



EFEITOS DA INTERAÇÃO INSETO - PLANTA SOBRE A EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA O - L - K - J - I - P DA CLOROFILA A EM *PHYMATOCILUM BRASILIENSE* CHRISTENSON (ORCHIDACEAE)

C.L. Pinheiro (1)

J.B. Zampirolo (1); D.M. Silva (2); A.R. Falqueto (1,2)

1 Programa de Pós - Graduação em Biodiversidade Tropical, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Departamento de Ciências Biológicas e Agrárias, Rodovia BR 101 Norte, Bairro Litorâneo, CEP 29932 - 540, São Mateus, ES. 2 Programa de Pós - Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Av. Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, 29075 - 910, Vitória, Espírito Santo, Brasil.

clodoaldo2009@yahoo.com.br; antelmofalqueto@ceunes.ufes.br

INTRODUÇÃO

Orchidaceae A. Juss. é uma das maiores famílias de fanerógamas com cerca de 700 gêneros e 35.000 espécies. No Brasil, foram documentadas aproximadamente 203 gêneros e cerca de 2.350 espécies. Possuem origem filogenética recente, de grande diversidade nos neotrópicos e apresentam lacunas sobre seus aspectos biológicos e funcionais, o que as tornam relevantes no que tange a estudos ecológicos (Cardim *et al.*, ., 2001). *Phymatochilum brasiliense* Christenson (Orchidaceae) ocorre nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais e Pernambuco. A forma vegetativa se assemelha à de plantas de *Oncidium* Sw., porém mais relacionada com *Miltonia* Lindl., recentemente nomeada como *Phymatochilum*, gênero de orquídea neotropical formado por apenas uma espécie, em função de seus caracteres exclusivos (Christenson, 2005).

No contexto de florestas tropicais, a interação inseto - planta exerce forte pressão seletiva sobre as plantas, proporcionando a coexistência de um maior número de espécies nas comunidades naturais e, em alguns casos, pode influenciar positivamente o crescimento e o desenvolvimento de determinadas espécies vegetais (Nascimento & Hay, 1993 & 1994). Entretanto, para outras espécies, a infestação afeta negativamente o crescimento, o desenvolvimento e a habilidade competitiva (Coley & Barone, 1996). Plantas infestadas por co-

chonilhas geralmente apresentam folhas amareladas e, em estágio severo de infestação, necroses e deformações na lamina foliar (Chia & He, 1999). Desta forma, a perda de clorofila pela ação de insetos fitófagos reduz a eficiência fotossintética das plantas (Balachandran *et al.*, 1997).

A fluorescência da clorofila *a* pode ser uma medida da eficiência fotossintética e fornecer informações importantes sobre a relação estrutural e funcional dos centros de reação do fotossistema II (FSII) em resposta às interações bióticas. Esta técnica constitui uma importante ferramenta para estudos de monitoramento não invasivo, sendo, assim, utilizada em pesquisas agrônomicas, biológicas, ecotoxicológicas e fisiológicas (Liu & Shi 2010; Naidoo *et al.*, ., 2010; Yusuf *et al.*, . 2010; Redillas *et al.*, ., 2011). A diagnose e detecção prévia de fatores de estresse usando esta técnica não destrutiva são, indubitavelmente, de grande importância (Christen *et al.*, ., 2007).

Neste estudo, medidas da fluorescência transiente O - L - K - J - I - P da clorofila *a* foram empregadas para caracterizar os efeitos da interação inseto - planta em *P. brasiliense* infestadas por cochonilha [*Diaspis boisduvalii* (Signoret) Sign., 1869 (Hemiptera: Diaspididae)], buscando responder às seguintes hipóteses: (1) aumentos no tamanho efetivo do complexo antena (ABS/RC) e na taxa de captura de éxcitons (TR_o/RC) resultam

na estabilidade do transporte de elétrons por centro de reação (ET_o/RC), no rendimento quântico fotoquímico máximo (F_v/F_m) e no índice de vitalidade (PI_{ABS}), em resposta a interação inseto - planta e (2) alterações nas bandas L, K e I associadas a sobrecarga de energia no FSII provocam danos ao complexo evolutivo do oxigênio, menor energia de conectividade entre unidades de FSII e incrementos em redução no lado aceptor do fotossistema I, re - distribuindo o fluxo de energia, alterando a estrutura e função de unidades fotossintéticas.

