

ALICE GONTIJO DE GODOY

**FOTOSSÍNTESE EM *Clusia hilariana* Schlechtendal (CLUSIACEAE):
RESPOSTAS AO ESTRESSE SALINO E À ALTA IRRADIÂNCIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

ALICE GONTIJO DE GODOY

**FOTOSSÍNTESE EM *Clusia hilariana* Schlechtendal (CLUSIACEAE):
RESPOSTAS AO ESTRESSE SALINO E À ALTA IRRADIÂNCIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2010.

 Kacilda Naomi Kuki (Co-orientadora)	 Luzimar Campos da Silva (Co-orientadora)
 Eduardo Gusmão Pereira	 Rogério Ferreira Ribas
 Marco Antonio Oliva Cano (Orientador)	

À minha família, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa;

Ao Departamento de Biologia Vegetal;

Aos professores, funcionários e estudantes do Programa de Pós Graduação em Fisiologia Vegetal;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);

Esta dissertação é resultado de um trabalho em equipe. Agradeço a Deus, que faz tudo de bom ser possível. Agradeço ao professor Marco Oliva, pela orientação, confiança e sinceridade em suas opiniões. Agradeço a meus pais e irmãos, os melhores amigos possíveis, sempre presentes. Ao Ricardo, pelo carinho e disponibilidade em perder noites de sono fazendo medições na UCP. Ao Eduardo, que me incentivou a adotar as *Clusias*, pelas caronas de bicicleta e pela paciência em ensinar a enfrentar os equipamentos. À Kuki, que me amparou nos momentos críticos, pela suavidade que fez o difícil ser possível. Ao Clenilso, pela enorme ajuda com a análise dos dados. Aos demais amigos da UCP, Thiago, Letícias Nalon, dos Anjos e da Costa, Carol, Laíse, Bruno, Daniel, Pitt, Claudinéia, Maione, Rosane, Renan, Alberto, Mariana, Cláudio, Advânio. Ao Gomide e ao João Bosco, pelas ajudas e cafezinhos. Aos amigos que fiz ao longo do curso, em especial Jô, Gládis, Rose, Camilo, Jorge, Marcos, Vivi, Ivan dentre tantos outros. Ao Rogerinho, que me apresentou à Fisiologia e contribuiu muito com suas observações. À Luzimar, pela disponibilidade em compor a banca avaliadora. A todos os amigos de Viçosa e Ouro Preto. A toda minha família. Aos que esqueci de citar, mas que com certeza foram importantes. Muito obrigada !!!

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	v
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	4
3.1 Condições experimentais e obtenção do material vegetal	4
3.2 Delineamento experimental e aplicação dos tratamentos	4
3.3 Avaliações.....	5
3.3.1 Trocas gasosas.....	5
3.3.2 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	6
3.3.3 Composição mineral do material vegetal	7
3.3.4 Potencial osmótico	7
3.3.5 Pigmentos	7
3.3.6 Suculência	8
3.4 Análises estatísticas	8
4. RESULTADOS	8
4.1 Trocas gasosas	10
4.2 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	13
4.3 Composição mineral do material vegetal	20
4.4 Potencial osmótico	21
4.5 Pigmentos	22
4.6 Suculência	23
5. DISCUSSÃO.....	24
6. CONCLUSÕES.....	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
8. ANEXOS.....	40

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Taxa fotossintética em <i>C. hilariana</i> na fase I da fotossíntese CAM, ao longo dos 15 dias de experimento.....	9
Figura 2. Variação média da radiação fotossinteticamente ativa em condições de pleno sol e sombreamento, ao longo do 15º dia de aplicação dos tratamentos.....	9
Figura 3. Taxa fotossintética (A) e condutância estomática (B) e taxa transpiratória (C) em <i>C. hilariana</i> ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos.....	11
Figura 4. Relação C_i/C_a em <i>C. hilariana</i> ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos.....	12
Tabela 1. Taxa fotossintética (A ; $\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s ; $\text{molH}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$), razão entre as concentrações interna e atmosférica de CO_2 (C_i/C_a), taxa transpiratória (E ; $\text{mmolH}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$) e eficiência do uso da água (WUE) em indivíduos de <i>C. hilariana</i> submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade. As determinações foram realizadas aproximadamente às 0:00h, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.....	13
Figura 5. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m)(A), fluorescência mínima (F_0) (B) e fluorescência máxima (F_m) (C) em <i>C. hilariana</i> ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos.....	15
Figura 6. Taxa de transporte de elétrons (ETR) em <i>C. hilariana</i> ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos.....	16

Tabela 2. Taxa potencial de fixação de CO₂ (µmol m⁻² s⁻¹) no ciclo de Calvin, em indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.....17

Figura 7. Distribuição percentual da dissipação energética em *C. hilariana*, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos. Y(II): rendimento quântico efetivo do fluxo linear de elétrons no fotossistema II; Y(NPQ): rendimento quântico da dissipação regulada de energia não fotoquímica no fotossistema II; Y(NO): rendimento quântico da dissipação não regulada de energia não fotoquímica no fotossistema II. Y(II)+Y(NPQ)+Y(NO)=1..... 19

Tabela 3. Teores de Na⁺, Cl⁻, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ (mg g⁻¹ matéria seca) nas folhas de indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos..... 21

Tabela 4. Potencial osmótico total (-MPa) das folhas de indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.....22

Tabela 5. Teores de clorofila *a* (Cl_a; µg cm⁻²), clorofila *b* (Cl_b; µg cm⁻²), carotenóides (µg cm⁻²) e razão clorofilaa/clorofilab (Cl_a/Cl_b) em *C. hilariana* submetida a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.....23

Tabela 6. Suculência em folhas de *C. hilariana* (g H₂O cm⁻²) submetidas a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.....24

Anexo 1. Análise de variância parcial, referente à taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (*g_s*), razão entre as concentrações interna e atmosférica de CO₂ (*C_i/C_a*), taxa transpiratória (*E*) e eficiência do uso da água (*WUE*) em indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade.....40

Anexo 2: Análise de variância parcial referente ao rendimento quântico potencial do fotossistema II (*F_v/F_m*)(*A*), fluorescência mínima (*F₀*) (*B*) e fluorescência máxima (*F_m*)

(C) em *C. hilariana* ao meio-dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos.....40

Anexo 3: Análise de variância parcial referente à composição química das folhas, potencial osmótico, teores de pigmentos, suculência e malonaldeído (MDA), em plantas de *C. hilariana* submetidas a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos..... 41

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

<i>A</i>	Taxa de assimilação líquida de carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
ABA	Ácido abscísico
C_a	Concentração de CO_2 atmosférica ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)
C_i	Concentração de CO_2 nos espaços intercelulares ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>E</i>	Taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
<i>ETR</i>	Taxa aparente de transporte de elétrons ($\mu\text{mol elétrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
<i>F</i>	Fluorescência após adaptação à luz antes do pulso de saturação
F_m	Fluorescência máxima após adaptação ao escuro
F_m'	Fluorescência máxima após adaptação à luz
F_0	Fluorescência mínima após adaptação ao escuro
FSI	Fotossistema I
FSII	Fotossistema II
F_v	Fluorescência variável após adaptação ao escuro
F_v/F_m	Rendimento quântico potencial do FS II
g_s	Condutância estomática ao vapor de água ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
<i>PAR</i>	Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
Rubisco	Carboxilase / oxigenase da ribulose 1,5-bisfosfato
PEPcase	Fosfoenolpiruvato carboxilase
Y(II)	Rendimento quântico efetivo do fluxo linear de elétrons no FSII
Y(NO)	Rendimento quântico da dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica no FSII
Y(NPQ)	Rendimento quântico de dissipação regulada de energia não-fotoquímica no FSII
Ψ_s	Potencial osmótico (-MPa)

RESUMO

GODOY, Alice Gontijo de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. **Fotossíntese em *Clusia hilariana* Schlechtendal (Clusiaceae): respostas ao estresse salino e à alta irradiância.** Orientador: Marco Antonio Oliva Cano. Co-orientadoras: Kacilda Naomi Kuki e Luzimar Campos da Silva.

Clusia hilariana é uma espécie com fotossíntese estritamente CAM que ocorre em áreas de restinga, onde se acredita que sejam importantes no processo de sucessão. Pouco se sabe a respeito das estratégias adaptativas utilizadas por *C. hilariana* para tolerar as condições adversas a que se encontra exposta no seu ambiente natural, e a respeito de como a fotossíntese CAM atuaria nesses processos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar e compreender as respostas da maquinaria fotossintética de *C. hilariana* a ambientes luminosos contrastantes, bem como ao excesso de NaCl na solução em contato com as raízes, através de um experimento em esquema fatorial com três condições de luminosidade e duas de salinidade. Plantas de *C. hilariana* foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland meia-força sob condições de pleno sol e 70% de sombreamento. Aplicou-se 400mM de NaCl na solução nutritiva de metade das plantas em cada condição de sombreamento, transferindo-se metade das plantas desenvolvidas à sombra para pleno sol. Os indivíduos em solução nutritiva controle apresentaram padrão diário de trocas gasosas típico de plantas CAM. Os valores de taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), razão entre CO_2 interno e atmosférico (C_i/C_a) e transpiração (E) variaram em função das diferentes condições de luminosidade, assim como a duração das fases da fotossíntese CAM. As plantas em solução salina apresentaram alterações em todas as variáveis de trocas gasosas quando comparadas às plantas em solução controle, com A , g_s , E , e C_i/C_a próximos de zero. Dentre as plantas em solução nutritiva controle, os maiores valores de rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) foram observados nas plantas sombreadas e de sol, com pouca oscilação ao longo do dia. A transferência da sombra para o sol acarretou em redução de F_v/F_m , assim como o tratamento com NaCl, que resultou em aumento na fluorescência inicial e redução na fluorescência máxima e na taxa de transporte de elétrons, principalmente nas plantas transferidas. Os teores de Na e Cl observados nas folhas das plantas sob todos os tratamentos não provocaram efeitos

tóxicos, não havendo também deficiência de K, Ca e Mg. Os efeitos do NaCl foram de caráter osmótico, sendo os valores de potencial osmótico das plantas em solução salina menos negativos que o potencial osmótico da solução acrescida de NaCl. A aplicação de NaCl levou à degradação de clorofila *a* nas plantas transferidas, não observando-se alterações na clorofila *b*. Maiores níveis de carotenóides foram observados nas plantas sob estresse osmótico ou luminoso. As plantas com maiores *A* apresentaram também maior suculência. As diferenças no padrão fotossintético de *C. hilariana* mostraram que esta espécie exibiu grande plasticidade como resposta às variações nas condições de luminosidade e salinidade, através de alterações na duração e intensidade de cada fase do ciclo CAM. Constatou-se também a existência de interação entre os efeitos dos estresses osmótico e luminoso no metabolismo de *C. hilariana*, resultando em potencialização dos danos fotoinibitórios quando comparados aos efeitos dos estresses isolados. As plantas desenvolvidas a pleno sol apresentaram alterações metabólicas que permitiram maior tolerância às condições de alta irradiância e salinidade que as plantas desenvolvidas à sombra e expostas a esses estresses. Embora as plantas de *C. hilariana* lancem mão de estratégias que poderiam levar à aclimatação sob situação estressante, para os estresses combinados estas estratégias não se mostraram tão eficientes quanto para estresses individuais.

ABSTRACT

GODOY, Alice Gontijo de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2010. **Photosynthesis in *Clusia hilariana* Schlechtenda (Clusiaceae): responses to salt stress and high irradiance.** Adviser: Marco Antonio Oliva Cano. Co-advisers: Kacilda Naomi Kuki and Luzimar Campos da Silva.

Clusia hilariana is a species with CAM photosynthesis that occurs in areas of brazilian restingas. Little is known about the adaptive strategies used by *C. hilariana* to tolerate the adverse conditions to which it is exposed in its natural environment, and about how the CAM photosynthesis would perform these processes. The aim of this study was to characterize and understand the responses of the photosynthetic apparatus of *C. hilariana* to contrasting light environments, as well as to the excess of NaCl in the solution in contact with the roots. To assess the effects of high irradiance and salt stress, it was designed a factorial experiment with three light and two salt conditions. Plants of *C. hilariana* were grown in half-strength Hoagland solution under conditions of full sun and 70% shading. It was added 400mM of NaCl to the nutrient solution of half the plants in each shading condition, than half of the plants grown in the shade were transferred to full sun. Individuals in control nutrient solution showed daily pattern of gas exchange typical of CAM plants. The values of photosynthetic rate (A), stomatal conductance (g_s), ratio between internal and atmospheric CO₂ (C_i/C_a) and transpiration (E) varied according to different lighting conditions, as well as the duration of the phases of CAM photosynthesis. Plants in saline solution showed changes in all variables of gas exchange when compared to plants in the control solution, with A , g_s , E , and C_i/C_a close to zero. Among the plants in control solution, the highest values of potential quantum yield of photosystem II (F_v/F_m) were observed for sun and shade plants, with little change throughout the day. A transfer from shade to sun caused reduction in F_v/F_m , as well as treatment with NaCl, which resulted in an increase on initial fluorescence and a decrease on maximum fluorescence and rate of electron transport, especially in transferred plants. The contents of Na and Cl in plants' leaves under all treatments do not resulted in toxic effects, also with no deficiency of K, Ca and Mg. The effects of NaCl were osmotic, with values of osmotic potential of plants in saline solution less negative than that of saline solution itself. The application of NaCl led to degradation of chlorophyll *a* in transferred plants, but not of chlorophyll *b*. Higher

levels of carotenoids were observed in plants under osmotic or light. Plants with greater *A* also showed higher succulence. Differences in the photosynthetic pattern of *C. hilariana* showed that this species may have great plasticity in response to changing light and salinity conditions, through changes in the duration and intensity of each CAM phase. It was also noted the existence of interaction between the osmotic and light stresses effects in the metabolism of *C. hilariana*, resulting in increases of photoinhibitory damage when compared to the effects of individual stresses. Plants grown in full sun showed metabolic changes that allowed greater tolerance to conditions of high irradiance and salinity than plants grown in the shade. Although plants of *C. hilariana* resort to strategies that could lead to acclimation under stressful situation, for the stresses combined these strategies do not appear as efficient as for individual stresses.

