_m')/F_m'$  (BILGER e BJORKMAN, 1990).



**Figura 3.** Fluorômetro portátil modulado, modelo MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), equipado com uma pinça especial para suporte da folha modelo 2030-B.

### 2.3.3. Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos

A concentração de pigmentos cloroplastídicos foi determinada pela extração com dimetilsulfóxido (DMSO), mediante ajustes da metodologia descrita por Kuki et al. (2005). Foram coletados, de cada repetição, três discos foliares, utilizando um furador de metal de 5 mm de diâmetro, evitando-se a nervura central. Os discos foram incubados em frascos de vidro protegidos da luz por papel alumínio, contendo 5 mL de DMSO saturado com  $\text{CaCO}_3$ , por um período de 48 horas. As amostras foram levadas ao banho-maria à temperatura de 65 °C por 24 horas. Em seguida, foram feitas as leituras em espectrofotômetro UV-VIS, modelo Evolution 60S (Thermo Fisher Scientific, Madison – USA). Os comprimentos de onda, as equações e os cálculos para a determinação do conteúdo de clorofilas *a* (480 nm), *b* (649 nm) e carotenoides (665 nm) foram feitos conforme metodologia de Wellburn, (1994). A degradação da clorofila também foi avaliada por espectrofotometria, adotando o índice de feofitinação (IF =  $A_{435}/A_{415}$ ), segundo Ronen e Galun (1984).

### 2.3.4. Atividade Enzimática

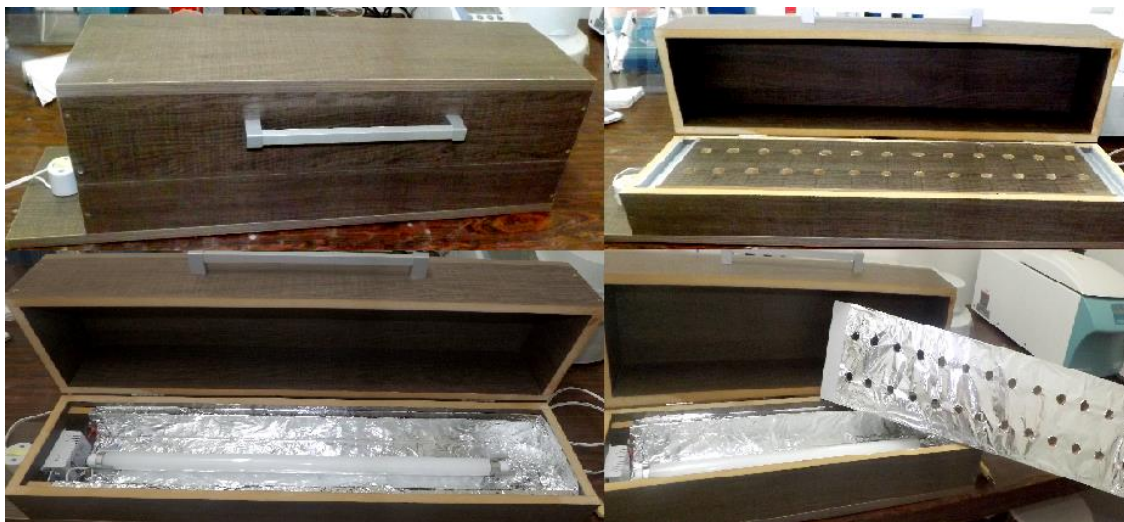
Em amostras foliares coletadas aos 75 dias após o início do experimento, foram determinadas as atividades das enzimas do metabolismo antioxidativo: superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1, Giannopolitis e Ries 1977), catalase (CAT; EC 1.11.1.6; Havir et al. 1987) e ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11; Nakano e Asada 1981). O material vegetal foi coletado, medido o peso fresco e mantido em nitrogênio líquido até o momento das avaliações.

O processamento das amostras foliares congeladas em nitrogênio líquido foi feito utilizando almofariz pré-resfriado, com PVPP 200% e 4 mL do meio de extração específico para cada enzima, como se segue: SOD [tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM,  $\beta$ -mercaptoetanol 10 mM e triton X-100 0,1%]; CAT [tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), EDTA 2 mM, ascorbato 20 mM, triton X-100 0,1%]; APX [tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), EDTA 2 mM, ascorbato 20

mM, triton X-100 0,1%]. O homogenato resultante foi centrifugado a 410 g, por 15 minutos a 4°C.

### 2.3.5. Superóxido dismutase (SOD)

A atividade total da SOD foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico descrito por Giannopolitis e Ries (1977), em que a atividade da SOD é dada pela capacidade da enzima em inibir a redução fotoquímica do azul de nitrotetrazólio (NBT) sob luz. Para os ensaios de atividade, uma alíquota do extrato enzimático (40 µL) foi aplicada a 3 mL (volume final) de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 52,5 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM, metionina (pH 7,8) 13 mM, riboflavina 2 µM e triton X-100 0,1%. O ensaio da atividade foi iniciado pela exposição dos tubos contendo as referidas amostras e meio de reação em uma câmara contendo luz fluorescente (Figura 4), por 10 minutos. A reação foi paralisada, desligando-se a luz. A produção fotoquímica de azul de formazana foi então determinada em espectrofotômetro UV-VIS, modelo Evolution 60S (Thermo Fisher Scientific, Madison – USA) a 560 nm. Uma amostra do meio de reação com adição do extrato enzimático mantida no escuro e outra amostra sem adição do extrato mantida no claro foram utilizadas como branco. A leitura entre as amostras foi zerada com água deionizada. A atividade da SOD foi expressa em unidades:  $U \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína. Cada U corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir a redução do NBT em 50%.



**Figura 4.** Câmara com luz fluorescente para avaliação da atividade de SOD.

#### 2.3.6. Catalase (CAT)

A atividade total da CAT foi determinada pelo consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , de acordo com Havir e McHale, (1989), mediante adaptações. Para a produção do extrato, foram coletados 300 mg de material vegetal. As leituras das amostras foram feitas em espectrofotômetro UV-VIS, modelo Evolution 60S (Thermo Fisher Scientific, Madison – USA), após a adição de 10  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático a 990  $\mu\text{L}$  de meio de reação contendo tampão de fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  12,5 mM. A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, durante 2 minutos lineares, a 30°C. Para os cálculos da atividade, utilizou-se o coeficiente de extinção molar de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (39,4  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ), considerando-se que, nas condições de ensaio, 1 U de CAT correspondeu à quantidade de enzima capaz de oxidar 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por minuto.

#### 2.3.7. Ascorbato Peroxidase (APX)

A atividade total da APX foi determinada de acordo com Nakano e Asada (1981), com algumas modificações. Para a produção do extrato, foram coletados 300 mg de material vegetal. O ensaio enzimático foi feito em espectrofotômetro UV-VIS, modelo Evolution 60S (Thermo Fisher Scientific, Madison – USA), após a adição de 10  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático a 985  $\mu\text{L}$  de meio de reação contendo tampão fosfato de

potássio 50 mM (pH 7,0), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,1 mM e ascorbato 0,5 mM. A atividade da enzima foi determinada pelo decréscimo da absorbância a 290 nm durante 2 minutos lineares, a 0,84 °C. Para os cálculos da atividade da APX, utilizou-se do coeficiente de extinção molar do ascorbato (2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), considerando que 1 U de APX correspondeu à quantidade da enzima capaz de oxidar 1 μmol de ascorbato por minuto.

#### 2.3.8. Determinação de proteínas

Os teores de proteínas totais dos extratos enzimáticos foram determinados pelo método de Bradford (1976), utilizando o BSA como padrão.

#### 2.3.9. Conteúdo de Malonaldeído (MDA)

O conteúdo de MDA foi avaliado para determinar a peroxidação de lipídios, utilizando o método proposto por Heath e Packer (1968). Foram macerados 160 mg ± 0,5 de folhas frescas em almofariz congelado com solução de extração de 1 mL de TCA 1%. O extrato foi centrifugado a 12000 g, durante 15 minutos, a 4 °C e, posteriormente, 500 μL do sobrenadante foram adicionados a 2,0 mL da solução TBA 0,5% + TCA 20% (p/v) e aquecidos em banho-maria, a 90 °C, em tubos hermeticamente fechados, por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por um minuto, posteriormente, foi centrifugada a 3000g por quatro minutos, e as leituras, feitas em espectrofotômetro UV-VIS, modelo Evolution 60S (Thermo Fisher Scientific, Madison – USA), a 532 e 600 nm. A concentração do complexo malonaldeído-ácido tiobarbitúrico (MDA-TBA) produzido foi calculada, utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (HEATH e PACKER, 1968), através da fórmula: MDA (nmol ml<sup>-1</sup>) = [(A532-A600)/ 155000] 10<sup>6</sup>. Os dados de TBARS foram expressos em nmol TBA-MDA g<sup>-1</sup> MF.

#### 2.3.10. Taxa de liberação de eletrólitos

A avaliação da tolerância protoplasmática dos tecidos foliares foi feita mediante a taxa de liberação de eletrólitos, segundo adaptação da metodologia descrita

por Vasquez-Tello et al. (1990) e Pimentel et al. (2002). Foram coletados 15 discos foliares, de cinco mm de diâmetro, de cada repetição. Os discos foram lavados previamente com água e então, submersos em 30 mL de água deionizada, em frascos âmbar, por um período de 24 horas, à temperatura ambiente. Após este período, foi mensurada a condutividade livre (CL,  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), utilizando um condutímetro portátil CD-850. Posteriormente, estes mesmos frascos foram colocados em estufa por uma hora, sob temperatura de 100 °C, e, após o resfriamento em temperatura ambiente, foi medida a condutividade total (CT,  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Para evitar erro nos resultados, o sensor foi lavado entre cada leitura com água deionizada. A taxa de liberação de eletrólitos foi obtida, utilizando a fórmula  $\text{TLE}(\%) = \text{CL}/\text{CT} \times 100$ .

### 2.3.11. Análise morfológica e biométrica

O crescimento e o acúmulo de matéria seca foram avaliados no encerramento do experimento. Foram obtidos o número de folhas, a área foliar, o diâmetro do caule, o número de entrenós, a altura da planta, o volume do sistema radicular, a massa seca de raízes e a massa seca do caule. As raízes foram lavadas em água corrente, sob uma peneira, até a completa remoção dos resíduos de solo. Então, o volume do sistema radicular foi medido pelo deslocamento da coluna d'água em uma proveta graduada. Em seguida, o material foi colocado em estufa de circulação de ar, a 65°C, até atingir peso constante para a obtenção da massa da matéria seca, expressa em  $\text{g planta}^{-1}$ . A área foliar foi determinada pela obtenção da imagem digital da folha, integração e cálculo da área foliar, utilizando um software. A massa seca foi obtida após a secagem em estufa de ventilação forçada à temperatura de 65°C, por aproximadamente 72 horas.

### 2.3.12. Delineamento experimental

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro condições diferentes de irradiâncias no ambiente de crescimento e três épocas de avaliação. Foram utilizadas sete repetições para cada tratamento. Para a avaliação da atividade enzimática e da peroxidação lipídica, cada repetição foi feita em triplicata.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), por meio do Sistema de Análises



Estatísticas Gerais (SAEG), versão 9.0. Para a confecção dos gráficos, foi utilizado o software SigmaPlot V.10 (SPSS Inc., USA).

