

ANÁLISE DO *QUENCHING* NÃO FOTOQUÍMICO EM DOIS GENÓTIPOS DE *Arabidopsis thaliana* SOB DIFERENTES IRRADIÂNCIAS

RODRIGO VIEIRA DUTRA DA SILVEIRA¹; DOUGLAS ANTÔNIO POSSO²;
MARCOS ANTONIO BACARIN³

¹Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica –
rodrigovdsilveira@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica –
douglasposso@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica –
bacarin@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A fotossíntese é o processo biológico mais importante para a vida dos seres vivos na terra. Processo esse, cujos organismos fotossintetizantes produzem energia biologicamente ativa através dos fótons, convertendo dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O) em compostos orgânicos (JOHNSON, 2016).

Sabe-se que apenas um quarto da energia luminosa é aproveitada no processo fotoquímico da cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese, sendo o restante dissipado na forma de calor e pela fluorescência. Quando grande quantidade de radiação é absorvida, essa pode ocasionar a fotoinibição, que é definida por ser a inibição da fotossíntese. Nesse caso a eficiência fotossintética diminui e é necessária uma maior dissipação do excesso de energia.

Quando as plantas são expostas a diferentes luminosidades, estas necessitam de mecanismos de adaptação rápida evitando o processo fotoinibitório. O mecanismo de fotoproteção é responsável pela liberação do excesso de energia antes que esse danifique o aparato fotossintético, e a essa dissipação de energia dá-se o nome de *quenching* (TAIZ e ZEIGER, 2017).

O *quenching* não fotoquímico (NPQ) é um conjunto de mecanismos que as plantas desenvolveram para a dissipação do excesso de energia absorvida (WARE et al., 2015). Dessa forma, o objetivo do trabalho foi analisar a cinética de indução e relaxamento do NPQ em dois genótipos de *Arabidopsis thaliana*, sob influência de diferentes luminosidades.

2. METODOLOGIA

Esse estudo foi conduzido com dois genótipos *Arabidopsis* (WT – selvagem e o mutante *npq4* que é desprovido da proteína PsBs no fotossistema II). As sementes foram fornecidas pelo Laboratório de Fotosíntese (Università degli Studi di Verona). As sementes foram dispostas em um vaso com substrato e mantidas a 4 °C por 48 h no escuro, para vernalização. Uma semana após emergência foram transplantadas duas plantas por vaso com capacidade de 200 ml contendo substrato Carolina Soil[®].

As plantas, após o transplante, foram acondicionadas em casa de vegetação sob condição de baixa de luz natural através de uso de malha sombrite de forma a controlar o ambiente e manter a radiação na qual as plantas estavam expostas (fluxo de fótons fotossinteticamente ativos máximo aproximadamente em 200 µmol m⁻² s⁻¹) e temperatura variando entre 18 e 27 °C. Aproximadamente 30 dias após emergência (21 dias após o transplante) as plantas estavam com um tamanho adequado para a realização da análise.

Folhas destacadas foram acondicionadas em placa de Petry revestida com uma camada de placa de E.V.A (mistura etil, vinil e acetato) na cor preta e papel filtro umedecido, de maneira a ser possível analisar a fluorescência modulada *in situ* das clorofilas com o uso de um fluorômetro de imagem (IMAGEM-MAX) (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemanha).

Dessa forma, as folhas foram previamente adaptadas ao escuro por 30 min para então receberem por 30 s uma quantidade de radiação de $0,12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sem capacidade fotossintética), para depois receberem um pulso de luz saturante de $4.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obtendo-se respectivamente os valores de F_0 (fluorescência inicial) e F_M (fluorescência máxima). Após obtidos os valores de F_0 e F_M as folhas foram submetidas a diferentes intensidades luminosas (80, 460, 800 e $1250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por um período de 15 min, sendo que em intervalos de 1 min um pulso saturante era emitido obtendo-se os valores dos parâmetros obtidos em folhas adaptadas à luz F_0' (fluorescência inicial), F_M' (fluorescência máxima em estado adaptado à luz), caracterizando-se a fase de indução de NPQ. A seguir as folhas eram mantidas por 15 minutos no escuro para a análise da fase de relaxamento do NPQ, sendo que neste período pulsos saturante em intervalos crescentes de 30 s a 2,5 min foram emitidos e medidos os valores de F_M' . O cálculo do NPQ foi realizado segundo Genty et al. (1989), por meio da fórmula: $\text{NPQ} = (F_M - F_M') / F_M'$.

Foram utilizadas cinco repetições para cada genótipo em cada uma das quatro intensidades luminosas. O experimento foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo que a unidade experimental foi constituída por uma folha.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 são apresentados as cinéticas de indução e relaxamento de NPQ para os dois genótipos (WT e *npq4*) em função das diferentes luminosidades, nas quais as folhas foram expostas durante a análise.

Pode-se observar quando as folhas foram expostas a $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 1A) as curvas de NPQ dos dois genótipos foram semelhantes. Porém, com o aumento da radiação (Figura 1B-D) observou-se que o genótipo selvagem apresentou valores elevados de NPQ quando expostos à luz, em comparação com o mutante *npq4*, o qual não apresenta proteína PsBs. Durante o período de escuro, os resultados foram semelhantes entre os genótipos nas quatro condições.

Os menores valores de NPQ, em alta radiação, nas folhas do genótipo *npq4* ocorrem, pois é sugerido que a proteína PsBs está vinculada com a ativação do processo de extinção não fotoquímico no fotossistema II através de interações com o sistema antena (LOU et al., 2018). A falta desta proteína dificulta a dissipação do excesso de energia através do NPQ, isso explica porque mesmo com o incremento na quantidade de luz recebida, o NPQ do genótipo mutante foi pouco alterado em relação às intensidades de luminosidades mais baixas. Ou seja, o mecanismo de fotoproteção por meio da dissipação do excesso de energia absorvida, através do NPQ para a proteção contra a fotoinibição não está operando de maneira eficaz.