1. INTRODUÇÃO

Clusia é um gênero de arbustos e árvores com cerca de 300 a 400 espécies, exclusivamente neotropical e de ampla ocorrência e distribuição nas Américas Central e do Sul (Lüttge, 2007). É o único gênero de árvores *sensu strictu*, ou seja, com crescimento secundário típico de dicotiledôneas, que pode desempenhar fotossíntese CAM (Lüttge, 2006).

Segundo Osmond (1978), a fotossíntese CAM caracteriza-se pela existência de quatro fases. A fase I é marcada pela abertura estomática no período noturno, acompanhada de assimilação de CO₂ pela PEPcase e formação de ácidos orgânicos, que são armazenados no vacúolo. A fase II ocorre em um momento de transição ao início da manhã, quando os estômatos ainda encontram-se abertos e a assimilação de carbono pode ocorrer na presença de luz, simultaneamente pela PEPcase e pela rubisco. O fechamento estomático na presença de luz indica o início da fase III, na qual ocorre a remobilização e descarboxilação dos ácidos orgânicos armazenados no período noturno e a fixação do CO₂ liberado, através do Ciclo de Calvin. Ao entardecer, volta a ocorrer a assimilação de CO₂ atmosférico, com abertura estomática ainda na presença de luz, compreendendo a fase IV.

Muitas espécies de *Clusia* possuem a capacidade de realizar fotossíntese C3 ou CAM, dependendo dos estímulos ambientais, sendo que espécies estritamente C3 ou CAM ocorrem em menor número (Holtum *et al.*, 2004). *Clusia hilariana* Schlechtendal é uma espécie arbórea estritamente CAM dominante em algumas áreas de restinga do Brasil (Franco *et al.*, 1996), estando portanto sujeita a uma gama de condições ambientais adversas, como grandes oscilações de temperatura, alta irradiância, déficit hídrico, ventos constantes, alta salinidade e deficiência de nutrientes (Matos *et al.* 1997; Scarano, 2002).

Nas restingas, a formação de ilhas de vegetação e os processos de sucessão iniciam-se pela colonização por espécies pioneiras herbáceas ou lenhosas, que podem favorecer o desenvolvimento de outras espécies na comunidade. Dentre as espécies lenhosas, *C.hilariana* parece ser a principal facilitadora, sob a qual muitas espécies de

plantas se estabelecem (Zaluar e Scarano, 2000) sendo, portanto, de grande importância na dinâmica de sucessão nos ecossistemas onde ocorre. Estudos realizados no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba indicam uma associação positiva entre a presença de indivíduos adultos de *Clusia* e a densidade de plantas jovens de outras espécies lenhosas, embora não tenham encontrado diferenças nas taxas de germinação de sementes e mortalidade de plântulas quando comparadas a fragmentos sem *Clusia* (Dias *et al.*, 2005). Embora existam dados empíricos que ajudem a elucidar os processos relacionados ao efeito facilitador de *Clusia* e a formular novas hipóteses, pouco se sabe a respeito dos reais mecanismos responsáveis por esse efeito (Dias e Scarano, 2007).

A estratégia CAM de fotossíntese permite maior resistência a estresses pela maximização da eficiência do uso da água. Assim, plantas com a capacidade de desempenhar essa estratégia fotossintética, como *C. hilariana*, poderiam ocorrer inicialmente, melhorando as condições ambientais para o desenvolvimento posterior de outras espécies menos resistentes (Scarano, 2002).

Estudos anteriores sugerem que a alta utilização quântica efetiva na fixação do CO₂ sob altas concentrações internas desse gás, tipicamente presentes em plantas CAM, atue na proteção contra a fotoinibição (Herzog *et al.* 1999; Lüttge 2002). Franco *et al.* (1996), em estudos de campo, observaram que folhas de sol e de sombra de *C. hilariana* apresentaram padrões CAM típicos de abertura estomática e oscilações nos níveis celulares de ácidos orgânicos. Avaliações de fluorescência da clorofila *a* e determinações dos teores de ácidos orgânicos sugeriram que altos níveis de fixação de CO₂, via descarboxilação de malato e citrato, e dissipação energética não radiativa foram capazes de minimizar o decréscimo na eficiência fotoquímica sob altas irradiâncias, observadas ao meio dia nas planícies costeiras tropicais (Franco *et al.*, 1996). No entanto, a redução na concentração de ácidos orgânicos no período da tarde pode expor as folhas de *C. hilariana* à fotoinibição, principalmente em períodos de escassez hídrica acompanhado por altas irradiâncias (Franco *et al.*, 1996).

Sabe-se que a salinidade pode provocar danos na maquinaria fotossintética das plantas, decorrentes de fatores osmóticos e/ou iônicos. Os efeitos osmóticos são devidos à redução do potencial osmótico da solução do substrato, como consequência da alta concentração de sais dissolvidos (Loreto *et al.*, 2003). Dessa forma, ocorre a redução na disponibilidade de água para as plantas, gerando uma situação de escassez hídrica caso as plantas não consigam ajustar-se osmoticamente, a fim de manter ou restabelecer um gradiente de potencial hídrico favorável à absorção de água (Hasegawa *et al.*, 2000). O

efeito iônico resulta dos efeitos tóxicos ou do desequilíbrio iônico gerado pelos íons absorvidos pelas plantas (Munns, 1993; Munns e Tester, 2008).

Sob condições de salinidade, a espécie halófito intermediária C_3 / CAM *Mesembryanthemum crystallinum* tem induzida a estratégia CAM, o que possivelmente reduz os efeitos adversos do sal (Barker *et al.*, 2004; Winter e Holtum, 2005). Estudos com a mesma espécie mostraram que altas intensidades luminosas e altas concentrações de NaCl, quando aplicadas separadamente, induziram fracamente a fotossíntese CAM. Por sua vez, plantas submetidas aos estresses simultaneamente apresentaram forte indução da estratégia CAM, com grande oscilação nas concentrações celulares de malato ao longo do dia, além de um aumento na dissipação não fotoquímica de energia (Broetto *et al.*, 2007).

A ocorrência simultânea de diferentes estresses pode levar à potencialização dos danos provocados por estresses isolados, ao mesmo tempo em que mecanismos de tolerância desenvolvidos como resposta a um determinado estresse podem tornar a planta menos susceptível a outro tipo de adversidade (Bowler *et al.*, 1992). Pouco se sabe a respeito das estratégias adaptativas utilizadas por *C. hilariana* para tolerar as condições adversas a que se encontra exposta no seu ambiente natural, e a respeito de como a fotossíntese CAM atuaria nesses processos. As restingas brasileiras são fortemente ameaçadas pela urbanização e pela exploração turística inadequada, sendo o entendimento dos fatores ecológicos que permitem o estabelecimento e o desenvolvimento de *Clusia* de grande importância para a conservação e recuperação desses ambientes (Franco *et al.*, 2006).

2. OBJETIVOS

Este trabalho pretendeu avaliar os efeitos do estresse salino e da irradiância sobre os processos fotossintéticos de *C. hilariana*, espécie CAM de restinga. As análises visaram caracterizar e compreender as respostas da maquinaria fotossintética de *C. hilariana* a ambientes luminosos contrastantes, bem como ao excesso de sal na solução em contato com as raízes.

Adicionalmente, avaliaram-se os efeitos da aplicação conjunta dos estresses salino e por alta irradiância, e como as diferentes formas de dissipação energética

utilizadas sob diferentes condições de luminosidade e salinidade interferem no funcionamento da maquinaria fotossintética dessas plantas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Condições experimentais e obtenção do material vegetal

Os experimentos foram conduzidos em condições semi-controladas em casa de vegetação, na Unidade de Crescimento de Plantas (UCP), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais (20°45'S, 42°15'W, 650 m de altitude), com temperatura mínima de 19°C e máxima de 31°C ao longo de todo o desenvolvimento das plantas.

Foram utilizadas plantas de *Clusia hilariana* Schlecht., da família botânica Clusiaceae, obtidas a partir de estacas de indivíduos provenientes do viveiro do Parque Estadual Paulo César Vinha, localizado no município de Guarapari, no Espírito Santo. As estacas permaneceram em caixa de areia, sob irrigação diária, até a emissão de raízes. Foram então selecionadas quanto ao padrão de crescimento e transferidas para caixas de isopor de 5 L, protegidas contra a entrada de luz externa para evitar a proliferação de algas, contendo solução nutritiva de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1938) meia força iônica, sob aeração constante. O pH foi ajustado a cada dois dias para 5,5 e a solução renovada a cada sete dias. Após período de aclimatação de dois meses, parte das plantas permaneceu sob condições de pleno sol e parte foi transferida para condição de 70% de sombreamento, obtida através da instalação de um sombrite. Após três meses nessas condições, com a emissão de folhas e raízes novas, foram aplicados os tratamentos e realizadas as avaliações.

3.2 Delineamento experimental e aplicação dos tratamentos

Para avaliar os efeitos dos estresses salino e por alta irradiância, foi montado um experimento em blocos casualizados, em esquema fatorial 3x2 (três condições de luminosidade e duas de salinidade), com quatro repetições.

As seis combinações consistiram em:

- Plantas em solução de Hoagland meia força, com folhas expandidas sob 100% de irradiância (S_0I_{100});
- Plantas em solução de Hoagland meia força, com folhas expandidas sob 30% de irradiância (S_0I_{30});
- Plantas em solução de Hoagland meia força + 400mM de NaCl , com folhas expandidas sob 100% de irradiância ($S_{400}I_{100}$);
- Plantas em solução de Hoagland meia força + 400mM de NaCl, com folhas expandidas sob 30% de irradiância ($S_{400}I_{30}$);
- Plantas em solução de Hoagland meia força, com folhas expandidas sob 30% de irradiância e transferidas para 100% de irradiância (S_0I_{30-100});
- Plantas em solução de Hoagland meia força + 400mM de NaCl, com folhas expandidas sob 30% de irradiância e transferidas para 100% de irradiância ($S_{400}I_{30-100}$);

Ao longo do texto, a solução nutritiva de Hoagland meia-força será tratada por solução controle, assim como esta solução quando acrescida de NaCl será citada como solução salina. As plantas cultivadas a 100%, 30% e transferidas de 30 para 100% de irradiância serão referidas como plantas de sol, sombreadas e transferidas, respectivamente.

O NaCl foi incorporado à solução nutritiva de Hoagland de metade das plantas através de incrementos de 100mM a cada 12h, até atingir a concentração final de 400mM, sendo o potencial osmótico dessa solução de aproximadamente -1,9 MPa. A aplicação da dose final do sal e a transferência de metade das plantas do sombreamento para a condição de pleno sol foram realizadas no mesmo dia.

Foram realizadas análises de trocas gasosas até que se observasse taxa fotossintética próxima a zero nas plantas submetidas a algum dos tratamentos. Com esse critério, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos, seguiram-se medições das curvas diárias de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* e, posteriormente, as análises destrutivas para determinação de teores de pigmentos, potencial osmótico, suculência e composição química do material vegetal.

3.3 Avaliações

3.3.1 Trocas gasosas

As determinações das variáveis de trocas gasosa foram realizadas em folhas completamente expandidas, utilizando-se um analisador de gás no infravermelho, modelo LI-6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, EUA). Foram avaliadas taxa

fotossintética (A), condutância estomática (g_s); transpiração (E); razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e eficiência do uso de água (WUE). As medições ao longo do período de aplicação dos tratamentos foram realizadas entre 23:00 e 02:00h, período no qual observa-se a maior taxa de fixação do CO_2 pela fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPcase) para *C. hilariana* (Pereira *et al.*, 2009). Ao final do experimento realizou-se uma curva diária, na qual foram feitas avaliações durante um período de 24h, utilizando-se luz actínica de mesma intensidade da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) ambiente.

3.3.2 Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada através do uso de um fluorômetro modulado portátil Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany), sendo utilizada a mesma área da folha em que foram realizadas as medições das trocas gasosas. Antes das medições, as folhas foram adaptadas ao escuro por 30 minutos para que os centros de reações estivessem completamente abertos (todos os aceptores primários oxidados). A fluorescência mínima (F_0) foi obtida com a excitação da área amostrada por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e a fluorescência máxima (F_m) obtida pela aplicação de um pulso de 0,8s de luz actínica saturante ($>6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A fluorescência variável (F_v) foi determinada pela diferença entre F_0 e F_m . Com os valores de F_v e F_m foi obtido o rendimento quântico potencial do FSII (van Kooten e Snel, 1990), conforme a equação:

$$F_v/F_m = F_m - F_0/F_m$$

Logo em seguida, realizaram-se as determinações das variáveis da fase lenta de indução da fluorescência (“variáveis do claro”), através da aplicação de uma iluminação actínica, de mesma intensidade da PAR ambiente no momento da medição, por 60s. Após esse tempo, aplicou-se um pulso de luz actínica saturante ($>6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de 0,8s para a determinação das variáveis: fluorescência em amostra adaptada à luz antes do pulso de saturação (F) e fluorescência máxima em amostra adaptada à luz (F_m').