### 3. RESULTADOS

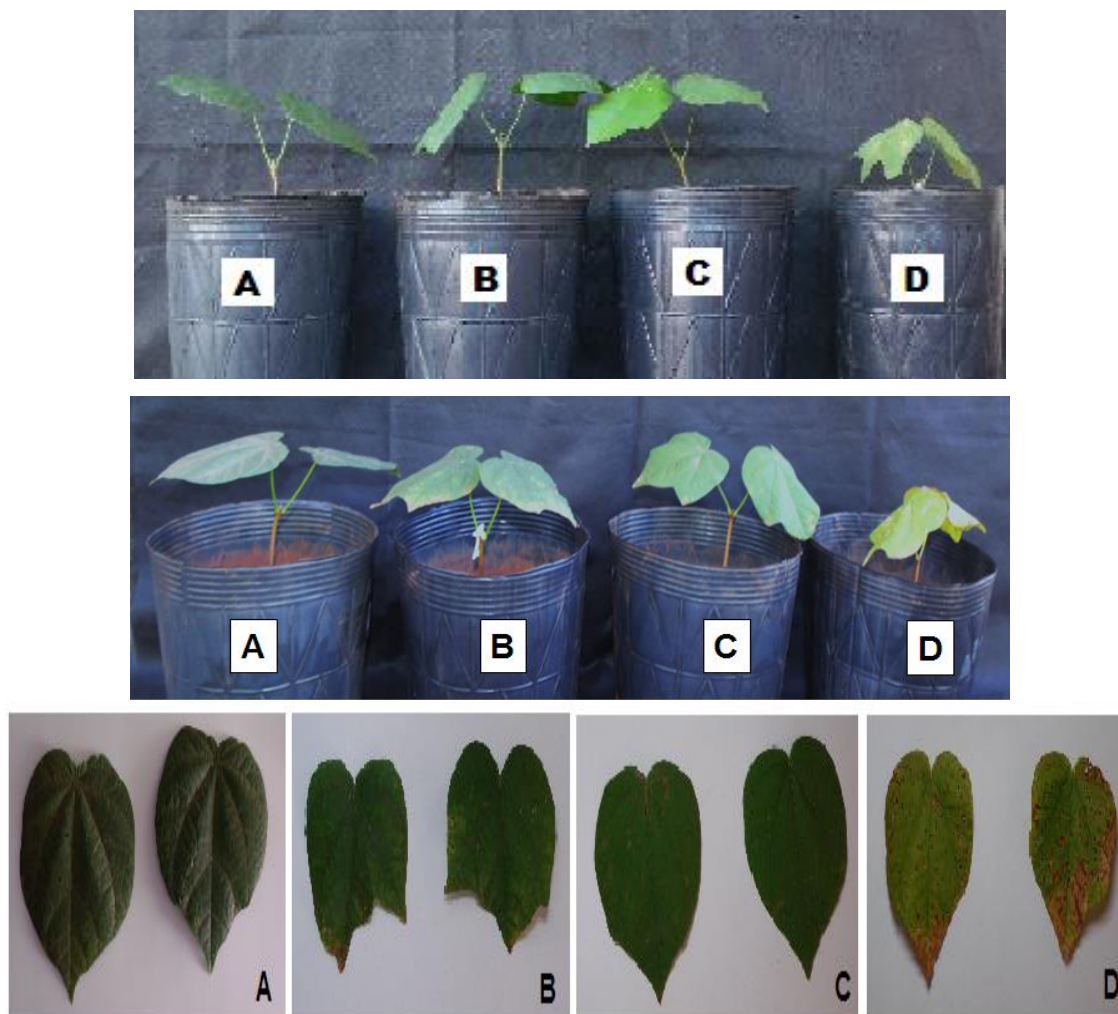
#### 3.1 Dados climáticos

Os menores índices de precipitação ocorreram nos meses de junho e julho, época caracterizada pela estação seca no Cerrado. As precipitações foram, respectivamente, de 81,5 mm e 18,7 mm para os meses de junho e julho, e de 1,4 mm para o mês de maio. A umidade relativa do ar (UR%) no período experimental variou entre 74%, no início do experimento, a 47% ao final do experimento. Os menores valores de UR% foram verificados no final do período experimental.

A temperatura máxima variou entre 27 e 30 °C e a temperatura mínima entre 13 e 15 °C durante o período experimental. Os maiores valores de temperatura foram observados ao final do período experimental. O déficit de pressão de vapor variou de 0,19 KPa a 1,91 Kpa, sendo observados os maiores valores de DPV ao final do período experimental.

#### 3.2. Características visuais das plantas

Os diferentes níveis de irradiância afetaram o crescimento das plantas jovens de *Sterculia striata* de forma mais proeminente no ambiente de crescimento a 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, em que ocorreu o menor crescimento (Figura 5). Também foi possível observar um leve amarelecimento foliar e inclinação do ângulo foliar em relação ao incremento de irradiâncias.



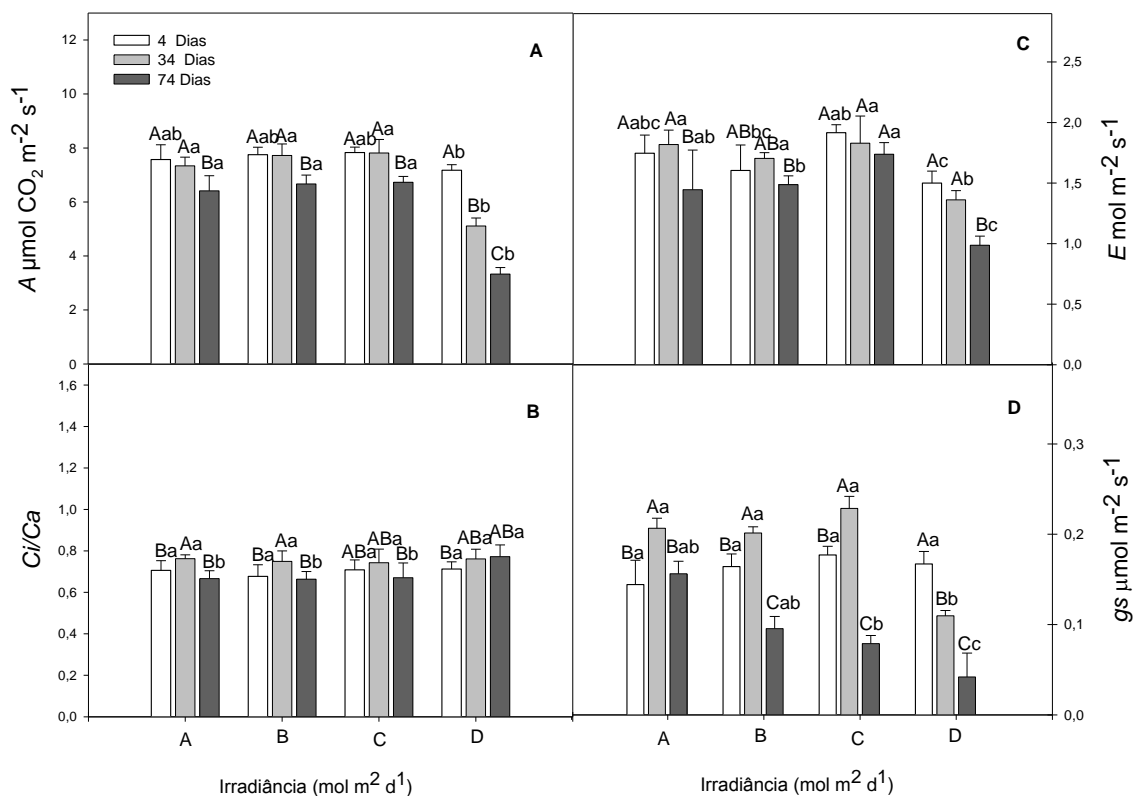
**Figura 5.** Plantas de *Sterculia striata* submetidas a condições crescentes de irradiâncias no ambiente de crescimento aos 74 dias de exposição aos tratamentos. A)  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; B)  $5,4 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; C)  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; D)  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ .

### 3.3. Trocas Gasosas

Os resultados de trocas gasosas demonstraram interação significativa entre as irradiâncias de crescimento e o período de exposição para  $A$ ,  $E$ ,  $g_s$  e  $C_i/C_a$  (Figura 6). As menores  $A$  e  $E$  ocorreram na maior irradiância, ou seja  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , a partir dos 34 dias de tratamento. Os valores de  $A$  não diferiram durante o período de experimento para as irradiâncias de  $0,84$ ,  $5,4$  e  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Os valores de  $E$  apresentaram declínio em relação ao tempo de exposição de todas as irradiâncias de crescimento, sendo mais proeminente na condição de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ .

Os maiores valores de  $Ci/Ca$  ocorreram na irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, e as plantas submetidas às demais irradiâncias obtiveram valores mais baixos de  $Ci/Ca$  e não diferiram entre si (Figura 6B).

Observou-se decréscimo nos valores encontrados para  $gs$  na irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, de forma proeminente a partir os 34 dias do período experimental (Figura 6D).



**Figura 6.** A) Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$  - μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), B) Relação  $Ci/Ca$  e C) Taxa transpiratória ( $E$  - mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), D) Condutância estomática ( $gs$  - μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) em plantas jovens de *Sterculia striata* em função da Irradiâncias de exposição. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre o período de exposição e minúscula entre as irradiâncias, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3.4. Fluorescência da clorofila *a* e fotoinibição

Os dados obtidos nas avaliações da fluorescência da clorofila *a* mostram que ocorreram alterações em função da interação entre as irradiâncias de crescimento e os dias de tratamento nos diferentes ambientes de crescimento (Tabela 1, Figura 7).

O rendimento quântico máximo do fotossistema II, avaliado pela razão Fv/Fm, não diferiu para as irradiâncias de 0,84, 5,4 e 12,24 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> ao longo dos período de exposição aos tratamentos. Contudo, na irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, ocorreram reduções significativas da razão Fv/Fm, com valores médios da razão Fv/Fm de 0,67 e 0,55 aos 34 e 74 dias, respectivamente, de exposição à irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (Figura 7A). Para a variável Fo, foi observada redução significativa apenas para as plantas crescidas sob irradiâncias de 0,84 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> aos 74 dias de exposição ao tratamento (Figura 8A). Quanto a Fm, ocorreu diminuição dos valores observados para a variável nas plantas crescidas sob irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (Figura 8B).

