

CAPÍTULO 6

DISSIPAÇÃO DE ENERGIA FOTOQUÍMICA EM *Carapichea ipecacuanha* SOB CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE

Data de aceite: 01/04/2022

Data de submissão: 01/02/2022

Cristina Moll Hüther

Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde, Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0003-0655-5966>

Vitor Francisco Ferreira

Faculdade de Farmácia, Departamento de Tecnologia Farmacêutica – Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0002-2166-766X>

Natália Fernandes Rodrigues

Laboratório de Interação Planta-Ambiente, Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0003-2134-733X>

Julia Ramos de Oliveira

Laboratório de Interação Planta-Ambiente, Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0002-7738-1409>

Nicole Pereira de Souza Rocha

Laboratório de Interação Planta-Ambiente, Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0002-8589-698X>

Daniel Moncada Pereira Marques

Laboratório de Interação Planta-Ambiente, Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0001-7111-4724>

Gabriela Martins Corrêa

Laboratório de Interação Planta-Ambiente, Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<http://orcid.org/0000-0003-2241-1452>

Junior Borella

Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Rio Grande - RS
<https://orcid.org/0000-0002-0745-5759>

Daiane Cecchin

Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0002-6098-1846>

Silvio Roberto De Lucena Tavares

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
EMBRAPA SOLOS
Rio de Janeiro - RJ
<https://orcid.org/0000-0003-4733-4625>

Thelma de Barros Machado

Faculdade de Farmácia, Departamento de
Tecnologia Farmacêutica – Universidade
Federal Fluminense – UFF / Laboratório
Associado para a Química Verde -
LAQV REQUIMTE – Porto - Portugal
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0001-9449-8695>

Carlos Rodrigues Pereira

Departamento de Engenharia Agrícola
e Ambiental, Universidade Federal
Fluminense - UFF
Niterói – RJ
<https://orcid.org/0000-0003-4000-4324>

RESUMO: Plantas de ambientes sombreados podem experimentar variações nos níveis de luminosidade em seu habitat e que juntamente com outras condições ambientais, que podem perturbar a transferência de energia nos fotossistemas. Assim, o objetivo foi avaliar a atividade fotoquímica da espécie *Carapichea ipecacuanha* submetida ao estresse luminoso. Para isso, as plantas foram cultivadas em diferentes níveis de sombreamentos (50, 70 e 90%) e em pleno sol. Posteriormente, metade das plantas dos ambientes sombreados foram expostas diretamente à radiação solar por um dia. No tratamento pleno sol, as plantas estavam sendo cultivadas por cinquenta dias nessa condição. Após o período de estresse luminoso nas folhas, foi realizada a análise de fluorescência transiente da clorofila *a* e análise visual. Os resultados demonstraram que, independentemente do tipo condição de cultivo anteriormente aplicado nessas plantas, a exposição solar direta, ocasiona danos na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese, promovendo uma maior dissipação de energia na forma de calor e o não aproveitamento para a atividade fotoquímica, o que refletiu no menor conservação de energia ao longo da maquinaria fotossintética, principalmente para as plantas que estavam por um maior período de estresse luminoso, do que as plantas que foram expostas por um dia. Isso também foi verificado nas imagens das plantas, pela análise visual. Contudo, as alterações foram em menor intensidade para as plantas que se encontravam anteriormente em ambiente com sombreamento de 50%, demonstrando assim, um possível pré-aclimatação para a exposição direta à luz solar.

PALAVRAS-CHAVE: Ipeca; estresse luminoso; fluorescência da clorofila *a*; sombreamento.