O rendimento quântico efetivo do fluxo linear de elétrons no FSII [$Y(\text{II})$], rendimento quântico da dissipação regulada de energia não-fotoquímica no FSII [$Y(\text{NPQ})$] e o rendimento quântico da dissipação não-regulada de energia não-fotoquímica no FSII [$Y(\text{NO})$] foram calculados de acordo com Genty *et al.*, (1989) e Genty *et al.*, (1996) pelas seguintes equações:

$$Y(\text{II}) = (F_m' - F)/F_m'$$

$$Y(\text{NPQ}) = (F/F_m') - (F/F_m)$$

$$Y(\text{NO}) = F/F_m$$

Desta forma, a soma dos processos de dissipação de energia absorvida pelo FSII tem soma igual a 1:

$$Y(\text{II}) + Y(\text{NPQ}) + Y(\text{NO}) = 1$$

O $Y(\text{II})$ foi utilizado ainda para estimar a taxa de transporte de elétrons no FSII (ETR) de acordo com Bilger *et al.*, (1995) pela equação:

$$ETR = Y(\text{II}) \times PAR \times 0,5 \times 0,84$$

Onde PAR é o fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) incidente sobre a folha; 0,5 o valor correspondente à fração da energia de excitação distribuída para o FSII (Laisk e Loreto, 1996); e 0,84 o valor correspondente à fração de luz incidente que é absorvida pelas folhas (Ehleringer, 1981).

A partir das considerações acima para o cálculo da ETR e assumindo-se a taxa de transporte no fotossistema II de 0,85 elétrons por quantum (Krause e Weiss, 1991), bem como o fluxo de quatro elétrons através do fotossistema II para cada CO_2 fixado, calculou-se a taxa potencial de fixação de CO_2 , assim como Franco *et al.* (1996).

3.3.3 Composição mineral do material vegetal

Para a determinação das concentrações de cloreto e sódio nos tecidos, folhas completamente expandidas foram lavadas com água desionizada, destacadas e secas em estufa de ventilação forçada à 75°C , até atingir peso constante. Posteriormente, foram moídas em moinho tipo Wiley. Amostras de 200 mg de tecido vegetal seco e moído foram digeridas em solução nitro-perclórica 3:1 (v/v). As quantificações de Na e K foram realizadas por fotometria de chama, e Mg e Ca por espectrofotometria de absorção atômica (Malavolta, 1989). A derminação do Cl foi realizada mediante titulação com AgNO_3 , tendo como indicador K_2CrO_7 (Malavolta, 1989).

3.3.4 Potencial osmótico

O potencial osmótico total foi determinado pelo método crioscópico, com a obtenção do ponto de congelamento do suco celular obtido a partir de folhas completamente expandidas, com auxílio de um microsmomêtro OSMETTE modelo 2007 (Precision Osmete, Precision Systems Inc., Natick, MA, USA).

3.3.5 Pigmentos

Para a determinação dos teores de pigmentos (clorofila *a*, *b* e carotenóides), três discos foliares de 5mm de diâmetro, retirados de folhas completamente expandidas,

foram acondicionados em recipientes protegidos da entrada de luz contendo 5 ml de dimetilsulfoxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio. Após 48 horas em banho-maria a 65°C, as absorvâncias do extrato foram lidas em espectrofotômetro a 649,1, 665,1 e 480nm, e os teores dos pigmentos determinados, segundo as equações propostas por Wellburn (1994), sendo expressos em $\mu\text{g cm}^{-2}$.

3.3.6 Suculência

A suculência das folhas completamente expandidas de *C. hilariana* foi determinada segundo Mantovani (1999). Discos foliares de área conhecida foram pesados, obtendo-se a massa fresca, e colocados para secar em estufa de ventilação forçada à 75°C, até atingir peso constante. Determinou-se então a massa seca e, pela diferença entre as massas fresca e seca, o teor de água no tecido. Os resultados foram expressos em g de água por cm^2 de folha.

3.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias por teste de Tukey a 5% ($P \leq 0,05$), através do software SAS 9.0, licenciado para a Universidade Federal de Viçosa.

4. RESULTADOS

A partir do quarto dia de aplicação do sal, ocorreu redução na A das plantas em solução salina, passando a ser mais acentuada a partir do sétimo dia. Nas plantas de sol e sombra em solução controle, não foram observadas variações significativas ao longo dos dias. As plantas transferidas em solução controle apresentaram, a partir do nono dia, A maior que das plantas de sombra e menor que das plantas de sol.

Após 15 dias de aplicação dos tratamentos observaram-se, para as plantas de *C. hilariana* em solução salina, independentemente da condição de luminosidade, alterações significativas na A (Figura 1). Nesta ocasião, em determinações realizadas no período correspondente à fase I da fotossíntese CAM, os valores observados foram próximos de zero. Seguiram-se então avaliações mais detalhadas visando compreender as causas e conseqüências dessas alterações.

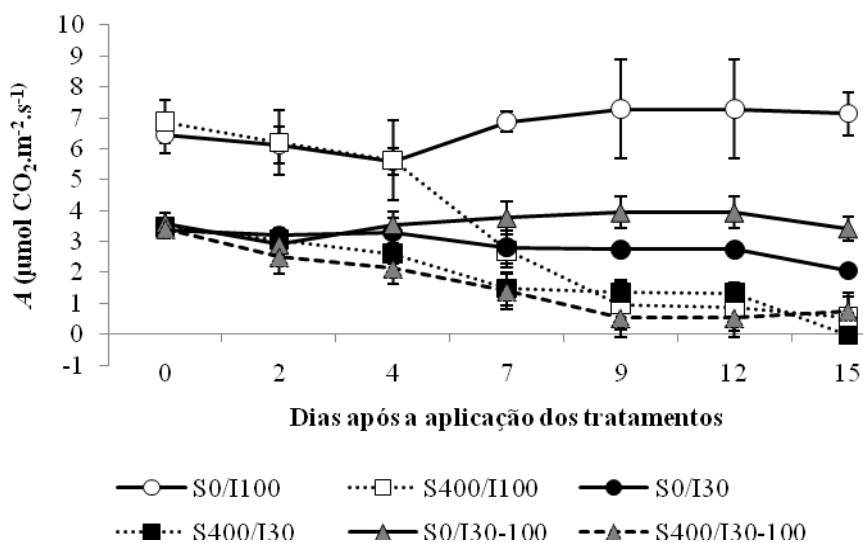


Figura 1: Taxa fotossintética (A) em *C. hilariana* na fase I da fotossíntese CAM, ao longo dos 15 dias de experimento. Barras indicam o desvio padrão da média (n=4).

No dia 15º dia após o início da aplicação dos tratamentos, o valor máximo obtido para as condições de luminosidade onde se encontravam as plantas de sol e transferidas foi de aproximadamente $700\mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Sob condições de sombreamento, o valor máximo observado foi próximo de $250\mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A temperatura média para ambas as condições foi de 26°C e a umidade relativa do ar média de 70%. A figura 2 mostra a variação da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) ao longo do dia. Os baixos valores de PAR são devidos à nebulosidade presente na ocasião.

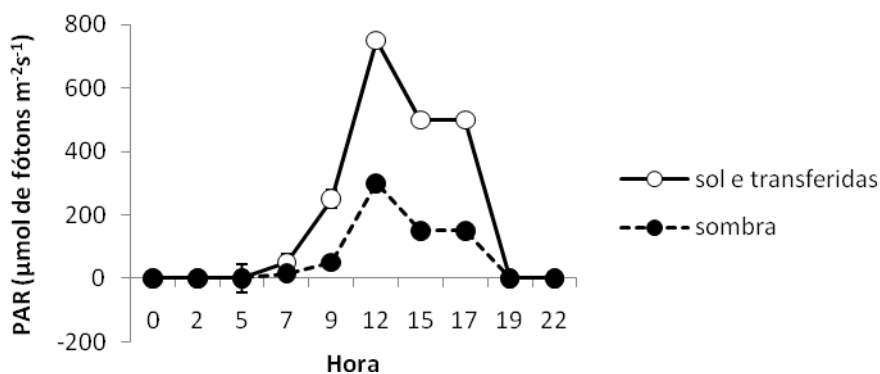


Figura 2: Variação média da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em condições de pleno sol e sombreamento, ao longo do décimo quinto dia de aplicação dos tratamentos. As barras indicam o desvio padrão da média (n=4).

4.1 Trocas gasosas

Todos os indivíduos de *C. hilariana* cultivados em solução controle apresentaram padrão diário de trocas gasosas típico de plantas CAM, com a presença de todas as fases características desse processo (Figuras 3 e 4). Para todas as condições de luminosidade, a fase I CAM ocorreu das 17:30 às 6:30h, sendo observados para as plantas cultivadas ao sol os maiores valores de A , g_s e E , seguidas pelas transferidas e então pelas sombreadas (Figuras 3A, 3B, 3C e 4B). Os maiores valores de C_i/C_a foram observados nas plantas sombreadas, e os menores nas de sol (Figura 4A). Nas plantas de sol e transferidas, fase II CAM ocorreu aproximadamente das 6:30 às 7:30, mas nas sombreadas estendeu-se até às 10:30. A fase III CAM ocorreu de 7:30 às 15h nas plantas de sol e transferidas, e das 10:30 às 16h nas sombreadas. Nesta fase foram registrados os menores valores de A , g_s e E para todas as condições de luminosidade avaliadas. Para as plantas de sol e transferidas, a fase IV CAM ocorreu das 15 às 17:30h, mas para as sombreadas esta fase foi menos definida, não tendo sido observado aumento em A . As plantas em solução salina apresentaram alterações em todas as variáveis de trocas gasosas quando comparadas às plantas em solução controle. Sob as três condições luminosidade avaliadas, os valores de A , g_s , E e C_i/C_a apresentaram pouca variação ao longo do dia, permanecendo a maior parte do tempo próximos de zero (Figuras 3 e 4).

Constatou-se interação significativa entre luz e salinidade para os valores de A , g_s , E , C_i/C_a e WUE às 0:00h. Para todos os tratamentos luminosos, plantas de *C. hilariana* em solução nutritiva controle apresentaram valores de A , g_s e E , maiores que plantas em solução salina. Nas plantas em solução controle, os maiores valores dessas variáveis foram observados nas de sol e os menores nas de sombra, sendo que as transferidas apresentaram valores intermediários entre esses grupos. Entre as plantas em solução salina, maiores A , g_s e E foram observadas em plantas de sol, sendo os valores para as sombreadas e transferidas estatisticamente iguais (Tabela1).

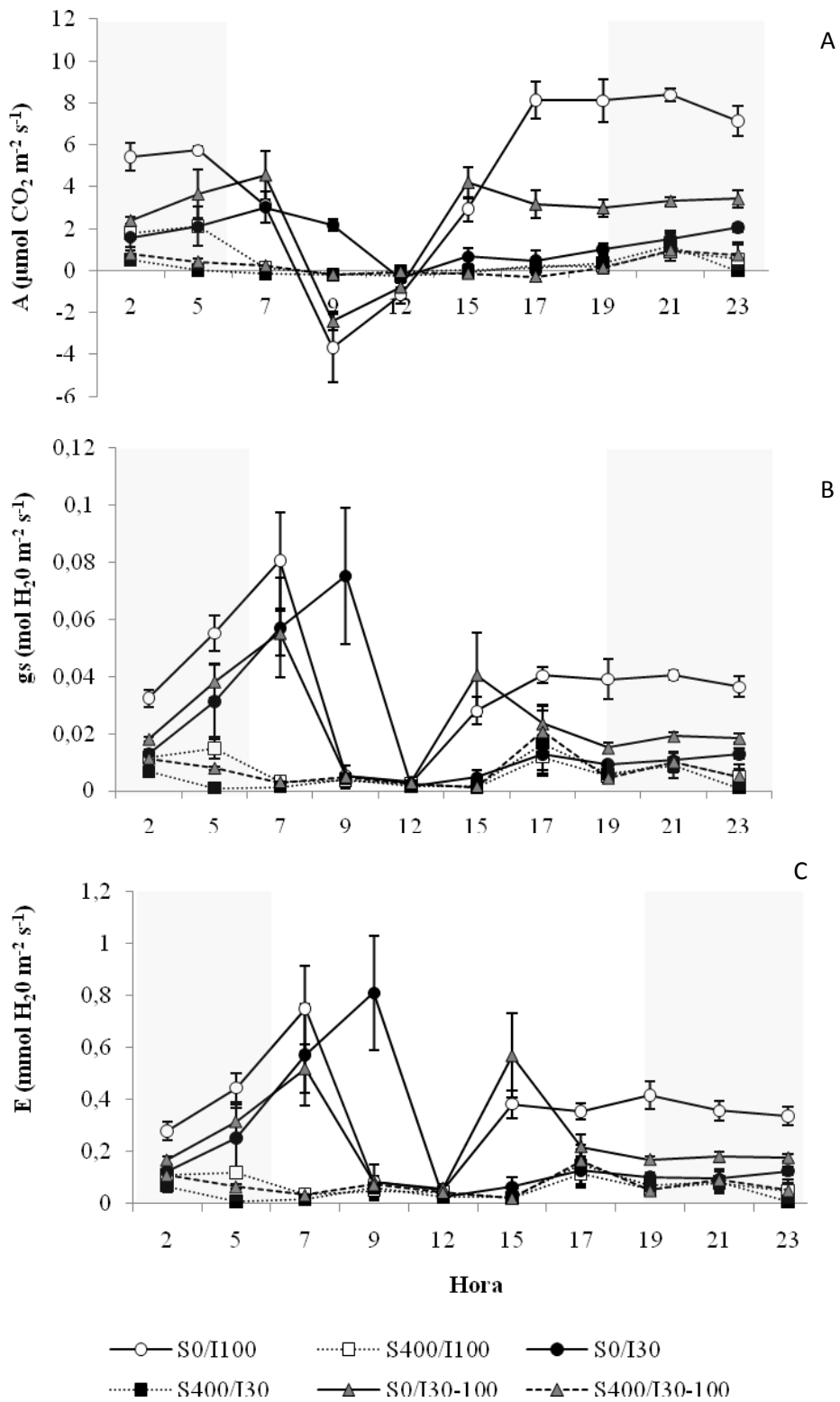


Figura 3: Taxa fotossintética (A) e condutância estomática (B) e taxa transpiratória (C) em *C. hilariana* ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos. Barras indicam o desvio padrão da média (n=4).