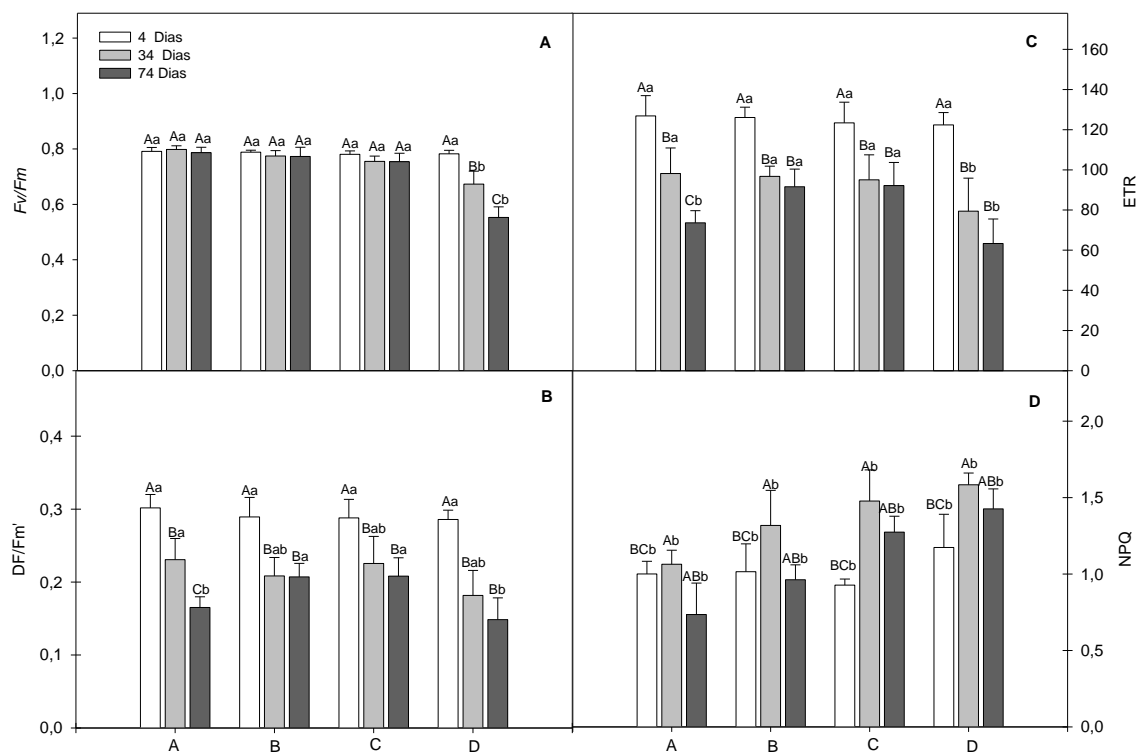
A avaliação adicional do rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm) feita no final do período experimental às 08h00min da manhã, ao meio dia (12h00min) e repetida às 08h00min da manhã seguinte indicou ocorrência de fotoinibição na irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Os valores de Fv/Fm para plantas crescidas na irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> não mostraram recuperação. Os valores de Fv/Fm ficaram em torno de 0,54 nos três períodos de avaliação nas plantas crescidas no ambiente de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (Tabela 1).

**Tabela 1.** Razão Fv/Fm de plantas jovens de *Sterculia striata* submetidas a diferentes níveis de irradiância, no ambiente de crescimento, avaliadas aos 74 dias, período de exposição às 8h00min, às 12,24h00min e no dia seguinte às 8h00min. Os dados são médias ( $n = 7$ ).

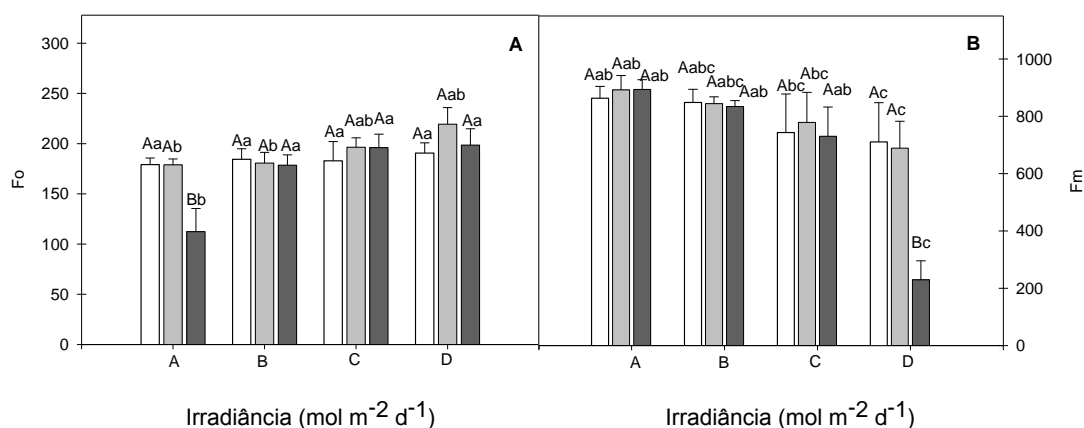
Irradiâncias (mol m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	Fv/Fm		
	Horário de medição		
	8h00min	12,24h00min	8h00min
A	0,80 Aab	0,80 Aa	0,81 Aa
B	0,76 Aab	0,73 Ab	0,77 Aa
C	0,73 Ab	0,70 Bb	0,75 Aa
D	0,51 Bc	0,55 Bc	0,55 Bb

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre os horários de medição e de letras minúsculas entre as irradiâncias em cada horário não diferem pelo teste F a 5% de probabilidade.

O rendimento quântico efetivo do fotossistema II ( $\Delta F/F_m'$ ) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) foram significativamente maiores para plantas crescidas nas irradiâncias de 5,4 e 12,24 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, aos 74 dias, sob exposição. Aos 74 dias, houve decréscimo para plantas crescidas sob extremo de irradiâncias (0,84 e 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>). Os dados referentes às variáveis  $\Delta F/F_m'$  e ETR podem ser visualizados nas Figuras 9B e 9C, respectivamente.



**Figura 7.** A) Rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm), B) Rendimento quântico efetivo do fotossistema II ( $\Delta F/F_m'$ ), C) Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) e D) Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre o período de exposição e minúscula entre as irradiâncias, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



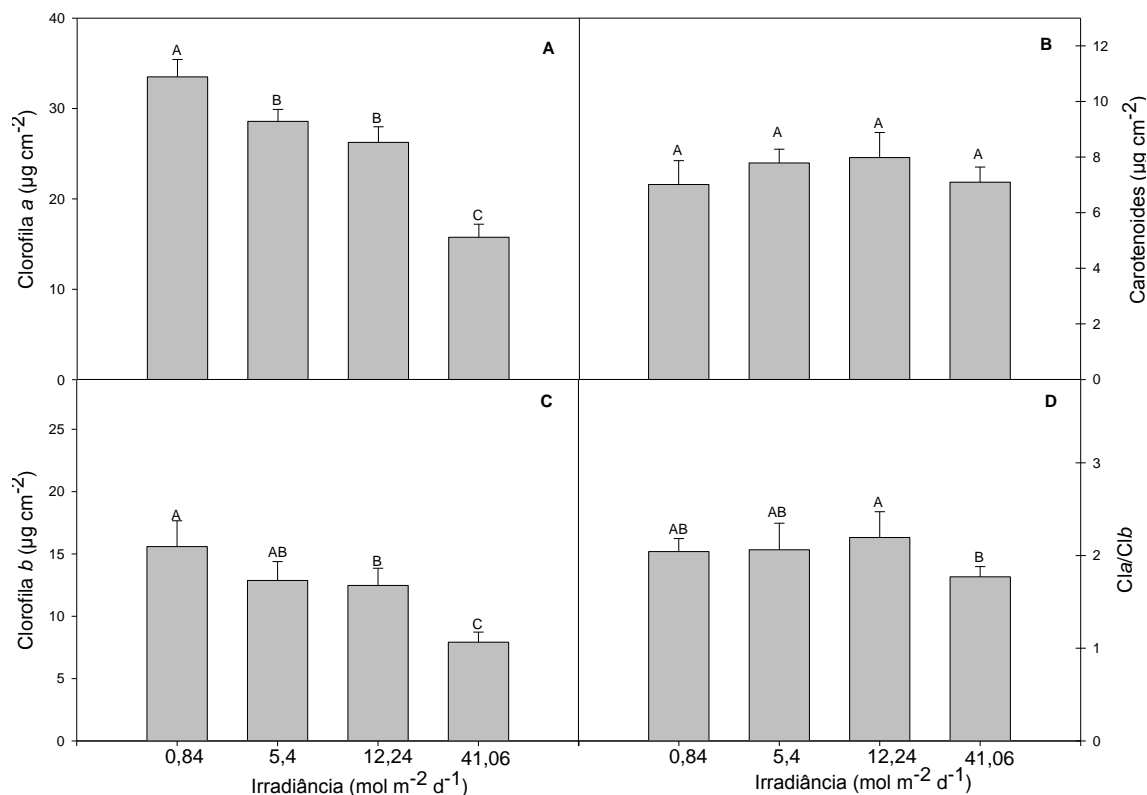
**Figura 8.** A) Fluorescência basal após adaptação no escuro e B) Fluorescência máxima após adaptação no escuro em plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre o período de exposição e minúscula entre as irradiâncias, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Não houve interação entre as irradiâncias de crescimento e o período de tratamento para o coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ). O NPQ foi significativamente maior para plantas crescidas em ambiente de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> em relação às demais irradiâncias. As irradiâncias de 0,84 e 5,4 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> não diferiram para a variável de NPQ (Figura 7D).

### 3.5. Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos

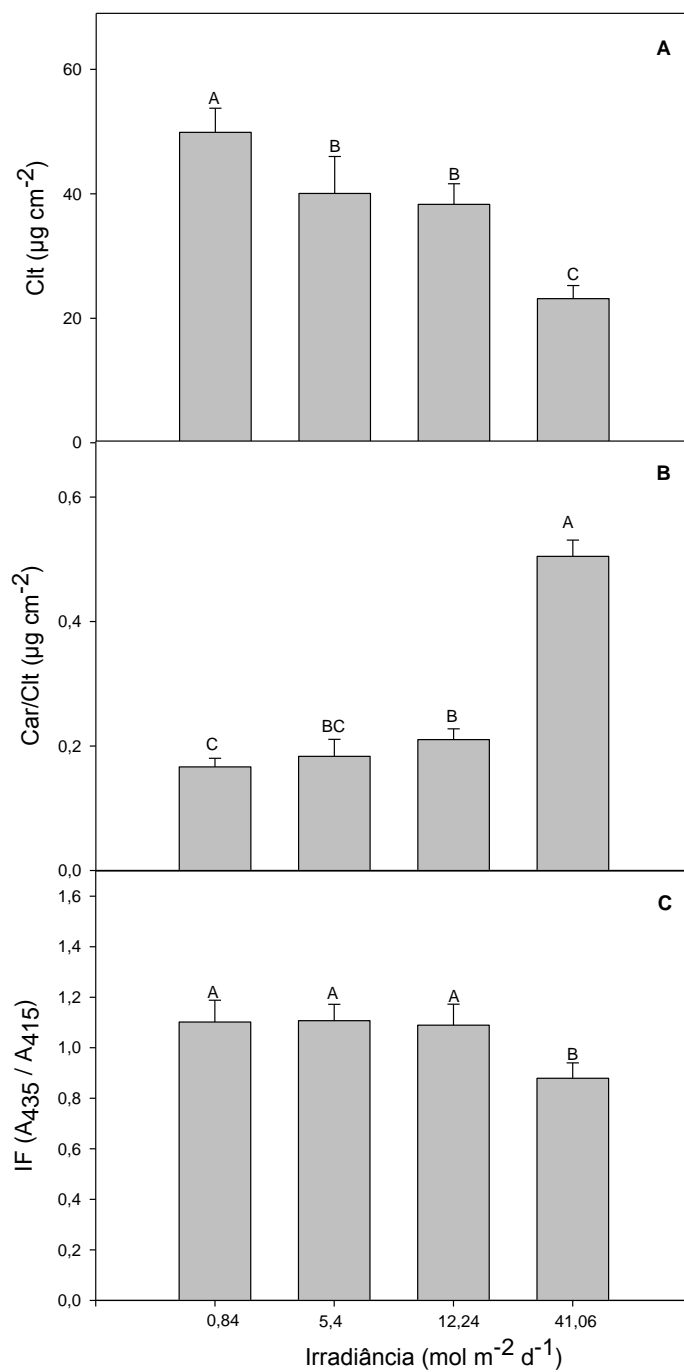
Os resultados do conteúdo de pigmentos cloroplastídicos de plantas jovens de *Sterculia striata* revelaram que as condições de irradiâncias tiveram efeito significativo sobre o conteúdo de clorofilas, clorofila total, razão carotenoides/clorofila e índice de feofitinação, mas não alteraram o conteúdo de carotenoides, razão clorofila *a/b* (Figura 9).

