
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)

RESPOSTAS DE CURTO PERÍODO DAS CARACTERÍSTICAS
FOTOSSINTÉTICAS DA ALGA VERMELHA *Batrachospermum delicatulum* A
TEMPERATURA E IRRADIÂNCIA

THIAGO KUSAKARIBA

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Câmpus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciências Biológicas
(Biologia Vegetal).

Junho - 2007

**RESPOSTAS DE CURTO PERÍODO DAS CARACTERÍSTICAS
FOTOSSINTÉTICAS DA ALGA VERMELHA *Batrachospermum
delicatulum* A TEMPERATURA E IRRADIÂNCIA**

THIAGO KUSAKARIBA

Orientador: Prof. Dr. ORLANDO NECCHI JÚNIOR

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências do Câmpus de Rio Claro,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas (Biologia
Vegetal).

**Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Junho de 2007**

ÍNDICE

	Página
RESUMO GERAL.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
LITERATURA CITADA	7

CAPÍTULO I

VARIAÇÃO DIÁRIA DAS TAXAS FOTOSSINTÉTICAS DA ALGA VERMELHA CONTINENTAL

Batrachospermum delicatulum EM CONDIÇÕES NATURAIS E EM LABORATÓRIO

RESUMO	11
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAL E MÉTODOS	13
Material.....	13
Avaliação das taxas de fotossíntese pela técnica de oxigênio dissolvido	14
Incubações em laboratório	15
Avaliação da fotossíntese por fluorescência	16
Medição de variáveis ambientais.....	18
Análise estatística dos dados	18
RESULTADOS	18
Variação diária em laboratório	18
Variação diária em condições naturais.....	20
DISCUSSÃO.....	30
LITERATURA CITADA	32

CAPÍTULO II

RESPOSTAS DE CURTO PERÍODO DAS CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS DA ALGA

VERMELHA *Batrachospermum delicatulum* A DISTINTAS IRRADIÂNCIAS EM

CONDIÇÕES NATURAIS E EM LABORATÓRIO

RESUMO	37
INTRODUÇÃO.....	38
MATERIAL E MÉTODOS	40
Material.....	40

Incubações em laboratório	40
Manipulação da irradiância em campo	41
Avaliação da fotossíntese por fluorescência	41
Análise estatística dos dados	43
RESULTADOS	43
Respostas à irradiância em laboratório	43
Respostas à irradiância em condições naturais.....	44
DISCUSSÃO.....	54
LITERATURA CITADA	56
CONCLUSÃO GERAL.....	59

RESUMO GERAL

Respostas de curto período das características fotossintéticas a temperatura e irradiância foram avaliadas na rodófito *Batrachospermum delicatulum* em condições naturais e em laboratório. A variação diária dos parâmetros fotossintéticos por fluorescência da clorofila foi amostrada em duas épocas (junho, período frio e seco; outubro, quente e chuvoso) em um riacho da região noroeste do Estado de São Paulo (20°43'24"S, 49°18'21"W). Os valores de RQE e RQP (rendimento quântico efetivo e potencial, respectivamente) apresentaram correlação negativa com a irradiância nas duas épocas e valores similares no início e final do dia, indicando respectivamente alta pressão de excitação sobre o fotossistema II (FSII) e boa capacidade de recuperação e ausência de fotodano ao aparato fotossintético. Os valores de NPQ (extinção não-fotoquímica) também apresentaram correlação negativa com irradiância (significativa apenas em junho), o que possivelmente indica baixa capacidade de dissipação da energia absorvida pelos centros de reação. Sob temperatura e irradiância fixas a variação diária para fotossíntese líquida foi caracterizada por dois picos: o primeiro (maior) durante a manhã e o segundo (menor) durante a tarde. Os valores de ETR (taxa de transporte de elétrons) também apresentaram padrão semelhante, o que demonstra a ocorrência de ritmos endógenos que controlam as taxas fotossintéticas. Curvas de fotossíntese-irradiância e de indução escuro/luz foram testadas em laboratório (sob condições de baixa e alta irradiância) e em campo sob luz natural (não-sombreada) e artificialmente sombreada em duas épocas (junho e novembro). O isolado em cultura e as plantas em condições naturais (novembro) tiveram maiores valores de fotossíntese máxima (F_{max}), eficiência fotossintética (α) e rendimento quântico em baixa irradiância. Em alta irradiância (laboratório e campo), os valores de fotoinibição (β) foram significativamente maiores do que em baixa irradiância. A correlação positiva entre ETR e NPQ observada nas curvas de indução, indica outro tipo de controle dinâmico da fotossíntese: aumento na conversão de energia do FSII pelo transporte de elétrons diretamente relacionado a um aumento na dissipação térmica da energia capturada em excesso pelos centros de reação. Em síntese, as características fotossintéticas de *B. delicatulum* mostraram amplo espectro de respostas, refletindo grande tolerância, principalmente à irradiância. Além disso, as respostas de curto período confirmaram essencialmente características de alga de sombra. Porém, a espécie possui mecanismos eficientes para lidar com altas irradiâncias e apresenta respostas variáveis dependentes da estação do ano e das condições de exposição à luz, características que provavelmente contribuem para sua ampla distribuição espacial e ocorrência temporal.

Palavras-Chaves: alga vermelha, irradiância, fotossíntese, fluorescência da clorofila, temperatura, variação diária.

ABSTRACT

Short-term responses of photosynthetic characteristics to temperature and irradiance were analyzed in the rhodophyte *Batrachospermum delicatulum* under natural and laboratory conditions. The diurnal variation of photosynthetic parameters by chlorophyll fluorescence was sampled in two seasons (June, cool and dry season; October, warm and rainy season) in a stream of northwest region of São Paulo state (20°43'24"S, 49°18'21"W). Values of EQY and PQY (effective and potential quantum yield, respectively) were negatively correlated with irradiance in both seasons and had similar values at the beginning and end of the day, indicating, respectively high excitation pressure on photosystem II (PSII) and good recovery capacity and lack of photodamage to the photosynthetic apparatus. Values of NPQ (non-photochemical quenching) were also negatively correlated with irradiance (significantly only in June) possibly indicating low dissipation capacity of absorbed energy by reaction centres. The diurnal variation of net photosynthesis under fixed conditions of temperature and irradiance was characterized by two peaks the first (higher) in the morning and the second (lower) in the afternoon. ETR (electron transport rate) values also presented a similar pattern, suggesting the occurrence of endogenous rhythm that controls photosynthetic rates. Photosynthesis-irradiance and dark/light (induction) curves were tested in laboratory (under low and high irradiance conditions) and in field under natural light (unshaded) and artificially shaded in two seasons (June and November). Specimens from culture isolate and in natural conditions (November) had higher values of maximum photosynthesis (P_{max}) photosynthetic efficiency (α) and EQY at low irradiance, whereas at high irradiance (laboratory and field), values of β were significantly higher than at low irradiance. A positive correlation between of ETR with NPQ was observed in induction curves, indicating another kind of dynamic control of photosynthesis: increase of PSII energy conversion by electron transport directly coupled to an increase of heat dissipation of the excessive energy captured by reaction centres. In summary, the photosynthetic characteristics of *B. delicatulum* revealed a wide spectrum of responses, reflecting broad tolerance, particularly to irradiance. In addition, short-term responses essentially confirmed characteristics of shade-adapted algae. However, the species has efficient mechanisms to cope with high irradiances and present variable responses depending on the season and light exposure conditions, characteristics that probably contribute to its wide spatial distribution and temporal occurrence.

Key Words: diurnal variation, chlorophyll fluorescence, irradiance, photosynthesis, temperature, red algae.

INTRODUÇÃO GERAL

Batrachospermum delicatulum (Skuja) Necchi & Entwistle é uma das espécies de algas vermelhas continentais mais amplamente distribuídas no Brasil (NECCHI 1991). Esta espécie tem sido estudada sob vários aspectos, a saber: dinâmica sazonal (PASCOALOTO & NECCHI 1990, NECCHI 1991, 1993), distribuição de micro-hábitat (NECCHI 1997), fenologia (PASCOALOTO & NECCHI 1990, NECCHI & BRANCO 1999), histórico de vida (NECCHI & ZUCCHI 1997), crescimento e conteúdo de pigmentos e características fotossintéticas (NECCHI & ZUCCHI 2001, ZUCCHI & NECCHI 2001, NECCHI & ALVES 2005).

As populações desta espécie são consideradas tolerantes a variações relativamente amplas de condições ambientais (NECCHI 1993, 1997) e com estratégia reprodutiva altamente eficiente (PASCOALOTO & NECCHI 1990, NECCHI 1997, NECCHI & BRANCO 1999). Por consequência, são observadas sob larga distribuição em termos temporais, com ocorrência ao longo de todas as estações do ano, e espaciais, tanto numa única bacia de drenagem (NECCHI 1993), quanto em escalas maiores (NECCHI 1991, NECCHI et al. 1999).

Estudos sobre características fotossintéticas de algas vermelhas continentais são relativamente escassos (KREMER 1983, SHEATH 1984, NECCHI & ZUCCHI 2001), principalmente com espécies tropicais. KREMER (1983) examinou a resposta à irradiância de quatro espécies de rodófitas continentais, as quais apresentaram pontos de saturação relativamente baixos ($100 \text{ a } 400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), indicando preferência por baixas irradiâncias. As respostas à temperatura da taxa de fotossíntese de três dessas algas também foram testadas, das quais duas exibiram máximo em torno de 15°C e uma teve as mais altas taxas em $30 \text{ a } 35^{\circ}\text{C}$.

NECCHI & ZUCCHI (2001) analisaram as respostas de temperatura, irradiância, pH/forma de carbono inorgânico e variação diária sobre as taxas de fotossíntese de 15 populações representando oito espécies de algas vermelhas continentais em condições de cultura e de campo, incluindo três populações de *B. delicatulum*. Os parâmetros derivados das curvas de fotossíntese-irradiância indicaram adaptação à baixas irradiâncias para todas as algas testadas, confirmando a tendência de ocorrência sob regimes de baixa irradiância. A temperatura ótima para a fotossíntese foi variável entre

as espécies e populações (10 a 25°C), enquanto que as taxas de respiração apresentaram uma tendência crescente com a temperatura, sendo os maiores valores encontrados em 20 ou 25°C. Os resultados dos experimentos de pH mostraram melhores performances fotossintéticas em 6,5 ou 8,5 para a maioria das algas testadas, sugerindo uso indistinto de bicarbonato e dióxido de carbono livre ou maior afinidade pelo carbono inorgânico na forma de bicarbonato. Foi encontrado um padrão geral de variação diária para todas as algas testadas, caracterizado por dois picos relativamente evidentes, um mais alto pela manhã e outro menor à tarde.

NECCHI (2004) analisou as características fotossintéticas em resposta a irradiância de 33 espécies de macroalgas através das técnicas de fluorescência da clorofila e oxigênio dissolvido. Curvas de fotossíntese-irradiância baseadas nas duas técnicas indicaram adaptações à baixa irradiância para Bacillariophyta e Rhodophyta, caracterizadas por baixos valores de saturação, altos a moderados valores de eficiência fotossintética (α) e fotoinibição (β), o que sugere que elas são algas tipicamente adaptadas a sombra. Em contraste, a maioria das espécies de Chlorophyta foram relatadas como algas adaptadas ao sol, caracterizadas por altos valores de I_k , baixos de α , e ausência ou baixa fotoinibição. Cyanophyta e Xanthophyta foram grupos intermediários em termos de adaptação a luz. Em estudo semelhante, NECCHI (2005) analisou as características fotossintéticas de 13 espécies de rodófitas continentais; curvas de fotossíntese-irradiância também indicaram adaptação a baixas irradiâncias em todas as espécies analisadas, caracterizadas essencialmente pela ocorrência de fotoinibição, baixos valores dos parâmetros de saturação e de compensação e valores relativamente altos de rendimento quântico efetivo do fotossistema (FSII).

Apesar de ser considerada uma planta de sombra, *B. delicatulum*, assim como outras rodófitas continentais, pode estar exposta à elevadas irradiâncias “in situ” (970-2400 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (NECCHI 1997; NECCHI & ZUCCHI 2001; NECCHI & ALVES 2005). A exposição a uma irradiância altamente em excesso daquela requerida para saturar a fotossíntese pode ser prejudicial, especialmente para algas adaptadas a ambientes de baixa radiação (SAGERT et al. 1997). As estratégias de proteção a fotodanos de plantas crescendo sob luz excessiva na maioria das vezes envolvem: indução de mecanismos fotoprotetores e síntese de pigmentos e foi anteriormente definida como fotoinibição dinâmica da fotossíntese; em contraste, a fotoinibição

crônica resulta na perda de atividade dos centros de reação do FSII. Mecanismos de fotoproteção asseguram que a energia absorvida em excesso pelo FSII seja dissipada na forma de calor, evitando deste modo a fotoinativação e o fotodano (HANELT et al. 2006). Segundo FRANKLIN et al. (2003), tanto a fotoproteção quanto a fotoinativação reduzem a eficiência na utilização da luz, porém através de mecanismos marcadamente diferentes. A fotoproteção envolve principalmente eventos no complexo antena do FSII que diminuem a transferência de excitação para os centros de reação, enquanto que a fotoinativação envolve perda de função dos centros de reação do FSII, geralmente acompanhada pela perda de proteínas D1 dos centros de reação.

NECCHI (2006) analisou as respostas de curto período das características fotossintéticas da alga vermelha *Compsopogon coeruleus* sob condições de campo e de laboratório. A variação diária dos parâmetros derivados da fluorescência da clorofila foi medida em duas estações contrastantes do ano (inverno e outono) e curvas de fotossíntese-irradiância e de indução escuro/luz foram testadas em laboratório em condições simulatórias de inverno e outono. Os resultados revelaram características de alga de sombra: valores de ETR relativamente baixos e altos de NPQ, indicando, respectivamente, baixa capacidade do FSII na conversão da energia e alta capacidade na dissipação do calor da energia absorvida pelos centros de reação. Indicaram também a existência de mecanismos para lidar com altas irradiâncias: correlação negativa de RQE com a irradiância, o que sugere alta pressão de excitação sobre o FSII e rápida regulação de NPQ, que permite eficiente dissipação da energia capturada em excesso pelos centros de reação. Outras características gerais encontradas foram: fotoinibição dinâmica, indicada pela diminuição seguida de aumento de ETR na curva de indução sob condições de inverno (menor irradiância), correlação positiva de ETR com a temperatura, que sugere um mecanismo dependente da temperatura e valores similares ou maiores de RQP e RQE no final do dia, que indica boa capacidade de recuperação e ausência de fotodano irreversível ao aparato fotossintético.

Investigações utilizando fluorescência da clorofila têm se mostrado valiosas para avaliação das respostas “in situ” dos parâmetros fotossintéticos em macroalgas marinhas (HANELT et al. 1993, HÄDER et al. 1997, SAGERT et al. 1997, FLORES-MOYA et al. 1999) e continentais (ENSMINGER et al. 2001 e NECCHI 2006). Entretanto, os mecanismos de regulação da fotossíntese e outros aspectos importantes relacionados

tais como: grau e extensão da fotoinibição, taxas de recuperação após exposição à elevadas irradiâncias e relação entre medições em condições naturais e de laboratório envolvendo irradiância e temperatura em macroalgas continentais têm sido pouco estudados.

Os objetivos gerais foram: 1) avaliar o ritmo diário de parâmetros fotossintéticos (taxas de fotossíntese e parâmetros relacionados) da espécie *B. delicatulum* de uma população em condições naturais e em cultura através de duas técnicas (concentração de oxigênio dissolvido e fluorescência “in vivo” da clorofila) em condições fixas de temperatura e irradiância no laboratório e em condições variáveis na Natureza. Essas informações serão importantes para extrapolações visando estimativas de produção primária diária, bem como para determinar os melhores horários para realização de experimentos em laboratório, visando discriminar efeitos de ritmos diários e evitar problemas na interpretação dos resultados. 2) comparar parâmetros fotossintéticos derivados da fluorescência da clorofila e avaliar a capacidade de recuperação do rendimento quântico de plantas aclimatadas a distintas condições de irradiância em campo (natural x artificialmente sombreado) e em laboratório (baixa e alta) após curto período de exposição.

As duas abordagens são complementares a aspectos ecológicos (distribuição espaço-temporal e relações com variáveis ambientais) e ecofisiológicos (influência da temperatura e irradiância sobre crescimento, conteúdo de pigmentos e taxas fotossintéticas) já estudados anteriormente nesta espécie (NECCHI & ZUCCHI 2001 e ZUCCHI & NECCHI 2001) e em conjunto permitirão compreender as respostas da alga às variações de temperatura e irradiância, especialmente em situações extremas (baixas e altas) e como tais características influenciam na sua adaptabilidade a ambientes com distintas condições ambientais e, conseqüentemente, na estratégia de manutenção da população na Natureza.

O trabalho desenvolvido permitirá testar três hipóteses gerais: 1) o estudo em laboratório, sob condições fixas de temperatura e irradiância, deverá demonstrar a ocorrência de ritmos endógenos (com os picos esperados), tanto para o material de campo quanto de cultura por ambas as técnicas; 2) o estudo em campo sob condições variáveis de temperatura e irradiância, deverá indicar respostas sensíveis à irradiância (especialmente nos horários de maior incidência), por tratar-se de uma alga de sombra;

3) em condições experimentais de baixa irradiância, tanto a alga em condições naturais quanto a de cultura, deverão confirmar características de planta de sombra: maiores valores de eficiência fotossintética (α) e taxas de recuperação do rendimento quântico, menores valores de I_k e fotoinibição (maior sob alta irradiância).