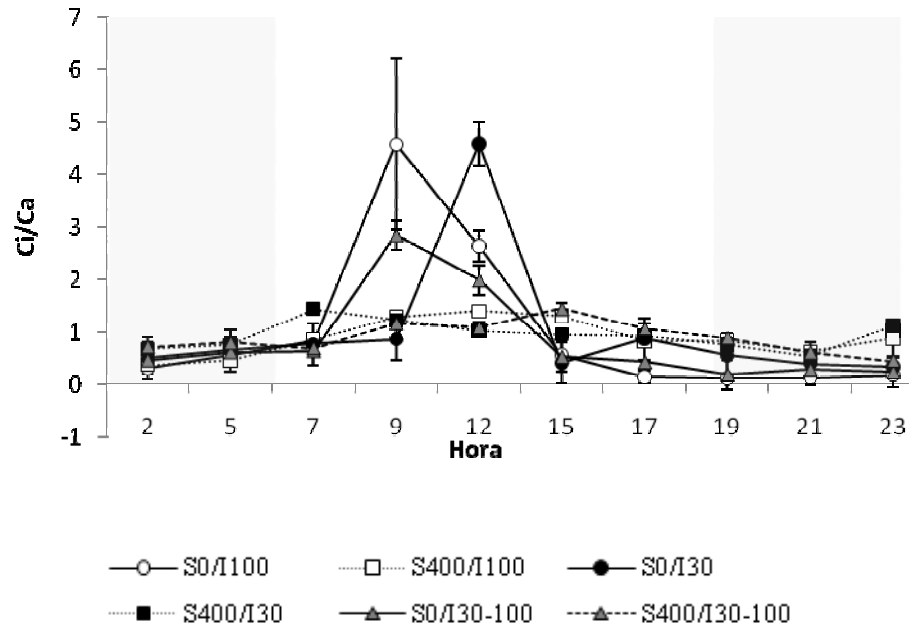


Figura 4: Relação Ci/Ca em *C. hilariana* ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos. Barras indicam o desvio padrão da média (n=4).

Também se observou interação entre as condições de luz e salinidade nos valores de Ci/Ca e WUE registrados às 0:00h. Para a mesma condição de luminosidade, as plantas em solução nutritiva controle apresentaram valores de Ci/Ca menores e de WUE maiores que os das plantas em solução salina. Entre as plantas em solução controle, os valores tanto de Ci/Ca como de WUE foram estatisticamente iguais, independente da condição de luminosidade. Entre as plantas em solução salina, a maior razão Ci/Ca foi observada nas plantas de sombra, sendo os valores para as plantas de sol e transferidas estatisticamente iguais, e a maior WUE foi das plantas de sol, sendo os valores das plantas de sombra e transferidas estatisticamente iguais (Tabela 1).

Tabela 1: Taxa fotossintética (A ; $\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s ; $\text{molH}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$), razão entre as concentrações interna e atmosférica de CO_2 (C_i/C_a), taxa transpiratória (E ; $\text{mmolH}_2\text{Om}^{-2}\text{s}^{-1}$) e eficiência do uso da água (WUE) em indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade. As determinações foram realizadas aproximadamente às 0:00h, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Luminosidade	NaCl	A	g_s	E	C_i/C_a	WUE
sol	0	7,142 Aa	0,036 Aa	0,336 Aa	0,165 Ba	21,258 Aa
	400mM	1,140 Ba	0,009 Ba	0,087 Ba	0,446 Ab	13,113 Ba
sombra	0	2,052 Ac	0,012 Ac	0,125 Ac	0,332 Ba	16,456 Aa
	400mM	-0,630 Bb	0,001 Bb	0,002 Bb	0,993 Aa	-14,048 Bb
transferidas	0	3,422 Ab	0,018 Ab	0,176 Ab	0,222 Ba	19,419 Aa
	400mM	-0,349 Bb	0,003 Bb	0,027 Bb	0,431 Ab	-14,072 Bb

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas para efeitos da salinidade em cada condição luminosa e minúsculas para efeitos da luminosidade em cada condição de salinidade, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Fluorescência da clorofila a

Dentre as plantas de *C. hilariana* em solução controle, os maiores valores de F_v/F_m foram observados nas plantas sombreadas e de sol, apresentando pouca oscilação ao longo do dia (Figura 5A). A transferência da sombra para o sol acarretou em redução de F_v/F_m , observando-se os menores valores entre 12 e 15h, com recuperação dos valores iniciais ao final da tarde.

O tratamento com NaCl acarretou em redução nos valores de F_v/F_m para todas as condições de luminosidade. Nas plantas sombreadas observou-se apenas uma discreta redução, sendo os valores de F_v/F_m mantidos constantes ao longo do dia. Nas plantas de sol e transferidas o decréscimo em F_v/F_m foi mais pronunciado, principalmente de 09 às 15h, recuperando-se ao fim da tarde os mesmos valores observados no início da manhã (Figura 5A).

Em todas as condições de luminosidade avaliadas, a aplicação de NaCl na solução nutritiva resultou em maior F_0 , em ao menos um horário do dia (Figura 5B). Dentre as plantas de *C. hilariana* em solução controle, os maiores valores de F_0 foram observados nas plantas transferidas. O F_0 das plantas sombreadas, embora levemente maior, não diferiu estatisticamente do F_0 das plantas ao sol. Em solução controle, não se observou variações significativas em F_0 ao longo do dia para todas as condições luminosas. Nas plantas em solução salina, os maiores valores de F_0 também foram

observados nas plantas transferidas, atingindo valores máximos no início da manhã e ao final da tarde. Os valores de F_0 das plantas sombreadas foram maiores que os das plantas ao sol (Figura 5B).

Dentre as plantas em solução controle, os menores valores de F_m foram observados nas plantas transferidas, seguidas pelas ao sol e então pelas sombreadas. Nos indivíduos de *C. hilariana* em solução salina, observou-se os menores valores de F_m nas plantas transferidas e naquelas ao sol (Figura 5C), com redução progressiva ao longo do dia e recuperação dos valores iniciais ao final da tarde.

Comparando-se a *ETR* das plantas de *C. hilariana* em solução controle, os maiores valores obtidos referiram-se às plantas de sol, seguidas pelas transferidas e então pelas sombreadas. Para todas as condições de luminosidade, a maior *ETR* foi observada às 12h (Figura 6). As plantas em solução salina apresentaram menores valores de *ETR* quando comparadas àquelas em condição luminosa semelhante, porém em solução controle. Entre elas, os indivíduos cultivados ao sol exibiram os maiores valores de *ETR*. As plantas de sombra e transferidas apresentaram *ETRs* semelhantes, caracterizadas por valores baixos e com pouca variação ao longo do dia (Figura 6).

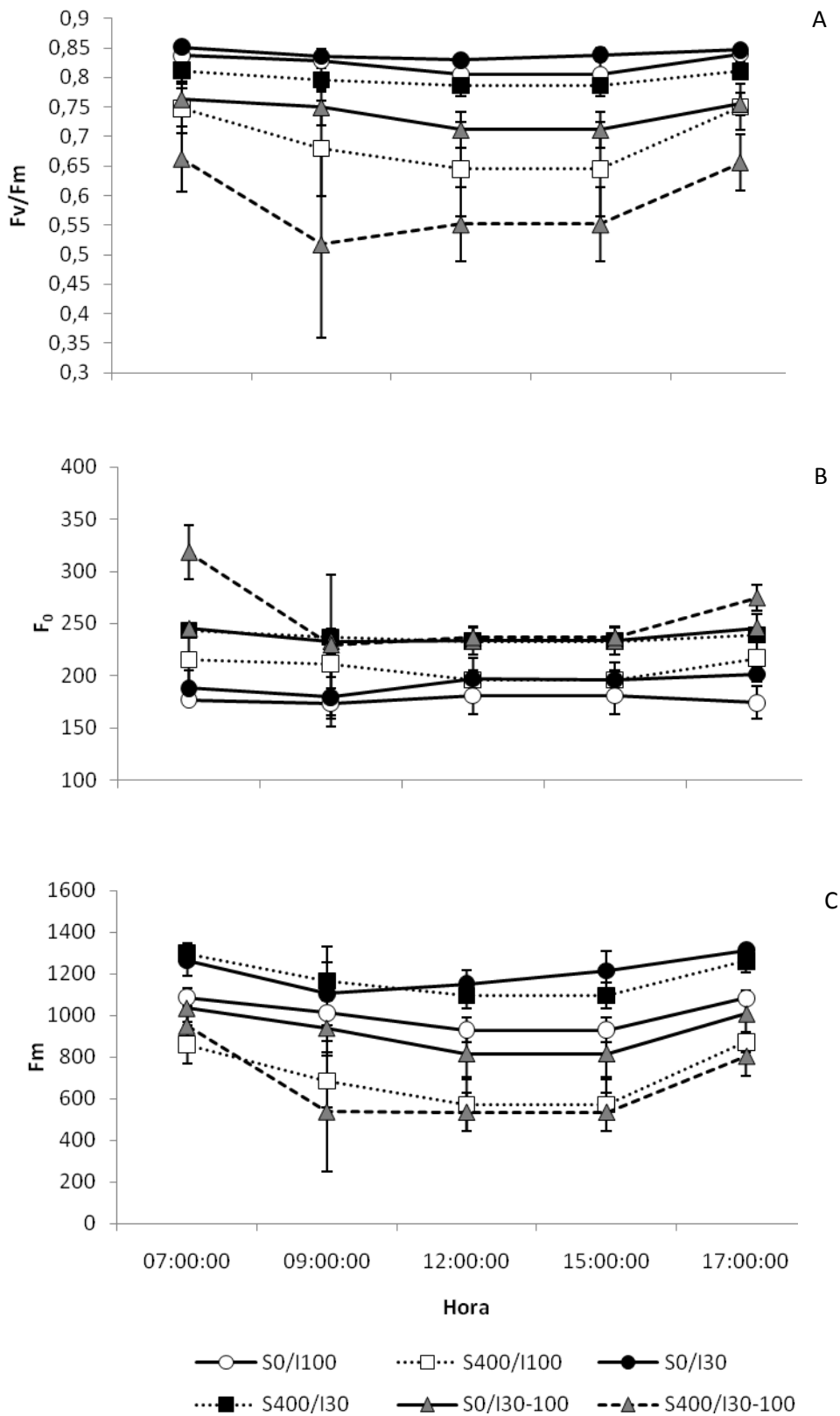


Figura 5: Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m)(A), fluorescência mínima (F_0) (B) e fluorescência máxima (F_m) (C) em *C. hilariana* ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos. Barras indicam o desvio padrão da média (n=4).

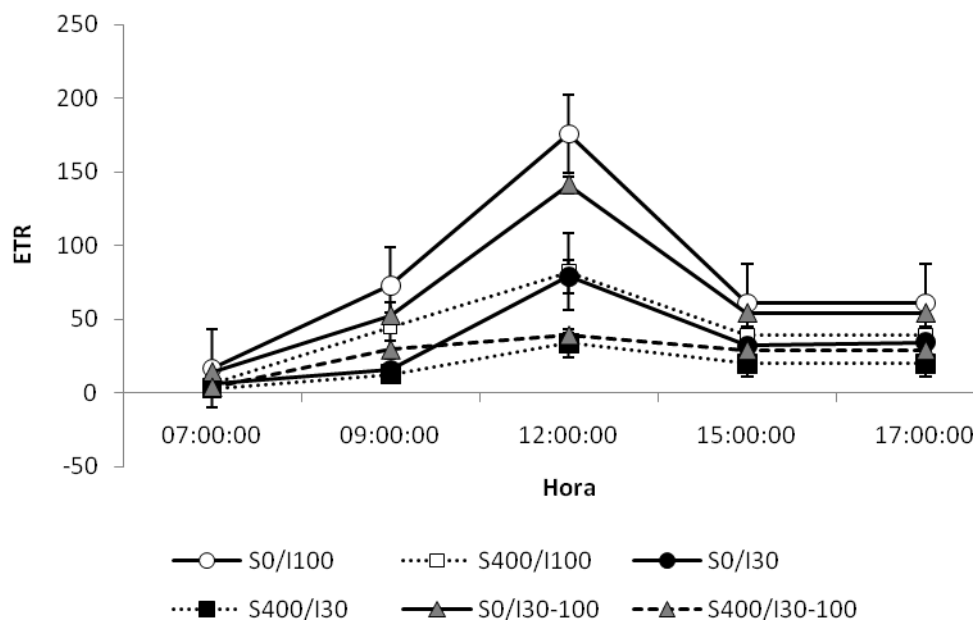


Figura 6: Taxa de transporte de elétrons (ETR) em *C. hilariana* ao longo do dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos. Barras indicam o desvio padrão da média (n=4).