O conteúdo de clorofila a, clorofila b, clorofila total e o índice de feofitinação se reduziram significativamente com o aumento da irradiância. Decréscimos mais pronunciados foram observados em 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. O conteúdo de carotenoides não diferiu entre as diferentes irradiâncias de crescimento (Figura 9 C).



**Figura 9.** A) Conteúdo de clorofila *a*, B) Clorofila *b*, C) Carotenoides e D) Razão Clorofila *a/b* em função da irradiâncias de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ).

O conteúdo de clorofila total foi consideravelmente maior na irradiância de 0,84 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, enquanto a irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> apresentou os menores valores (Figura 10). Em contrapartida, a razão carotenoides/clorofilas foi significativamente maior na irradiância de 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (Figura 10B). O índice de feofitinação diferiu somente nas plantas a 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, apresentando os menores valores para esta avaliação, indicando degradação de pigmentos nesta irradiâncias (Figura 10C).

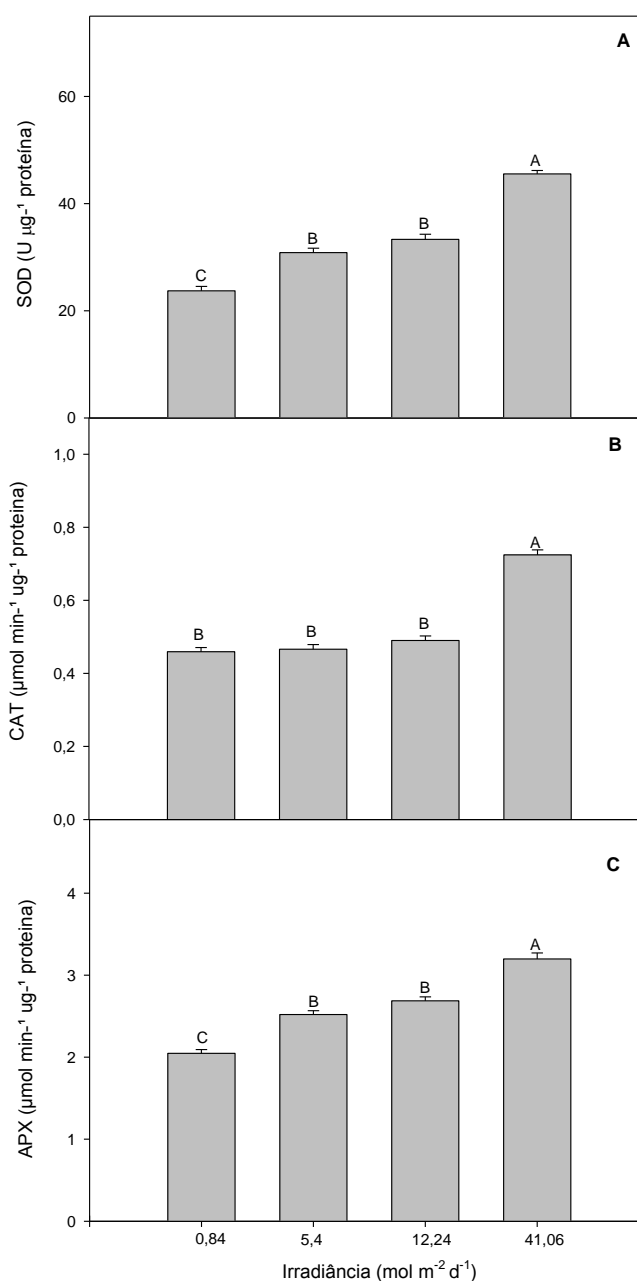


**Figura 10.** A) Conteúdo de clorofila total (Clt), B) Razão carotenoides/clorofilas (Car/Clt) e C) Índice de feofitinação (IF) de plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ).



3.6. Atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX).

Plantas jovens de chichá dispostas em ambiente de crescimento com  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  apresentaram maior atividade das enzimas SOD, CAT e APX. As plantas do ambiente de  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  apresentaram a menor atividade enzimática de SOD e APX. Não foi observada diferença significativa para CAT em plantas em condições de irradiância igual ou menor que  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . A Figura 11 mostra os dados referentes à atividade das enzimas SOD, CAT e APX.



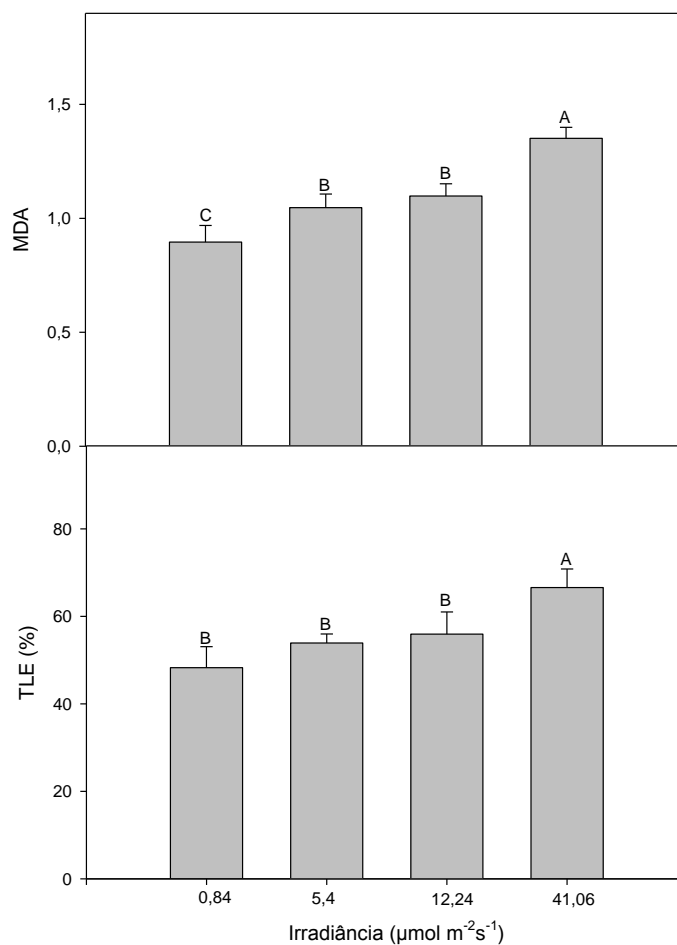
**Figura 11.** A) Atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD), B) catalase (CAT) e C) ascorbato peroxidase (APX) em folhas de *Sterculia striata* submetidas a irradiâncias contrastantes no ambiente de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 6$ ).

### 3.7. Danos celulares

Os resultados mostraram que o aumento da irradiância promoveu aumento de danos a membranas celulares, tendo esses danos sido avaliados por meio do conteúdo de Malonaldeído (MDA) e da estabilidade de membranas (TLE) de plantas de *Sterculia striata*.

O conteúdo de MDA foi significativamente maior em plantas crescidas em ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (Figura 12 A). Os menores valores observados de MDA ocorreram nas plantas do ambiente de  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , com média em torno de  $0,89 \text{ nmol ml}^{-1}$ , e as maiores, em torno de  $1,35 \text{ nmol ml}^{-1}$ .

Quanto à TLE, os maiores valores significativos foram observados no ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , não tendo sido observada diferença significativa entre as demais irradiâncias de crescimento. A Figura 12B mostra os dados referentes à estabilidade das membranas.



**Figura 12.** A) Conteúdo de Malonaldeído (MDA) e B) Taxa de extravasamento de eletrólitos (TLE) em folhas de *Sterculia striata* submetidas a irradiâncias contrastantes no ambiente de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 6$ ).

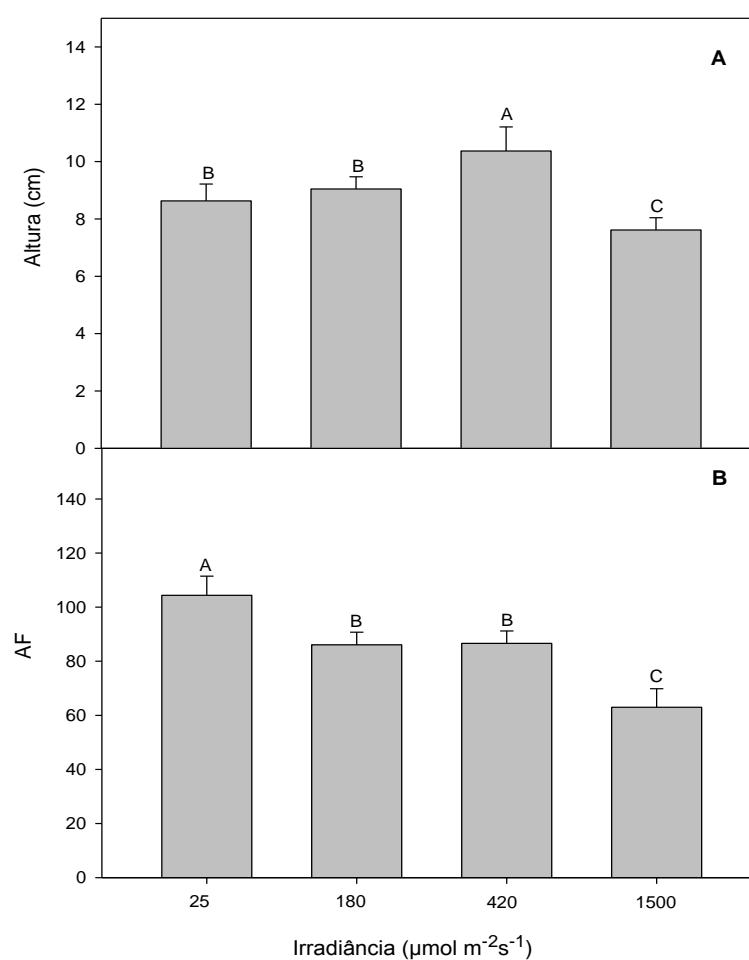
### 3.8. Características biométricas

A Tabela 2 mostra o resumo da análise de variância dos dados de crescimento. Observa-se que algumas características foram afetadas pela irradiância de crescimento. A área foliar, Figura 13B, foi maior na irradiância de crescimento de  $0,84 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e diminuiu de forma mais proeminente em plantas crescidas no ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  ( $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ). Contudo, a altura foi significativamente maior em ambiente de  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  e menor em ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  (Figura 13A).