OBJETIVOS

Caracterizar os efeitos da interação inseto - planta na emissão da fluorescência transiente O - L - K - J - I - P da clorofila *a* em *P. brasiliense* infestadas por cochonilha.

MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por plantas infestadas e não infestadas (controle) de *P. brasiliense* obtidas de orquidários comerciais de São Mateus, Espírito Santo, Brasil. As plantas foram cultivadas sob um fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de 400 - 600 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, temperaturas médias de 30 - 25 °C (dia/noite) e receberam nutrição mineral (NPK - 10:10:10) quinzenalmente. Todas as medidas foram feitas na terceira folha totalmente expandida previamente adaptada ao escuro por 30 minutos.

A fluorescência polifásica transiente O - L - K - J - I - P foi medida utilizando - se um fluorômetro portátil (Handy PEA, Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn, Norfolk). Os sinais de fluorescência foram obtidos após a exposição da amostra a um pulso de luz saturante de 3000 μmol (fótons) m^2s^{-1} durante um segundo. A cinética da emissão de fluorescência foi registrada entre 50 μs e 300 μs (F_o e F_m) e as cinéticas relativas e respectivas subtrações encerraram 120 sinais de fluorescência (F_t) que caracterizam os principais eventos de oxidação e redução das unidades fotossintéticas (Strasser *et al.*, 2004). O teste JIP, baseado na Teoria de Fluxo de Energia em Biomembranas (Strasser, 1981), foi empregado para definir o *status* de transdução de energia entre unidades fotossintéticas através do fluxo de energia pelos eventos de absorção de éxcitons (ABS), captura (TR) e transporte de elétrons (ET), do rendimento quântico fotoquímico máximo de redução da etapa primária da fotoquímica da fotossíntese (F_v/F_m), do índice de vitalidade da planta (PI_{ABS}) e da taxa de centros de reação redutores de quinona A (RC_o/CS_o).

Os dados experimentais foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov - Smirnov, análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias pelo teste Tukey (0,05%). Os cálculos foram realizados no software de código livre Sisvar.

RESULTADOS

Plantas de *P. brasiliense* infestadas e não infestadas exibiram curvas transientes O - J - I - P típicas (Strasser *et al.*, 1995) com aumento da magnitude dos sinais de fluorescência desde um nível basal (F_o) até um nível máximo (F_m) com os pontos intermediários J e I bem definidos, demonstrando que todas as amostras foram fotossinteticamente ativas. Porém, houve decréscimo significativo na área acima da curva de emissão de fluorescência para plantas infestadas por cochonilha, representando redução no pool de aceptores de elétrons e bloqueio parcial do fluxo de energia (Mehta *et al.*, 2010).

Foi observado aumento significativo em ABS/RC e em TR_o/RC nas plantas infestadas. Porém esta estratégia ecofisiológica foi apenas suficiente para atenuar os efeitos da infestação, havendo estabilização em ET_o/RC e F_v/F_m ao custo de decréscimos significativos em PI_{ABS} e RC_o/CS_o . Assim, refuta - se a hipótese que incrementos em ABS/RC e em TR_o/RC são suficientes para anular o efeito negativo da infestação por cochonilha em folhas de orquídea *P. brasiliense*. Esta modulação de parâmetros da fluorescência seguida da redução no rendimento quântico fotoquímico máximo é relatada em função da menor atividade de centros de reação redutores de Q_A (van Heerden *et al.*, 2007). No presente estudo, valores de PI_{ABS} e F_v/F_m corroboram a maior sensibilidade do parâmetro de vitalidade em comparação ao rendimento quântico fotoquímico máximo (Christen *et al.*, 2007) para análises ecofisiológicas. Cinéticas relativas derivadas da curva de emissão de fluorescência transiente de plantas infestadas mostram que houve danos ao complexo evolutivo do oxigênio e menor energia de conectividade entre unidades de FSII, representando desbalanço no complexo Y_z e desempilhamento de tilacóides, respectivamente (Strasser, 1997; Oukarroum *et al.*, 2007). Maior atividade de redução foi observada para o lado aceptor do FSI em função da maior afinidade de valor K_m para redução do *pool* de aceptores finais de elétrons no lado aceptor do FSI (Redillas *et al.*, 2011). Desta forma, corrobora - se a hipótese de que a infestação por cochonilha provoca redistribuição de energia entre unidades fotossintéticas em *P. brasiliense*, com conseqüentes alterações estruturais e funcionais.