As plantas de *C. hilariana* de sol e transferidas, em solução controle, apresentaram maiores taxas potenciais de fixação de CO₂ em todos os horários do dia (Tabela 2). Para todas as condições de luminosidade, o acréscimo de NaCl na solução resultou em decréscimo nessas taxas. Sob todas as condições de luminosidade e salinidade avaliadas, observou-se uma tendência de aumento desses valores do início da manhã para o meio-dia, com posterior decréscimo ao final da tarde.

Tabela 2: Taxa potencial de fixação de CO₂ (μmol m⁻² s⁻¹) no ciclo de Calvin, em indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Irradiância	Salinidade	Hora	Fixação de CO₂
100%	0	7:00	3,558 Ca
		12:00	37,356 Aa
		18:00	12,992 Ba
100%	400mM	7:00	1,289 Cb
		12:00	17,477 Ab
		18:00	8,355 Bb
30%	0	7:00	1,349 Cb
		12:00	16,807 Ab
		18:00	7,339 Bb
30%	400mM	7:00	0,645 Bc
		12:00	7,181 Ac
		18:00	4,257 Ac
30-100%	0	7:00	3,062 Ca
		12:00	30,043 Aa
		18:00	11,558 Ba
30-100%	400mM	7:00	0,856 Bab
		12:00	8,387 Ac
		18:00	6,234 Abc

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas para o mesmo tratamento em horários diferentes e minúsculas para diferentes tratamentos no mesmo horário, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para todas as condições de luminosidade avaliadas, nas plantas de *C. hilariana* em solução controle, a principal forma de dissipação energética às 7h foi a fotoquímica, observada através do Y(II), não havendo Y(NPQ) (Figura 7). Neste horário, o acréscimo de NaCl à solução nutritiva resultou em altos valores de Y(NPQ) nas primeiras horas da manhã, ocasionando menores valores de Y(II) nas plantas em solução salina, quando comparadas com plantas sob mesma condição de luminosidade em solução controle.

Ao meio dia, para as plantas de sol e sombreadas em solução controle, a principal forma de dissipação energética continuou sendo através do Y(II), embora em menor proporção que às 7h. Nas plantas transferidas em solução controle, a maior parte na energia foi dissipada de forma não regulada, como Y(NO). Neste horário, uma pequena fração da energia absorvida foi dissipada como Y(NPQ) nas plantas ao sol e transferidas em solução controle. As plantas em solução salina continuaram a apresentar

maior $Y(NPQ)$ e menor $Y(II)$ que aquelas sob mesma condição luminosa em solução controle (Figura 7).

As plantas transferidas em solução salina apresentaram os menores valores de $Y(II)$ ao longo de todo o dia. Os maiores valores de $Y(II)$ foram observados nas plantas sombreadas em solução controle. Altos valores de $Y(NO)$ foram observados ao meio dia e às 18h para as plantas de sol e transferidas, independente da condição de salinidade na solução nutritiva. Dentre estas, ao meio dia, o alto $Y(NO)$ foi acompanhado por alto $Y(II)$ nas plantas em solução controle, e por alto $Y(NPQ)$ nas plantas em solução salina. Às 18h, para todas as condições de luminosidade, foram observados nas plantas em solução controle os maiores valores de $Y(NPQ)$ e menores de $Y(II)$ em relação ao restante do dia (Figura 7).

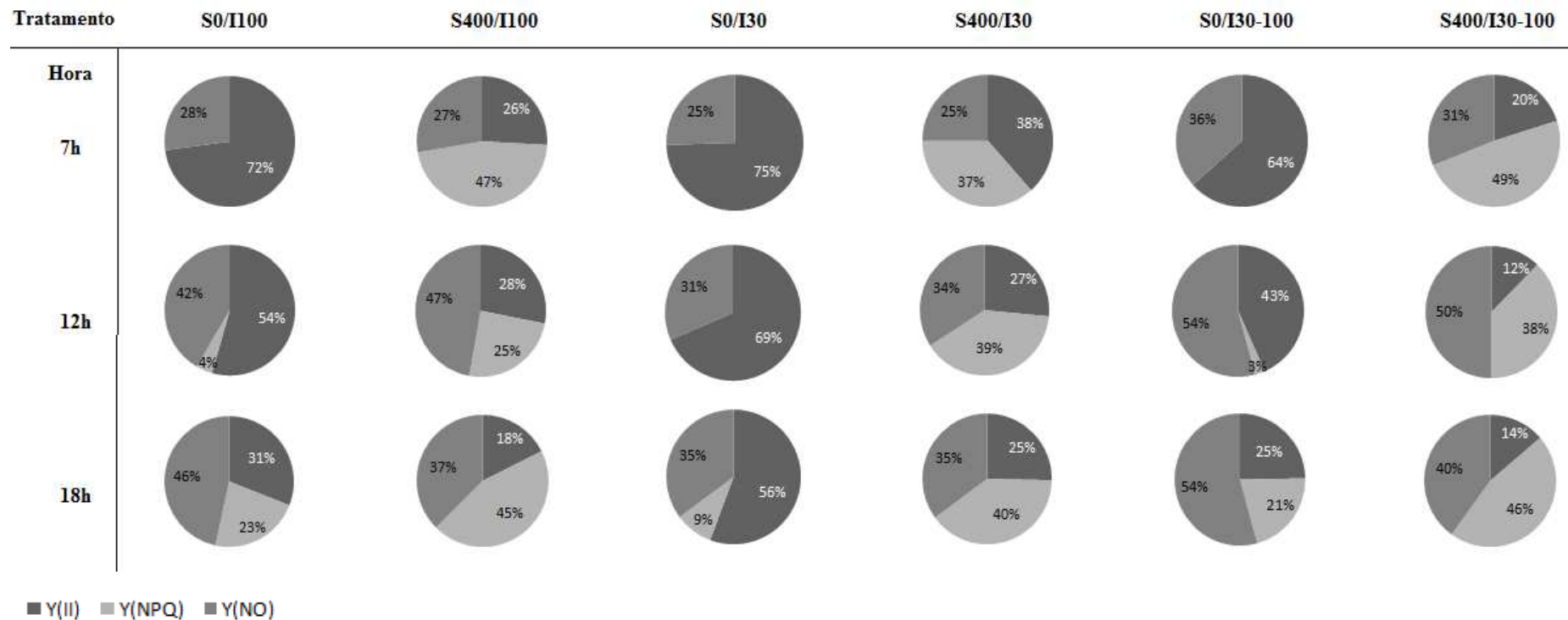


Figura 7. Distribuição percentual da dissipação energética em *C. hilariana*, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos. Y(II): rendimento quântico efetivo do fluxo linear de elétrons no fotossistema II; Y(NPQ): rendimento quântico da dissipação regulada de energia não fotoquímica no fotossistema II; Y(NO): rendimento quântico da dissipação não regulada de energia não fotoquímica no fotossistema II. $Y(II) + Y(NPQ) + Y(NO) = 1$.

4.3 Composição mineral do material vegetal

A interação entre luz e sal foi significativa para os teores de Na^+ , Cl^- e K^+ nas folhas de *C. hilariana* (Tabela 3). Sob mesma condição de luminosidade, as plantas tratadas com NaCl apresentaram maior concentração de Na^+ em seus tecidos foliares em relação àquelas mantidas em solução nutritiva controle. As plantas cultivadas em solução nutritiva controle não apresentaram diferenças estatisticamente significativas na concentração de Na^+ quando cultivadas sobre diferentes condições de luminosidade. Já nas plantas mantidas em solução acrescida de NaCl, as maiores concentrações de Na^+ foram observadas nas de sol, sendo que as sombreadas e transferidas apresentaram as mesmas concentrações.

As plantas de *C. hilariana* cultivadas ao sol tratadas com NaCl apresentaram maiores concentrações de Cl^- em seus tecidos foliares em relação às mantidas em solução nutritiva controle. Já nas plantas mantidas em condições de sombreamento, bem como nas transferidas da sombra para o sol, diferentes níveis de NaCl na solução nutritiva não acarretaram em diferentes concentrações de Cl^- nas folhas. Plantas cultivadas em solução nutritiva controle não apresentaram diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de Cl^- das folhas quando cultivadas sobre diferentes condições de luminosidade. Já nas plantas mantidas em solução acrescida de NaCl, as maiores concentrações de Cl^- foram observadas naquelas crescendo ao sol, sendo que as sombreadas e transferidas apresentaram as mesmas proporções (Tabela 3).

Não foi observada diferença estatística nas concentrações de K^+ das plantas cultivadas ao sol submetidas a diferentes níveis de NaCl na solução nutritiva. Já nas plantas cultivadas sombreadas e nas transferidas, foi observada uma maior concentração de K^+ nos indivíduos cultivados em solução nutritiva com NaCl, quando comparados aos cultivados em solução controle. Plantas cultivadas em solução nutritiva controle não apresentaram diferenças significativas na concentração de K^+ das folhas quando cultivadas sobre diferentes condições de luminosidade. Já nas plantas mantidas em solução acrescida de NaCl, as menores concentrações de K^+ foram observadas nas de sol, sendo que as plantas de sombra e transferidas apresentaram as mesmas concentrações (Tabela 3).

A interação entre luz e sal não foi significativa para as concentrações de Ca^{2+} e Mg^{2+} nos tecidos foliares, bem como não foi detectado efeito significativo das diferentes condições de luz e salinidade (Tabela 3).

Tabela 3: Teores de Na⁺, Cl⁻, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ (mg g⁻¹ matéria seca) nas folhas de indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Irradiância	NaCl	Na⁺	Cl⁻	K⁺	Ca²⁺	Mg²⁺
100%	0	0,008 Ba	0,600 Ba	1,220 Aa	1,570 Aa	0,213 Aa
	400mM	0,197 Aa	0,800 Aa	1,080 Ab	1,718 Aa	0,230 Aa
30%	0	0,010 Ba	0,575 Aa	1,390 Ba	1,610 Aa	0,210 Aa
	400mM	0,051 Ab	0,550 Ab	1,820 Aa	1,670 Aa	0,225 Aa
30-100%	0	0,008 Ba	0,600 Aa	1,345 Ba	1,598 Aa	0,223 Aa
	400mM	0,059 Ab	0,525 Ab	1,725 Aa	1,315 Aa	0,230 Aa

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas para efeitos da salinidade em cada condição luminosa e minúsculas para efeitos da luminosidade em cada condição de salinidade, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.4 Potencial osmótico

A interação entre luz e salinidade foi significativa para os valores observados para potencial osmótico total (Ψ_s) (Tabela 4). Sob mesma condição de luminosidade, as plantas cultivadas em solução nutritiva acrescida de NaCl apresentaram Ψ_s menos negativo que as plantas cultivadas em solução controle. Dentre as plantas cultivadas em solução controle, as de sol apresentaram o menor Ψ_s , seguidas pelas transferidas e então pelas de sombra. Para plantas cultivadas em solução salina, observou-se nas plantas de sol um Ψ_s mais negativo que nas plantas de sombra, sendo que a plantas transferidas não diferiram estatisticamente desses grupos.

Tabela 4: Potencial osmótico total (-MPa) das folhas de indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Irradiância	NaCl	Ψs	
100%	0	1,458	Bc
	400mM	1,148	Ab
30%	0	1,128	Ba
	400mM	1,028	Aa
30-100%	0	1,314	Bb
	400mM	1,104	Aab

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas para efeitos da salinidade em cada condição luminosa e minúsculas para efeitos da luminosidade em cada condição de salinidade, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.5 Pigmentos

A interação entre luz e sal foi significativa para os teores de clorofila *a* (Cla). Plantas de *C. hilariana* cultivadas na sombra e ao sol apresentaram os mesmos teores de Cla estando em solução nutritiva controle ou salina (Tabela 5). Nas plantas transferidas, os níveis de Cla das plantas em solução controle foram maiores que os daquelas em solução salina. Todas as plantas em solução controle apresentaram os mesmos níveis de Cla, independente da condição de luminosidade. Dentre as plantas em solução salina, as plantas cultivadas ao sol e as transferidas apresentaram níveis de Cla mais baixos que os observados nas plantas mantidas na sombra.

Os níveis de clorofila *b* (Clb) foram estatisticamente iguais nas plantas de sol, independente da salinidade. Dentre as de sombra esses níveis foram maiores naquelas em solução salina, e entre as transferidas naquelas em solução controle. Entre as plantas em solução controle, as de sol apresentaram menos Clb que as demais. Em solução salina, os maiores valores foram observados nas plantas de sombra (Tabela 5).

A interação entre luz e salinidade foi significativa para os teores de carotenóides nas folhas de *C. hilariana* (Tabela 5). Nas plantas cultivadas ao sol e à sombra, os níveis de carotenóides foram maiores nas plantas em solução salina que nas plantas em solução controle. Nas plantas transferidas não houve diferença significativa nos teores desses pigmentos entre plantas sob diferentes níveis de salinidade. Nas plantas cultivadas em

solução controle os maiores níveis de carotenóides foram observados nas plantas transferidas da sombra para o sol. Nas plantas em solução salina, por sua vez, os maiores teores de carotenóides estavam presentes nas plantas de sol, sendo os teores observados nas plantas de sombra e nas transferidas estatisticamente iguais.