**Tabela 2.** Resumo da Análise de Variância dos dados de crescimento de plantas jovens de *Sterculia striata*, sendo: Altura, número de folhas (N° de folhas), área foliar (AF), Comprimento de raiz e caule, número de entrenós (ENT), massa seca de caule (MSC), massa seca de raiz (MSR).

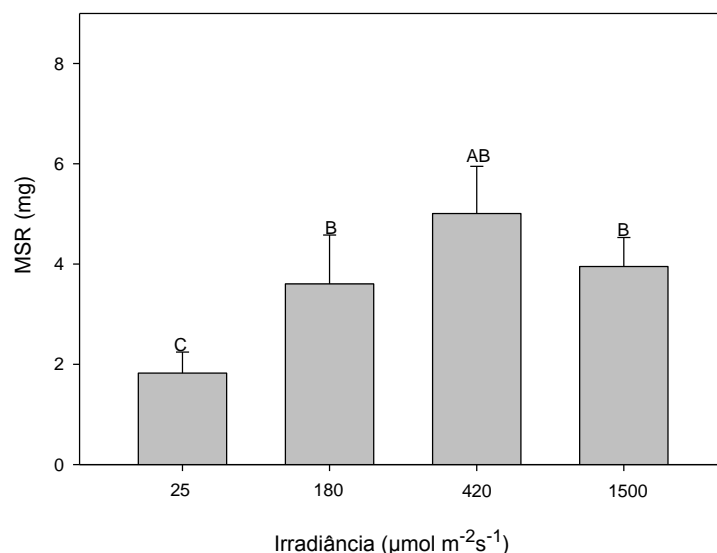
Fonte de variação	Altura	N° de folhas	AF	Raiz	Caule	ENT	MSC	MSR
Irradiâncias	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	**

ns, não significativo; \*\* significativo ao nível de 1%, \* significativo ao nível de 5% pelo teste de *F*.



**Figura 13.** A) Altura, B) Área foliar de plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiâncias de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ).

O menor acúmulo de massa seca de raiz ocorreu nas plantas crescidas no ambiente de  $0,84\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de irradiância (Figura 14). Nos demais ambientes, não foi observada diferença significativa nesta característica.



**Figura 14.** Massa seca de raiz (MSR) de plantas jovens de *Sterculia striata* em função da irradiância de crescimento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são médias ( $n = 7$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

As plantas jovens de *Sterculia striata*, submetidas aos tratamentos com irradiâncias contrastantes no ambiente de crescimento, tiveram alterações nas características fisiológicas e morfológicas avaliadas. Houve interação entre as plantas mantidas nas irradiâncias de crescimento e os dias de avaliação, em várias das características avaliadas.

Os valores obtidos de taxa fotossintética (A) estão na faixa de valores descritos para plantas do Cerrado, que variam de 4 a  $16\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (PALHARES et al., 2010). A redução de A observada no ambiente com  $41,06\text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  mostra uma sensibilidade

da espécie estudada ao excesso de luz, fato que contradiz a classificação desta espécie como pioneira feita por Lorenzi (2000).

Em condição de sombra, algumas espécies podem adaptar-se à pouca luminosidade por uma série de alterações morfofisiológicas que lhes conferem um melhor desempenho fotossintético (DANIELS et al., 2013). Em estudo com *Gethyllis villosa* em condição de sombreamento,  $\pm 63 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Daniels et al. (2013) verificaram que a espécie manteve os valores de  $A$  inalterados durante o período experimental, o que indica a capacidade de a espécie se aclimatar à sombra.

A condutância estomática ( $g_s$ ), além de sensível à radiação fotossinteticamente ativa (PAR) incidente, é muito influenciada pelo aumento da temperatura e pelo déficit de pressão de vapor (DPV) (NYOGI, 1999; LOBOS et al., 2012; GAMON e BOND, 2013). Neste estudo, o DPV variou consideravelmente ao longo do período experimental, ultrapassando 1 KPa na maior parte do período experimental, chegando a alcançar 1,91 KPa ao final do experimento. Normalmente, valores de DPV superiores a 1 KPa são indicadores de condição estressante, sendo capazes de interferir no processo fotossintético das plantas (FILHO et al., 2006). A condição de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , associada ao alto DPV, que ocorreu ao final do período experimental, pode ter influenciado diretamente a redução da  $g_s$ . A  $E$  foi fortemente influenciada pela regulação estomática. As plantas do ambiente de crescimento de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  apresentaram redução proeminente na  $E$ , tanto em função do aumento da irradiância no ambiente de crescimento, quanto em função do período de exposição aos tratamentos. O mesmo comportamento foi observado para  $g_s$ , no qual também foram verificados os menores valores neste ambiente de crescimento. Estudos sugerem que o controle estomático se reflete em uma restrição significativa no fluxo do  $\text{CO}_2$  e na transpiração da folha (FAVARETTO, 2009; GAMON e BOND, 2013).

Aumento da razão  $C_i/C_a$  aos 74 dias nas plantas crescidas sob irradiância de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  indica uma possível ocorrência de danos à via metabólica de fixação de  $\text{CO}_2$ , que, por sua vez, diminuiu a utilização dos produtos da etapa fotoquímica. Esta hipótese é corroborada pela redução dos valores da razão  $F_v/F_m$ , ETR e  $\Delta F/F_m'$ .

Além da redução da  $A$ , ocorrem também alterações nas características da fluorescência da clorofila  $a$  (SANTOS et al., 2013). Segundo estes autores, estas características fornecem subsídios para estimar a inibição ou os danos no transporte de elétrons no FSII.

Quando plantas são expostas a intensidades luminosas mais altas do que sua maquinaria fotossintética é capaz de utilizar, como as plantas de chichá submetidas ao ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , elas geralmente apresentam aumento da temperatura foliar em função do fechamento estomático (VALLADARES e PEARCY 1997; GANDOLFI et al., 2009) e, eventualmente, intensificam os efeitos do estresse luminoso, como a fotoinibição (FAVARETTO, 2009).

A razão  $F_v/F_m$  é considerada uma medida para estimar os efeitos que irradiâncias contrastantes exercem sobre a integridade do FSII, podendo seus valores variar entre 0,75 a 0,85, em condições não estressantes, dependendo da espécie (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989; RONQUIM et al., 2009; SANTOS et al., 2013). A redução da razão  $F_v/F_m$  abaixo destes valores pode indicar ocorrência de danos oxidativos ao complexo coletor de luz e ao centro de reação do FSII (RIBAS, 2006).

Na fotoinibição dinâmica, o aumento da dissipação não fotoquímica da energia num momento de redução da disponibilidade de  $\text{CO}_2$ , devido ao fechamento estomático, evita a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e dano foto-oxidativo em um momento em que as condições ambientais são desfavoráveis à assimilação do carbono (CRITCHLEY, 1998; WENER et al., 2002). Na condição de crônica, a fotoinibição é caracterizada pela degradação da proteína D1 no centro de reação do FSII, interferindo no transporte de elétrons, reduzindo a eficiência quântica e a  $A$  máxima (WENER et al., 2002; BAKER e ROSENQUIVIST, 2004; SANTOS et al., 2013). Deste modo, reduções na razão  $F_v/F_m$  podem ser um indicativo de danos ao maquinário fotossintético em relação à influência de algum estresse (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009).

Nas plantas deste estudo, reduções significativas da razão  $F_v/F_m$  foram observadas no ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , a partir dos 34 dias do período experimental, alcançando valores de 0,55 aos 74 dias, determinando uma condição de fotoinibição. A redução dos valores de  $F_v/F_m$  em função dos dias nas plantas a  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  é uma evidência da fotoinibição crônica. Nesta condição, pode não haver recuperação da eficiência fotoquímica máxima do FSII durante a noite, e os complexos do FSII danificados permanentemente não voltam a participar da fotossíntese (KRAUSE et al., 1995; HIDEG e MURATA, 1997; WENER et al., 2002). A fotoinibição crônica em plantas do ambiente com irradiância de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  foi confirmada pela medição da razão  $F_v/F_m$  no período de meio-dia e de antemanhã, não

tendo ocorrido recuperação dos valores de  $F_v/F_m$ . Isso é um indicativo do efeito de fotoinibição crônica sobre as plantas submetidas a um estresse luminoso, que danifica o sistema fotossintético e diminui a eficiência quântica e a taxa fotossintética máxima, diferindo da fotoinibição dinâmica. Plantas, quando sujeitas à fotoinibição dinâmica, apresentam capacidade de se ajustar fotossinteticamente às condições ambientais, sem danos à maquinaria fotossintética, havendo recuperação dos valores de  $F_v/F_m$  no período antemanhã (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009).

O início de processos fotoinibitórios é observado quando a capacidade de fotoproteção é excedida, sendo indicado pelo declínio na razão  $F_v/F_m$  acompanhada pelo aumento de  $F_o$ , devido à redução excessiva da cadeia de transporte de elétrons (OSMOND, 1994). Esta situação foi observada em plantas crescidas sob o ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , com declínio dos valores para  $F_v/F_m$  e acréscimo de  $F_o$ . Decréscimos na razão  $F_v/F_m$  acompanhados de aumento nos valores para  $F_m$  é um indicativo de danos à maquinaria fotossintética, assim como foi observado neste estudo em que os valores de  $F_m$  foram maiores para plantas crescidas sob irradiâncias de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ .

Estudo com plantas de jatobá em ambientes de crescimento com irradiâncias contrastantes também encontrou, como observado neste estudo, reduções significativas para a razão  $F_v/F_m$  em condições de alta irradiâncias, relacionadas à fotoinibição (FAVORETTO, 2011; REZENDE, 2012).

Em condições de fotoinibição crônica, a capacidade de geração de oxigênio tóxico pode exceder a capacidade dos mecanismos de desintoxicação dos fotossistemas (ASADA, 1994) e parte dos elétrons envolvidos nos processos fotoquímicos que poderiam ser utilizados em processos fixação de carbono são destinados para utilização em outros processos.

No ambiente com irradiâncias de crescimento de  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , ocorreu considerável decréscimo nos valores de ETR e no rendimento quântico efetivo  $\Delta F/F_m'$ , justificado pela menor energia incidente que seria destinada a processos fotoquímicos. A ETR também foi afetada nas plantas dispostas em ambiente sombreado de  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  em decorrência da menor disponibilidade luminosa neste ambiente em relação aos outros tratamentos. Contudo, não houve diminuição significativa na A desta irradiâncias em relação aos tratamentos intermediários de 5,4 e  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Larcher, (2005) afirma que plantas de sombra aproveitam melhor a radiação em condições de baixa intensidade luminosa.



Segundo Houborg et al. (2013), a ETR torna-se limitante em altas intensidades de irradiância. Nestas condições, a energia incidente é maior que o maquinário fotossintético é capaz de utilizar, encontrando-se, frequentemente, decréscimo na taxa de transporte de elétrons (ETR) através do FSII e aumento na taxa de giro de D1, peptídio principal do centro de reação do FSII (ANDERSON et al., 1995), processo este conhecido como fotoinibição, que resulta na perda da eficiência fotoquímica do FSII.