CONCLUSÃO

A interação - inseto planta provocou distúrbios nos transientes e nos parâmetros da fluorescência, mostrando que as amostras são fotossinteticamente ativas e que houve danos na vitalidade de plantas infestadas. Por outro lado mecanismos de modulação do centro de reação do FSII (ABS/RC e TR_o/RC) e das cinéticas relativas (bandas L, K e I) permitem o ajuste ecofisiológico do fluxo de energia entre as unidades fotossintéticas, garantindo em parte a sobrevivência de plantas de *P. brasiliense* infestadas.

REFERÊNCIAS

- Balachandran, S., Hull, R.J., Martins, R.A., Vaadia, Y., Lucas, W.J. 1997. Influence of environmental stress on biomass partitioning in transgenic tobacco plants expressing the movement protein of tobacco mosaic virus. *Plant Physiol.*, 114: 475 - 481.
- Cardim, D.C., Carlini - Garcia, L. A., Mondin, M., Martins, M., Veasey, E. A., Ando, A. 2001. Variabilidade intra - específica em cinco populações de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae - Oncidiinae) em Minas Gerais. *Rev. brasil. Bot.*, 24: 553 - 5.
- Chia, T - F. & He, J. 1999. Photosynthetic capacity in *Oncidium* (Orchidaceae) plants after virus radication. *Environ. Exp. Bot.*, 42: 11 - 16.
- Christenson, E. A. 2005. *Phymatochilum brasiliense* in *Richardiana* 5: 195.
- Coley, P. D. & Barone, J. A., 1996. Herbivory And Plant Defenses In Tropical Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27: 305 - 335.
- Liu, J., Shi, D.C. 2010. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt - alkaline mixed stress. *Photosynthetica*, 48: 127 - 134.
- Naidoo, G.N., Naidoo, Y. & Achar, P. 2010. Responses of the mangroves *Avicennia marina* and *Bruguiera gymnorrhiza* to oil contamination. *Flora* 205: 357 - 362.
- Nascimento, M. T. E Hay, J. D., 1993. Intraspecific Variation In Herbivory On *Metrodorea Pubescens* (Rutaceae) In Two Forest Types In Central Brazil. *Rev. Brasil. Biol.* 53: 143 - 153.
- Nascimento, M. T. E Hay, J. D., 1994. The Impact Of Simulated Folivory On Juveniles Of *Metrodorea Pubescens* (Rutaceae) In A Gallery Forest Near Brasilia, Federal District, Brazil. *J. Tropical Ecol.* 10: 611 - 620.
- Oukarroum, A., Madidi, S.El., Schansker, G., Strasser, R.J. 2007. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re - watering. *Environ. Exp. Bot.* 60: 438 - 446.
- Redillas, M.C.F.R., Strasser, R.J., Jeong, J.S., Kim, Y.S., Kim, J.K. 2011. The use of JIP test to evaluate drought - tolerance of transgenic rice overexpressing OsNAC10. *Plant Biotechnol. Rep.* 1 - 7.
- Strasser, R.J. 1981. The grouping model of plant photosynthesis: heterogeneity of photosynthetic units in thylakoids. In: Akoyunoglou, G. (ed.), *Photosynthesis III. Structure and Molecular Organisation of the Photosynthetic Apparatus*. Balaban International Science Services, Philadelphia. Pp. 727 - 737.
- Strasser, R.J. 1997. Donor side capacity of photosystem II probed by Polifasic chlorophyll *a* fluorescence transients. *Photosynth. Res.* 52: 147 - 155.
- Strasser, R.J., Srivastava, A., Tsimilli - Michael, M. 2004. Analysis of fluorescence transient, in: G. Papageogiou, Govindjee (eds.), *Chlorophyll Fluorescence: a Signature of Photosynthesis*, Advances in Photosynthesis and Respiration, Springer, Dordrecht 19: 321 - 362.
- Strasser, R.J.; Srivassatava, A.; Govindjee. 1995. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants e cyanobacteria, *Photochem. Photobiol.* 61: 32 - 34.
- van Heerden, P.D.R., Swanepoel J.W., Krüger, G.H.J. 2007. Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C3 - mode CO2 assimilation. *Environ. Exp. Bot.* 61: 124136.
- Yusuf, M.A., Kumar, D., Rajwanshi, R., Strasser, R.J., Tsimilli - Michael, M., Govindjee, Sarin, N.B. 2010. Overexpression of - tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Biochim. Biophys. Acta* 1797: 1428 - 1438.