LITERATURA CITADA

- ENSMINGER, I., XYLÄNDER, M. HAGEN, C. & BRAUNE, W. 2001. Strategies providing success in a variable habitat: III. Dynamic control of photosynthesis in *Cladophora glomerata*. Plant Cell Environ. 24: 769-779.
- FLORES-MOYA, A., HANELT, D., FIGUEROA, F. L., ALTAMIRANO, M., VIÑEGLA, B. & SALLES, S. 1999. Involvement of solar UV-B radiation in recovery of inhibited photosynthesis in the brown algae *Dictyota dichotoma* (HUDSON) LAMOUROUX. J. Photochem. Photobiol. B: Biology 49: 129-135.
- FRANKLIN, L.A., OSMOND, C.B., LARKUM, A.W.D. 2003. Photoinhibition, UV-B and Algal Photosynthesis. In: A.W.D. Larkum, S.E. Douglas, J.A. Raven (Eds.) Photosynthesis in Algae. Kluwer Academic Publishers. Pp 352-375.
- HÄDER, D.-T., LEBERT, M., FLORES-MOYA, A., JIMÉNEZ, C., MERCADO, J., SALLES, S., AGUILLERA, J. & FIGUEROA, F.L. 1997. Effects of solar radiation on the photosynthetic activity of the red alga *Corallina elongata* Ellis et Soland. J. Photochem. Photobiol. B: Biology 37: 196-202.
- HANELT, D., HUPPERTZ, K. & NULTSCH, W. 1993. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in marine macroalgae investigated in the laboratory and field. Mar. Ecol. Progr. Ser. 97: 31-37.
- HANELT D., HAWES I. & RAE R. 2006. Reduction of UV-B radiation causes an enhancement of photoinhibition in high light stressed aquatic plants from New Zealand lakes. J. Photochem. Photobiol. B: Biology 84: 89-102.
- KREMER, B.P. 1983. Untersuchungen zur Ökophysiologie einiger Süßwasserrotalgen. Decheniana 136: 31-42.
- NECCHI, O. JR. 1991. The Section *Sirodotia* of *Batrachospermum* (Rhodophyta, Batrachospermaceae) in Brazil. Algal. Stud. 62: 17-30.

- NECCHI, O. JR. 1993. Distribution and seasonal dynamics of Rhodophyta in the Preto River basin, southeastern Brazil. *Hydrobiologia* 250: 81-90.
- NECCHI, O. JR. 1997. Microhabitat and plant structure of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) populations in four streams of São Paulo State, southeastern Brazil. *Phycolog. Res.* 45: 39-45.
- NECCHI, O. JR. 2004. Light-related photosynthetic characteristics of lotic macroalgae. *Hydrobiologia* 525: 139-155.
- NECCHI, O. JR. 2005. Light-related photosynthetic characteristics of freshwater rhodophytes. *Aquat. Bot.* 82: 193-209.
- NECCHI, O. JR. 2006. Short-term responses of photosynthesis to temperature and irradiance in the freshwater red algae *Compsopogon coeruleus*. *Algol. Stud.* 119: 125-138.
- NECCHI, O. JR. & ALVES, A.H.S. 2005. Photosynthetic characteristics of the freshwater red alga *Batrachospermum delicatulum* (Skuja) Necchi & Entwisle. *Acta Bot. Bras.* 19 (1): 125-137.
- NECCHI, O. JR. & BRANCO, C.C.Z. 1999. Phenology of a dioecious population of *Batrachospermum delicatulum* (Rhodophyta, Batrachospermaceae) in a stream from southeastern Brazil. *Phycolog. Res.* 47: 251-256.
- NECCHI, O. JR., BRANCO, C.C.Z. & BRANCO, L.H.Z. 1999. Distribution of Rhodophyta in streams from São Paulo state, southeastern Brazil. *Arch. Hydrobiol.* 147: 73-89.
- NECCHI, O. JR. & ZUCCHI, M.R. 1997. *Audouinella macrospora* (Acrochaetiaceae, Rhodophyta) is the 'Chantransia' stage of *Batrachospermum* (Batrachospermaceae). *Phycologia* 36: 220-224.
- NECCHI, O. JR. & ZUCCHI, M.R. 2001. Photosynthetic performance of freshwater Rhodophyta in response to temperature, irradiance, pH and diurnal rhythm. *Phycolog. Res.* 49: 305-318.
- PASCOALOTO, D. & NECCHI, O. JR. 1990. Seasonal variation of *Sirodotia delicatula* Skuja (Rhodophyta, Batrachospermaceae) in a small stream from São Paulo State, southeastern Brazil. *Rev. Bras. Biol.* 50: 37-44.

- SAGERT, S., FORSTER, R.M., FEUERPFEL, P. & SCHUBERT, H. 1997. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) from different shore levels. Eur. J. Phycol. 32: 363-371.
- SHEATH, R.G. 1984. The biology of freshwater red algae. In: Round, F.E. & Chapman, D.J. (Eds.) Progress in Phycological Research. Biopress, Bristol, pp. 89-157.
- ZUCCHI, M.R. & NECCHI, O. JR. 2001. Effects of temperature, irradiance and photoperiod on growth and pigment content in some freshwater red algae in culture. Phycolog. Res. 49: 103-114.

CAPÍTULO I

VARIAÇÃO DIÁRIA DAS TAXAS FOTOSSINTÉTICAS
DA ALGA VERMELHA CONTINENTAL
***Batrachospermum delicatulum* EM CONDIÇÕES**
NATURAIS E EM LABORATÓRIO

RESUMO

O ritmo diário de parâmetros fotossintéticos de uma população da alga vermelha continental *Batrachospermum delicatulum* da região noroeste do Estado de São Paulo (20°43'24"S, 49°18'21"W) foi avaliado em condições naturais e em laboratório através das técnicas de concentração de oxigênio dissolvido e fluorescência "in vivo" da clorofila. Os espécimes de cultura e em condições naturais apresentaram, sob condições fixas de temperatura e irradiância, um padrão de variação diária para fotossíntese líquida representado por dois picos: o primeiro (geralmente maior) durante a manhã e o segundo (menor) durante a tarde. Este concorda com o padrão observado em macroalgas marinhas e algumas rodófitas continentais. Os valores de ETR (taxa de transporte de elétrons) também apresentaram padrão semelhante de variação diária, o que demonstra a ocorrência de ritmos endógenos que controlam as taxas fotossintéticas, visto que temperatura e irradiância foram mantidas constantes. Estes resultados confirmam a hipótese inicial de que em laboratório, sob condições constantes de temperatura e irradiância, a espécie demonstraria a ocorrência de ritmos endógenos, tanto para material de campo quanto de cultura por ambas as técnicas. O estudo em condições naturais foi realizado em duas épocas contrastantes (junho, período frio e seco; e outubro, período quente e chuvoso). As variações diárias dos parâmetros RQE (rendimento quântico efetivo) e RQP (rendimento quântico potencial) apresentaram correlação negativa com a irradiância nas duas épocas de amostragem, assim como valores similares no início e final do dia. Estes dados indicam, respectivamente, alta pressão de excitação sobre o fotossistema II (FSII); e boa capacidade de recuperação e ausência de fotodano irreversível ao aparato fotossintético pela exposição prolongada a altas irradiâncias. Foram observados níveis de recuperação mais baixos em outubro, que sugerem maior pressão de excitação sobre o FSII, o que pode ser atribuído à maior irradiância nesta época. Os valores de NPQ (extinção não-fotoquímica) também apresentaram correlação negativa com a irradiância (significativa apenas em junho), o que possivelmente indica uma baixa capacidade de dissipação da energia absorvida pelos centros de reação. Os resultados evidenciaram o padrão de variação diário típico, com evidente resposta à irradiância, fato que confirmou a hipótese inicial de que sob condições variáveis de temperatura e irradiância em campo, a espécie apresentaria respostas sensíveis a irradiância, por tratar-se de alga de sombra.

Palavras-Chaves: alga vermelha, fotossíntese líquida, fluorescência da clorofila, variação diária.

INTRODUÇÃO

Estudos sobre variação diária nas taxas fotossintéticas são relevantes para avaliar como as algas ajustam o aparato fotossintético às variações de curto período de temperatura e irradiância bem como a verificação da existência de ritmos diários endógenos (circadianos). O padrão de variação diária típico para macroalgas marinhas (RAMUS 1981) indica a ocorrência de dois picos, um na metade do período da manhã e outro (menor) na metade da tarde, com queda em torno do meio-dia. NECCHI & ZUCCHI (2001) mostraram resultados essencialmente semelhantes para algas vermelhas continentais, incluindo uma população de *Batrachospermum delicatulum*. NECCHI & ALVES (2005) descreveram padrão geral de variação diária para todas as populações testadas de *B. delicatulum*, caracterizado por dois picos relativamente evidentes, um mais alto pela manhã e outro menor à tarde. Entretanto, esses estudos restringiram-se apenas à utilização da técnica de oxigênio em condições de laboratório.

Padrões diários da fotossíntese foram estudados em populações de *Cladophora glomerata* de ambientes abertos e fechados por ENSMINGER et al. (2001) e mais recentemente em uma população de *Compsopogon coeruleus* em duas estações distintas do ano por NECCHI (2006). Ambos os estudos encontraram correlações entre parâmetros fotossintéticos derivados da fluorescência da clorofila com a variação diária da temperatura e irradiância.

As variações diárias de temperatura afetam o metabolismo fotossintético determinando a distribuição sazonal de algas bentônicas (DENICOLA 1996), bem como efeitos de curto período sobre a fotossíntese (DAVISON 1991). Algas enfrentam flutuações de temperatura em diferentes escalas de tempo, incluindo diária, sazonal e de longo período (inter-anual) associadas com ciclos climáticos naturais (DAVISON 1991).

Variações de irradiância em distintas escalas de tempo também afetam a fotossíntese de algas de diferentes maneiras, com respostas diárias, sazonais ou anuais (KIRK 1994). Portanto, devem existir mecanismos que permitem ajustes do aparato fotossintético em diferentes escalas de tempo (SAGERT & SCHUBERT 2000). Em condições de alta irradiância, a fotoinativação e o fotodano oxidativo são evitados pela regulação negativa da pressão de excitação sobre o fotossistema II (FSII) e pela extinção do estado de excitação duradouro potencialmente prejudicial da clorofila (SCHUBERT et al. 2006). Medições in “situ” revelam mudanças diárias na eficiência

(rendimento quântico) e na taxa máxima de fotossíntese que estão relacionadas à luz incidente e extremamente dependente do estado de pré-adaptação (FRANKLIN et al. 2003). Nas horas centrais do dia, as plantas estão expostas à níveis de irradiância que podem exceder em muitas vezes a capacidade de saturação da alga (RANIELLO et al. 2004). Assim, a captação eficiente da luz é requerida sob baixa irradiância, no nascer e no pôr-do-sol, enquanto o fotodano deve ser evitado sob altas irradiancias, em torno do meio-dia (RANIELLO et al. 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o ritmo diário de parâmetros fotossintéticos da espécie de alga vermelha *Batrachospermum delicatulum* em uma população em condições naturais e em cultura através de duas técnicas (concentração de oxigênio dissolvido e fluorescência “in vivo” da clorofila). A abordagem em condições naturais permitiu analisar o controle dinâmico (aumento x diminuição, inibição x recuperação) da fotossíntese em resposta à temperatura e irradiância em curto período, em duas épocas distintas, através do acompanhamento diário dos parâmetros fotossintéticos da população. O estudo em laboratório, sob condições fixas de temperatura e irradiância, permitiu avaliar a existência de ritmos endógenos (circadianos) que atuam na regulação das taxas fotossintéticas ao longo do dia.

O trabalho desenvolvido permitiu testar duas hipóteses gerais: 1) o estudo em laboratório, sob condições fixas de temperatura e irradiância, deverá demonstrar a ocorrência de ritmos endógenos (com os picos esperados), tanto para o material de campo quanto de cultura por ambas as técnicas, conforme já descrito em trabalhos anteriores (NECCHI & ZUCCHI 2001 e NECCHI & ALVES 2005); 2) o estudo em campo sob condições variáveis de temperatura e irradiância, deverá indicar respostas sensíveis à irradiância (especialmente nos horários de maior incidência), por tratar-se de uma alga de sombra.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foi analisada uma população natural de *B. delicatulum* do Córrego Talhadinho, no município de São José do Rio Preto, Distrito de Talhados, estrada municipal SJR-351, 20°43'24"S, 49°18'21"W. Apenas o gametófito ocorre neste local, durante todo o ano, o qual apresenta tipicamente um período definido de maior crescimento, que

estende-se de abril a outubro com pico no período de julho a agosto (NECCHI & BRANCO 1999). A mesma população é mantida em cultura (isolado no. 43) no Laboratório de Ficologia do Departamento de Zoologia e Botânica, da UNESP, Câmpus de São José do Rio Preto. O gametófito confere uma vantagem para este estudo, por ser mais sensível às flutuações das variáveis ambientais (NECCHI 1993, 1997, NECCHI & BRANCO 1999). Os experimentos foram realizados com a população de campo e o respectivo isolado de cultura. O estudo com material em cultura foi feito a partir de isolado em fase exponencial de crescimento. O estudo em condições naturais foi realizado em duas épocas contrastantes da região dentro do período de crescimento da população: meio do período frio e seco (18 de junho de 2005) e início do período quente e chuvoso (07 de outubro de 2005).

Avaliação das taxas de fotossíntese pela técnica de oxigênio dissolvido

As taxas de fotossíntese líquida das populações em condições naturais e em cultura foram determinadas através de incubações em laboratório por meio da técnica de oxigênio com frascos claros e escuros (LITTLER & ARNOLD 1985, THOMAS 1988). As concentrações de oxigênio dissolvido (OD) no início e final das incubações foram medidas com uso do oxímetro Yellow Springs, mod 5000, provido de sonda com auto-agitação. Foram utilizados três frascos claros. As concentrações de OD iniciais e finais foram medidas separadamente em cada frasco. Os cálculos foram feitos com aplicação da seguinte fórmula (LITTLER & ARNOLD 1985):

Fotossíntese líquida (FL) = $((FC - FCI) / T) / P$, onde:

FC = concentração de OD nos frascos claros após a incubação (mg L^{-1}) x volume do frasco em litros (neste caso 0,110);

FCI = concentração de OD nos frascos claros antes da incubação (mg L^{-1}) x volume do frasco em litros.

T = tempo em horas.

P = peso seco da alga, em gramas.

O peso fresco inicial da alga foi semelhante ao utilizado em trabalho anterior (NECCHI & ZUCCHI 2001): 100 ± 10 mg. Este foi medido antes das incubações, através de rápida secagem do excesso de água com papel absorvente, para evitar discrepância de biomassa das algas entre as réplicas. Após as incubações as amostras foram

congeladas para posterior determinação do peso seco, que foi obtido através de secagem da alga em estufa a 105 °C por 24 h. Para a determinação do peso fresco e peso seco foi utilizada balança analítica Quimis, mod. SA 210, com resolução de 0,1 mg.

Incubações em laboratório

As incubações foram realizadas sob temperatura de 20°C e irradiância de $74,5 \pm 2,8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (conforme NECCHI & ZUCCHI 2001) em períodos de 50 minutos ao longo do período luminoso do dia (7:00-19:00h). Para o isolado em cultura foi realizado um único perfil diário em 11 de fevereiro de 2005, enquanto que para o material de campo foram feitas duas avaliações nas mesmas épocas das medições em campo. As incubações foram realizadas no interior de incubadoras refrigeradas Marconi, mod. MA 830/A, equipada com plataforma de frascos com agitação orbital e controle eletrônico de temperatura. A iluminação foi fornecida por lâmpadas fluorescentes (branca fria) de 15 W (Osram). Os espécimes foram acondicionados em frascos de vidro transparentes (transparência de 98,5%) com capacidade de 110 mL. A rotação empregada nos experimentos foi de 100 ± 5 rpm. Para os experimentos com material de cultura utilizou-se meio água-solo 20:1 (NECCHI & ZUCCHI 2001). Para a população em condições naturais foi usada amostra de água do próprio riacho previamente filtrada. A filtragem de água foi feita com sistema de filtragem à vácuo Millipore utilizando-se filtro Whatman GF/C, com poro de 1,2 μm . Para evitar saturação, efetuou-se redução da concentração de oxigênio dissolvido na água através de aquecimento. Para prevenir a limitação por CO₂ e nutrientes a água ou o meio de cultura dos frascos de incubação foram substituídos em intervalos de 3 horas.

Antes das incubações as plantas (tanto aquelas provenientes de cultura, quanto as coletadas em condições naturais) foram mantidas por 12 horas em condições constantes de temperatura (20°C) no escuro. As plantas foram acondicionadas em estufas incubadoras dentro de erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura (água-solo) para as provenientes de cultura ou água do riacho filtrada para as provenientes de campo.

Avaliação da fotossíntese por fluorescência

A avaliação da fotossíntese das populações em condições naturais e em cultura através de fluorescência da clorofila foi realizada com fluorômetro sub-aquático Walz, modelo Diving-PAM. As medições foram efetuadas em intervalos de uma hora ao longo do dia, sendo que aquelas em campo nos seguintes períodos: junho (8:00-18:00h) e outubro (7:00-18:00h) Foram analisados os parâmetros fotossintéticos especificados abaixo. Os cálculos e a terminologia seguem SCHREIBER et al. (1994) e VAN KOOTEN & SNEL (1990), respectivamente.