Caso a fotossíntese e a fotorrespiração não utilizam a maior fração do poder redutor resultante da etapa fotoquímica, formam-se espécies reativas de oxigênio (EROs) e estresse oxidativo (ANDERSON et al., 1995), com consequente dano ao FSII.

A formação de EROs em consequência do estresse oxidativo em altas irradiâncias associa-se diretamente aos danos à proteína D1 do FSII, alterando, portanto, o transporte de elétrons (ARO et al., 1993; LONG et al., 1994).

Diversos autores afirmam que espécies tolerantes ao sombreamento são mais susceptíveis à fotoinibição e se recuperam em menor extensão que plantas exigentes à luz (RIDDOCH et al., 1991; LOVELOCK et al., 1998; KRAUSE et al., 2001). Krause et al. (2001) também encontraram queda acentuada nos valores da razão  $F_v/F_m$  para plantas secundárias em relação a espécies pioneiras sob alta intensidade luminosa.

Diversos autores sugerem que o estágio sucessional das espécies vegetais tem influência na susceptibilidade à fotoinibição e aclimatação em diferentes gradientes luminosos. Plantas tolerantes ao sombreamento apresentam maior tendência à fotoinibição quando submetidas à alta luminosidade e menor capacidade de recuperação quando comparadas a espécies exigentes em alta luminosidade (LOVELOCK et al., 1994; RIBAS, 2006).

Segundo Rezende (2012), redução da razão  $F_v/F_m$ ,  $\Delta F/F_m'$  e ETR nas plantas de jatobá crescidas em irradiâncias de  $1700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  indicou que a espécie apresentava pouca capacidade de proteção contra estresse luminoso. Resposta semelhante também pôde ser observada nas plantas de *Sterculia striata* neste estudo.

Além da redução nestas características, os maiores valores para NPQ foram observados nas plantas crescidas sob alta irradiância, de 12,24 e 41,06  $\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ , indicando que a maior parte da energia absorvida não foi utilizada em processos fotoquímicos (GUIRAO et al., 2013), mas se dissipou na forma de calor, estando a redução destes valores associada à diminuição da eficiência fotossintética nessas condições. A redução de NPQ em baixas irradiâncias indica maior eficiência no uso da

energia absorvida pelos pigmentos no FSII para processos fotoquímicos (GUO et al., 2006). Embora constatada a redução da ETR,  $\Delta F/F_m'$  nas plantas deste estudo, o aumento do NPQ parece aliviar os fotossistemas pela dissipação de energia na forma de calor (DEMMIG et al., 1987; CHANG et al., 2013). Entre os mecanismos de fotoproteção, o ciclo das xantofilas desempenha papel importante, tendo em vista que protege o maquinário fotossintético pela dissipação do excesso de energia via interconversão das formas de violaxantina a zeaxantina, com gasto de energia (GUIRAO et al., 2013).

Tanto as características das trocas gasosas quanto as da fluorescência da clorofila *a* têm estreita relação com a concentração de pigmentos nas folhas (LICHTENTHALER et al., 2007). Neste sentido, assim como observado nas trocas gasosas e na fluorescência da clorofila *a*, neste estudo, as diferentes irradiâncias no ambiente de crescimento alteraram a concentração de pigmentos nas folhas de *Sterculia striata*.

Segundo Lichtenthaler et al. (2007), os níveis relativos de Clorofila *a* e Clorofila *b*, assim como as razões Clorofila *a*/Clorofila *b*, Carotenoide *s*/Clorofila total, têm diferenças contrastantes em folhas adaptadas à sombra e ao sol. As plantas mantidas nos ambientes de 0,84, 5,4 e 12,24 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> apresentaram valores mais pronunciados de Clorofila *a*, Clorofila *b* e Clorofila total.

Plantas sombreadas respondem a baixas irradiâncias com alterações na morfologia foliar e investimento em pigmentos para captura mais eficiente de energia (DANIELS et al., 2013).

As clorofilas são sintetizadas e degradadas (fotooxidação) sob alta irradiâncias (TAN et al., 2000), porém, quando a taxa de degradação das clorofilas ultrapassa a taxa de síntese, uma menor concentração de clorofila é observada (BOARDMAN, 1977). Assim, folhas sob condição de sombra tendem a apresentar maiores concentrações de clorofilas (PEARCY e YANG, 1998; FAVORETTO, 2009) como forma de um ajuste fisiológico que aumenta a eficiência da captura de luz absorvida pelos pigmentos fotossintetizantes (KITAO et al., 2000; GONÇALVES et al., 2001).

Os valores mais baixos para a razão *Cl<sub>a</sub>/Cl<sub>b</sub>* observados a 41,06 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> podem ser entendidos como uma menor proteção do maquinário fotossintético devido à maior susceptibilidade de degradação por alta radiação da Clorofila *a* quando comparada com a Clorofila *b*. O valor médio da razão *Cl<sub>a</sub>/Cl<sub>b</sub>*, em condição de irradiação solar plena, foi de 1,77, próximo ao encontrado por Lichtenthaler et al. (2007) e Favoretto

(2009) em plantas secundárias sob alta irradiância, confirmando que *Sterculia striata* é tolerante à sombra.

A razão Carotenoide/Clorofila total, que representa um mecanismo fotoprotetor a altas irradiâncias, foi significativamente maior em plantas mantidas em ambiente de crescimento de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  que em plantas na irradiância de  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , resultado semelhante ao encontrado por Favoretto, (2009). Gonçalves et al. (2001) enfatizam que o aumento dos carotenoides em relação à clorofila é um mecanismo essencial de aclimação que previne injúria foto-oxidativa dos pigmentos cloroplastídicos. Cogdell e Frank (1987) propõem que um dos papéis primordiais dos carotenoides seja a dissipação de clorofilas na forma triplete antes de reagir com o oxigênio molecular e formar espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ).

O índice de feofitinação não diferiu para plantas crescidas sob irradiância igual ou menor que  $480 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e foi significativamente maior para plantas crescidas sob irradiância de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Este decréscimo do índice de feofitinação nas plantas a  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  confirma os valores observados para clorofila total, que também apresentou os menores valores nestas plantas, de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . O decréscimo no IF reforça que, nesta irradiância, ocorreu a degradação do conteúdo de clorofilas, em especial da Clorofila *a* que é um importante pigmento no processo de captura de energia para o processo fotossintético (HOUBORG et al., 2013; REZENDE, 2012). A redução do IF a valores abaixo de 1,40 indica degradação de clorofilas (RONEN e GALUN, 1984). Este declínio do IF para plantas submetidas à irradiância de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  também foi verificado por Rezende (2012) em plantas de jatobá submetidas a condições contrastantes de irradiância.

As atividades das enzimas do sistema antioxidativo foram consideravelmente maiores em plantas jovens de *Sterculia striata* submetidas a  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , bem como os danos celulares, o que indica uma condição de estresse oxidativo.

Pôde-se observar que a atividade da SOD, CAT e APX foi de 92%, 60% e 5,46% maiores, respectivamente, em condição de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , indicando que a espécie estudada aumentou a atividade de enzimas antioxidantes contra as espécies reativas de oxigênio (EROs). O sistema antioxidante é fundamental para a proteção do maquinário fotossintético, assumindo-se que seja necessário para compensar o estresse provocado por altas irradiâncias (CHANG et al., 2013).

Diversos estudos destacam a importância de mecanismos antioxidantes na tolerância ao estresse, promovendo uma limitação do estresse oxidativo por um aumento na atividade de enzimas de remoção de EROs. Com o aumento da produção de EROs, a enzima SOD catalisa diretamente uma reação, produzindo  $H_2O_2$ , que pode ser metabolizado a oxigênio e água pela CAT nos peroxissomos ou pela APX nos cloroplastos (SCANDALIOS, 1990; AZEVEDO et al., 1998; JERÉMI et al., 2012; CHANG et al., 2013).

Neste estudo, o aumento da atividade em SOD, CAT e APX, mais proeminente nas plantas crescidas no ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , foi semelhante ao encontrado por Jerémi et al. (2012), que observaram aumento da atividade destas enzimas em dois genótipos de *Citrus* sensíveis a altas irradiâncias.

A maior atividade das enzimas antioxidantes não foi suficiente para proteger as plantas de *Sterculia striata* contra as EROs, haja vista a alta taxa de MDA e TLE indicando que o aumento da atividade do sistema antioxidante não foi suficiente para impedir danos às membranas celulares pelas EROs (MAROK., 2013).

O aumento da atividade antioxidante pode ser considerado um reflexo no aumento de EROs nas células (OBJEGBA e FASIDI, 2007). Entre os que mais ocorrem em condição de estresse foto-oxidativo estão o oxigênio singlete, íon superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (GILL e TUTEJA, 2010).

A estabilidade das membranas celulares foi severamente afetada pelo aumento da irradiâncias no ambiente de crescimento, sobretudo nas plantas mantidas no ambiente de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Nestas plantas, foi observado aumento de 5% na concentração de MDA e de 38% na taxa de extravasamento de eletrólitos. Estes resultados sugerem que a elevada irradiância no ambiente de crescimento aumentou os danos celulares pela peroxidação de lipídios e consequente extravasamento do conteúdo protoplasmático. Considerando o conteúdo de MDA um importante indicador de peroxidação lipídica, sua acumulação indicou que a espécie estudada em  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  sofreu uma pressão de estresse oxidativo em relação às irradiâncias inferiores, sendo estes resultados consistentes com sua vulnerabilidade ao estresse luminoso (JERÉMI et al., 2012).

Neste estudo, os maiores valores do conteúdo de MDA e TLE em plantas de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  indicam existência de injúria oxidativa nos tecidos foliares, formada por peroxidação de lipídios de membrana e pela perda de compartimentalização celular e pelos eletrólitos (ASADA, 1999; LIMA et al., 2002).

Deste modo, a intensidade da luz é um fator importante para o crescimento das plantas. Em condições de pouca luz, ocorre diminuição do crescimento, pois as trocas gasosas são diretamente relacionadas à luminosidade disponível, conseqüentemente, afetando a produção de biomassa (LARCHER, 2005; FAN et al., 2013). Sob condição ótima de radiação para a espécie, ocorre aumento do rendimento da produção de matéria seca pela alocação de fotoassimilados (LARCHER, 2005).

Naves et al., (1994) afirmam que as características de crescimento também podem ser utilizadas para determinar o grau de tolerância das plantas em condições de luminosidade.

Plantas crescidas sob  $12,24 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  apresentaram maior crescimento, tendo sido observados os maiores valores para altura e MSR, indicando que, nesta irradiância, o maquinário fotossintético foi capaz de utilizar a energia luminosa mais eficientemente e produzir maior biomassa em relação aos demais ambientes de crescimento (FAN et al., 2013).

A maior AF foi observada nas plantas crescidas em ambiente de  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , indicando que as plantas, quando em condição de menor luminosidade, investem em órgãos fotossintetizantes para aumentar a capacidade de utilização da irradiâncias e alocar os fotoassimilados (LARCHER, 2005).

A maior AF se reflete em uma adaptação morfológica da planta na tentativa de aumentar a captação de energia luminosa sob condições de restrição de luz (GONDIM et al., 2007). Rezende (2012) Silva (2010) e Oliveira (2004) também observaram maior AF em condição de menor irradiância.