Houve interação significativa entre luminosidade e salinidade para a relação *Cla/Clb*. Dentre as plantas de *C. hilariana* em solução controle, a maior razão *Cla/Clb* foi observada nas plantas cultivadas à sombra. Nas plantas em solução salina, a razão *Cla/Clb* foi estatisticamente igual para todas as condições de luminosidade. Para as plantas de sol e transferidas, o tratamento com NaCl resultou em redução na razão *Cla/Clb*, que não se alterou nas plantas sombreadas, independentemente da condição de salinidade (Tabela 5).

Tabela 5: Teores de clorofila *a* (*Cla*; $\mu\text{g cm}^{-2}$), clorofila *b* (*Clb*; $\mu\text{g cm}^{-2}$), carotenóides ($\mu\text{g cm}^{-2}$) e razão clorofilaa/clorofilab (*Cla/Clb*) em *C. hilariana* submetida a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Irradiância	NaCl	<i>Cla</i>	<i>Clb</i>	Carotenóides	<i>Cla/Clb</i>
100%	0	7,31 Aa	4,09 Ab	1,87 Bb	1,78 Ab
	400mM	6,92 Ab	4,27 Ab	2,86 Aa	1,61 Ba
30%	0	9,67 Aa	4,67 Ba	1,67 Bb	2,06 Aa
	400mM	9,36 Aa	5,32 Aa	2,10 Ab	1,76 Ba
30-100%	0	8,51 Aa	4,88 Aa	2,20 Aa	1,74 Ab
	400mM	6,06 Bb	3,75 Bb	2,12 Ab	1,62 Aa

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas para efeitos da salinidade em cada condição luminosa e minúsculas para efeitos da luminosidade em cada condição de salinidade, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.6 Suculência

A suculência foliar de *C. hilariana* foi afetada pela existência de interação entre as diferentes condições de luminosidade e salinidade (Tabela 6). Para a mesma condição de luminosidade, as plantas em solução salina apresentaram menor suculência que as plantas em solução controle. Dentre as plantas em solução controle, as de sombra apresentaram os menores valores de suculência, sendo que as de sol e as transferidas

apresentaram valores estatisticamente iguais. Em solução salina, as plantas ao sol apresentaram maior suculência que as plantas mantidas na sombra e transferidas.

Tabela 6: Suculência em folhas de *C. hilariana* ($\text{g H}_2\text{O cm}^{-2}$) submetidas a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Irradiância	NaCl	Suculência
100%	0	0,168 Aa
	400mM	0,153 Ba
30%	0	0,138 Ab
	400mM	0,114 Bb
30-100%	0	0,163 Aa
	400mM	0,105 Bb

Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas para efeitos da salinidade em cada condição luminosa e minúsculas para efeitos da luminosidade em cada condição de salinidade, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

5. DISCUSSÃO

As diferentes condições de luminosidade a que as plantas de *C. hilariana* foram submetidas resultaram em alterações na intensidade e duração de cada fase do ciclo CAM. Na fase I, as maiores taxas de A , g_s , E e menor razão C_i/C_a observadas nas plantas ao sol em relação às sombreadas e transferidas, condizem com o observado por muitos autores para plantas C3 em seus horários de atividade fotossintética (Strauss-Debenedetti e Bazzaz, 1991). As folhas de sol, em geral, exibem maior densidade estomática (Fetcher *et al.*, 1983), o que poderia levar a um aumento no influxo de CO_2 e efluxo de água por unidade de área. Os menores valores de C_i/C_a observados nas plantas ao sol indicam alta atividade metabólica na fixação do carbono, já que os níveis internos de CO_2 mantiveram-se baixos mesmo sob altas taxas de influxo desse gás.

A fase II mais rápida foi observada nas plantas a pleno sol e transferidas, coincidindo com os maiores valores noturnos de A . Essa menor duração da fase II pode ser devida ao início do processo de descarboxilação dos ácidos orgânicos armazenados

na fase I, que levaria ao desenvolvimento de altas concentrações intercelulares de CO₂ que, por sua vez, sinalizam para o fechamento estomático (Littlejohn e Ku, 1985). A NADP: malato desidrogenase é regulada via sistema ferredoxina-tiorredoxina (Buchanan, 1980; Schürmann e Jacquot, 2000) do cloroplasto, sendo reduzida (ativada), na presença de luz, dando início a esse processo (Drincovich *et al.*, 2001). Ao mesmo tempo, a PEPcarboxilase é fosforilada durante o dia, tornando-se inativa na presença ao malato (Vidal e Chollet, 1997) que está sendo exportado dos vacúolos para o citosol. Em contrapartida, as plantas mantidas na sombra, por realizarem menor A na fase I, apresentariam menores taxas de exportação e descarboxilação de ácidos orgânicos. Como consequência, a condutância estomática elevada foi mantida por mais tempo, possibilitando uma fixação de carbono diretamente pela rubisco.

Na fase III, os níveis de CO₂ gerados com a remobilização dos ácidos orgânicos podem ser de 2-60 maiores que os valores atmosféricos (Lüttge, 2002). Essa alta concentração, juntamente com a respiração, foi refletida nos valores negativos de A e altos de C_i/C_a , visto que sob altas pressões intracelulares o CO₂ pode escapar para a atmosfera, ainda que sob baixa g_s (Lüttge, 2006).

Na fase IV, se observou nas plantas ao sol e transferidas, novo aumento em g_s e A ainda na presença de luz, sendo possível a fixação de carbono diretamente pela rubisco. Nas plantas sombreadas não houve aumento expressivo em A. Franco *et al.* (1996) observaram que estômatos de plantas de *C. hilariana* cultivadas sob condições de sombreamento permaneciam fechados por toda a tarde, enquanto plantas ao sol apresentaram abertura estomática ao fim da tarde. Os valores e tendências das variáveis de trocas gasosas observados para as plantas transferidas em solução controle, intermediários entre os de plantas de sol e de sombra, indicam que essas plantas podem estar em processo de aclimatação às novas condições ambientais a que estavam submetidas. Estudos anteriores mostraram grande capacidade de plantas ocorrentes no início dos processos de sucessão em alterarem suas características fotossintéticas como resposta à diferentes ambientes luminosos (Valladares *et al.*, 2002; Dias e Marengo, 2006).

A alteração dos padrões diários de trocas gasosas observados nas plantas em solução salina, independente da condição luminosa, indica uma situação de estresse provocada pelo NaCl, que resultou no fechamento estomático e, conseqüentemente, na inibição de todos os processos de trocas gasosas. Sabe-se que os efeitos da salinidade sobre os processos fotossintéticos devem-se a efeitos osmóticos e/ou iônicos. Acredita-se que,

em situação de estresse salino, o primeiro fator a provocar alterações fisiológicas nas plantas seja o componente osmótico (Munns, 1993), que acarreta em alterações metabólicas de modo similar a um estresse hídrico. Mesmo uma escassez hídrica moderada é suficiente para desencadear a síntese de ácido abscísico nas raízes que, ao ser transportado para as folhas, induz o fechamento estomático (Beardsell e Cohen, 1975).

Quando a absorção da energia luminosa pelos pigmentos fotossintéticos excede a demanda energética para a produção de poder redutor e ATP, a energia em excesso pode ocasionar uma situação de fotoinibição (Demming-Adams e Adams, 1992, Demming-Adams *et al.*, 2006), indicada em muitos casos por valores de F_v/F_m menores que 0,83. Os valores de F_v/F_m observados ao longo do dia nas plantas a pleno sol e sombreadas, em solução nutritiva controle, mostram que, nesta situação, não houve dano fotoinibitório. Já nas plantas transferidas em solução controle, esses valores indicam uma situação de fotoinibição crônica, visto que o F_v/F_m observado ao amanhecer é menor que 0,83. Esse valor mostra que o período da noite não foi suficiente para que a planta se recuperasse de uma situação fotoinibitória anterior. Ao longo do dia ocorreu um decréscimo ainda maior de F_v/F_m , mas a retomada dos valores iniciais ao fim da tarde indica a ocorrência de fotoinibição dinâmica. Tratando-se de fluorescência, fotoinibição refere-se tanto a estratégias fotoprotetoras como a danos irreversíveis ao centro de reação do FSII (Lovelock *et al.*, 1994), podendo a fotoinibição atuar de modo a impedir a ocorrência de danos maiores. No presente experimento, plantas de *C. hilariana* antes de serem transferidas para situação de pleno sol, desenvolveram-se sob condições de sombreamento. Plantas de sol expostas altas intensidades luminosas costumam exibir grande capacidade de dissipar energia na forma de calor pelo ciclo das xantofilas, ao mesmo tempo em que conseguem utilizar boa parte da energia em processos fotoquímicos. Por outro lado plantas de sombra quando expostas às altas irradiâncias apresentam reduzida eficiência na dissipação energética regulada estando mais sujeitas à fotoinibição (Demming-Adams *et al.*, 1995).

O declínio em F_v/F_m pode estar associado tanto a um aumento em F_0 como a uma redução em F_m . O aumento em F_0 decorrente tanto da aplicação do NaCl na solução nutritiva como da transferência das plantas em solução controle da sombra para o sol, pode ser associado à fotoinibição crônica, com dano à proteína D1 (Xu e Wu, 1996; Thiele e Krause, 1996). Nas plantas transferidas em solução salina, além dessa situação,

observa-se uma variação em F_0 ao longo do dia, mostrando reversibilidade de parte do dano, indicando existir também fotoinibição dinâmica (Franklin *et al.* 1992).

Os menores valores de F_m observados nas plantas de sol e transferidas em solução controle, quando comparadas às sombreadas, podem ser atribuídos à dissipação térmica não-fotoquímica independentemente da formação de um gradiente de pH (Gilmore e Ball, 2000; Demming-Adams *et al.*, 2006), ou seja, de forma não regulada. Entre plantas superiores, a dissipação independente de pH é mais pronunciada em plantas perenes sob prolongada exposição à altas irradiâncias, podendo estar associada à degradação da proteína D1e do centro de evolução de oxigênio, assim como ao acúmulo de proteínas relacionadas ao estresse (Zarter *et al.*, 2006; Demming-Adams *et al.*, 2006). Adicionalmente, as plantas transferidas em solução controle também podem apresentar redução de F_m em decorrência de dano fotoinibitório decorrente da mudança de ambiente luminoso. A redução mais acentuada em F_m observada nas plantas ao sol e transferidas em solução salina pode ser atribuída, além dos fatores citados acima, à maiores danos ao FS II (Dias e Marengo, 2006) decorrente da combinação dos estresses salino e luminoso, caracterizando ampla ocorrência de fotoinibição crônica e dinâmica.

De acordo com as equações utilizadas para calcular a distribuição da energia absorvida entre diferentes formas de dissipação em plantas adaptadas ao escuro (Genty *et al.*, 1996), pode-se assumir o $Y(II)$ como sendo a fração da energia efetivamente direcionada para a fotoquímica a partir do FS II. O $Y(NPQ)$ corresponde à parte da energia que é dissipada de forma regulada, compreendendo o decréscimo em F_m pela ativação controlada de processos dissipativos na presença de luz, mais precisamente do ciclo das xantofilas. O $Y(NO)$, por sua vez, é referente a todos os processos não-fotoquímicos contínuos de dissipação energética, ou seja, que não dependem de um processo de ativação/regulação pela luz. Dentre esses processos, estão a fluorescência, o decaimento energético não radiativo nos pigmentos fotossintéticos, além de processos de cinética de relaxamento lenta, como a dissipação devido ao fechamento ou dano dos centros de reação do FS II, nos processos fotoinibitórios (Kramer *et al.*, 2004; Klughammer e Schreiber, 2008) e a dissipação térmica independente de pH (Demming-Adams *et al.*, 2006).

Plantas de *C. hilariana* em solução controle apresentaram alto $Y(II)$ nas primeiras horas da manhã visto que, sob baixas irradiâncias em situação não estressante, a fixação de carbono no Ciclo de Calvin é capaz de consumir a maior parte do NADPH e ATP produzidos nos cloroplastos. Altas concentrações internas de CO_2 , ao manterem a

rubisco próxima à saturação por substrato, promovem alta demanda por poder redutor e ATP no processo de fixação pelo Ciclo de Calvin, atuando de forma protetora sob a maquinaria fotossintética. Dessa forma, minimizam a fotorrespiração e a fotoinibição em períodos de altas irradiâncias (Adams e Osmond, 1988; Lüttge, 2002). De fato, para todas as condições de luminosidade a que as plantas de *C. hilariana* em solução controle foram submetidas, observaram-se na fase III altos valores de Y(II). Uma maior proporção da luz que chegou às plantas de *C. hilariana* sombreadas foi usada na fotoquímica, já que em condições de sombreamento é pouco provável que haja dano por excesso de energia nos centros de reação dos fotossistemas. Em plantas expostas a altas irradiâncias, estratégias de defesa fazem-se necessárias, a fim de garantir a dissipação da energia que supera a capacidade de dreno dos eventos fotoquímicos (Niyogi *et al.*, 2005, Adams *et al.*, 2006). No presente estudo, embora em muitos momentos do dia os valores de Y(II) tenham sido maiores nas plantas de sombra que nas de sol e transferidas, esses valores não refletem maior fixação de CO₂ no Ciclo de Calvin, o que pode ser constatado ao se observar os menores valores de ETR.