LIGHT STRESS IN *Carapichea ipecacuanha* LEAVES TRIGGERS CHANGES IN PHOTOCHEMISTRY ENERGY DISSIPATION

ABSTRACT: Plants from shaded environments may experience variations in the levels of luminosity in their habitat and that, together with other environmental conditions, can disturb the transfer of energy in the photosystems. Thus, the aim was to evaluate the photochemical activity of the species *Carapichea ipecacuanha* subjected to light stress. For this, the plants were grown in different levels of shading (50, 70 and 90%) and in full sun. Subsequently, half of the plants in the shaded environments were directly exposed to solar radiation for one day. In full sun treatment, the plants were grown for fifty days under this condition. After one day of light stress exposure, the chlorophyll a transient fluorescence analysis was performed and visual analysis. The results showed that, regardless of the type of cultivation condition previously applied to these plants, direct sun exposure causes damage to the electron transport chain of photosynthesis, promoting greater energy dissipation in the form of heat and not used for photochemical activity. In addition, lower energy conservation along the photosynthetic machinery was showed mainly by plants that were grown under full sunlight. This was also verified in the images of the plants, by visual analysis. However, the changes were less intense for plants that were previously in an environment with 50% shading, thus demonstrating a possible pre-acclimation for direct exposure to short-time of full sunlight.

KEYWORDS: Ipecac; light stress; chlorophyll a fluorescence; shading

1 | INTRODUÇÃO

Plantas que apresentam princípios ativos, como as medicinais, podem ser encontradas em vários ambientes, contudo, o Brasil é reconhecido mundialmente pela sua vasta biodiversidade em seus biomas, onde podem ser encontradas diferentes espécies medicinais (TEIXEIRA et al., 2019).

Aplanta medicinal *Carapichea ipecacuanha* (Brot) L. Andersson (Rubiaceae), também conhecida como ipeca-do-brasil, poaia, ipecacuanha ou ipeca, produz em seu rizoma e nas suas raízes, emetina e cefaelina, que estão entre os principais alcaloides isoquinolínicos existentes (DEWICK, 2002) e apresenta melhor crescimento e desenvolvimento quando cultivada em ambientes com baixa luminosidade e alta umidade relativa, em sub-bosque em florestas (LAMEIRA, 2002; ZAPPI et al., 2013)

A ipecacuanha encontra-se na lista de espécies ameaçadas de erosão genética ou de extinção, por ter sofrido com o acentuado processo extrativo nos últimos dois séculos, devido abertura de novas fronteiras agrícolas e outros fatores, tendo suas áreas de ocorrência natural reduzida, já que para a obtenção da emetina e cefaelina, procuradas pela indústria farmacêutica, retira-se a raiz da planta, pois é a parte que possui maior concentração desses alcaloides (CAMPELO et al. 2021).

Porém, nas últimas décadas, condições climáticas extremas, tem afetado diretamente o metabolismo das plantas, principalmente a fotossíntese e respiração (REBEIZ, 2014; CHEN et al., 2017; SZYMAŃSKA et al., 2017; DALL'OSTO et al., 2020),

afetando o crescimento e desenvolvimento e conseqüentemente influenciando metabolismo secundário (SZYMAŃSKA et al., 2017; ALBERGARIA et al., 2020).

A luz é um dos recursos essenciais e alterações em sua intensidade, alcance e duração podem acarretar diferentes respostas fisiológicas (GURURANI et al., 2015; SZYMAŃSKA et al., 2017; DALL'OSTO et al., 2020; DONG et al., 2020). Contudo, variações nos níveis de luz, juntamente com outras condições ambientais, podem facilmente perturbar a transferência de energia nos fotossistemas (OU et al., 2012) e interferir na eficiência fotossintética (REBEIZ, 2014). Assim, o presente trabalho buscou avaliar a atividade fotoquímica da espécie *Carapichea ipecacuanha* submetida ao estresse luminoso.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Fluminense, cuja região possui clima Aw, segundo a classificação de Köppen e latitude 22°54'00" S, longitude 43°08'00" W e altitude de 8 m. As plantas de *Carapichea ipecacuanha* foram alocadas em vasos de 8 litros, contendo solo arenoso (areola) como substrato, distribuídas em três casas de vegetação com diferentes malhas de sombrites® (90, 70 e 50%) por 4 anos antes do início do experimento e outro bloco cultivado por 50 dias em pleno sol.