Os maiores valores encontrados para MSR em condição maior que  $5,4 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  indicam que a irradiância é um dos fatores determinantes para a produtividade das plantas, além da produção de biomassa, por interferir na morfologia, exportação e distribuição de fotoassimilados (FAN et al., 2013).

Em condição de pouca luz, como foi observado nas plantas deste estudo crescidas sob  $0,84 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , ocorreu diminuição do seu crescimento, confirmado com a queda das trocas gasosas e a produção de biomassa nesta irradiância de crescimento (FAN et al., 2013). O aumento na taxa de assimilação de carbono cria a possibilidade de aumentos concomitantes de crescimento (ZAVALA e RAVETTA, 2001).

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram que plantas jovens de chichá em condição de menor irradiância no ambiente de crescimento apresentaram maior eficiência fotossintética em relação ao ambiente de maior irradiância, não tendo apresentado, nestas condições, fotoinibição e estresse foto-oxidativo.

Plantas de chichá apresentaram sensibilidade em condições de alta irradiância no ambiente de crescimento. Os resultados indicam que houve fotoinibição crônica e estresse foto-oxidativo nas plantas mantidas sob a irradiância de  $41,06 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e o aumento da atividade das enzimas antioxidantes não foi suficiente para impedir a peroxidação dos lipídios e o extravasamento do conteúdo celular, tendo, deste modo, apresentado menor eficiência fotossintética com a evolução dos danos celulares.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J. M.; CHOW, L. W.; PARQUE, Y.; The grand design of photosynthesis: Acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. **Photosynthesis Research**, v. 46, p. 129-139, 1995.

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da Fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v.7,4, p. 463-472, 2009.

ARENS, K. As plantas lenhosas dos campos cerrados como flora adaptada às deficiências minerais do solo. **In Anais do Simpósio sobre o Cerrado** (M.G. Ferri, coord.). Edusp, São Paulo, p.285-303.1963.

ARO, E. M.; VIRGIN, I.; ANDERSSON, B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.114<sup>3</sup> p.113-134. 1993.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplast: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.5,40, p. 601-639, Jun, 1999.

ASADA, K.; Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, v. 141,06 , p. 391-396, 2006.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITHI, R. J.; LEA, P. J. Response of a antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum** v.104, p.280-292, 1998.

BAKER, N.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.5, p.1607-1621, 2004.

BILGER, W.; BJÖRKMAN, O.; Role of xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in **leaves of Hedera canariensis**. **Photosynthesis Research** v. 45, p. 73-185, 1990.

BILGER, W.; SCHEREIBER, U.; BOCK, M.; Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in **the field Oecologia** v.102, p. 40-432, 1995.

BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B.; Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 k among vascular plants of diverse origins. **Journal of Plant biology**, v.170, p.61-66, 1987.

BJÖRKMAN, O.; Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O. L.; NOBEL, P. S.; OSMOND, C.B.; ZIEGLER, H.; Encyclopedia of Plant Physiology: **Physiological Plant Ecology**.v.12a. p.57-107, 1981.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology** v.28, p.35,45,4-377,1977.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G.; Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, v.3, p.497-541, 1989.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry** v.72, p.248-0,844, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDA / DNDV / CLAV, p. 365,4, 1992.

CARVALHO, M. Variações morfofisiológicas e eficiência do uso da água em *Ricinus communis* L. submetida ao déficit hídrico regulado. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus – Bahia, 2010.

CHANG, H. L.; KANG, C. Y.; LEE, T. M.; Hydrogen peroxide production protects *Chlamydomonas reinhardtii* against light-induced cell death by preventing singlet oxygen accumulation through enhanced carotenoid synthesis. **Journal of plant physiology**, v. 170, p. 976-986, July, 2013.

CHAVES, M. M.; FLEXAS J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany** v.103, p.5,45,41,06 -5,460, 2009.

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. **Environmental and experimental botany**, v.60, p. 5,404-541, 2007.

COGDELL, R. J.; FRANK, H. A. How carotenoids function in photosynthetic bacteria. **Biochimica et Biophysica Acta** v.895,4, p.63-79. 1987.



COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; SILVA, W. C. S.; COSTA, C. L. S. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. et Naudin. **Acta Amazonica**, v.40, n.1, p.207-212,24, 2010.

COSTA, E. S.; BRESSAN-SMITH, R.; OLIVEIRA, J. G.; CAMPOSTRINI, E. Chlorophyll *a* fluorescence analysis in response to excitation irradiance in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) submitted to high temperature stress. **Photosynthetica**, v.41,06, p.77-82, 2003.

COUTINHO, L. M. O bioma Cerrado. In Eugen Warming e o Cerrado brasileiro: um século depois (A.L. Klein, ed.). **Edunesp**, p.77-91, 2002.

CRAMER, G. R.; URANO, K.; DELROT, S.; PEZZOTTI, M.; SHINOZAKI, K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, v.11, p.166, 2011.

CRITCHLEY C. Photoinhibition. In: "Photosynthesis: A Comprehensive Treatise". **Cambridge**. p. 264-272. 1998.

DANIELS, C. W.; MABUSELA, W. T.; MARNEWICK, J. L.; VALENTINE, A. J.; Photosynthetic adaptation of two semi-arid species of *Gethyllis* (Kukumakranka) to drought-and-shade stress. **South African Journal of Botany**, v. 88, p. 36-41,06, 2013.

DEMMIG, B.; WINTER, K.; KRÜGER, A.; CZYGAN, F.C.; Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. **Plant Physiology**, v.84, p.218-224, 1987.

EHLEINGER, J. R. Leaf absorptances of mohave and sonoran desert plants. **Oecologia** v. 49 p. 366-370, 1981.

ESSEMINE, J.; GOVINDACHARY, S.; JOLY, D.; AMMAR, S.; BOUZID, S.; CARPENTIER, R.; Effect of moderate and high light on photosystem II fuction in *Arabidopsis thaliana* depleted in digalactosyl-diacylglycerol. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics**, v. 1817, p. 1367-1373, 2012.

FAN, X. X.; XU, Z. G.; LIU, X. Y.; TANG, C. M.; WANG, L. W.; MAN, X. L.; Effect of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. **Scientia Horticulture**, v. 15,43, p. 5,40-5,45, 2013.

FANG, L. H.; LIN, W. C. Lipid peroxidation products do not activate hepatic stellate cells. **Toxicology**, v.0,843, p.36 – 45,4, 2008.

FAVARETTO, V. de F. Estudo comparativo dos mecanismos de defesa contra radicais livres em espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras de Mata Mesófila Semidecidual. (Tese) Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada. Departamento de biologia. Universidade de São Paulo. 2009.

FAVARETTO, V. F.; MARTINEZ, C. A.; SORIANI, H. H.; FURRIEL, R. P. M. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.70, p.20-28, 2011.

FILHO, J.A.M.; CAMPOSTRINI, E.; YAMANISHI, O.K.; FAGUNDES, G.R. Variação sazonal das trocas gasosas em folhas de mamoeiro cultivado em condições de campo. **Bragantia**, v.65,4, n.2, p.185,4-196, 2006.

FOYER, C. H.; LELANDAIS, M.; KUNERT, K. J. Photooxidative stress in plants. **Physiology Plant**, v. 92, n. 4, p. 696-717, 1994.

FRANCO, A. C. Estratégias funcionais de plantas lenhosas das savanas do Brasil Central: relação ao déficit hídrico e ao regime luminoso. In: CABRERA, H.M. (ed). **Fisiologia Ecológica en Plantas, Mecanismos y Respuestas a Estrés en los Ecosistemas**. Valparaíso (Chile): EUV. 2004.

GAMON, J. A.; BOND, B. J.; Effects of irradiance and photosynthetic downregulation on the photochemical reflectance index in Douglas-fir and ponderosa pine. **Remote Sensing of Environment**, v. 135,4, p. 14 -149, 2013.

GANDOLFI, S.; JOLY, C. A.; FILHO, H. F. L. "Gaps of deciduosness": cyclical gaps in tropical forests. **Scientia Agricola Journal**, v.6, n.2, p.280-284, 2009.

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

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.5,49, p.309-314. 1977.

GILL, S. G.; TUTEJA, N. R. Eactive oxygen species and antioxidante machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v.48, p. 909-930, 2010.

GONÇALVES, C. J. F.; MARENCO, A. R.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of Mahogany and Tonka bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.13, p.149-154. 2001.

GONDIM, A. R. de O.; PUIATTI, M.; CECON, P. R.; FINGER, F. L. Crescimento, partição de fotoassimilados e produção de rizomas em taro cultivado sob sombreamento artificial. **Horticultura Brasileira**, v.0,84 p.410-428. 2007.

GROTTO, D.; VALENTINI, J.; BOEIRA, S.; PANIZ, C.; SANTA MARIA, L.; VICENTINI, J.; MORO, A.; CHARÃO, M.; GARCIA, S. C.; CARDOSO, S. G.; Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do estresse oxidativo – Malonaldeído. **Química nova**, v.31, n.2, p. 275,4-279, 2008.

GUIRAO, L. M.; RUIZ, J. M.; GIL, J. M. S.; ESTELLER, J. B.; STINCO, C. M.; MARTÍNEZ, M. A.; Xanthophyll cycle-related photoprotective mechanism in the Mediterranean seagrasses *Posidonia oceânica* and *Cymodocea nodosa* under normal and stressful hypersaline conditions. **Aquatic Botanic**, v. 109, p. 14-24, 2013.

GUO, H. X.; LIU, W. Q.; SHI, Y. C. Effects of different nitrogen forms on photosynthetic rate and the chlorophyll fluorescence induction kinetics of flue-cured tobacco. **Photosynthetica**, v.44, p.140-142, 2006.

HAVIR, E.A.; MCHALE, N. A Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiol.**, v.84, p.45,40-45,45,4.1987.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast: I- Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.10,84, p.189-198, 1968.

HIDEG E.; MURATA N. The irreversible photoinhibition of the photosystem II complex in leaves of *Vicia faba* under strong light. **Plant Science**. v.130, p.15,41,06 – 15,48. 1997.

HOUBORG, R.; CESCATTI, A.; MIGLIAVACCA, M.; KUSTAS, W. P.; Satellite retrievals of leaf chlorophyll and photosynthetic capacity for improved modeling of GPP. **Agricultural and Forest meteorology**, v. 177, p. 10-23, 2013.

JERÉMI, S.; GIANNETTINI, J.; HERBETTE, S.; PAILLY, O.; OLLITRAULT, P.; LURO, F.; BERTI, L.; Physiological and biochemical response to photooxidative stress of the fundamental citrus species. **Scientia Horticulturae**, v. 147, p. 12,246-135,4, 2012.

KIM, C.; APEL, K.; Singlet oxygen-mediated signaling in plants: moving from flu to wild type reveals an increasing complexity. **Photosynthesis Research**, July, 2013.

KITAO, M.; LEI, T. T.; KOIKE, T.; TOBITA, H.; MARUYAMA, Y.; MATSUMOTO, Y.; ANG, L. H. Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees. **Physiologia Plantarum** v.109, p.284-290, 2000.

KRAUSE, G. H.; KOROLEVA, O. Y.; DALLING, J. W.; WINTER, K. Acclimation of tropical tree seedlings to excessive light in simulated tree-fall gaps. **Plant. Cell and Environment**, v.24, p.13454-13542, 2001.