As plantas de *C. hilariana* sombreadas apresentaram apenas um acréscimo moderado no Y(NPQ) e Y(NO). Para as plantas de sol e transferidas esse acréscimo foi mais expressivo. Os valores de Y(NPQ) e Y(NO) das plantas transferidas, embora menores e maiores, respectivamente, que os observados para as plantas de sol, foram muito próximos destes valores. Com o passar do dia, na medida em que as reservas de ácidos orgânicos são esgotadas em plantas CAM, a demanda por ATP e poder redutor nos processos fotossintéticos decai, atuando então outras formas de dissipação energética. Altos valores de Y(NPQ) indicam uma alta capacidade fotoprotetora, enquanto altos valores de Y(NO) refletem a inabilidade da planta em se proteger de forma regulada dos danos por excesso de energia (Klughammer e Schreiber, 2008). O menor aumento de Y(II) nas plantas de sol foi devido, principalmente, à dissipação energética de forma controlada pelo ciclo das xantofilas, como comprova o elevado Y(NPQ) para essas plantas. Essa estratégia protegeu as plantas de sol do estresse oxidativo, o que pode ser confirmado pelos maiores valores de F_v/F_m dessas plantas em relação às transferidas, que estavam expostas às mesmas condições de radiação. Essas plantas, por terem se desenvolvido sob condições de sombreamento, possivelmente não apresentavam estratégias fotoprotetoras bem desenvolvidas, dissipando a maior parte da energia de forma não controlada, Y(NO), e apresentando, conseqüentemente, maior susceptibilidade à fotoinibição.

Ainda que de forma menos eficiente, as plantas transferidas apresentaram estratégias de dissipação energética mais próximas às das plantas de sol que das sombreadas, minimizando a ocorrência de estresse oxidativo na nova condição de luminosidade. Dessa forma, a retomada, ao fim do dia, dos valores de F_v/F_m observados ao amanhecer, pode atribuir o aumento em $Y(NO)$ ao longo do dia a um processo fotoinibitório dinâmico, que acaba por exercer função protetora da maquinaria fotossintética. Nas plantas de sol e transferidas, o aumento do $Y(NO)$ ao longo do dia pode também ser devido à dissipação térmica não regulada, caso esse processo esteja ocorrendo de forma independente do pH. Ambos os fatores descritos podem ter levado à redução nos valores de F_m , colaborando para o aumento em $Y(NO)$, principalmente nas plantas transferidas. Caso o aumento do $Y(NO)$ ao longo do dia fosse devido unicamente à fotoinibição dinâmica, após a adaptação ao escuro por 30 minutos não seriam observados valores de F_v/F_m semelhantes aos do amanhecer, fato que ocorre nas plantas de sol em solução controle. Adams *et al.* (1999) observaram que, em espécies de sub-bosque, grande proporção da energia absorvida só foi direcionada para dissipação térmica em situação de grande incidência de radiação. Sob condições de sombreamento, mesmo na presença de zeaxantina, a maior parte da energia foi direcionada para a fotoquímica, não sendo a presença dessa xantofila limitante para a assimilação de carbono.

Os altos valores de $Y(NPQ)$ observados para as plantas de *C. hilariana* em solução salina no início da manhã indicam que, sob essa situação de estresse, grande parte da energia é dissipada de forma regulada, de modo a minimizar o excesso de energia de excitação que poderia desencadear estresse oxidativo. Winter *et al.* (1990) observaram, na espécie CAM *Clusia rosea*, um rápido incremento nos níveis de zeaxantina nas primeiras horas da manhã, possibilitando um aumento no $Y(NPQ)$.

Como as plantas em solução salina apresentaram baixa taxa fotossintética, as reservas de ácidos orgânicos rapidamente se esgotaram, cessando assim a demanda por poder redutor e ATP produzidos nos cloroplastos. Assim, o $Y(II)$ permaneceu baixo o restante do dia, sendo um pouco maior nas plantas de sombra que, por receberem pouca energia luminosa, estariam utilizando uma maior fração dessa energia na fotoquímica.

As plantas de *C. hilariana* mantidas em solução controle apresentaram oscilação nos valores de ETR ao longo do dia paralela à variação da PAR, indicando grande aproveitamento da luz incidente em processos fotoquímicos. As plantas transferidas apresentaram ETR levemente menor, mas estatisticamente igual à daquelas ao sol. Este

fato indica a ocorrência de processo de aclimação das plantas à nova condição luminosa, com alto fluxo de elétrons direcionados aos processos fotoquímicos.

O decréscimo nos valores de ETR decorrentes da aplicação do NaCl na solução refletiram a inabilidade das plantas de *C. hilariana* em manterem, sob essas condições, o fluxo normal da cadeia de transporte de elétrons dos cloroplastos. Danos ao FS II decorrentes de processos fotoinibitórios, assim como baixa taxa de drenagem de elétrons para a produção de ATP e NADPH, podem acarretar em redução do transporte de elétrons (Ghannoum *et al.*, 2003). As plantas em solução salina apresentaram baixas taxas de assimilação de CO₂ no período noturno, possuindo ao longo do dia menor disponibilidade de substrato para a carboxilação pela rubisco. Além disso, a rubisco pode ter sua atividade e abundância afetadas por um possível estresse osmótico (Yordanov *et al.*, 2000) reduzindo assim a demanda por poder redutor e ATP.

As taxas potenciais de fixação de CO₂ variaram da mesma forma que a ETR, provavelmente devido aos mesmos motivos, assim como observado por Franco *et al.*, 1996. Ainda assim é um dado pertinente, por permitir uma melhor visualização de quão grandes são as taxas potenciais de fixação de CO₂ por *C. hilariana*. Determinações desses valores em situação de campo (dados não publicados) mostram taxas similares. Os valores observados de ETR, taxa potencial de fixação de CO₂, eficiência do uso da água e suculência ajudam a compreender como a fotossíntese CAM sustenta, em *C. hilariana*, o crescimento secundário de árvores que chegam a mais de 6m de altura.

Embora as plantas em solução salina tenham absorvido mais sódio que aquelas em solução controle, os valores de Na⁺ observados nas folhas das plantas sob todas as condições de luminosidade foram baixos, não sendo suficientes para provocar efeitos tóxicos. O mesmo vale para os níveis máximos de cloro, observados nas plantas de sol em solução salina. A presença de NaCl em solução nutritiva também não provocou redução na absorção de K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺, inexistindo, portanto, deficiência desses elementos nas plantas em solução salina.

Baseado nesses resultados conclui-se que então que os efeitos do tratamento com NaCl tenha sido de caráter osmótico. De fato, os valores de potencial osmótico observados nas plantas em solução salina foram menos negativos que o potencial osmótico da solução acrescida de NaCl. A alta concentração de NaCl na solução nutritiva causou uma redução do seu potencial osmótico e conseqüentemente hídrico. Nestas circunstâncias, a água e os nutrientes presentes na solução nutritiva deixam de ser disponíveis para as plantas caso não se estabeleça um gradiente de potencial hídrico

favorável à absorção (Hazegawa *et al.*, 2000; Munns, 2002). Caso este gradiente não se estabeleça, a planta apresentará sintomas de estresse por escassez hídrica, mesmo estando em sistema hidropônico. Os valores de potencial osmótico e composição química indicaram também que as plantas sob estresse salino não foram capazes de ajustar osmoticamente a fim de restabelecer um gradiente de potencial hídrico favorável à absorção de água e nutrientes. Como consequência da drástica diminuição do influxo de água para os tecidos vegetais, ocorre também a redução ou até mesmo o impedimento da absorção dos nutrientes da solução nutritiva, assim como do NaCl (Munns, 2002). Dessa forma, o não ajustamento osmótico poderia, em curto prazo, atuar como um impedimento a absorção excessiva de sais, evitando assim os efeitos tóxicos decorrentes do seu excesso nos tecidos vegetais. Os menores valores de potencial osmótico observados nas plantas em solução controle devem-se possivelmente às maiores quantidades de ácidos orgânicos acumulados por essas plantas no período noturno (Lüttge, 1986), o que explica também os valores mais negativos das plantas sol e menos negativos das plantas sombreadas.

Uma das consequências do estresse osmótico, conforme acima descrito, pode ser o estresse oxidativo, com produção de espécies reativas de oxigênio que podem levar à degradação de pigmentos. A aplicação de NaCl na solução nutritiva levou à degradação de *Cl_a* e *Cl_b* somente das plantas transferidas, indicando a maior susceptibilidade deste grupo aos danos fotoinibitórios.

Dentre as plantas em solução controle, a maior razão *Cl_a/Cl_b* das plantas de sombra representa maior investimento em absorção de energia luminosa, adaptação adequada ao ambiente sombreado (Murchie Horton, 1997; Anderson, 1986). Os valores das plantas transferidas, intermediários a esses grupos, indicam um processo de aclimação das plantas de *C. hilariana* da antiga condição de luminosidade para a nova. Nas plantas de sol e sombra em solução salina observou-se decréscimo da razão *Cl_a/Cl_b*, o que pode ser explicado pela degradação de *Cl_a* sob situação de estresse oxidativo, potencializado pelo estresse osmótico. As plantas transferidas apresentaram os mesmos valores para essa razão em solução controle e salina, possivelmente devido à degradação proporcional dos dois tipos de clorofila observados na situação de estresse luminoso associado ao estresse osmótico.

Observou-se aumento dos níveis de carotenóides nas plantas de *C. hilariana* sob estresse osmótico, possivelmente relacionado a uma linha de defesa desenvolvida pelas plantas para evitar e combater o estresse oxidativo. Os altos níveis de carotenóides

observados nas transferidas, tanto em solução controle como salina, indicam a ativação dessa estratégia de proteção sob condições de estresse luminoso. Os baixos teores de carotenóides presentes nas plantas sombreadas mostram não haver gasto energético na produção desses pigmentos sob condições de baixas irradiâncias.

O acúmulo noturno de malato nos vacúolos de plantas CAM tem conseqüências osmóticas, dando suporte ao acúmulo de água nos tecidos foliares (Eller *et al.*, 1992). Dentre as plantas em solução controle, aquelas ao sol e transferidas, que apresentaram maiores taxas fotossintéticas que as sombreadas, apresentaram também maior suculência. Para todas as condições de luminosidade, as plantas em solução controle apresentaram maior suculência que aquelas em solução salina. Esse fato deve-se tanto ao acúmulo de água como conseqüência da maior síntese de malato pelas plantas em solução controle, como também pela perda de turgescência nas plantas em solução salina, como conseqüência do estresse osmótico (Mühling e Lauchli, 2002).

6. CONCLUSÕES

As diferenças observadas entre os padrões fotossintéticos de indivíduos de *Clusia hilariana* mostraram que esta espécie, embora estritamente CAM, exibiu grande plasticidade em seus padrões fotossintéticos como resposta às variações nas condições de luminosidade e salinidade. Esta plasticidade foi evidenciada, principalmente, por alterações na duração e intensidade de cada fase do ciclo CAM.

As metodologias não invasivas de medição das trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* mostraram-se eficientes para a caracterização do ciclo fotossintético de *C. hilariana*, bem como para a identificação de situações estressantes, desde que sejam utilizadas em conjunto. Porém, para confirmar os reais mecanismos responsáveis pelas variações observadas nessas medições, são necessárias análises destrutivas mais detalhadas.

O não desenvolvimento de ajuste osmótico em *C. hilariana* poderia, em curto prazo, atuar como um impedimento a absorção excessiva de sais, evitando assim os efeitos tóxicos decorrentes do seu excesso nos tecidos vegetais. Dessa forma, o estresse osmótico ocorre preferencialmente ao estresse iônico.

Constatou-se também a existência de interação entre os efeitos dos estresses osmótico e luminoso no metabolismo de *C. hilariana*, resultando em potencialização dos danos fotoinibitórios quando comparados aos efeitos dos estresses isolados. As plantas desenvolvidas a pleno sol apresentaram alterações metabólicas que permitiram maior tolerância às condições de alta irradiância e salinidade que as plantas desenvolvidas à sombra e expostas a esses estresses. Embora as plantas de *C. hilariana* lancem mão de estratégias que poderiam levar à aclimatação sob situação estressante, para os estresses combinados estas estratégias não se mostram tão eficientes quanto para estresses individuais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams WW III, Osmond CB (1988) Internal CO₂ supply during photosynthesis of sun and shade grown CAM plants in relation to photoinhibition. *Plant Physiology* 86:117-123.
- Adams WW III, Demmig-Adams B, Logan BA, Barker DH, Osmond CB(1999) Rapid changes in xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and photosystem II efficiency in two vines, *Stephania japonica* and *Smilax australis*, growing in the understory of an open *Eucalyptus* forest. *Plant, Cell& Environment*. 22: 125–136.
- Anderson JM (1986) Photoregulation of composition, function and structure of thylakoid membranes. *Annual Review of Plant Physiology*. 37: 93-136.
- Barker DH, Marszalek J, Zimpfer JF, Adams WW. (2004) Changes in photosynthetic pigment composition and absorbed energy allocation during salt stress and CAM induction in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Function Plant Biol*. 31: 781–787.
- Bates L, Waldren RP, Teare ID. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*. 39: 205-207.
- Beardsell MF, Cohen D (1975) Relationships between leaf water status, abscisic acid levels, and stomatal resistance in maize and sorghum. *Plant Physiology*. 56: 207-212.