Dessa forma, sugerindo que possa estar ocorrendo maior fotoinibição com o incremento da luminosidade nas folhas do mutante *npq4* em comparação com o genótipo selvagem, devido a uma menor eficiência na dissipação do excesso de energia absorvida.

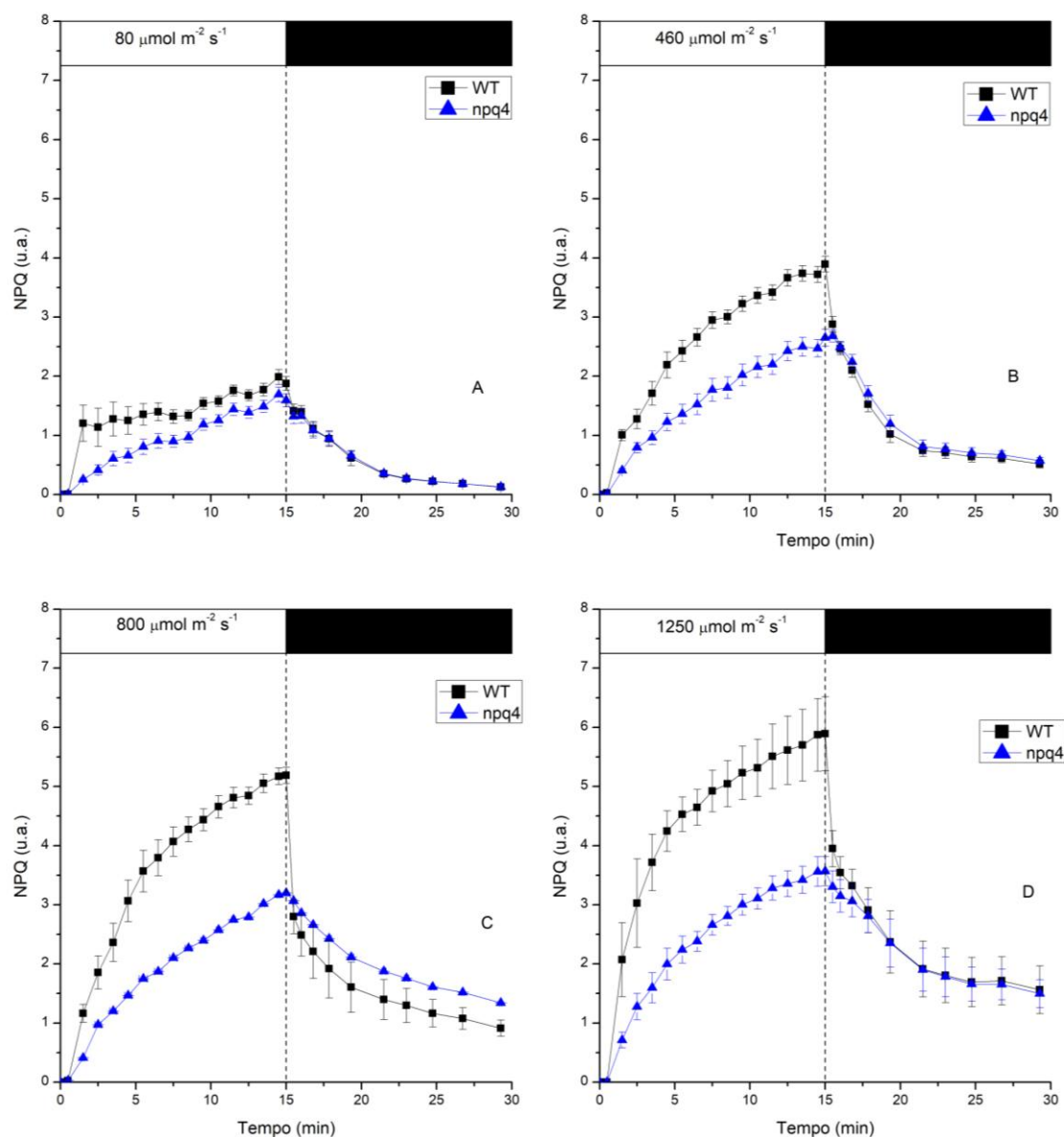


Figura 1. Cinéticas de indução e relaxamento do NPQ em dois genótipos de *Arabidopsis thaliana* (WT e *npq4*) expostos a quatro níveis de radiação sob 80, 460, 800 e 1250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (A, B, C e D, respectivamente). Valores representam médias \pm desvio padrão.

4. CONCLUSÕES

Nas folhas das plantas do mutante *npq4* a eficiência de dissipação do excesso de energia absorvida é igual ao genótipo selvagem em baixa luminosidade, contudo em alta luminosidade torna-se menor, sugerindo ocorrência de maior fotoinibição nas folhas das plantas desse mutante.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

JOHNSON, M. P. Photosynthesis. **Essays in Biochemistry**, v. 60, p. 255-273, 2016.

LOU, Y.; SUN, H.; WANG, S.; XU, H.; LI, L.; ZHAO, H.; GAO, Z. Expression and functional analysis of two *PsbS* genes in bamboo (*Phyllostachys edulis*). **Physiologia Plantarum**, v. 163, p. 459-471, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

WARE, M. A.; BELGIO, E.; RUBAN, A. V. Comparison of the protective effectiveness of NPQ in Arabidopsis plants deficient in *PsbS* protein and zeaxanthin. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 1259–1270, 2015.