Os tratamentos consistiram de: (i). sombreamentos de 50, 70 e 90% (controles); (ii). sombreamentos de 50, 70 e 90 + exposição solar direta por um dia; (iii). pleno sol (50 dias de exposição solar direta), sendo 10 unidades amostrais por tratamento e o tempo de exposição de a luz solar plena foi de 1 dia para os tratamentos que estavam em sombreamento e para o tratamento que já estava em pleno sol anteriormente, foi de 51 dias.

As plantas com sombreamento de 70% foram consideradas o tratamento controle para as plantas que já estavam em pleno sol por 50 dias, tendo em vista a sua indicação como condição adequada para o cultivo de ipecas em ambientes artificiais, num contexto geral, por ser o que mais se aproxima de seu habitat natural (sub-bosque) (LAMEIRA, 2002; RIBEIRO et al., 2019) e o tratamento controle para os demais tratamentos foram as plantas que permaneceram sem exposição solar direta, dentro de cada nível de sombreamento. Foram utilizadas dez plantas por tratamento e cada vaso continha uma planta, considerada uma unidade amostral, sempre mantidas com irrigação em capacidade de campo e a aplicação do estresse luminoso ocorreu na estação do verão.

A análise da fluorescência da clorofila *a* foi medida nas primeiras folhas jovens completamente expandidas não destacadas, previamente adaptadas ao escuro por 30 minutos utilizando um fluorômetro portátil (Modelo Handy PEA, Hansatech Instruments, King's Lynn, Norfolk, UK); após o período de escuro um flash de 3.400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ foi aplicado para a indução da fluorescência transiente OJIP. As intensidades de fluorescência transiente foram medidas entre 50 μs (fluorescência inicial - F0) e 1 s; obtidos os valores da

fluorescência transiente foram calculados os parâmetros do Teste JIP proposto por Strasser e colaboradores (STRASSER e STRASSER, 1995; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008).

Para a análise visual, foram registradas imagens de plantas controles e de plantas em tratamento com exposição solar direta por um dia, além das plantas com 50 dias de exposição direta. A partir das imagens são demonstrados os efeitos iniciais do cultivo nos diferentes ambientes, sendo que as imagens foram registradas no mesmo dia da análise de fluorescência da clorofil *a*, segundo Tewari et al. (2010).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros biofísicos derivados da fluorescência transiente da clorofila *a* (Figura 1 A) foram normalizados do estresse luminoso para os controles de cada sombreamento e analisados no tempo 50 μ s a 1s com identificação dos pontos $O_{50\mu s}$, em seu nível inicial, (F_0), etapas intermediárias (J_{2ms} e I_{30ms}) e ao nível máximo, P_{1s} (F_m) (Figura 1 B) que permitiram distinguir alterações ao longo da cadeia de transporte de elétrons (CTE), como o aumento polifásico da fluorescência para as plantas submetida à luz solar plena.