1) Rendimento quântico potencial (“potential quantum yield”) – $RQP = F_v/F_m$, onde:

F_m = fluorescência máxima de uma planta adaptada ao escuro.

F_v = fluorescência variável.

Este parâmetro indica a quantidade de moléculas de clorofila oxidadas (disponíveis) nos centros de reação do FSII, ou seja, os centros de reação abertos de uma planta adaptada ao escuro.

2) Rendimento quântico efetivo (“effective quantum yield”) – $RQE = \Delta F/F_m'$, onde:

$\Delta F = F_m' - F_t$

F_m' = fluorescência máxima de uma planta iluminada;

F_t = fluorescência transitória.

Este parâmetro indica a mesma característica do que o anterior, porém, refere-se a uma planta sob iluminação.

3) Taxa de transporte de elétrons (“electron transport rate”) - $ETR = \Delta F/F_m' \times$ irradiância x coeficiente de absorção (segundo KROMKAMP et al. 1998), onde:

$\Delta F/F_m'$, conforme especificado acima;

Irradiância em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$;

Coeficiente de absorção de luz da alga = 0,80 (cultura) e 0,87 (campo). Os valores deste coeficiente foram estimados cobrindo-se o sensor quântico com um plástico preto contendo um orifício circular de 0,5 cm de diâmetro. Mediu-se a irradiância sem a presença da alga (100%) e com a alga colocada sobre este orifício em campo (luz solar e plantas de campo) e em laboratório (lâmpada fluorescente e espécimes de cultura). Tomou-se a média de 10 medições.

ETR representa a taxa de transporte de elétrons do FSII para o FSI; apresenta tipicamente uma relação direta (linear) com a taxa de fixação de CO₂ ou de liberação de O₂ em condições saturantes de CO₂ e baixa concentração de O₂.

4) Extinção não-fotoquímica da fluorescência (“non-photochemical quenching”) - NPQ = $(F_m - F_m') / F_m'$, onde:

F_m e F_m' , conforme especificado acima.

Este parâmetro indica a perda de energia por processos não fotoquímicos, ou seja, dissipação do excesso de energia absorvido pelos centros de reação através de calor.

As medições destes parâmetros, em campo e em laboratório, foram feitas a partir de três plantas. Foram construídas curvas rápidas de luz (WHITE & CRITCHLEY 1999) em nove níveis crescentes de irradiância (0, 2, 60, 82, 172, 217, 405, 495 e 689 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). O tempo de exposição em cada nível de luz foi de 15 s. Imediatamente após as incubações, as plantas foram posicionadas diretamente sobre a extremidade do cabo de fibra óptica do fluorômetro, com uso do acessório do aparelho (suporte magnético de amostra). Foram computados os valores de ETR no nível de luz coincidente com o pico na curva de luz (ETR_{max}), que geralmente ocorre em 405 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nesta espécie. Os valores de NPQ também foram computados no nível máximo da curva, que geralmente ocorre em 689 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nesta espécie. Após a obtenção das curvas de luz, as plantas em campo, foram aclimatadas ao escuro por 10 min. com uso de acessório do próprio fluorômetro (“dark leaf clip”) para medição do rendimento quântico potencial. Este período de adaptação ao escuro (modificado de ENSMINGER et al. 2001) foi previamente testado e mostrou-se suficiente para obtenção de resposta.

Curvas de indução escuro/luz (Kautsky) foram obtidas às 9:00, 12:00 e 15:00 horas das plantas previamente adaptadas ao escuro, através da aplicação de irradiância constante (170 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fornecida pela fonte luminosa do fluorômetro, separado por 14 pulsos de luz saturante em intervalos de 15s, iniciados 30s após o primeiro pulso. O primeiro pulso serviu para medição do rendimento quântico potencial, os demais para determinação da taxa de transporte de elétrons e extinção não-fotoquímica.

Medição de variáveis ambientais

As medições foram realizadas continuamente ao longo do dia (7:00-18:00h em junho e 6:30-18:00h em outubro) A irradiância foi medida através de registros a cada 15 min. (a partir de média de dados obtidos a cada 30 segundos) com uso do quantômetro (“Data Logger”) Li-Cor LI-1400 e sensor quântico esférico Li-Cor LI-193 SA. O sensor foi posicionado abaixo da superfície da água a profundidade de 7,0 cm em junho e 9,0 cm em outubro o mais próximo possível da área com presença de algas. A temperatura e turbidez da água foram registradas em intervalos de 30 minutos com uso do medidor de qualidade da água Horiba, mod U-10, equipado com sonda de múltiplos parâmetros.

Análise estatística dos dados

Resultados anteriores (NECCHI & ZUCCHI 2001 e dados não publicados) mostraram que todas as variáveis apresentam curvas de variação normal e atendem às premissas para aplicação de testes estatísticos paramétricos. Para testar a ocorrência de diferenças significativas para os parâmetros fotossintéticos, os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA – unifatorial) e teste de comparação múltipla “a posteriori” de Newman-Keuls (ZAR 1999). O fator testado foi o horário do dia. Para testar as diferenças das variáveis ambientais entre as duas épocas, aplicou-se o teste *t* de Student (ZAR 1999). Para verificar a associação entre as variáveis ambientais (temperatura e irradiância) e os parâmetros fotossintéticos aplicou-se o coeficiente de correlação *r* de Pearson (ZAR 1999). Estes testes foram executados através do software Statsoft Statistica, versão 6. Para a confecção dos gráficos foi utilizado o software Microcal Origin, versão 5.0.

RESULTADOS

Variação diária em laboratório

Os valores do rendimento quântico efetivo (RQE) e da extinção não-fotoquímica (NPQ) obtidos para o material em cultura (Figura 1), não apresentaram diferenças significativas ao longo do período, como indicado pela análise de variância (ANOVA, $F=0,96$, $p=0,50$ e $F=1,63$, $p=0,16$, respectivamente). Ambos mostraram suave tendência de queda e foram positivamente correlacionados entre si ($r=0,87$, $p<0,001$).

A taxa de transporte de elétrons (ETR) apresentou dois picos (Figura 1): um menor às 11:00h e o outro maior às 16:00h, e posteriormente decaiu de maneira constante até o final do período. ETR não apresentou correlação significativa com os demais parâmetros ($r = 0,06 - 0,27$, $p > 0,05$).

A taxa de fotossíntese líquida também apresentou dois picos (coincidentes com os horários da variação diária de ETR), sendo que às 13:00 horas atingiu o menor valor e após o segundo pico oscilou até o fim do período (Figura 1). Apesar do padrão diário semelhante não apresentou correlação significativa com ETR ($r = 0,27$, $p = 0,39$).

Resultados do primeiro experimento com material de campo, mostraram que os valores de fotossíntese líquida e os de NPQ, não apresentaram diferenças significativas ao longo do período de luz (Figura 2), conforme indicado pela ANOVA ($F = 1,26$, $p = 0,30$ e $F = 1,29$, $p = 0,29$, respectivamente). Os valores de NPQ aumentaram até às 13:00 horas e posteriormente apresentaram uma suave tendência de queda até o final da tarde (Figura 2).

A variação da fotossíntese líquida evidenciou um primeiro pico maior às 11:00h e um segundo menor às 14:00 horas, oscilando antes e depois desses picos (Figura 2). Os valores de ETR tiveram uma acentuada queda do início da manhã ao início da tarde (9:00-13:00h), seguida por uma recuperação suave e gradual (com oscilações) até o final do período (Figura 2).

A variação de RQE apresentou uma tendência de diminuição no decorrer de todo período (Figura 2) e correlacionou-se positivamente com fotossíntese líquida ($r = 0,63$, $p < 0,05$) e com ETR ($r = 0,85$, $p < 0,001$). Comparado com os valores de RQE obtidos do experimento com material em cultura houve também correlação positiva ($r = 0,91$, $p < 0,001$). Os demais parâmetros (ETR, NPQ e fotossíntese líquida) não apresentaram correlação significativa entre os experimentos com plantas de cultura e provenientes de condições naturais ($r = -0,03 - 0,16$ $p > 0,05$).

No segundo experimento utilizando-se plantas de campo (Figura 3) nenhum dos parâmetros medidos apresentou diferenças significativas ao longo do período amostrado ($F = 0,75 - 1,32$, $p > 0,05$). Os valores de fotossíntese líquida apresentaram um pico maior às 11:00h e um menor às 14:00h, oscilando antes e depois desses picos (Figura 3). A fotossíntese líquida não apresentou correlação com os demais parâmetros ($r = -0,42 - 0,10$, $p > 0,05$).

Os valores de NPQ oscilaram ao longo de todo período com tendência de diminuição com o menor valor às 19:00h (Figura 3). NPQ também não apresentou correlação com os demais parâmetros ($r = -0,06-0,10$, $p > 0,05$). A variação de ETR e RQE apresentou padrão semelhante com correlação positiva entre si ($r = 0,85$, $p < 0,001$). Houve uma queda constante no início da manhã, seguida por dois pequenos picos às 12:00h e às 15:00h e após esse horário aumento também constante até o final do período (Figura 3).

Comparando os dois experimentos utilizando material de campo nenhum dos parâmetros apresentou correlação significativa ($r = -0,04-0,54$, $p > 0,05$).

Variação diária em condições naturais

Os valores de temperatura, irradiância e turbidez foram significativamente diferentes entre os dois períodos de amostragem (Tabela 1, Figuras 4 e 5). A temperatura e a irradiância foram menores em junho, enquanto que a turbidez em outubro. A temperatura teve aumento contínuo até alcançar o pico entre 14:30 e 15:30h e diminuiu até o fim do período em ambas épocas de amostragem. A irradiância foi muito baixa até as 10:00h e aumentou bruscamente após esse horário; manteve-se alta entre 11:00h e 15:00h e decresceu também abruptamente a partir de então.

Todos os parâmetros fotossintéticos medidos em condições naturais em junho (Figura 4) apresentaram diferenças significativas ao longo do período amostrado ($F = 5,50-16,22$, $p < 0,001$). Os valores de ETR oscilaram ao longo do período, alcançando seu máximo às 17:00 horas e não apresentaram correlação significativa com os demais parâmetros ($r = -0,19-0,37$, $p > 0,05$).

Os valores de NPQ (Figura 4) mostraram queda acentuada pela manhã (9:00h às 12:00h), mantiveram-se baixos até às 16:00h e elevação no final da tarde (100,8% em comparação ao início do dia). Esta variável correlacionou-se negativamente com a irradiância ($r = -0,89$, $p < 0,001$) e com a temperatura ($r = -0,72$, $p < 0,05$).

Os valores de RQE e RQP (Figura 4) variaram de maneira similar durante o período: com queda a partir das 11:00h, valores baixos das 12:00-16:00h e recuperação no final da tarde (106,3% e 100,1%, respectivamente, em comparação ao início do dia). Ambos correlacionaram-se positivamente entre si ($r = 0,95$, $p < 0,001$) e apresentaram correlação positiva com a extinção não-fotoquímica ($r = 0,87-0,90$, $p < 0,001$) e negativa

com a irradiância [$r=-(0,75-0,78)$, $p<0,01$]. Comparado com o primeiro experimento realizado em laboratório, utilizando-se plantas de campo, os valores de NPQ correlacionaram-se negativamente ($r=-0,71$, $p<0,05$), enquanto que RQE e ETR não apresentaram correlação significativa.

Todos os parâmetros medidos em outubro, (Figura 5) também apresentaram diferenças significativas ao longo do período amostrado ($F=6,71-10,32$, $p<0,001$). Os valores de ETR mostraram uma queda no início do período alcançando seu menor valor às 9:00h, seguida de recuperação apresentando dois picos intermediários (11:00h e 14:00h) e um maior às 18:00h. Os valores de ETR não se correlacionaram com os demais parâmetros, nem com as variáveis ambientais ($r=-0,27-0,54$, $p>0,05$).

Os valores de NPQ (Figura 5) apresentaram uma queda acentuada no período da manhã (8:00-9:00h), oscilaram das 9:00-15:00h e mostraram uma tendência crescente a partir das 15:00h até o final do dia. Os valores de NPQ tiveram correlação positiva com RQE ($r=0,90$, $p<0,001$).

Os valores de RQE (Figura 5) apresentaram uma tendência de queda pela manhã (8:00-10:00h), alcançando seu menor valor às 13:00h, com oscilação seguida de gradual recuperação após 15:00h até o final do dia (95,7% em comparação ao início do dia). Os valores de RQE tiveram correlação positiva com os de RQP ($r=0,59$, $p<0,05$) e negativa com os de irradiância ($r=-0,74$, $p<0,01$). RQP (Figura 5) mostrou uma queda acentuada das 9:00h às 10:00h e mais leve das 10:00h às 12:00h, das 12:00-15:00h recuperação até o final do dia (84,7 % em comparação ao início do dia). RQP apresentou correlação negativa com a irradiância e com a temperatura ($r=-0,72$ e $-0,71$, $p<0,01$, respectivamente). Os valores de RQP foram, em regra, menores do que os de RQE, contrariamente ao esperado, porém não diferiram significativamente.

Comparado com o segundo experimento realizado em laboratório, utilizando-se plantas de campo, os valores de RQE correlacionaram-se positivamente ($r=0,80$, $p<0,01$), enquanto que os de ETR e NPQ não apresentaram correlação significativa. Comparando os dois experimentos de campo, os valores de RQE e RQP apresentaram correlação positiva ($r=0,75$, $p<0,01$ e $r=0,63$, $p<0,05$, respectivamente), ao passo que ETR e NPQ não apresentaram correlação significativa.

Parâmetros derivados das curvas de indução escuro/luz obtidos às 9:00, 12:00 e 15:00 horas mostraram resultados diferentes nas duas épocas testadas, sendo que

maiores valores de ETR e NPQ foram encontrados em junho e outubro, respectivamente (Figura 6).

Em junho os valores de ETR (Figura 6) mostraram padrão de variação semelhante em todos os horários, caracterizado por um aumento súbito, seguido por ligeiro aumento e estabilização. Os valores de NPQ (Figura 6) também apresentaram um padrão semelhante em todos os horários, caracterizados por um pico inicial seguido por uma queda, inicialmente abrupta e depois gradual e estabilização ao final do período de exposição à luz. A correlação entre ETR e NPQ foi negativa às 12:00h e às 15:00h ($r=-0,86$ e $r=-0,85$, $p<0,001$, respectivamente), enquanto que às 9:00h não houve correlação significativa.

Em outubro os valores de ETR (Figura 6) foram caracterizados por aumento lento e gradual às 9:00h e 15:00h, ao passo que às 12:00h houve um aumento mais acentuado até os 2 min seguido por uma suave queda. Os valores de NPQ (Figura 6) mostraram padrão de variação semelhante em todos os horários, caracterizado por um aumento inicial e posterior estabilização com suave tendência de aumento. A correlação entre ETR e NPQ foi positiva em todos os horários ($r=0,98$ - $0,76$, $p<0,001$).

Tabela 1. Características do local de estudo em duas épocas (18 de junho 2005 e 07 de outubro 2005) durante as medições dos parâmetros fotossintéticos. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão. Letras distintas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste t de Student.

Variáveis	Épocas	
	Junho	Outubro
Temperatura (°C) ^a	19,4 $\pm$ 1,5 (a)	22,2 $\pm$ 2,1 (b)
Irradiância ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ^b	1230,5 $\pm$ 358,5 (a)	1487,0 $\pm$ 517,3 (b)
Turbidez (NTU) ^a	16 $\pm$ 4 (a)	6 $\pm$ 1 (b)
a. n=22 (junho) ou 23 (outubro)		
b. n=43 (junho) ou 45 (outubro)		

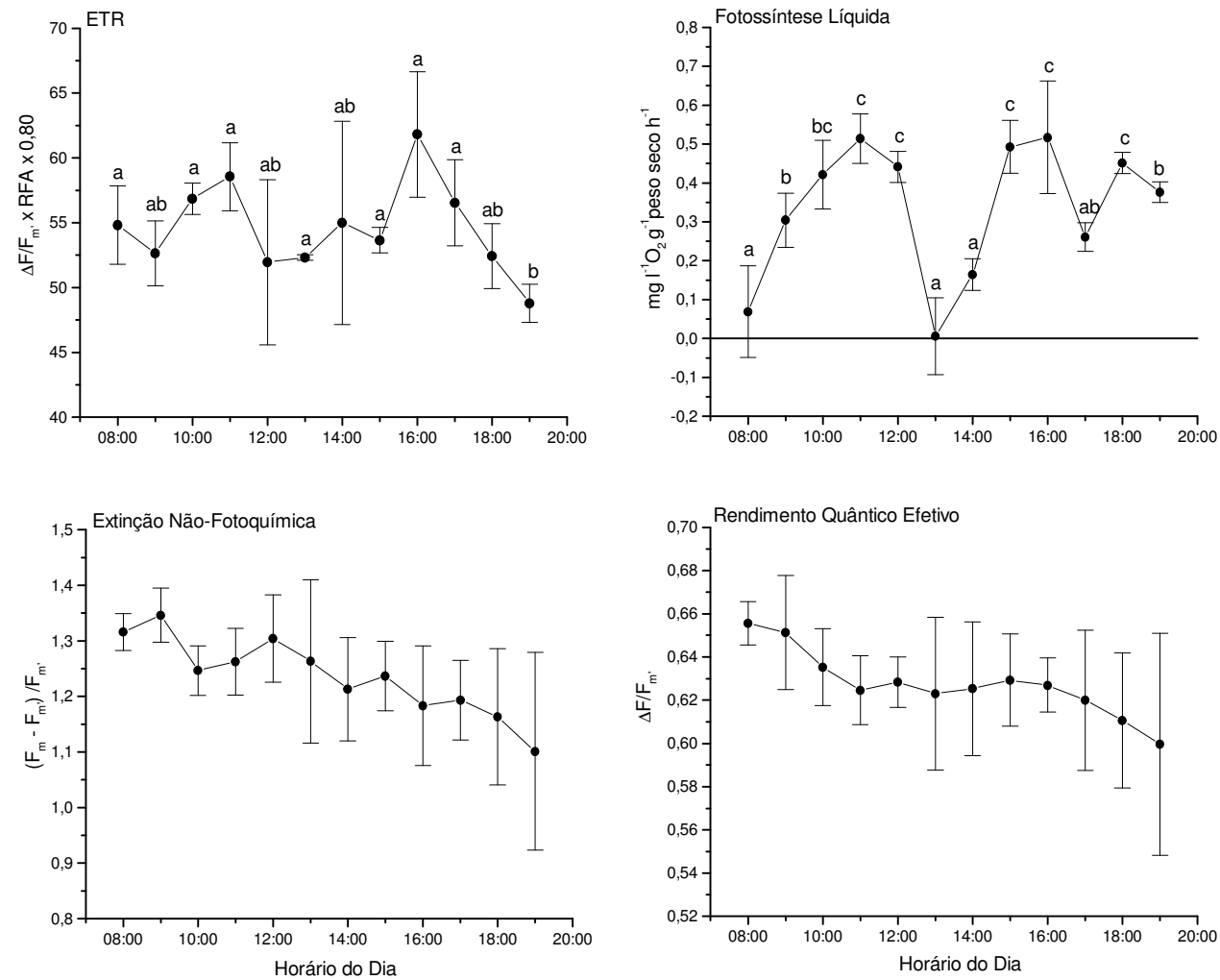


Figura 1. Variação diária em laboratório dos parâmetros fotossintéticos do material em cultura. Os valores representam médias $\pm$ desvios padrão (n=3). Letras distintas indicam diferenças significativas (p<0,05) através do teste de Newman-Keuls.