KRAUSE, G. H.; VIRGO, A.; WINTER, K. High susceptibility to photoinhibition of young leaves of tropical forests trees. **Planta** v.197, p.5483-5491. 1995.

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

KUKI, K. N, OLIVA, M. A., GOMES F. P., COSTA, A. C. Avaliação da eficiência do dimetilsulfóxido na extração de pigmentos foliares de *Schinus terebenthifolius* e *Cocos nucifera*. In: X Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal e XII Congresso Latino-Americano de Fisiologia Vegetal, Recife. **Anais**, SBFV. 2005.

LAISK, A.; EICHELMANN, H.; OJA, V.; RASULOV, B.; PADU, E.; BICHELE, I.; PETTAI, H.; KULL, O. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. **Plant, Cell & Environment**, v.28, p.375-388, 2005.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos, Rima, 40p, 2005.

LAWLOR, D. W. Musings about the effects of environment on photosynthesis. **Annals of Botany**, v. 103, p.5,443-5,449, 2009.

LICHTENTHALER, H. K.; AC, A.; MAREK, M. V.; KALINA, J.; URBAN, O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. **Plant physiology and biochemistry**, v. 45, p. 577-588. 2007.

LIMA, A. L. S.; DaMATTa, F. M.; PINHEIRO, H. A.; TÓTOLA, M. R.; LOUREIRO, M. E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environ. Exp. Bot.**, v.47, p.239-247, 2002.

LINDEN, R.; ANTUNES, M. A.; LAZZARETTI, C.; CAMARO, G. D. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de Malonaldeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.44, n.2, p.279-287, 2008.

LIU, F.; PANG, S. J. Stress tolerance and antioxidant enzymatic activities in the metabolisms of the reactive oxygen species in two intertidal red algae *Grateloupia turuturu* and *Palmaria palmate*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 2010.

LOBOS, G. A.; RETAMALES, J. B.; HANCOCK, J. F.; FLORE, J. A.; COBO, N.; POZO, A. Spectral irradiance, gas exchange characteristics and leaf traits of *Vaccinium corymbosum* L. 'Elliott' grown under photo-selective nets. **Environmental and Experimental Botany**, v 24, 754, p.142–149, 2012.

LONG, S. P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.454, p.633-662. 1994.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. v.1. 3ªed. Editora Plantarum. Nova Odessa – SP, 2000.

LOVELOCK, C. E.; JEBB, M.; OSMOND, C. B. Photoinhibition and recovery in tropical plant species: response to disturbance. **Oecologia** v.97, p.297-307, 1994.

LOVELOCK, C. E.; KURSAR, T. A.; SKILLMAN, J. B.; WINTER, K. Photoinhibition in tropical forest understorey species with short- and long-lived leaves. **Functional Ecology**, v.1224, p.5454-5460, 1998.

MAROK, M. A.; TARRAGO, L.; KSAS, B.; HENRI, P.; BELBACHIR, O. A.; HAVAUX, M.; REY, P.; A drought-sensitive barley variety displays oxidative stress and strongly increased contents in low-molecular weight antioxidant compounds

during water deficit compared a tolerant variety. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, p. 633-645,4, May, 2013.

MARTINAZZO, E. G.; PERBONI, A. T.; OLIVEIRA, P. V.; BIANCHI, V. J.; BACARIN, M. A.; Atividade fotossintética em plantas de ameixeira submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. **Ciência rural**, v.43, 1, p.354-4106, 2013.

MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science** v.7, p.405,4-41,06 0. 2002.

MURATA, N., ALLAKHVERDIEV, S. I.; NISHIYANNA, Y.; The mechanism of photoinhibition in vivo: Re-evaluation of the roles of catalase,  $\alpha$ -tocoferol, non-photochemical quenching, and electron transport. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, p. 112247-113324, 2012.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiol.**, v.22, p.867-880. 1981.

NAVES, V. L.; ALVARENGA, A. A.; OLIVEIRA, L. E. M. Comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas a diferentes níveis de irradiâncias. **Ciência e Prática**, v.18 p.408-410, 1994.

NILSEN, E. T.; ORCUTT, D. M. **The Physiology of Plants under Stress – Abiotic factors**. New York, John Wiley and Sons, Inc, 1996.

NIYOGI, K. K. Photoprotection revisited: Genetic and Molecular Approaches. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.540, p.333-354, 1999.

ODJEGBA, V. J.; FASIDI, I. O. Changes in antioxidant enzyme activities in *Eichornia crassipes* (Pontederiaceae) and *Pistia stratiotes* (Araceae) under heavy metal estress. **Revista de Biologia Tropical**, v.5,45,4, n.3-4, p. 815,4-823, 2007.

OGUCHI, R.; HIKOSAKA, K.; HIROSE, T.; Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.28, n.7, p.916-927, 2005.

OLIVEIRA, F. L. Alternativas para o manejo orgânico do taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) em condições edafoclimáticas no estado do Rio de Janeiro. **Tese**. Seropédica: UFRRJ. p.90, 2004.

OSMOND, C. B.; What is photoinhibition? Some insights from comparisons of sun and shade plants. In: BAKER, N. R.; BOWYER, J. R.; **Photoinhibition and photosynthesis: from molecular mechanisms to the field**. Oxford: Bios Scientific Publishers, cap.1, p.1-24, 1994.

PALHARES, D.; FRANCO, A. C.; ZAIDAN, L. B. P. Respostas fotossintéticas de plantas de cerrado nas estações seca e chuvosa. **Brazilian Journal of Biosciences**, v.8, 2, p. 213-220, 2010.

PEARCY, R. W.; YANG, W. The functional morphology of light capture and carbon gain in Redwood forest understorey plant *Adenocaulon bicolor* (Hook.). **Functional Ecology** v.1224, p.5443-5454, 1998.

PIMENTEL, C.; SARR, B.; DIOUF, O.; ABBOUD, A. C. S.; ROY-MACAULEY, H.; Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. **Revista Universidade Rural**. 2002.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data. **Journal Experiment Botany**, v. 62, 3, p. 869-882, 2011.

RASCHER, U.; LIEBIG, M.; LÜTTGE, U. Evaluation of instant lightresponse curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. **Plant Cell Environ.** v. 23 p.1397-1405, 2000.



REZENDE, S. L. Alterações fotossintéticas de plantas jovens de jatobá em condições contrastantes de irradiâncias e disponibilidade hídrica. **Dissertação** (Mestrado) Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde – GO - 2012.

RIBAS, R. F. Plasticidade e aclimação fotossintética de espécies arbóreas tropicais. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. **Tese** (Doutorado). UFV, 2006.

RIDDOCH, I.; GRACE, J.; FASEHUN, F. E.; RIDDOCH, B.; LADIPO, D. O. Photosynthesis and successional status of seedlings in a tropical semideciduous rainforest in Nigeria. **Journal of Ecology**, v.79, p.491-543, 1991.

RONEN, R.; GALUN, M. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 24, 3, p. 239-245, 1984.

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

SÁEZ, P. L.; BRAVO, L. A.; LATSAGUE, M. I.; TONEATTI, M. J.; SÁNCHEZ-OLATE, M.; RÍOS, D. G.; Light energy management in micropropagate plants of *Castanea sativa*, effects of photoinhibition. **Plant Science**, v.201-202, p. 12-24, 2013.

SANTOS, C. M. dos; VERISSIMO, V.; FILHO, H. C. de L. W.; FERREIRA, V. M.; CAVALCANTE, P. G. da S.; ROLIM, E. V.; ENDRESS, L.; Seasonal variations of photosynthesis gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grow in semi-humid and semi-arid áreas subject to water stress. **Industrial Crops and Products**, v.41,06 , p.203-213, 2013.

SCANDALIOS, J. G. Response of plant antioxidant defense genes to environmental stress. **Advances in Genetics**, v.28, p.1-41,06 , 1990.

SERTORIO, D. F. F.; Avaliação de aspectos fisiológicos e bioquímicos da interferência da radiação e aquecimento sob perspectiva futura, em quatro espécies arbóreas tropicais. **(Dissertação)**. Programa de pós-graduação em biologia comparada. Departamento de Biologia. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

SILVA, L. A. Plasticidade e aclimação foliar à irradiâncias em espécies da floresta atlântica. **Tese** (Doutorado em Botânica) UFV. 2010.

SINHA, S.; SAXENA, R.; SINGH, S. Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia striates* L.: role of antioxidants enzymes. **Chemosphere**, v.5,48, n.5,4, p.5,495,4-604, 2005.

SOARES, A. M. dos S.; MACHADO, O. L. T.; Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Rev Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**. v.1, 1, p.9, 2007.

SOUZA, G. M.; BALMANT, B. D.; VÍTOLO, H. F.; GOMES, K. B. P.; FLORENTINO, T. M.; CATUCHI, T. A.; VIEIRA, W. de L. Estratégias de utilização de luz e estabilidade do desenvolvimento de plântulas de *Cordia superba* Cham. (Boraginaceae) crescidas em diferentes ambientes luminosos. **Acta bot. bras.** v.23 n.2 p.474-485,4. 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ªed. Porto Alegre: Artmed. p.719, 2009.

TAN, Y.; JIANG, J. H.; WU, H. L.; CUI, H.; YU, R. Q. Resolution of kinetic system of simultaneous degradation of chlorophyll a and b by Parafac. **Analytica Chimica Acta** v.4106, p.195-202. 2000.

THOREN, D.; THOREN, P.; SCHMIDHALTER, U.; Influence of ambient light and temperature on laser-induced chlorophyll fluorescence measurements. *European journal of agronomy*, v.32, p. 169-176, 2010.

VALLADARES, F.; PEARCY, R.W. Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll **Heteromeles arbutifolia**. **Plant Cell and Environment**, v.20, p.0,84-36, 1997.

VASQUEZ-TELLO, A.; Y. ZUILY-FODIL, A. T.; PHAM, T. H. I.; VIEIRA, J. D. S.; Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in Phaseolus and Vigna species. **Journal of Experimental Botany**, 41,06 : 827-32, 1990.

WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas. **Tese** (Doutorado em Ecologia) Universidade de Brasília, Março, 2006.

WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology** 144:307-313, 1997.

WERNER, C.; CORREIA, O.; BEYSCHLAG, W.; Characteristic patterns of chronic and dynamics photoinhibition of diferente functional groups in a Mediterranean ecosystem. **Functional Plant Biology**, v. 29, p. 999-1011, 2002.

WITUSZYNSKA, W.; GALAZKA, K.; RUSACZONEK, A.; VANDERAUWERA, S.; BREUSEGEM, F. V.; KARPINSKI, S.; Multivariable environmental conditions promote photosynthetic adaptation potential in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, p. 5,448-5,45,49, Abril, 2013.

XU, P.; ZOU, J.; MENG, Q. M.; ZOU, J. H.; JIANG, W. S.; LIU, D. H. Effects of Cd<sup>2+</sup> on seedling growth of garlic (*Allium sativum* L.) and selected physiological and biochemical characters. **Bioresource Technology**. 2008.

ZAVALA, J. A.; RAVETTA, D. A.; Allocation of photoassimilates to biomass, resin and carbohydrates in *Grindelia chiloensis* as affected by light intensity. **Field Crops Research**, v. 69, p. 143-149, 2001.