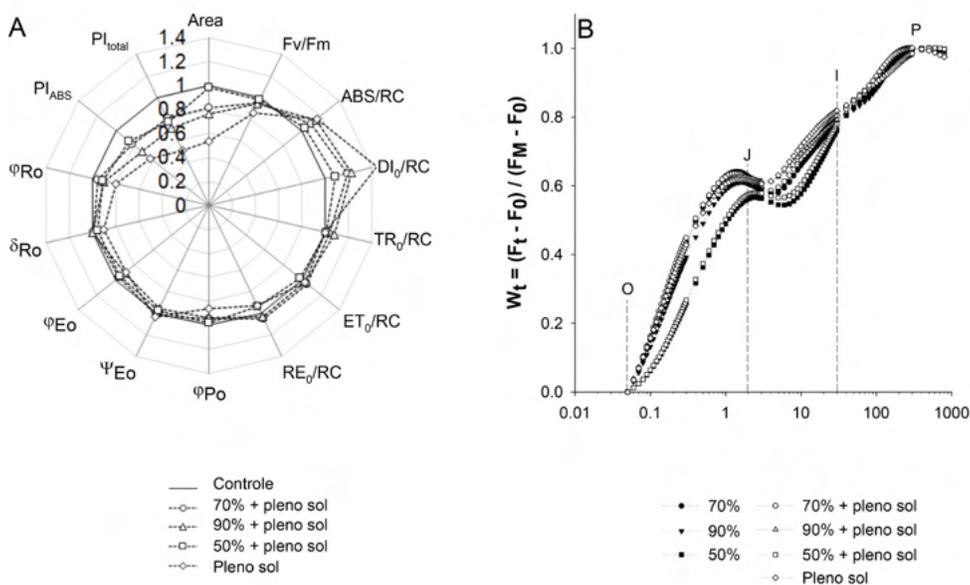


Figure 1: Fluorescência transiente da Chl *a* de folhas de *Carapichea ipecacuanha* adaptadas ao escuro, submetidas à luz solar plena e aos sombreamentos em relação à um dia de exposição ao estresse luminoso (A) Parâmetros fotossintéticos deduzidos pela análise do teste JIP da fluorescência transiente normalizados usando como referência os controles e (B) fluorescência variável relativa entre as etapas O e P (W_t) em escala de tempo logarítmica. ms = milissegundos.

A fluorescência variável relativa para o tempo de 2 ms (V_j) e 30 ms (V_i) se mantiveram elevadas para todas as plantas expostas ao sol, quando comparadas aos seus respectivos controles, localizados em ambientes sombreados (Figura 1B).

A saturação luminosa nos fotossistemas das plantas não sombreadas causou uma desordem na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese, como pode ser evidente pela alteração dos parâmetros extraídos da análise da fluorescência da clorofila, onde esses, descrevem as atividades dos complexos envolvidos no fluxo desses elétrons (MAKONYA et al., 2019), comprovando a diminuição dessa energia e a perda da eficiência fotoquímica máxima atribuída ao fotossistema II (F_v/F_m).

Em relação aos parâmetros que correspondem aos fluxos específicos das atividades expressas por centro de reação (RC) aumentaram para ABS/RC , que mensura o tamanho aparente do sistema antena, sendo absorção total ou quantidade de clorofila total por RC ativo e para DIO/RC que mede a energia dissipada por calor, não capturada pelo RC, onde ambos apresentaram incremento (Figura 1A), demonstrando assim que houve uma promoção na absorção de energia, entretanto, não foi aproveitada para o processo fotoquímico, sendo dissipada e conseqüentemente perdida para o meio.

Plantas de sombra quando expostas a alta luminosidade necessitam aprimorar a desoxidação pelo ciclo das xantofilas para dissipação de energia, por calor (BERNAL et al., 2015) e também pode apresentar um declínio na produção dos complexos monoméricos de captação de luz, por exemplo, LHCII, em estresse luminoso ou se desagregarem (BERNAL et al., 2015; CHEN et al., 2017; SZYMAŃSKA et al., 2017).

O estresse luminoso reduziu os índices de performance, PI_{abs} e PI_{total} , demonstrando uma diminuição na capacidade de conservação de energia nos diferentes locais da maquinaria fotossintética, pois refletem a conservação de energia do exciton capturado até a redução dos aceitadores de elétrons no intersistema (PI_{abs}) e da conservação de energia do exciton para a redução de aceitadores finais do PSI (PI_{total}), para todos os tratamentos expostos ao agente estressor, indicando uma redução na funcionalidade da CTE.

Os menores danos foram manifestados no tratamento em que as plantas foram expostas ao sombreamento de 50% + exposição solar direta, mas mesmo assim, apresentaram performance fotoquímica ineficiente em altos níveis de radiação, mas com menores fotodanos.

Danos na maquinaria fotossintética foram evidenciados em todas as plantas que foram retiradas dos sombreamentos e expostas diretamente ao pleno sol, independentemente do nível de sombreamento em que foram cultivadas, ocorrendo uma alteração na forma de indução da fluorescência clorofila a, inclusive para as plantas que se encontram em exposição ao pleno sol por um período maior.