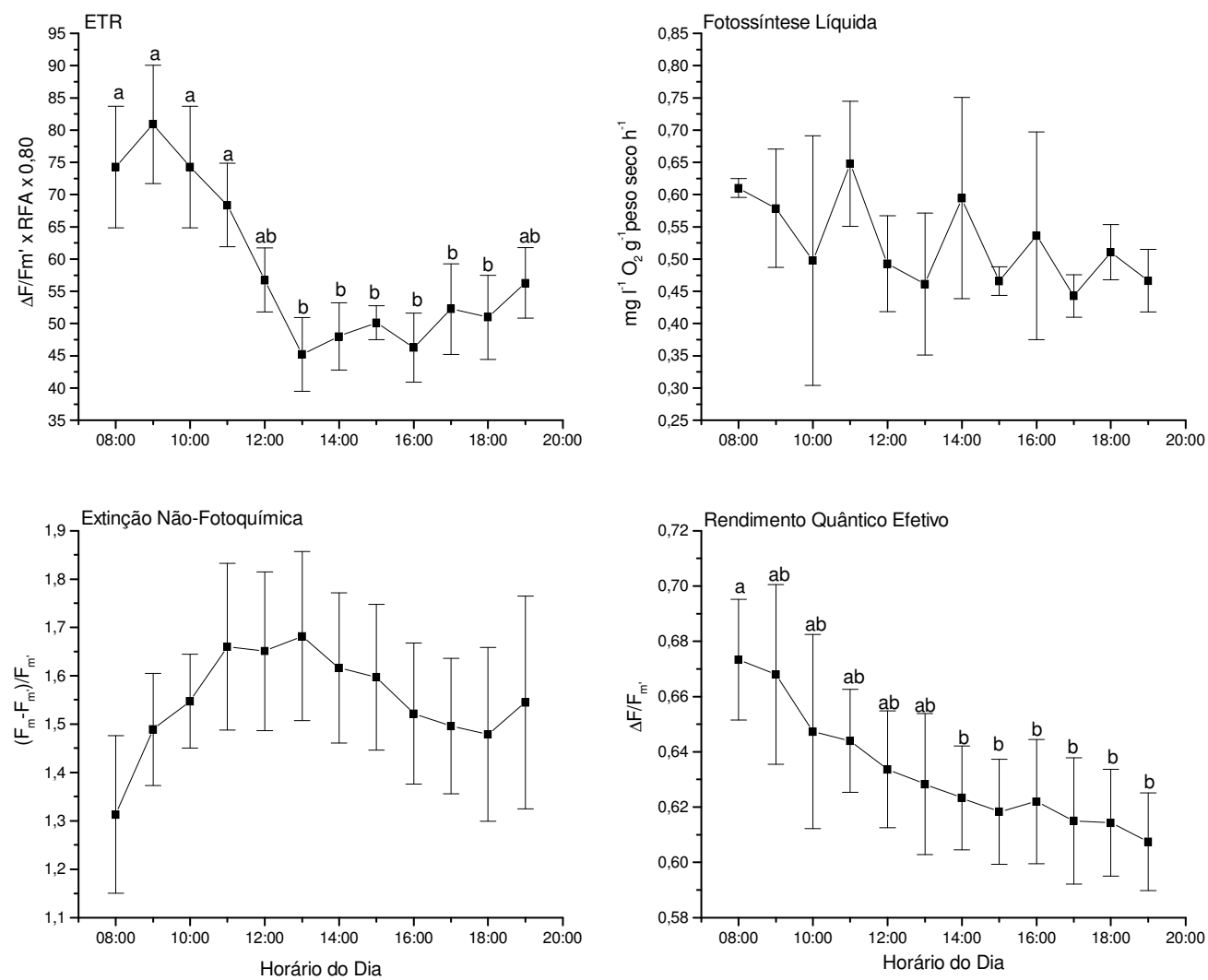


Figura 2. Variação diária em laboratório dos parâmetros fotossintéticos do material de campo (junho). Os valores representam médias $\pm$ desvios padrão (n=3). Letras distintas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) através do teste de Newman-Keuls.

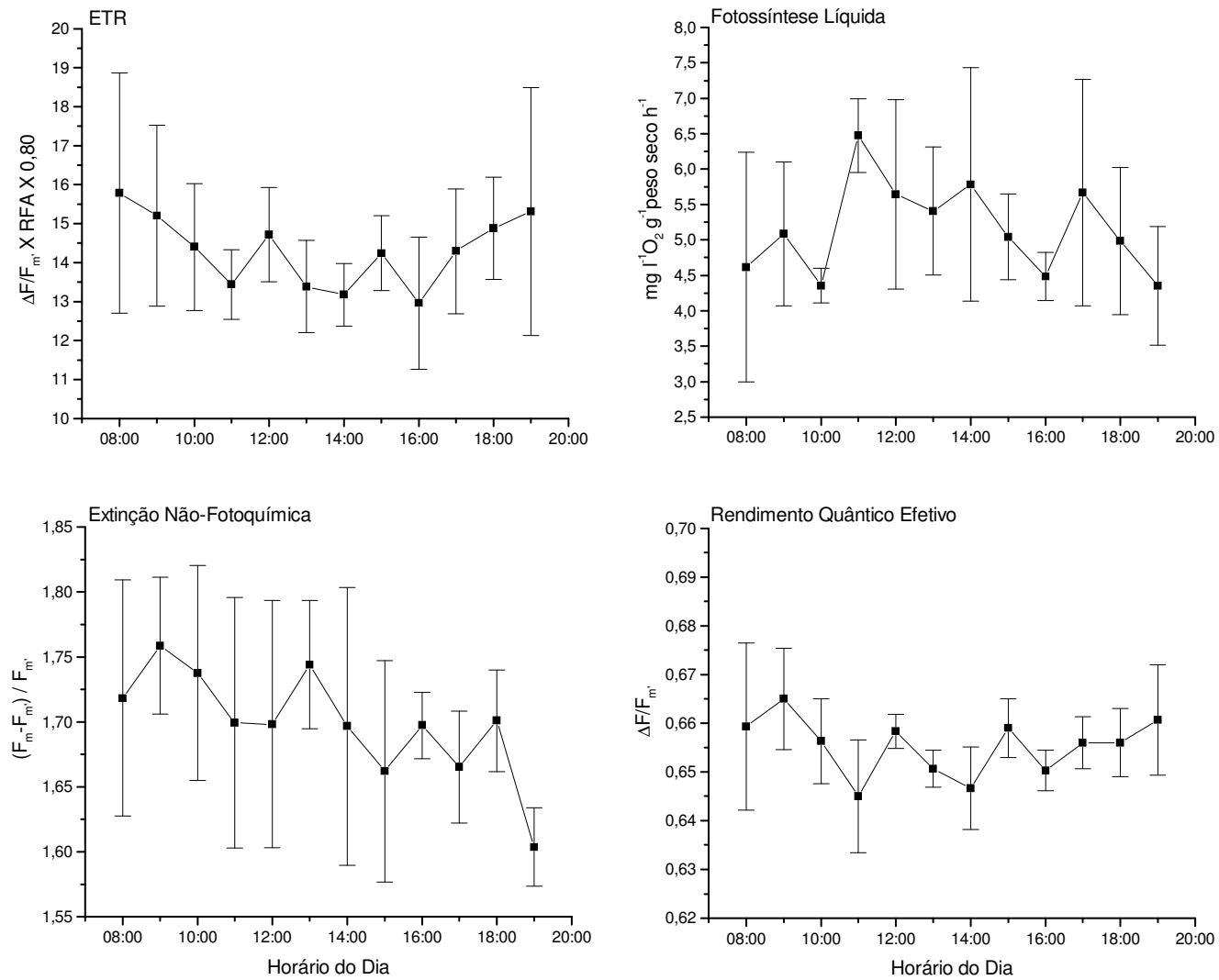


Figura 3. Variação diária em laboratório dos parâmetros fotossintéticos do material de campo (outubro). Os valores representam médias $\pm$ desvios padrão (n=3). Letras distintas indicam diferenças significativas (p<0,05) através do teste de Newman-Keuls.

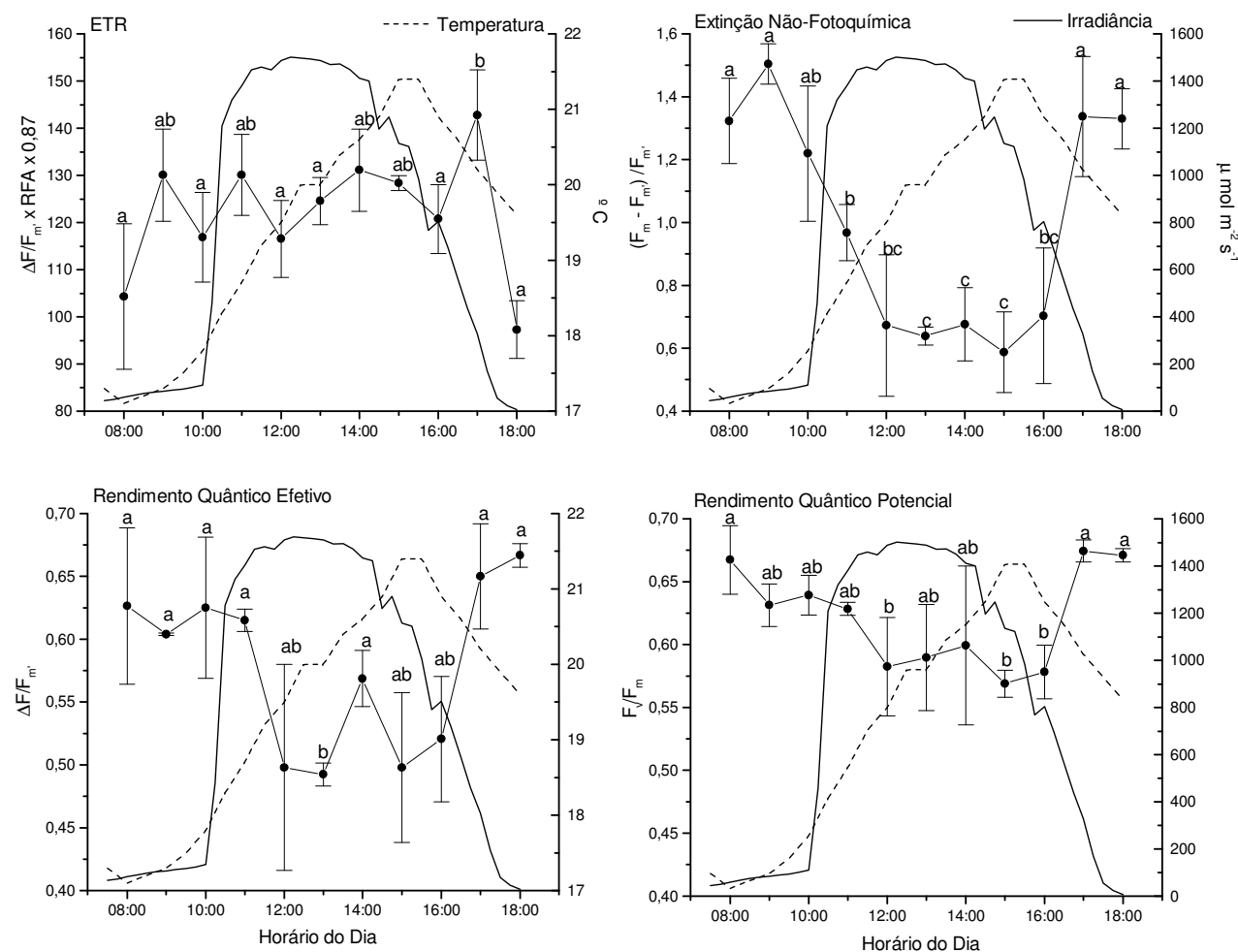


Figura 4. Variação diária em campo da irradiância (linha contínua), temperatura (linha tracejada) e dos parâmetros fotossintéticos em 18 de junho de 2005. Os valores representam médias $\pm$ desvios padrão (n=3). Escalas de temperatura e irradiância estão representadas apenas nos gráficos da esquerda e da direita, respectivamente, para maior clareza. Letras distintas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) através do teste de Newman-Keuls.

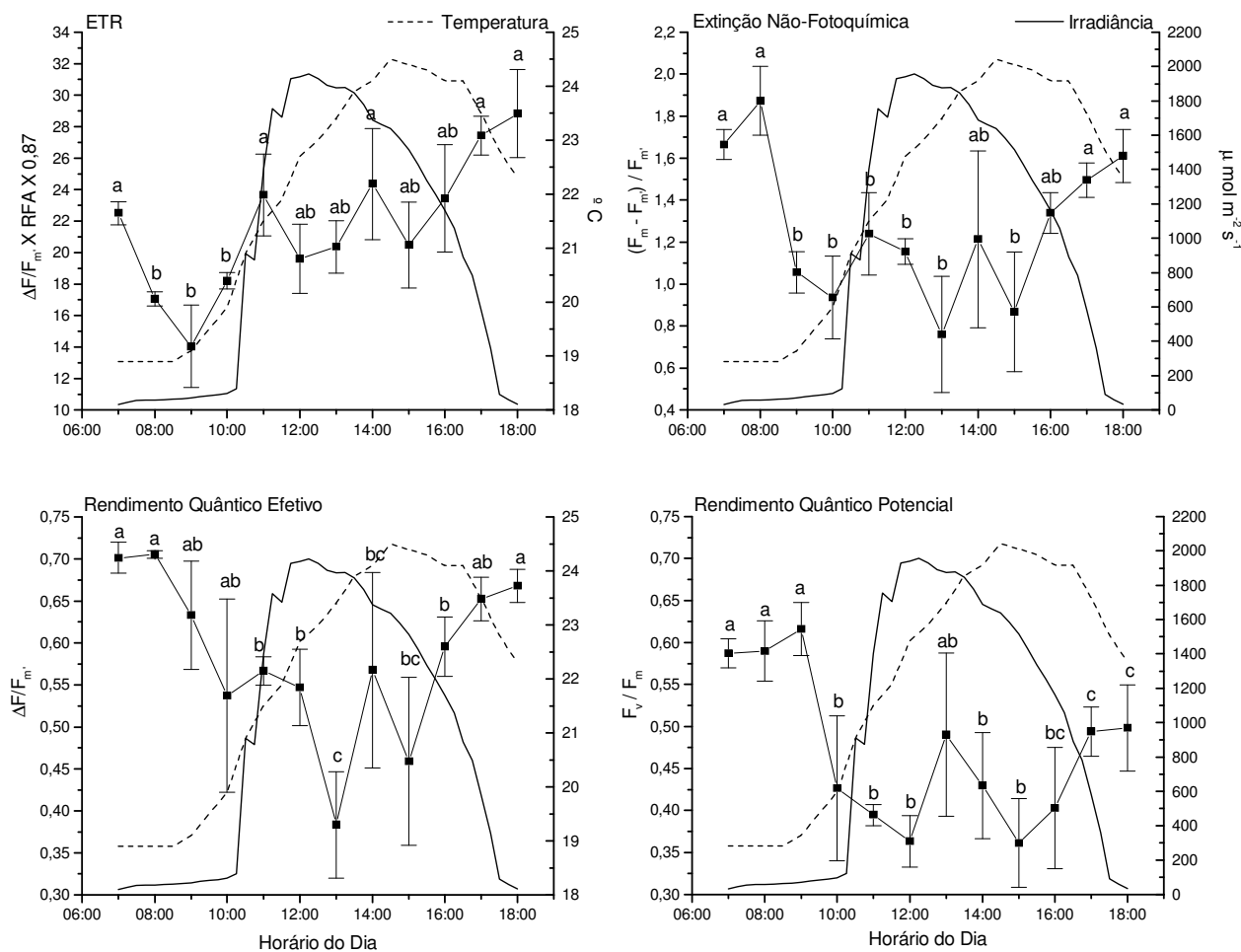


Figura 5. Variação diária em campo da irradiância (linha contínua), temperatura (linha tracejada) e dos parâmetros fotossintéticos de 07 de outubro de 2005. Os valores representam médias $\pm$ desvios padrão (n=3). Escalas de temperatura e irradiância estão representadas apenas nos gráficos da esquerda e da direita, respectivamente, para maior clareza. Letras distintas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) através do teste de Newman-Keuls.