- Bilger W, Schreiber U, Bock M. (1995). Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia*. 102: 425-432.
- Bowler C, Van Montagu M, Inzé D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 43: 83-116.
- Broetto F, Duarte HM, Lüttge U. (2007) Responses of chlorophyll fluorescence parameters of the facultative halophyte and C₃-CAM intermediate species *Mesembryanthemum crystallinum* to salinity and high irradiance stress. *Journal of Plant Physiology*. 164: 904-912.
- Buchanan BB (1980) Role of light in the regulation of chloroplasts enzymes. *Annual Review of Plant Physiology*. 31: 341-394.
- Carlberg I, Mannervik B (1985) Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*. 113: 484–495.
- Del Longo OT, Gonzales CA, Pastori GM, Trippi VS (1993) Antioxidant defenses under hypergenic and hyper osmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant Cell Physiology* 34: 1023–1028.
- Demmig-Adams B, Adams III, WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 43: 599-626.
- Demmig-Adams B, Adams III WW, Logan BA, Verhoeven AS (1995) Xanthophyll cycle-associated energy dissipation and flexible PSII efficiency in plants acclimated to light stress. *Australian Journal of Plant Physiology* .22: 249-260.
- Demmig-Adams B, Ebbert V, Mellman DL, Much KE, Schaffer L, Funk C, Zarter CR, Adamska I, Jansson S, Adams III, WW (2006) Modulation of PsbS and flexible versus sustained energy dissipation by light environment in different species. *Physiologia Plantarum*. 127:670-680.
- Dias ATC, Zaluar HLT, Ganade G, Scarano FR. (2005). Canopy composition influencing plant patch dynamics in a Brazilian sandy coastal plain. *Journal of Tropical Ecology*. 21: 343–347.
- Dias ATC, Scarano FR (2007). *Clusia* as a Nurse Plant. In: Lüttge U (ed) *Clusia: A woody neotropical genus of remarkable plasticity and diversity*. *Ecological Studies* vol. 194. Springer, Heidelberg.

- Dias DP, Marengo RA (2006) Photoinhibition of photosynthesis in *Mimosa guianensis* and *Swietenia macrophylla* inferred by monitoring the initial fluorescence. *Photosynthetica*. 44: 235-240.
- Drincovich MF, Casati P, Andreo CS (2001) NADP-malic enzyme from plants: A ubiquitous enzyme involved in different metabolic pathways. *FEBS Letters*. 490:1-6.
- Eastmond PJ, Ross JD (1997) Evidence that the induction of Crassulacean acid metabolism by water stress in *Mesembryanthemum crystallinum* (L.) involves root signalling. *Plant Cell Environment*. 20: 1559–1565.
- Ehleringer J. (1981). Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants. *Oecologia*. 102: 366-370.
- Fetcher N, Strain BR, Oberbauer SF (1983) Effects of light regime on the growth, leaf morphology, and water relations of seedlings of two species of tropical trees. *Oecologia*. 58: 314-319.
- Franco AC, Haag-Kerwer A, Herzog B, Grams TEE, Ball E, Mattos EA, Scarano F, Garcia MA, Mantovani A, Lüttge U (1996) The effect of light levels on daily patterns of chlorophyll fluorescence and organic acid accumulation in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees*. 10: 349–355.
- Franklin LA, Levavasseur G, Osmond CB, Henley WJ, Ramus J (1992) Two components of onset and recovery during photoinhibition of *Ulva rotundata*. *Planta*. 186: 399-408.
- Ghannoum O, Conroy JP, Driscoll SP, Paul MJ, Foyer CH, Lawlor DW (2003) Non-stomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C4 grasses. *New Phytologist* . 159:835–844.
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*. 990: 87-92.
- Gilmore AM, Ball MC (2000) Protection and storage of chlorophyll in overwintering evergreens. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 97: 11098–11101.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu J-K., Bohnert H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51: 463-99.

- Havir EA, McHale NA (1987) Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* . 84: 450–455.
- Herzog B, Hoffmann S, Hartung W, Lüttge U. (1999). Comparison of photosynthetic responses of the sympatric tropical C3 species *Clusia multiflora* H.B.K. and the C3-CAM intermediate species *Clusia minor* L. to irradiance and drought stress in a phytotron. *Plant Biology* 1: 460–470.
- Hoagland DR, Arnon DI. (1938)The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: Univ. of California. Circular of Agricultural Experimentation Station. 347: 1–39.
- Hohorst HJ (1965) L-(–)-Malate. Determination with malic acid dehydrogenase and DNP. In: Bergmeyer HU (ed) *Methods of enzymatic analysis*. Academic, New York. 328–332.
- Holtum JAM, Aranda J, Virgo A, Gehrig HH, Winter K (2004) $\delta^{13}\text{C}$ values and crassulacean acid metabolism in *Clusia* species from Panama. *Trees* 18: 658–668.
- Klughammer C, Schreiber U (2008) Complementary PSII quantum yield calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and saturation pulse method. *PAM Application*.1: 27-35.
- van Kooten O, Snel JFH (1990) The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*. 25:147-150.
- Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE (2004) New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research*. 79: 209-218.
- Krause GH, Weis E (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 42: 313-349.
- Laisk A, Loreto F (1996) Determining photosynthetic parameters from leaf CO_2 exchange and chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology*. 110: 903-912.
- Littlejohn RO, Ku MSB (1985) Light and Temperature Regulation of Early Morning Crassulacean Acid Metabolism in *Opuntia erinacea* var *Columbiana* (Griffiths) L.Benson. *Plant Physiology*. 77: 489-491.
- Loreto F, Centritto M, Chartzoulakis K (2003) Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. *Plant, Cell and Environment*. 26: 595-601.
- Lovelock CE, Jebb M, Osmond CB (1994) Photoinhibition and recovery in tropical plant species: response to disturbance. *Oecologia*. 97:297-307.

- Lüttge U (1986) Nocturnal water storage in plants having crassulacean acid metabolism. *Planta*. 168: 287-289.
- Lüttge U (2002) CO₂-concentrating: consequences in crassulacean acid metabolism. *Journal of Experimental Botany* 53: 2131–2142.
- Lüttge U (2006) Photosynthetic flexibility and ecophysiological plasticity: questions and lessons from *Clusia*, the only CAM tree, in the neotropics. *New Phytologist* 171: 7–25.
- Lüttge U (2007) Photosynthesis. In: Lüttge U (ed) *Clusia: A woody neotropical genus of remarkable plasticity and diversity*. Ecological Studies vol 194. Springer, Heidelberg.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA. (1989). Avaliação do estado nutricional das plantas. Piracicaba: Potafós. 201p.
- Mantovani A (1999) A method to improve leaf succulence quantification. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 42:9-14.
- Mattos de EA, Grams TEE, Ball E, Franco AC, Haag-Kerwer A, Herzog B, Scarano FR, Lüttge U (1997) Diurnal patterns of chlorophyll a fluorescence and stomatal conductance in species of two types of coastal tree vegetation in southeastern Brazil. *Trees*. 11: 363-369.
- Möllering H (1985) Citrate. Determination with citrate lyase, MDH and LDH. In: Bergmeyer HU (ed) *Methods of enzymatic analysis*, 3rd ed. Academic, New York, pp 2–12.
- Mühling KH, Lauchli A (2002) Effect of salt stress on growth and cation compartmentation in leaves of two plants species differing in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*.159:137-146.
- Munns R (1993) Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environment*. 16: 15-24.
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*. 25: 239-250.
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 651-81.
- Murchie EH, Horton P (1997) Acclimation of photosynthetic to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. *Plant, Cell and Environment*. 20:438-448.

- Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867–880.
- Niyogi KK, Li XP, Rosenberg V, Jung HS (2005) Is PsbS the site of non-photochemical quenching in photosynthesis? *Journal of Experimental Botany.* 56: 375–382.
- Osmond CB (1978) Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology.* 29: 379-414.
- Oxborough K, Baker NR. (1997). An instrument capable of imaging chlorophyll a fluorescence from intact leaves at very low irradiance and at the cellular and sub-cellular levels of organisation. *Plant, Cell and Environment.* 20: 1473-1483.
- Pereira EG, Oliva MA, Kuki KN, Cambraia J. (2009) Photosynthetic changes and oxidative stress caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. *Trees.* 23: 277-285.
- Scarano FR (2002) Structure, function and floristic relationships of plants communities in stressful habitats marginal to Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* 90: 517–524.
- Schürmann P e Jacquot JP (2000) Plant thioredoxin systems revisited. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 51:371-400.
- Shevyakova NI, Stetsenko LA, Meshcheryakov AB, Kuznetsov VV (2002) The activity of the peroxidase system in the course of stress-induced CAM development. *Russian Journal of Plant Physiology.* 49: 598–604.
- Strauss-Debenedetti S, Bazzaz FA (1991) Plasticity and acclimation to light in tropical Moraceae of different successional positions. *Oecologia.* 87: 377-387, 1991
- Tarhanen S, Metsärinne S, Holopainen T, Oksanen J (1999) Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited heavy metals and acid rain. *Environmental Pollution* .104: 121–129.
- Thiele A, Krause GH (1996) Xanthophyll cycle and thermal energy dissipation in photosystem II: relation between zeaxanthin formation, energy-dependent fluorescence quenching and photoinhibition. *Journal of Plant Physiology* 144:324-332.
- Valladares F, Aranda JMCI, Balaguer L, Dizengremel P, Manrique E, Dreyer E (2002) The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees* .16:395-403.
- Vidal J, Chollet R (1997) Regulatory phosphorylation of C4 PEPcarboxilase. *Trends in Plant Science.* 2:230-237.

- Wellburn, AR (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 144: 307–313.
- Winter K, Holtum JAM. (2005) The effects of salinity, crassulacean acid metabolism and plant age on the carbon isotope composition of *Mesembryanthemum crystallinum* L., a halophytic C₃-CAM species. *Planta* 222:201–9.
- Winter K, Aranda J, Holtum JAM (1990) Changes in xanthophyll-cycle components and in fluorescence yield in leaves of a crassulacean acid-metabolism *Clusia rosea* Jacq., throughout a 12 hour photoperiod of constant irradiance. *Planta*. 182: 181-185.
- Xu DQ, Wu S (1996) Three phases of dark recovery course from photoinhibition resolved by the chlorophyll fluorescence analysis in soybean leaves under field conditions. *Photosynthetica*. 32: 417-423.
- Yordanov I, Velikova V, Tsonev T (2000) Plant response to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthetica*. 38:171-186.
- Zaluar HLT, Scarano FR (2000) Facilitação em restingas de moitas: um século de buscas por espécies focais. In: Esteves FA, Lacerda LD (eds). *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. NUPEM-UFRJ, Rio de Janeiro, 1–21.
- Zarter CR, Adams WW III, Ebbert V, Cuthbertson D, Adamska I, Demmig-Adams B. (2006). Winter downregulation of intrinsic photosynthetic capacity coupled with upregulation of Elip-like proteins and persistent energy dissipation in a subalpine forest. *New Phytologist*. 172: 272-282.

8. ANEXOS

Anexo 1: Análise de variância parcial, referente à taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (*g_s*), razão entre as concentrações interna e atmosférica de CO₂ (*C_i/C_a*), taxa transpiratória (*E*) e eficiência do uso da água (*WUE*) em indivíduos de *C. hilariana* submetidos a diferentes condições de luminosidade e salinidade. As determinações foram realizadas aproximadamente às 0:00h, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Fonte de variação	g.l.	Quadrado médio				
		<i>A</i>	<i>g_s</i>	<i>E</i>	<i>C_i/C_a</i>	<i>WUE</i>
Bloco	3	0,054	0	0,0004	0,02	9,83
Irradiância	2	22,320*	0,0005*	0,046*	0,316*	635,072*
NaCl	1	92,155*	0,001*	0,178*	0,924*	3473,397*
Irradiância*NaCl	2	7,683*	0,0001*	0,008*	0,108*	375,964*
Erro	15	0,135	0	0,0003	0,02	10,224

*Significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste F.

Anexo 2: Análise de variância parcial referente ao rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m)(*A*), fluorescência mínima (F_0) (*B*) e fluorescência máxima (F_m) (*C*) em *C. hilariana* ao meio-dia, 15 dias após o início na aplicação dos tratamentos.

Fonte de variação	g.l.	Quadrado médio						
		F_v/F_m	F_0	F_m	ETR	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)
Bloco	3	0,003	365,074	5580,967	171,31	0,0009	0,001	0,002
Irradiância	2	0,062*	4320,2962*	458082,9498	12329,561*	0,085*	0,008*	0,073*
NaCl	1	0,089*	2004,462*	320089,004*	35062,367*	0,683*	0,604*	0,0006
Irradiância*NaCl	2	0,009*	541,129*	47982,504*	1650,831*	0,015*	0,019*	0,005
Erro	15	0,001	135,129	7645,834	95,615	0,001	0,002	0,003

*Significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste F.

Anexo 3: Análise de variância parcial referente à composição química das folhas, potencial osmótico, teores de pigmentos, suculência e malonaldeído, em plantas de *C. hilariana* submetidas a diferentes condições de luminosidade e salinidade, 15 dias após o início da aplicação dos tratamentos.

Fonte de variação	g.l.	Quadrado médio											
		Na ⁺	Cl ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Ψs	Cl _a	Cl _b	Carotenóides	Cl _a /Cl _b	Suculência	MDA
Bloco	3	0,000	0,005	0,015	0,02	0,0009	0,0006	0,135	0,154	0,026	0,004	0,00003	279,498
Irradiância	2	0,013*	0,050*	0,480*	0,091	0,0001	0,102*	4,637*	0,28	0,729*	0,015	0,002*	51,666
NaCl	1	0,052*	0,006	0,299*	0,003	0,001	0,255*	0,079	2,404	1,828*	0,315*	0,006*	1134,1625
Irradiância*NaCl	2	0,013*	0,042*	0,199*	0,103	0,00005	0,022*	1,054*	0,201	0,287*	0,140*	0,001*	252,459
Erro	15	0,001	0,003	0,024	0,048	0,001	0,001	0,201	0,11	0,021	0,009	0,000007	311,14

*Significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste F.