Nas análises visuais, foram detectados alguns efeitos da exposição a pleno sol nas plantas de ipecacuanha, quando comparadas com as plantas controle (Figura 2).

Inicialmente, as plantas não apresentavam sintomas visuais do excesso de luminosidade, porém já ao meio-dia as plantas já começaram a apresentar alguns sintomas, principalmente murcha.

As plantas que estavam em sombreamento de 70% e foram expostas por um dia em plena exposição demonstraram que murcha e maior brilho foliar, principalmente nas folhas com maior área foliar, possivelmente a maior deposição de cera (Figura 2 A-B). Isso também foi verificado para as plantas do ambiente de 50% de sombreamento, porém com maior aspecto de danos do excesso de luminosidade entre as nervuras do limbo foliar (Figura 2 C-D).

As plantas do tratamento com 90% de luminosidade quando expostas ao pleno sol, não demonstraram em todos os representantes os efeitos visuais relatados nos tratamentos anteriores (Figura 2 E-F), mas alguns apresentaram maiores danos. Agora quando comparados os tratamentos controle de 70% de sombreamento com as plantas expostas por maior tempo de exposição solar direta, apresentaram áreas foliares com manchas de queima foliar (Figura 2 G-H), indicando que antes da aclimação a pleno sol, várias alterações morfológicas foram visíveis durante os 50 dias em que foram expostos a pleno sol, como as folhas mais jovens mais claras e as folhas expandidas com maior amarelecimento. Além disso, as folhas apresentaram-se enrugadas principalmente nas folhas superiores e mais jovens e redução do desenvolvimento da área foliar, demonstrando um aumento das mudanças visuais sendo com o transcorrer do tempo, sendo tempo-dependente.



Figura 2: Análise visual plantas de ipecacuanha (*Carapichea ipecacuanha*) nos tratamentos controles e com exposição a pleno sol. (A e B) 70% de sombreamento e dia 1 de exposição a pleno sol; (C e D) 50% de sombreamento e dia 1 de exposição a pleno sol; (E e F) 90% de sombreamento e dia 1 de exposição a pleno sol; (G e H) 70% de sombreamento e dia 50 de exposição a pleno sol, respectivamente. Imagens com visualização superior das plantas.

4 | CONCLUSÕES

Danos na maquinaria fotossintética foram evidenciados em todas as plantas que foram retiradas dos sombreamentos e expostas diretamente ao pleno sol, independentemente do nível de sombreamento em que foram cultivadas, ocorrendo uma alteração na forma de indução da fluorescência clorofila a, inclusive para as plantas que se

encontram em exposição ao pleno sol por um período maior, o mesmo verificado para as análises visuais, em que as plantas retiradas dos sombreamentos e expostas a pleno sol por um dia, demonstraram rapidamente efeitos visuais de fotodano nas folhas em relação aos tratamentos mais adaptados à sombra.

AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq.

CONFLITO DE INTERESSES

Autores declararam não ter conflito de interesse

REFERÊNCIAS

ALBERGARIA, E.T., OLIVEIRA, A.F.M., ALBUQUERQUE, U.P. (2020). The effect of water deficit stress on the composition of phenolic compounds in medicinal plants. **South African Journal of Botany** 131, 12–17. <https://doi:10.1016/j.sajb.2020.02.002>

BERNAL, M., VERDAGUER, D., BADOSA, J., ABADÍA, A., LLUSIÀ, J., PEÑUELAS, J., NÚÑEZ-OLIVERA, E., LLORENS, L. (2015). Effects of enhanced UV radiation and water availability on performance, biomass production and photoprotective mechanisms of *Laurus nobilis* seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, 109, 264–275. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.016

CAMPELO, M. F.; LAMEIRA, O. A.; MOREIRA, R. K. V. P. P.; RAMIRES, A. C. S. (2021). Morphological evaluation of *Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. e23110615282. DOI: 10.33448/rsd-v10i6.15282.