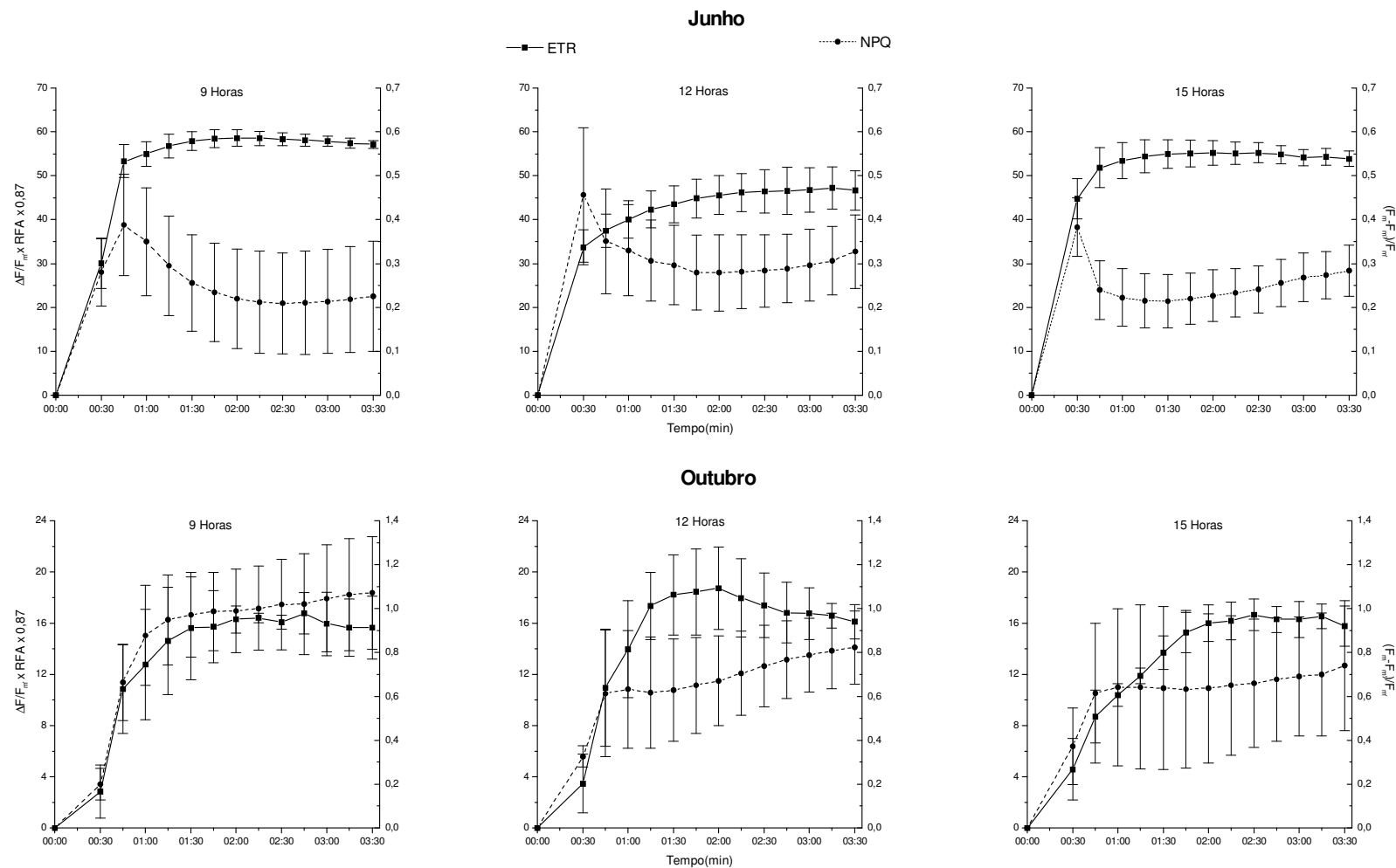


Figura 6. Curvas de indução escuro/luz mostrando a dinâmica dos parâmetros ETR e NPQ em 18 de junho e 07 de outubro de 2005. Os valores representam médias $\pm$ desvios padrão ($n=3$).

DISCUSSÃO

Os dados de fotossíntese líquida obtidos para o isolado em cultura e para população em condições naturais concordaram essencialmente com o padrão de variação diária descrito por RAMUS (1981) para algas marinhas. Este padrão foi anteriormente confirmado em condições de laboratório por NECCHI & ZUCCHI (2001) para rodófitas continentais e por NECCHI & ALVES (2005) para esta mesma espécie. Em condições fixas de temperatura e irradiância pôde-se verificar também a ocorrência de padrão de variação diária dos parâmetros medidos através da técnica da fluorescência da clorofila (especialmente de ETR). A esperada correlação entre ETR e fotossíntese líquida não foi observada, mas ambas variáveis evidenciaram padrão semelhante de variação diária. Este padrão foi caracterizado pela ocorrência de dois picos: um geralmente maior durante o período da manhã e um segundo menor no período da tarde. Isto sugere a existência de um ritmo endógeno que determina as variações nas taxas fotossintéticas, considerando que irradiância e temperatura foram mantidas constantes. Assim, foi confirmada a hipótese inicial de que em laboratório, sob condições constantes de temperatura e irradiância, a espécie demonstraria a ocorrência de ritmos endógenos, tanto para material de campo quanto de cultura por ambas as técnicas. Estes resultados também são importantes, pois, indicam o melhor período para realização de experimentos de fotossíntese, a fim de discriminar a interferência do ritmo diário evitando assim interpretações errôneas (HENLEY 1993).

No acompanhamento em campo realizado em outubro, os valores de RQP foram ligeiramente menores do que os de RQE, contrariamente ao esperado, provavelmente devido à maior irradiância apresentada na estação. Portanto, os períodos de aclimação ao escuro (de 10 min.) devem ter sido insuficientes para que as moléculas de clorofila dos centros de reação se reduzissem, apesar de serem maiores do que os utilizados (5 min.) por ENSMINGER et al. (2001) para a clorófito *Cladophora glomerata*. Em experimentos futuros com algas vermelhas em condições naturais esse tempo deve ser reavaliado, levando-se em consideração os níveis de irradiância ao qual as algas estarão expostas.

ENSMINGER et al. (2001) verificaram em populações de *C. glomerata* que os valores de NPQ aumentaram rapidamente com o aumento da irradiância, tanto em plantas de ambiente aberto, quanto de ambiente sombreado. Entretanto, em nosso

estudo de campo em junho, os valores de NPQ diminuíram com o aumento da irradiância (correlação negativa significativa). Considerando que em condições de alta irradiância, a dissipação não-fotoquímica da energia excessiva capturada pelos centros de reação é refletida pelo parâmetro NPQ (DEMMIG-ADAMS et al. 1996), a correlação observada indica possivelmente uma baixa capacidade de dissipação da energia absorvida pelos centros de reação, neste período do ano.

Curvas de indução escuro/luz fornecem importante informação sobre a performance fotossintética de uma planta adaptada ao escuro, em que as enzimas do ciclo de Calvin estão parcialmente inativadas e depois são ativadas pela luz durante os primeiros minutos de iluminação, permitindo assim interpretação confiável do efeito de Kautsky (SCHREIBER et al. 1994). Dados da extinção não-fotoquímica (NPQ) derivados destas curvas obtidas em outubro revelaram rápido aumento na dissipação da energia capturada pelos centros de reação, acompanhada pelo aumento de ETR (correlação positiva). Em junho, quando a irradiância média foi menor, ocorreu o inverso (correlação negativa, exceto as 9:00h), indicando um melhor aproveitamento da energia captada, refletido por maiores valores de ETR e menores de NPQ, quando comparado com os dados de outubro. Estes dados coadunam-se com o fato de tratar-se de uma alga de sombra.

A população estudada em condições naturais apresentou correlação negativa de RQE e RQP com a irradiância em ambas as épocas de amostragem, que sugere alta pressão de excitação sobre o fotossistema II (ENSMINGER et al. 2001). Outro padrão geral observado na variação diária foi a ocorrência de valores similares no início e final do dia de RQE e RQP. Este padrão foi observado em macroalgas marinhas (HANELT et al. 1993, HÄDER et al. 1997, SAGERT et al. 1997) e continentais (ENSMINGER et al. 2001) e sugere boa capacidade de recuperação e ausência de fotodano irreversível ao aparato fotossintético pela exposição prolongada a altas irradiâncias. Os níveis de recuperação mais baixos observados em outubro sugerem maior pressão de excitação sobre o FSII nesta época, o que pode ser atribuído à maior irradiância. Tal característica parece ser relevante para macroalgas continentais de regiões tropicais, usualmente expostas a elevadas irradiâncias ao longo da maior parte do ano.

As características descritas concordam com aquelas reportadas por ENSMINGER et al. (2001) tanto para algas de ambientes abertos, quanto para as de ambientes

sombreados. Evidenciaram o padrão de variação diário típico, com evidente resposta à irradiância, fato que confirmou a hipótese inicial de que sob condições variáveis de temperatura e irradiância no estudo em campo, a espécie apresentaria respostas sensíveis à irradiância, por tratar-se de alga de sombra.

As amplas respostas dos parâmetros fotossintéticos às variações, principalmente de irradiância, da população de *B. delicatulum*, refletem grande tolerância à ambientes variáveis. Tal característica provavelmente contribui para a extensa distribuição espacial em várias escalas: bacia de drenagem (NECCHI 1993), regiões ou biomas (NECCHI et al. 1999) e mundial, sendo uma das espécies de alga vermelha continental mais amplamente distribuída no Brasil (NECCHI 1991).

LITERATURA CITADA

- DAVISON, I.R. 1991. Environmental effects on algal photosynthesis: temperature. *J. Phycol.* 27: 2-8.
- DEMMIG-ADAMS B., GILMORE A.M. & ADAMS W.W. III 1996. *In vivo* functions of carotenoids in higher plants. *FASEB Journal* 10: 404-412.
- DENICOLA, D.M. 1996. Periphyton responses to temperature at different ecological levels. In: R.J. Stevenson, M.L. Bothwell, R.L. Lowe, (Eds.) *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, San Diego. Pp. 149-181.
- ENSMINGER, I., XYLÄNDER, M. HAGEN, C. & BRAUNE, W. 2001. Strategies providing success in a variable habitat: III. Dynamic control of photosynthesis in *Cladophora glomerata*. *Plant Cell Environ.* 24: 769-779.
- FRANKLIN, L.A., OSMOND, C.B., LARKUM, A.W.D. 2003. Photoinhibition, UV-B and Algal Photosynthesis. In: A.W.D. Larkum, S.E. Douglas, J.A. Raven (Eds.) *Photosynthesis in Algae*. Kluwer Academic Publishers. Pp 352-375.
- HÄDER, D.-T., LEBERT, M., FLORES-MOYA, A., JIMÉNEZ, C., MERCADO, J., SALLES, S., AGUILLERA, J. & FIGUEROA, F.L. 1997. Effects of solar radiation on the photosynthetic activity of the red alga *Corallina elongata* Ellis et Soland. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* 37: 196-202.
- HANELT, D., HUPPERTZ, K. & NULTSCH, W. 1993. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in marine macroalgae investigated in the laboratory and field. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 97: 31-37.

- HENLEY, W.J. 1993. Measurement and interpretation of photosynthetic light-response curves in algae in the context of photoinhibition and diel changes. *J. Phycol.* 29: 729-739.
- KIRK, J.T.O. 1994. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems, 2nd edition. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- KROMKAMP, J., BARRANGUET, C. & PEENE, J. 1998. Determination of microphytobenthos PSII quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 162: 45-55.
- LITTLER, M.M. & ARNOLD, K.E. 1985. Electrodes and chemicals. In: M.M. Littler & D.S. Littler (Eds.). *Handbook of phycological methods. Ecological field methods: macroalgae*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp. 349-375.
- NECCHI, O. JR. 1991. The Section *Sirodotia* of *Batrachospermum* (Rhodophyta, Batrachospermaceae) in Brazil. *Algol. Stud.* 62: 17-30.
- NECCHI, O. JR. 1993. Distribution and seasonal dynamics of Rhodophyta in the Preto River basin, southeastern Brazil. *Hydrobiologia* 250: 81-90.
- NECCHI, O. JR. 1997. Microhabitat and plant structure of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) populations in four streams of São Paulo State, southeastern Brazil. *Phycolog. Res.* 45: 39-45.
- NECCHI, O. JR. 2006. Short-term responses of photosynthesis to temperature and irradiance in the freshwater red algae *Compsopogon coeruleus*. *Algol. Stud.* 119: 125-138.
- NECCHI, O. JR & ALVES, A.H.S. 2005. Photosynthetic characteristics of the freshwater red alga *Batrachospermum delicatulum* (Skuja) Necchi & Entwisle. *Acta Bot. Bras.* 19 (1): 125-137.
- NECCHI, O. JR. & BRANCO, C.C.Z. 1999. Phenology of a dioecious population of *Batrachospermum delicatulum* (Rhodophyta, Batrachospermaceae) in a stream from southeastern Brazil. *Phycolog. Res.* 47: 251-256.
- NECCHI, O. JR., BRANCO, C.C.Z. & BRANCO, L.H.Z. 1999. Distribution of Rhodophyta in streams from São Paulo state, southeastern Brazil. *Arch. Hydrobiol.* 147: 73-89.

- NECCHI, O. JR. & ZUCCHI, M.R. 2001. Photosynthetic performance of freshwater Rhodophyta in response to temperature, irradiance, pH and diurnal rhythm. *Phycolog. Res.* 49: 305-318.
- RAMUS, J. 1981. The capture and transduction of light energy. In: C.S. Lobban & M.J. Wynne (Eds.) *The biology of seaweeds*. Blackwell Sci., Oxford, pp. 458-492.
- RANIELLO R., LORENTI M., BRUNET C. & BUIA M.C. 2004. Photosynthetic plasticity of an invasive variety of *Caulerpa racemosa*: light harvesting capacity and seasonal acclimation. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 271: 113–120.
- RANIELLO, R., LORENTI, M., BRUNET, C. & BUIA, M. C. 2006. Photoacclimation of the invasive alga *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* to depth and daylight patterns and a putative new role for siphonaxanthin. *Mar. Ecol.* 27: 20–30.
- SAGERT, S., FORSTER, R.M., FEUERPFIL, P. & SCHUBERT, H. 1997. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) from different shore levels. *Eur. J. Phycol.* 32: 363-371.
- SAGERT, S. & SCHUBERT, H. 2000. Acclimation of *Palmaria palmata* (Rhodophyta) to light intensity: comparison between artificial and natural light fields. *J. Phycol.* 36: 1119-1128.
- SCHREIBER, U., W. BILGER & NEUBAUER, C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. In: E.D. Schulze, M.M. Caldwell (Eds.), *Ecophysiology of photosynthesis*, vol. 100. Springer-Verlag, Berlin, pp 49-70.
- SCHUBERT, H., ANDERSSON, M. & SNOEIJIS, P. 2006. Relationship between photosynthesis and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in two red algae with different carotenoid compositions. *Mar. Biol.* 149: 1003–1013.
- THOMAS, M.L.H. 1988. Photosynthesis and respiration of aquatic macro-flora using the light and dark bottle oxygen method and dissolved oxygen analyzer. In: C.S. Lobban, D.J. Chapman & B.P. Kremer (Eds.) *Experimental Phycology: a laboratory manual*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 64-77.
- VAN KOOTEN, O. & SNEL, J.J.H. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* 25: 147-150.
- WHITE, A.J. & CRITCHLEY, C. 1999. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynth. Res.* 59: 63-72.

ZAR, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey.

CAPÍTULO II

**RESPOSTAS DE CURTO PERÍODO DAS
CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS DA ALGA
VERMELHA *Batrachospermum delicatulum* A
DISTINTAS IRRADIÂNCIAS EM CONDIÇÕES
NATURAIS E EM LABORATÓRIO**

RESUMO

Características fotossintéticas de uma população da alga vermelha continental *Batrachospermum delicatulum* da região noroeste do Estado de São Paulo (20°43'24"S, 49°18'21"W) em resposta a distintas condições de irradiância após curto período de exposição (4 horas) foram avaliadas em condições naturais e em laboratório através da técnica de fluorescência "in vivo" da clorofila. Curvas de fotossíntese-irradiância e de indução escuro/luz foram testadas em laboratório (sob baixa e alta irradiância) e em campo sob luz natural (não-sombreada) e artificialmente sombreada em duas épocas (junho e novembro). O isolado em cultura e as plantas em condições naturais (novembro) apresentaram maiores valores de fotossíntese máxima (F_{max}), eficiência fotossintética (α) e rendimento quântico em baixa irradiância. Estas características concordam com resultados de trabalhos anteriores com rodófitas continentais. A hipótese inicial de que o parâmetro I_k apresentaria menores valores em baixa irradiância foi confirmada, exceto pelas plantas em condições naturais testadas em laboratório. Sob alta irradiância em laboratório e em campo, os valores de β foram significativamente maiores em comparação à baixa irradiância. Este resultado corrobora com a hipótese inicial de que β apresentaria maiores valores nas condições de maior irradiância, por se tratar de uma planta de sombra. Dados de rendimento quântico derivados das curvas de indução revelaram boa capacidade de recuperação em laboratório e em campo. Isto sugere ausência de fotodano irreversível ao aparato fotossintético devido à exposição a elevadas irradiâncias e indica também que esta espécie possui mecanismos eficientes para lidar com altos níveis de irradiância diários e sazonais (970 – 2400 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Porém, a hipótese inicial de que a recuperação do rendimento quântico seria maior em baixa irradiância foi corroborada apenas pelos dados do isolado em cultura e dos espécimes em condições naturais em junho. A correlação positiva entre ETR (taxa de transporte de elétrons) e NPQ (extinção não-fotoquímica) encontrada nas curvas de indução (exceto em alta irradiância com plantas de campo e na condição natural em junho) indica outro tipo de controle dinâmico da fotossíntese: aumento na conversão de energia do fotossistema (FSII) pelo transporte de elétrons diretamente relacionado a um aumento na dissipação térmica da energia capturada em excesso pelos centros de reação quando expostos por tempo prolongado a altas irradiâncias. Em resumo as respostas de curto período das características fotossintéticas da espécie confirmaram essencialmente características de alga de sombra, de acordo com estudos anteriores. Porém, possui mecanismos eficientes para lidar com altas irradiâncias e apresenta respostas variáveis dependentes da estação do ano e das condições de exposição à luz.

Palavras-Chaves: alga vermelha, eficiência fotossintética, I_k , irradiância, F_{max} , fluorescência da clorofila.

INTRODUÇÃO

Estudos anteriores descrevendo curvas de fotossíntese-irradiância (FI) e seus respectivos parâmetros indicaram que algas vermelhas continentais possuem características de plantas de sombra, i.e. baixos pontos de compensação e de saturação, alta eficiência fotossintética e fotoinibição em altas irradiâncias (NECCHI & ZUCCHI 2001, NECCHI 2004a, 2005). Tipicamente, a eficiência do rendimento quântico diminui com o aumento da irradiância; com a queda da irradiância, a eficiência recupera-se quase que imediatamente. Estas mudanças dinâmicas são típicas de algas aclimatadas à alta irradiância, quando a fotoproteção está comprometida a limitar a fotoinativação e o fotodano, e tem sido demonstrada em várias latitudes em numerosas espécies (FRANKLIN et al. 2003). Em organismos aclimatados ao sol, a capacidade de fotoproteção e recuperação são maiores do que naqueles aclimatados à sombra (COPERTINO et al. 2006).

Aclimação à baixa irradiância é caracterizada por diminuição na capacidade de fotossíntese máxima e dos pontos de compensação e saturação e aumento na absorção da luz pelos pigmentos, características que aumentam a susceptibilidade à fotoinibição e ao fotodano durante exposição à alta irradiância (COPERTINO et al. 2006). De acordo com FRANKLIN et al. (2003), a fotoinibição é definida como o resultado genérico da falha da fotoproteção em mitigar a fotoinativação que ocorre quando o dano às proteínas do centro de reação excede a taxa de reparo do fotossistema II (FSII). OSMOND (1994) definiu dois tipos de fotoinibição: dinâmica e crônica. A fotoinibição dinâmica, geralmente encontrada em plantas adaptadas ao sol, é caracterizada por um mecanismo fotoprotetor reversível consistindo de uma regulação negativa do FSII a fim de controlar a energia excessiva pelo aumento da dissipação da energia térmica. Em contraste, a fotoinibição crônica (de ocorrência mais provável em plantas adaptadas à sombra) envolve fotodano aos centros de reação do FSII.

Fotoaclimação e fotoinibição são processos acoplados. O aparato fotossintético possui propriedades dinâmicas que permitem otimizar a captura e a utilização da luz em diferentes ambientes, e maximizar sua capacidade para evitar e/ou reparar danos causados pela luz do ambiente quando esta excede o limite de aclimação (ÖQUIST et al. 1992, ANDERSON et al. 1997). A aclimação fisiológica a mudanças na intensidade e

qualidade da luz é um fator importante que determina variações na resposta fotossintética e taxas de crescimento das algas (FALKOWSKI & LAROCHE 1991).

Parâmetros fotossintéticos derivados de curvas de fotossíntese-irradiância têm indicado aclimação as condições de luz do ambiente (LEUKART & HANELT 1995). Plantas mantidas em cultura têm mostrado pontos de saturação (I_s , 24-67 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) muito menores do que aquelas em condição natural (115-190 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). O mesmo padrão ocorre para o parâmetro de saturação (I_k) com menores valores para plantas de cultura (12,5-29,4 contra 13,3-32,5 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ das plantas de campo).

NECCHI & ALVES (2005) analisaram seis populaes de *Batrachospermum delicatulum*, incluindo gametofito e esporofito (estágio 'Chantransia'), em condies de campo e cultura aplicando as técnicas de fluorescência da clorofila e oxigênio dissolvido. Parâmetros derivados das curvas de fotossíntese-irradiância indicaram adaptao  baixa irradiância em todas as populaes, caracterizada por fotoinibio, baixos valores de saturação (I_k) e compensação (I_c) e altos valores eficiência fotossintética (α). Dados de ambas as técnicas revelaram diferenças significativas entre populaes e fases para a maioria dos parâmetros.

NECCHI (2006) analisou as respostas de curto período das características fotossintéticas da alga vermelha *Compsopogon coeruleus* sob condies de campo e de laboratório. A variao diária dos parâmetros derivados da fluorescência da clorofila foi medida em duas estaes contrastantes do ano (inverno e outono) e curvas de fotossíntese-irradiância e de induo escuro/luz foram testadas em laboratório em condies simulatrias de inverno e outono. Os resultados revelaram características de alga de sombra: valores de ETR relativamente baixos e altos de NPQ, indicando, respectivamente, baixa capacidade do FSII na conversão da energia e alta capacidade na dissipação do calor da energia absorvida pelos centros de reao. Outra característica geral encontrada foi a fotoinibio dinâmica, indicada pela diminuio seguida de aumento de ETR na curva de induo sob condies de inverno (menor irradiância).

O objetivo deste trabalho foi comparar os parâmetros fotossintéticos derivados das curvas de fotossíntese-irradiância e das curvas de induo escuro/luz da espécie *B. delicatulum* em duas condies de irradiância (baixa e alta) após curto período de exposio (4 horas), em uma populao natural e em cultura. O acompanhamento em

condições naturais foi realizado em duas épocas distintas, e a irradiância foi manipulada através do sombreamento artificial de uma área do local de estudo. O estudo em laboratório foi desenvolvido sob condições constantes de irradiância (baixa e alta) e temperatura.

O trabalho permitiu testar a hipótese de que em condições experimentais de baixa irradiância, tanto as algas em condições naturais quanto as de cultura, deverão apresentar as características de plantas de sombra: maiores valores de eficiência fotossintética (α) e taxas de recuperação do rendimento quântico, menores valores de I_k e fotoinibição (maior sob alta irradiância).

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foi analisada uma população natural de *Batrachospermum delicatulum* do Córrego Talhadinho, no município de São José do Rio Preto, Distrito de Talhados, estrada municipal SJR-351, 20°43'24"S, 49°18'21"W e a mesma população mantida em cultura (isolado no. 43) no Laboratório de Ficologia do Departamento de Zoologia e Botânica, da UNESP, Câmpus de São José do Rio Preto. O estudo em condições naturais foi realizado em duas épocas contrastantes da região: meio do período frio e seco (21 de junho de 2006) e meio do período quente e chuvoso (23 de novembro de 2006).

Incubações em laboratório

As condições experimentais envolveram curto período de exposição (4 horas, 10:30 – 14:30h) em temperatura de 19,4°C e irradiância de $748 \pm 40 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (baixa) ou $1491 \pm 172 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (alta; valor aproximado a média do período de maior incidência, 10:30 – 14:30h, em 18 de junho de 2005, data da realização do experimento de variação diária da fotossíntese em condições naturais, Capítulo I).

Os experimentos foram conduzidos com o isolado em cultura em fase exponencial de crescimento em meio de cultura (água-solo 20:1, NECCHI & ZUCCHI 2001) e com a população natural em água do próprio riacho previamente filtrada e aquecida. A filtração de água foi feita com sistema de filtração à vácuo Millipore utilizando-se filtro Whatman GF/C, com poro de 1,2 μm . Antes das incubações as

plantas (tanto aquelas provenientes de cultura, quanto as coletadas em condições naturais) foram mantidas por 12 horas em condições constantes de temperatura (20°C). As plantas foram acondicionadas em estufas incubadoras dentro de erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura (água-solo) para as provenientes de cultura ou água do riacho filtrada para as provenientes de campo.

As incubações foram realizadas no interior de incubadoras refrigeradas Marconi, mod. MA 830/A, com três réplicas (peso fresco 100 ± 10 mg em cada réplica) em frascos de borosilicato de 110 mL (98,5% de transparência) sob agitação orbital (100 ± 10 rpm). A iluminação foi fornecida por duas lâmpadas fluorescentes (branca fria, Osram 15W) e uma lâmpada fluorescente tipo PL (Avantt 30W), para obtenção da baixa irradiância. Para alta irradiância foi necessário duas lâmpadas PL adicionais (Avantt) uma de 30W e outra de 20W.

Manipulação da irradiância em campo

O local de estudo foi dividido em uma área diretamente exposta à radiação solar e outra artificialmente sombreada. O sombreamento artificial foi efetuado com um anteparo de 70x80 cm coberto com tela tipo “sombrite” (redução da irradiância de aproximadamente 70%), posicionada à 36 cm do fundo. O período de exposição foi de 4 horas (10:30 – 14:30h, período de maior incidência de acordo com experimentos de variação diária da fotossíntese, Capítulo I). A irradiância foi monitorada ao longo do período simultaneamente nas duas áreas através de dois sensores esféricos Li-Cor LI-193 SA (o mais próximo possível das algas) conectados a um Data Logger Li-Cor LI-1400 que registrava os valores a cada 5 min.

As medições da fluorescência da clorofila foram feitas no início e no final do período de exposição a partir de três plantas em cada condição.

Avaliação da fotossíntese por fluorescência

Os parâmetros fotossintéticos foram estimados através de fluorescência da clorofila utilizando o fluorômetro sub-aquático Walz, modelo Diving-PAM. Ao final do período de exposição, as plantas foram posicionadas diretamente sobre a extremidade do cabo de fibra óptica do fluorômetro, com uso do acessório do aparelho (suporte magnético de amostra) e curvas rápidas de luz (WHITE & CRITCHLEY 1999) em nove

níveis crescentes de irradiância (de 0 a $689 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram construídas utilizando a opção “light curve” do Diving-PAM. Foram determinados os parâmetros:

1) Rendimento Quântico Efetivo (“effective quantum yield”) – $\text{RQE} = \Delta F/F_m'$, onde:

$$\Delta F = F_m' - F_t$$

F_m' = fluorescência máxima de uma planta iluminada;

F_t = fluorescência transitória.

2) Extinção Não-Fotoquímica (“non-photochemical quenching”) - $\text{NPQ} = (F_m - F_m') / F_m'$, onde:

F_m = fluorescência máxima de uma planta adaptada ao escuro.

F_m' = conforme especificado acima.

Apenas os valores máximos de RQE e NPQ obtidos na curva foram computados.

Curvas de fotossíntese-irradiância (FI) foram construídas com base nos valores de taxa de transporte de elétrons (ETR), $\Delta F/F_m' \times \text{irradiância} \times \text{coeficiente de absorção}$ (0,80 para as plantas de cultura e 0,87 para as plantas de campo) segundo KROMKAMP et al. (1998). Através da equação de PLATT et al. (1980), foram calculados os seguintes parâmetros: eficiência fotossintética (αETR), fotossíntese máxima (F_{max}), parâmetro de saturação (I_k) e fotoinibição (βETR). Os valores de α foram determinados por regressão linear com uso dos três primeiros valores de ETR versus os de irradiância (CONDE-ÁLVAREZ et al. 2002).

Após a obtenção das curvas de luz, as plantas foram adaptadas ao escuro por 10 min. (com uso do acessório “dark leaf clip”) para posterior construção das curvas de indução escuro/luz (Kautsky) utilizando o Diving-PAM. Inicialmente um pulso de luz saturante foi aplicado para determinação do rendimento quântico potencial ($\text{RQP} = F_v/F_m$, onde: F_m = fluorescência máxima de uma planta adaptada ao escuro; F_v = fluorescência variável); em seguida uma irradiância constante (luz actínica, $191 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fornecida pela lâmpada halógena do fluorômetro era automaticamente acionada. Trinta segundos após o primeiro pulso saturante, 13 pulsos adicionais a cada 15s eram aplicados para determinação dos parâmetros ETR e NPQ. Para a determinação da recuperação do RQP, seis pulsos saturantes adicionais foram aplicados (10s, 30s, 1min, 2min, 5min e 10min) após o desligamento da luz actínica.

Análise estatística dos dados

Para testar as diferenças entre as duas condições (baixa e alta) de cada parâmetro fotossintético, aplicou-se o teste *t* de Student (ZAR 1999). Para verificar a associação entre os parâmetros ETR e NPQ derivados das curvas de indução, aplicou-se o coeficiente de correlação *r* de Pearson (ZAR 1999). Estes testes foram executados através do software Statsoft Statistica, versão 6. Para a confecção dos gráficos foi utilizado o software Microcal Origin, versão 5.0.

RESULTADOS

Respostas à irradiância em laboratório

Os parâmetros derivados das curvas de fotossíntese-irradiância para as plantas de cultura evidenciaram maiores valores em condições de baixa irradiância, exceto para β e I_k ; diferenças significativas foram encontradas para F_{max} , α , β e RQE (Tabela 1 e Figura 1). Para as plantas de campo, maiores valores de I_k , RQE e NPQ foram observados em condições de baixa irradiância, enquanto F_{max} , α e β foram maiores em alta irradiância. Diferenças significativas foram encontradas apenas para β e NPQ (Tabela 1).

Todos os parâmetros derivados das curvas de indução escuro/luz das plantas de campo apresentaram maiores valores em condições de baixa irradiância (Figura 2). O parâmetro NPQ, em alta irradiância, mostrou aumento lento e gradual durante todo período; em baixa irradiância houve um aumento acentuado até 45s e posterior tendência de aumento gradual (Figura 2). Os valores de ETR apresentaram padrão de variação semelhante nas duas condições, com aumento até 1min a 1min30s seguido de queda; em alta irradiância houve recuperação após 3min (Figura 2). Os valores de ETR e NPQ apresentaram correlação positiva apenas na condição de baixa irradiância ($r=0,86$, $p<0,001$).

Para as plantas de cultura, os valores de NPQ apresentaram o mesmo padrão de variação nas duas irradiâncias testadas, com aumento até 1min a 1min15s e posteriormente estabilizaram até o final do período de luz; foram observados maiores valores na condição de alta irradiância (Figura 3). Valores de ETR em condições de baixa irradiância mostraram tendência de aumento até 2min30s e estabilizaram até o fim do período com pequenas oscilações; em condições de alta irradiância os valores

aumentaram ao longo de todo período de exposição à luz (Figura 3). Os valores de ETR e NPQ apresentaram correlação positiva nas duas condições: $r=0,72$, $p<0,01$ e $r=0,62$, $p<0,05$ em baixa e alta irradiâncias, respectivamente.

Os valores de RQP, das plantas de cultura e de campo foram caracterizados pelo padrão geral típico: uma queda pronunciada, baixos valores durante o período de exposição à luz, seguido por um período de recuperação após a luz ser desligada (Figuras 2 e 3). Os valores foram maiores em baixa irradiância nas plantas de campo, com ligeira queda na taxa de recuperação no final do período. Nas plantas de cultura os valores foram muito semelhantes, exceto no final do período, com maior recuperação sob alta irradiância. A capacidade de recuperação foi de: 113,8% e 109,1% nas plantas de cultura e 100,2% e 108,1% nas plantas de campo, nas condições de baixa e alta irradiâncias, respectivamente.

Respostas à irradiância em condições naturais

No experimento realizado em junho, os valores de irradiância foram significativamente diferentes entre as duas condições testadas ($t=29,4$, $p < 0,0001$). Os parâmetros derivados das curvas de fotossíntese-irradiância apresentaram maiores valores nas plantas expostas ao sol, exceto para os parâmetros α e RQE; apenas β e I_k apresentaram diferenças significativas entre a condição natural e sombreada (Tabela 2 e Figura 4). $F_{\max}$ foi significativamente diferente apenas entre as condições inicial e natural. RQE e NPQ não apresentaram diferenças significativas em nenhuma condição (Tabela 2). Em novembro, os maiores valores foram encontrados na condição sombreada, exceto para os parâmetros β e I_k . Todos os parâmetros, exceto I_k , apresentaram diferenças significativas entre as condições natural e sombreada (Tabela 2 e Figura 4). Entre as condições inicial e natural nenhum parâmetro apresentou diferença significativa, enquanto que comparando a condição inicial com a sombreada, apenas α e NPQ foram significativamente diferentes (Tabela 2 e Figura 4).