CHEN, Y.-E., ZHANG, C.-M., SU, Y.-Q., MA, J., ZHANG, Z.-W., YUAN, M., ZHANG, H.-Y., YUAN, S. (2017). Responses of photosystem II and antioxidative systems to high light and high temperature co-stress in wheat. **Environmental and Experimental Botany**, 135, 45–55. doi:10.1016/j.envexpbot.2016.12.001

DALL'OSTO, L., CAZZANIGA, S., ZAPPONE, D., BASSI, R. (2020). Monomeric light harvesting complexes enhance excitation energy transfer from LHClI to PSII and control their lateral spacing in thylakoids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics** 1861, 148035 <https://doi:10.1016/j.bbabi.2019.06.007>

DEWICK, PAUL M. (2002). **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2. ed. John Wiley & Sons, England, 515 p.

_____. DONG, Z., MEN, Y., LIU, Z., LI, J., & JI, J. (2020). Application of chlorophyll fluorescence imaging technique in analysis and detection of chilling injury of tomato seedlings. **Computers and Electronics in Agriculture**, 105109. doi:10.1016/j.compag.2019.105109

GURURANI, M.A., VENKATESH, J., TRAN, L.S.P. (2015). Regulation of Photosynthesis during Abiotic Stress-Induced Photoinhibition. **Molecular Plant** 8, 1304–1320. <http://doi:10.1016/j.molp.2015.05.005>

LAMEIRA O. A., (2002). Cultivo da Ipecacuanha [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes]. **Embrapa**: Circular técnica 28, 1-4.

OU, H., GAO, N., DENG, Y., QIAO, J., & WANG, H. (2012). Immediate and long-term impacts of UV-C irradiation on photosynthetic capacity, survival and microcystin-LR release risk of *Microcystis aeruginosa*. **Water Research**, 46(4), 1241–1250. doi:10.1016/j.watres.2011.12.025

REBEIZ, C. A. (2014). **Chlorophyll Biosynthesis and Technological Applications**. Springer Dordrecht Heidelberg New York London <http://doi:10.1007/978-94-007-7134-5>

RIBEIRO, F.N.S.; H THER, C.M.; CORREIA, D.M.; MACHADO, T.B.; PEREIRA, C.R. (2019). Área foliar e altura de ipeca são alteradas pelo sombreamento. **Enciclopédia Biosfera**, v.16, p.254–263. http://doi: 10.18677/EnciBio_2019A18

STRASSER, B.J.; STRASSER, R.J. (1995). **Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions**: The JIP-test. In: Mathis P (ed) *Photosynthesis: from Light to Biosphere*. Montpellier, France, p. 977– 980. http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-0173-5_1142

SZYMAŃSKA, R., ŚLESIAK, I., ORZECZOWSKA, A., & KRUK, J. (2017). Physiological and biochemical responses to high light and temperature stress in plants. **Environmental and Experimental Botany**, 139, 165–177. <http://doi:10.1016/j.envexpbot.2017.05.002>

TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; DOBRÁŃSZKI, J., (2015). Plant thin cell layers: update and perspectives. **Folia Horticulturae** 27, 183–190. <http://doi:10.1515/fhort-2015-0029>.

TEWARI RK, KUMAR P, SHARMA PN (2010). Morphology and oxidative physiology of sulphur-deficient mulberry plants. **Environ Exp Bot** 68:301–308. <https://doi.org/doi:10.1016/j.envexpbot.2010.01.004>

TSIMILLI-MICHAEL, M, STRASSER, R. 2008. **In vivo assessment of stress impact on plants' vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of Mycorrhization on host plants**. In: VARMA, A (Ed.). *Mycorrhiza: state of the art, genetics and molecular biology, ecofunction, biotechnology, eco-physiology, structure and systematic*. Uttar Pradesh: Springer, p. 679-703.

ZAPPI D, JARDIM J, SOUZA EB, DI MAIO FR, BARBOSA MR, VALENTE ASM, SANTOS LAF, FILHO NPM (2013). **Rubiaceae**. In: Jakobsson A (ed) *Livro vermelho da flora do Brasil*, 1st edn. CIP-Brasil, Rio de Janeiro, pp 1100.