Os parâmetros ETR e NPQ, derivados das curvas de indução escuro/luz em junho, mostraram padrões de variação semelhantes nas duas condições testadas e no início do experimento (Figura 5). Os valores de ETR atingiram o pico aos 1 min e 15s e posteriormente diminuíram gradativamente até o final do período de exposição; os maiores valores foram encontrados nas plantas expostas ao sol (Figura 5). Os valores de

NPQ mostraram aumento acentuado até os 45s, seguido de ligeira queda e posterior aumento gradual até o fim do período (Figura 5). ETR apresentou correlação positiva com NPQ nas condições inicial e sombreada ($r= 0,82$, $p<0,001$ e $r=0,71$, $p<0,01$, respectivamente).

Em novembro, os valores de irradiância também foram significativamente diferentes entre as duas condições testadas ($t=10,7$, $p <0,0001$). Os três parâmetros derivados das curvas de indução escuro/luz apresentaram maiores valores na condição sombreada (Figura 6). O parâmetro ETR, nas plantas sombreadas, mostrou aumento pronunciado até os 45s, e após este período apresentou ligeira tendência de queda (1 min até o final do período); nas demais condições houve aumento até 30s, seguido por valores baixos e estáveis até o final (Figura 6). Os valores de NPQ na condição sombreada evidenciaram aumento súbito seguido de ligeira estabilização até 45s e posterior aumento gradual até o final do período; na condição inicial os valores de NPQ apresentaram tendência de aumento lento e gradual após 45s e durante todo o período; na condição natural houve estabilização após 1 min até 3 min, seguido por ligeira oscilação (Figura 6). Os valores de ETR e NPQ apresentaram correlação positiva em todas as condições ($r= 0,71 - 0,96$, $p<0,01$).

Os valores de rendimento quântico, nas duas épocas, foram caracterizados pelo padrão geral típico: uma queda pronunciada, baixos valores durante o período de exposição à luz seguido de um período de recuperação após a luz ser desligada (Figuras 5 e 6). A capacidade de recuperação nas condições inicial, sombreada e natural, respectivamente, foi de: 96,0%, 100,6% e 88,6% em junho e 108,5%, 95,5% e 139,9% em novembro.

Tabela 1. Parâmetros derivados das curvas de fotossíntese-irradiância de *Batrachospermum delicatulum* sob condições de baixa e alta irradiância ($748 \pm 40 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e 1491 ± 172 , respectivamente e temperatura de $19,4^{\circ}\text{C}$) durante curto período (4 horas, 10:30-14:30 h). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3). Letras distintas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste **t** de Student.

Parâmetros	CULTURA		CAMPO	
	Baixa	Alta	Baixa	Alta
F_{max} (ETR_{max})	$5,83 \pm 0,09$ (a)	$3,85 \pm 0,38$ (b)	$8,43 \pm 0,25$ (a)	$9,19 \pm 1,03$ (a)
Alfa (αETR)	$0,06 \pm 0,01$ (a)	$0,04 \pm 0,01$ (b)	$0,13 \pm 0,00$ (a)	$0,14 \pm 0,01$ (a)
Beta (βETR)	$-0,06 \pm 0,00$ (a)	$-0,08 \pm 0,00$ (b)	$-0,03 \pm 0,00$ (a)	$-0,06 \pm 0,00$ (b)
I_k ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$93,60 \pm 8,58$ (a)	$109,66 \pm 8,67$ (a)	$66,66 \pm 0,23$ (a)	$65,53 \pm 4,66$ (a)
RQE ($\Delta F/F_m'$)	$0,31 \pm 0,01$ (a)	$0,26 \pm 0,01$ (b)	$0,46 \pm 0,04$ (a)	$0,37 \pm 0,06$ (a)
NPQ ($F_m - F_m' / F_m'$)	$1,18 \pm 0,16$ (a)	$1,08 \pm 0,08$ (a)	$1,49 \pm 0,19$ (a)	$1,13 \pm 0,06$ (b)

Tabela 2. Parâmetros derivados das curvas de fotossíntese-irradiância de *Batrachospermum delicatulum* no início e após exposição de curto período (4 horas, 10:30-14:30 h) em duas condições: sombreada e natural (Sol). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3). Letras distintas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste *t* de Student.

Parâmetros	JUNHO			NOVEMBRO		
	Início	Sombra	Sol	Início	Sombra	Sol
$F_{\max}$ ($ETR_{\max}$)	$37,47 \pm 1,16$ (a)	$43,02 \pm 3,85$ (a)	$48,91 \pm 1,02$ (ba)	$24,42 \pm 3,01$ (a)	$29,69 \pm 2,30$ (a)	$22,46 \pm 2,96$ (ab)
Alfa (αETR)	$0,43 \pm 0,02$ (a)	$0,52 \pm 0,04$ (b)	$0,51 \pm 0,03$ (b)	$0,26 \pm 0,02$ (a)	$0,33 \pm 0,01$ (b)	$0,23 \pm 0,01$ (a)
Beta (βETR)	$-0,03 \pm 0,01$ (a)	$-0,04 \pm 0,01$ (a)	$-0,07 \pm 0,01$ (b)	$-0,02 \pm 0,01$ (a)	$-0,02 \pm 0,01$ (a)	$-0,03 \pm 0,00$ (ab)
I_k ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	$86,37 \pm 4,72$ (a)	$83,18 \pm 5,68$ (a)	$96,03 \pm 5,40$ (ab)	$92,11 \pm 4,39$ (a)	$88,99 \pm 7,61$ (a)	$98,53 \pm 17,83$ (a)
RQE ($\Delta F/F_m'$)	$0,47 \pm 0,06$ (a)	$0,59 \pm 0,07$ (a)	$0,51 \pm 0,02$ (a)	$0,42 \pm 0,07$ (a)	$0,56 \pm 0,07$ (a)	$0,43 \pm 0,03$ (ab)
NPQ ($F_m - F_m' / F_m'$)	$0,89 \pm 0,09$ (a)	$0,88 \pm 0,17$ (a)	$0,94 \pm 0,08$ (a)	$0,73 \pm 0,12$ (a)	$1,21 \pm 0,08$ (b)	$0,74 \pm 0,05$ (a)

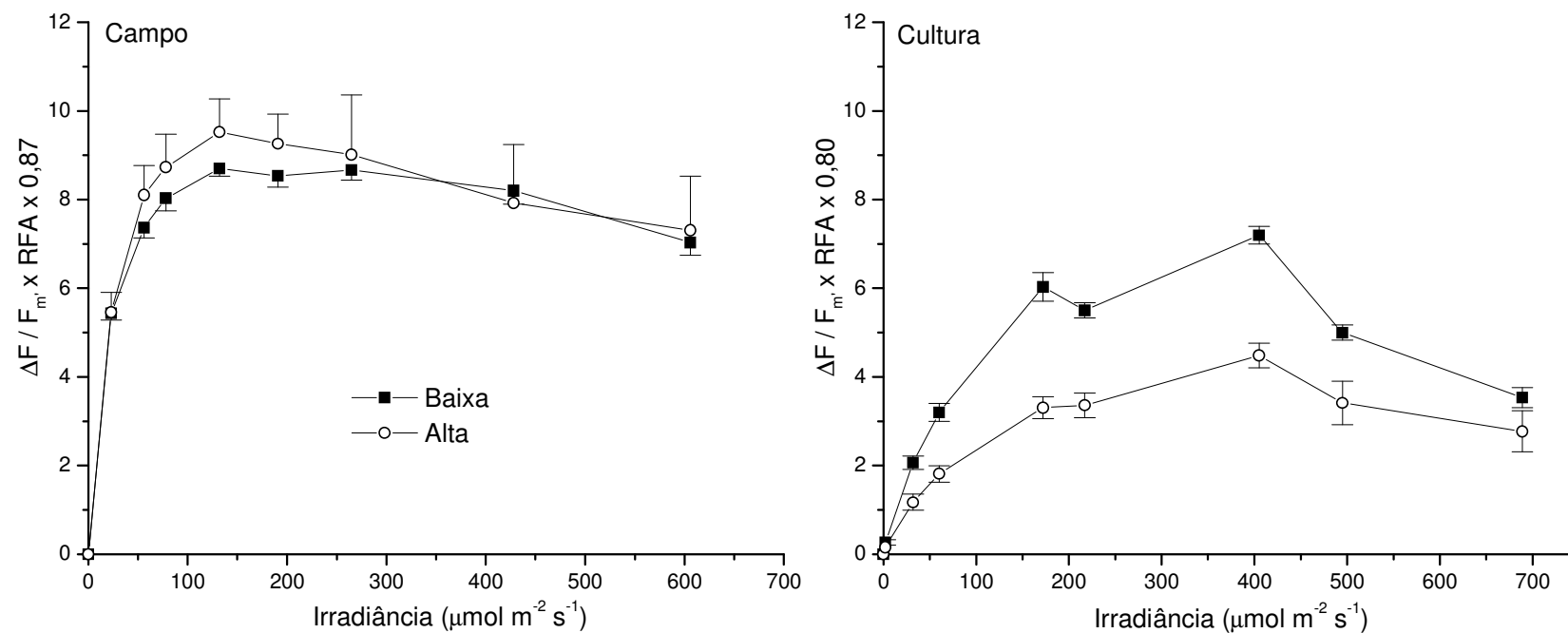


Figura 1. Curvas de fotossíntese-irradiância da população natural e do isolado em cultura de *Batrachospermum delicatulum* sob condições de alta e baixa irradiância em laboratório ($1491 \pm 172 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 748 ± 40 respectivamente e temperatura de $19,4^\circ\text{C}$) após curto período de exposição (4 horas, 10:30-14:30 h). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3).

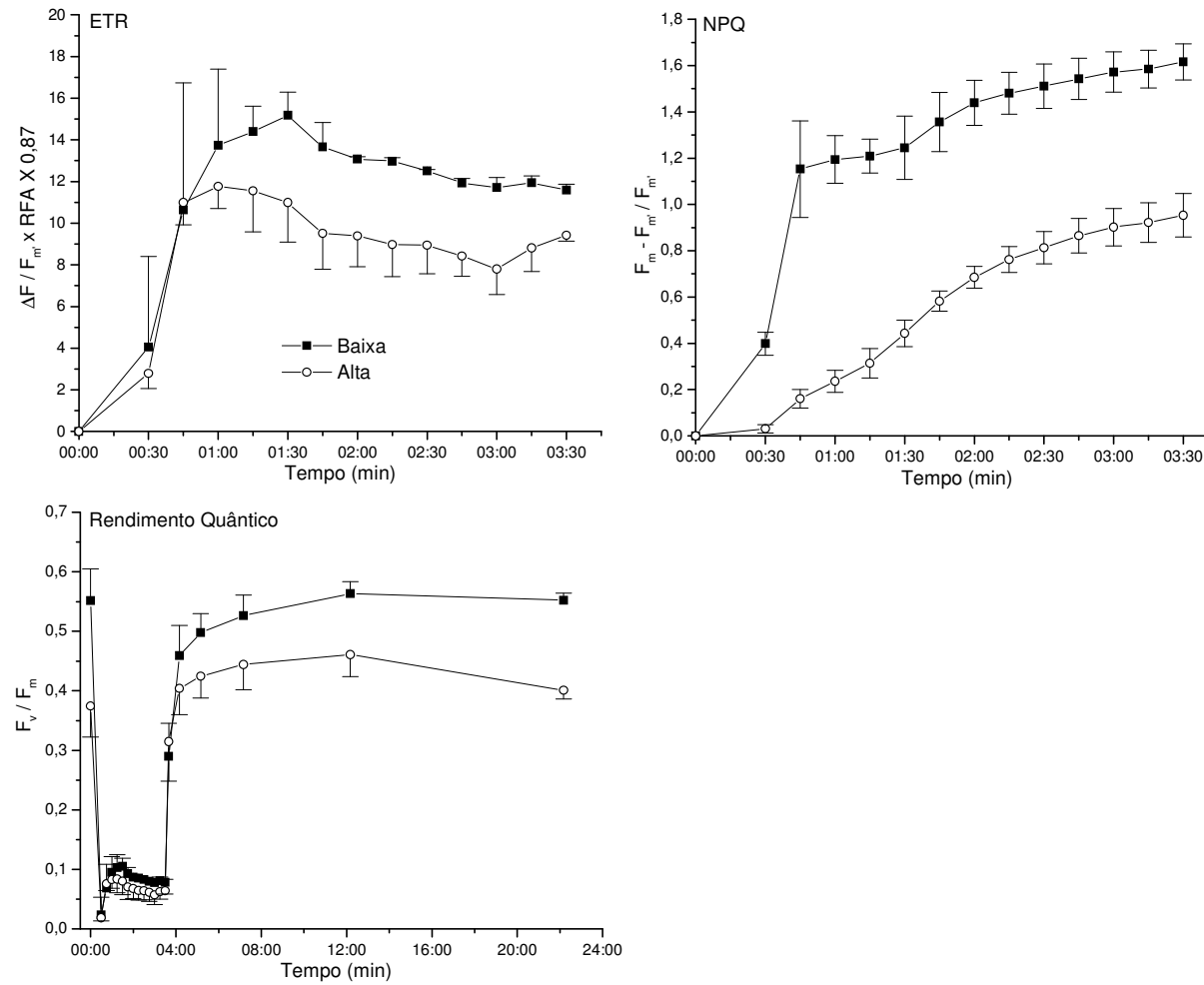


Figura 2. Curvas de indução (escuro/luz) da população natural de *Batrachospermum delicatulum* sob condições de alta e baixa irradiância em laboratório ($1491 \pm 172 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 748 ± 40 respectivamente e temperatura de $19,4^\circ\text{C}$) após curto período de exposição (4 horas, 10:30-14:30 h). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3).

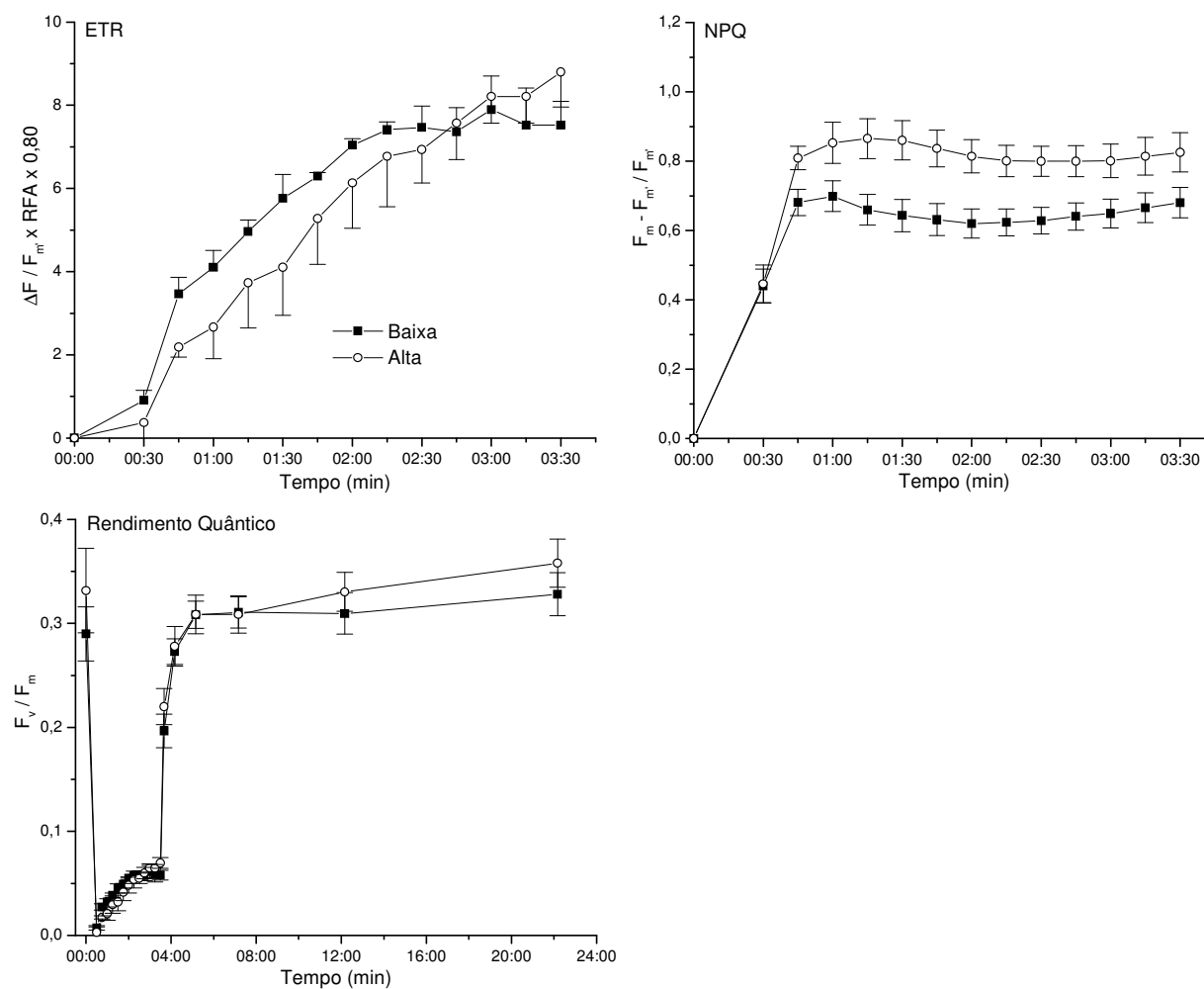


Figura 3. Curvas de indução (escuro/luz) do isolado em cultura de *Batrachospermum delicatulum* sob condições de alta e baixa irradiância em laboratório ($1491 \pm 172 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 748 ± 40 respectivamente e temperatura de $19,4^\circ\text{C}$) após curto período de exposição (4 horas, 10:30-14:30 h). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3).

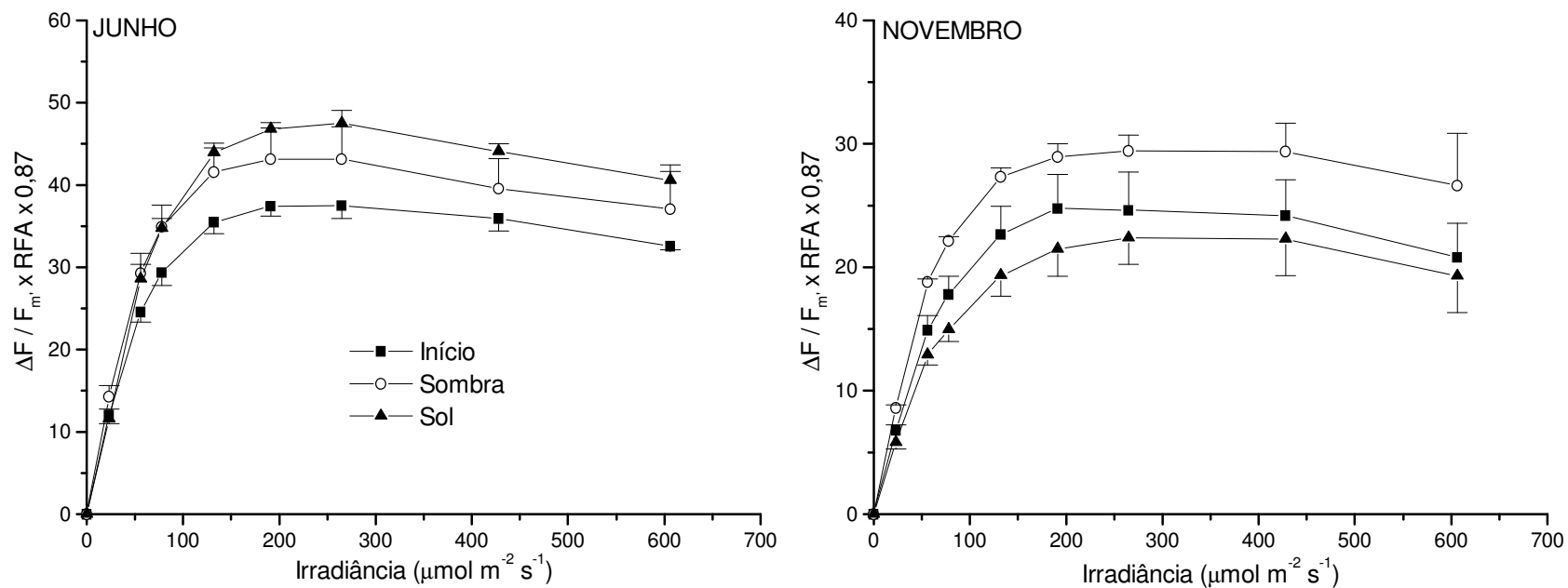


Figura 4. Curvas de fotossíntese-irradiância da população natural de *Batrachospermum delicatulum* em 21 junho e 23 de novembro de 2006, no início e após curto período de exposição (4 horas, 10:30-14:30 h). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3).

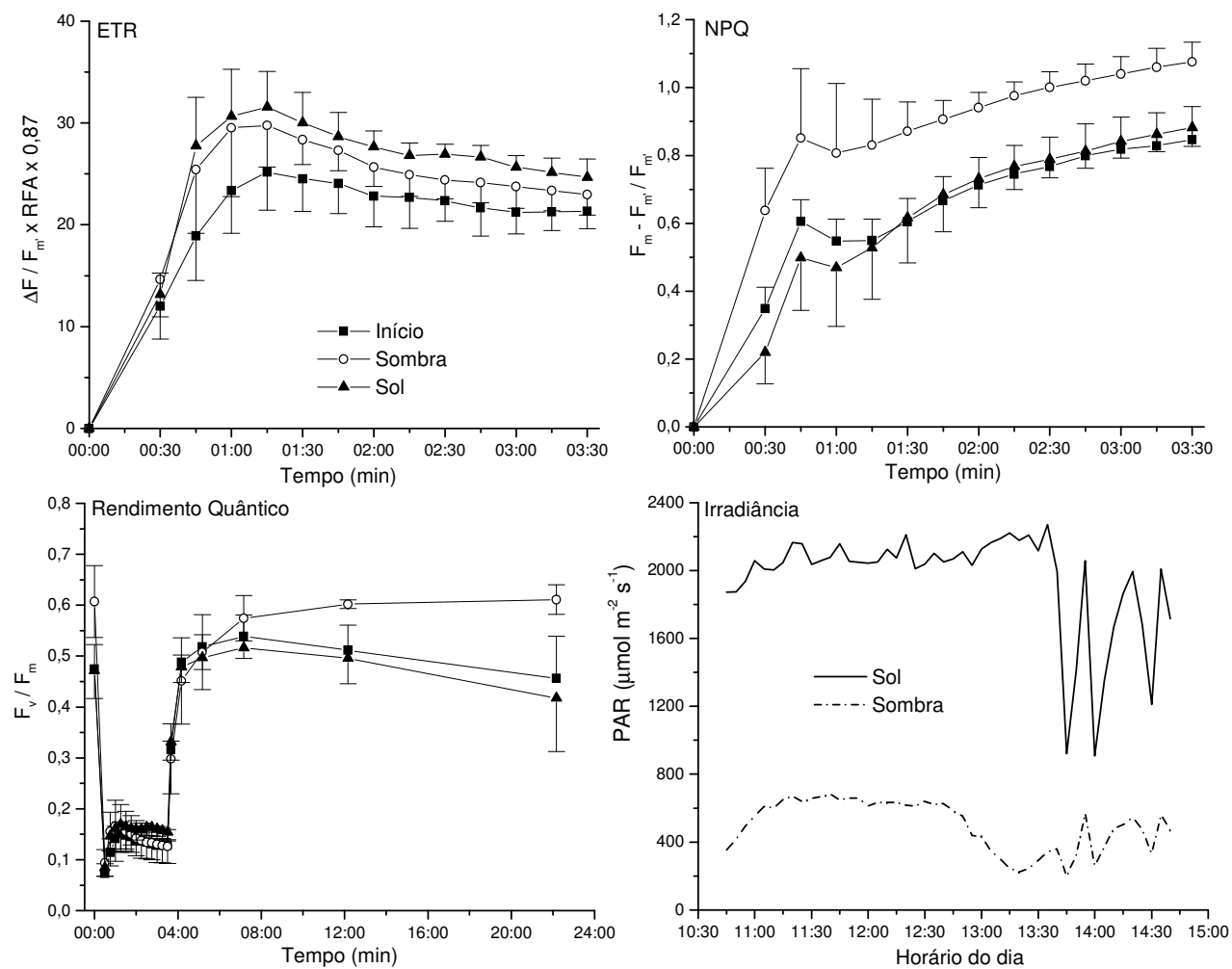


Figura 5. Curvas de indução (escuro/luz) da população natural de *Batrachospermum delicatulum* em campo (21 de junho de 2006) no início e após curto período de exposição (4 horas, 10:30-14:30h). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3). A variação da irradiância durante o período é apresentada no gráfico inferior direito.

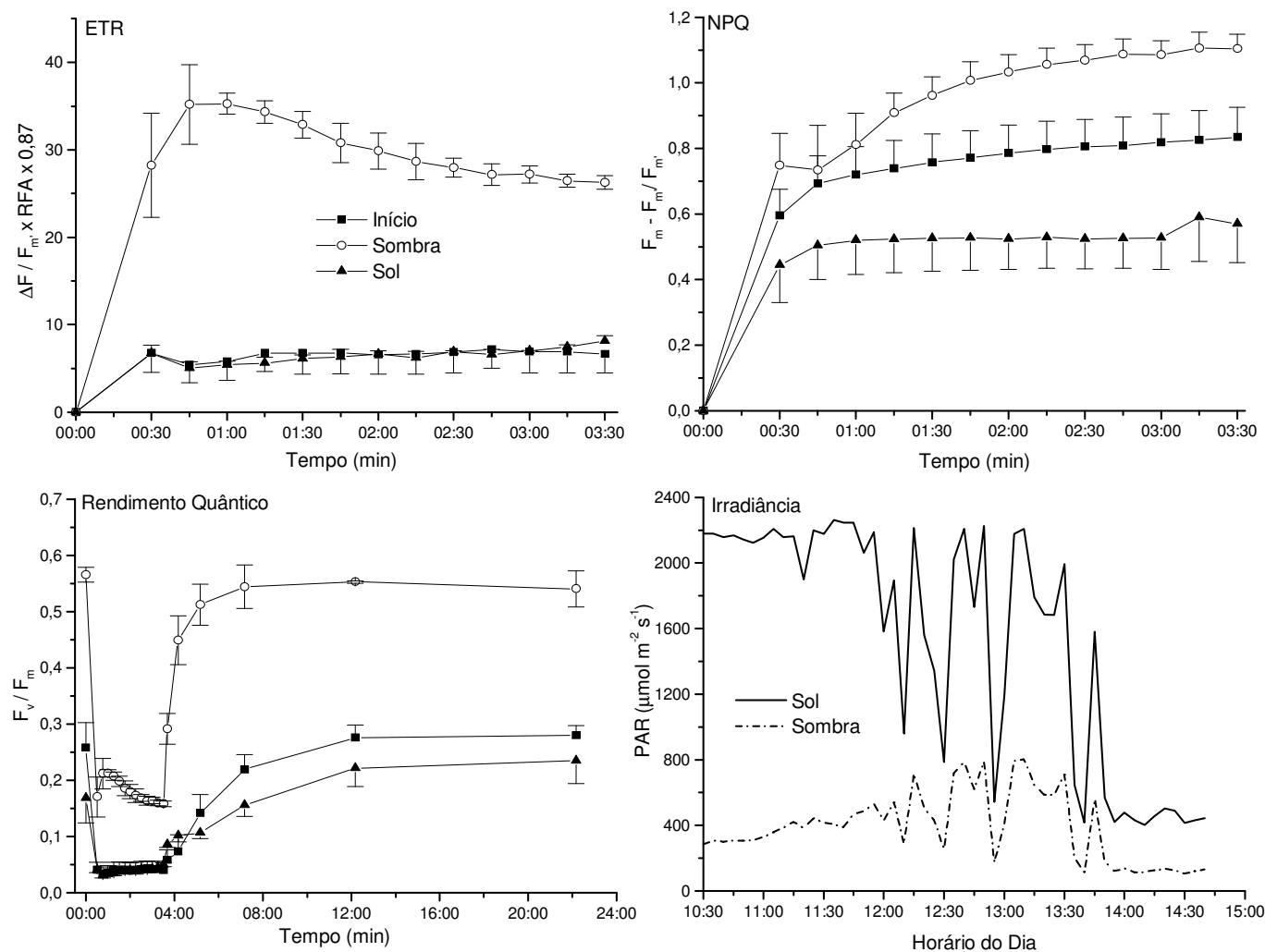


Figura 6. Curvas de indução (escuro/luz) da população natural de *Batrachospermum delicatulum* em campo (23 de novembro de 2006) no início e após curto período de exposição (4 horas, 10:30-14:30h). Dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão (N=3). A variação da irradiância durante o período é apresentada no gráfico inferior direito.

DISCUSSÃO

Os parâmetros derivados das curvas de fotossíntese-irradiância para o isolado em cultura e para as plantas em condições naturais em novembro (primavera) concordaram com os resultados de trabalhos anteriores (NECCHI & ZUCCHI 2001, NECCHI 2004a e 2005), pois indicaram a seguinte tendência: maiores valores de fotossíntese máxima ($F_{\max}$), eficiência fotossintética (α) e rendimento quântico nas condições de baixa irradiância. O mesmo padrão não ocorreu nas plantas de campo testadas em laboratório, nas quais $F_{\max}$ e α foram ligeiramente maiores em alta irradiância, e nem nas plantas em condições naturais em junho (inverno), com $F_{\max}$ maior na condição de alta irradiância.

Dados derivados das curvas de indução escuro/luz revelaram rápido aumento na dissipação da energia capturada pelos centros de reação após exposição à irradiância contínua (refletido pelo parâmetro NPQ, DEMMIG-ADAMS 1998). Na população natural, NPQ foi maior nas condições de baixa irradiância. Portanto, altas irradiâncias podem ser prejudiciais para uma eficiente dissipação da energia absorvida em excesso na forma de calor. Esta situação é mais crítica em plantas aclimatadas a baixa irradiância.

A hipótese inicial de que o parâmetro I_k apresentaria menores valores nas condições de baixa irradiância foi confirmada, exceto para as plantas em condições naturais testadas em laboratório, cujo valor foi ligeiramente maior em baixa irradiância, porém sem diferença significativa. Resultados dos experimentos em laboratório indicaram maiores valores de I_k no isolado em cultura. Estes contrariam dados do trabalho de LEUKART & HANELT (1995), em que, plantas mantidas em cultura apresentaram menores valores de I_k do que aquelas em condição natural. Os valores de I_k situaram-se bem abaixo da irradiância medida no local de estudo. Isto significa que a maior parte da energia luminosa disponível não é fotoquimicamente convertida via fotossíntese (NECCHI 2004a, 2005).

A fotoinibição, indicada por uma inclinação negativa na curva de fotossíntese-irradiância após atingir a taxa máxima de fotossíntese, foi demonstrada em todas as populações estudadas de *B. delicatulum* por NECCHI & ALVES (2005), tanto pela técnica de fluorescência da clorofila quanto por oxigênio dissolvido. Similarmente, em todas as condições testadas neste estudo (em campo e em laboratório), a espécie apresentou

diferentes graus de fotoinibição (parâmetro β). Nas condições de alta irradiância em laboratório e em campo, os valores de β foram maiores e significativamente diferentes quando comparados às condições de menor irradiância. Este resultado corrobora a hipótese inicial de que β apresentaria maiores valores nas condições de maior irradiância, por se tratar de uma planta de sombra. Algas com fotoinibição dinâmica durante um aumento da radiação solar e uma rápida recuperação no entardecer podem conseqüentemente ter vantagens competitivas em relação às algas sem quaisquer mecanismos eficientes de proteção (FIGUEROA & GÓMEZ 2001).

A fotoinibição tem sido indicada como uma estratégia de fotoproteção contra altas irradiâncias (OSMOND 1994; HANELT 1996) e é principalmente relacionada ao grau e extensão da fotoinibição e recuperação. Segundo FIGUEROA & VIÑEGLA (2001), algas expostas a altas irradiâncias apresentam maior fotoinibição e capacidade de recuperação do que aquelas que habitam ambientes sombreados. Os resultados das plantas de campo de *B. delicatulum* evidenciaram efeitos mais severos, pois, após atingirem o pico apresentaram leve tendência de queda até o final do período de iluminação. Padrão diferente foi encontrado por NECCHI (2006) para a espécie *Compsopogon coeruleus*, em que a curva de indução de ETR em baixa irradiância indicou fotoinibição dinâmica. Este padrão não foi observado no experimento de novembro nas condições inicial e natural, quando os valores de ETR mantiveram-se baixos e constantes ao longo do período.

A correlação positiva entre ETR e NPQ encontrada nas curvas de indução (exceto em alta irradiância com plantas de campo e na condição natural em junho) indica outro tipo de controle dinâmico da fotossíntese. Assim, um aumento na conversão de energia do FSII pelo transporte de elétrons estaria diretamente relacionado a um aumento na dissipação térmica da energia em excesso capturada pelos centros de reação quando expostos por tempo prolongado a altas irradiâncias. A dissipação térmica da energia supostamente atenua os efeitos negativos dos elevados níveis de irradiância sobre o aparato fotossintético (NECCHI 2006). Este mecanismo foi observado em outras espécies de macroalgas (NECCHI 2004a) e também na rodófito *Composopogon coeruleus* (NECCHI 2006).

Dados de rendimento quântico derivados das curvas de indução revelaram boa capacidade de recuperação em ambos os experimentos (laboratório e campo). Padrões

similares foram encontrados em macroalgas marinhas (HANELT et al. 1993, HÄDER et al. 1997, SAGERT et al. 1997) e continentais (ENSMINGER et al. 2001, NECCHI 2006) e sugerem ausência de fotodano irreversível ao aparato fotossintético devido à exposição a elevadas irradiâncias. Isto indica também que estas espécies possuem mecanismos eficientes para lidar com altos níveis de irradiância diários e sazonais ($970 - 2400 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, NECCHI 2004a, 2004b e NECCHI 2006) em habitats tropicais de água doce. Porém, a hipótese inicial de que a recuperação do rendimento quântico seria maior em condições de baixa irradiância foi corroborada apenas pelo isolado em cultura e pelas algas em condições naturais em junho.

Em resumo as respostas de curto período das características fotossintéticas de *B. delicatulum* confirmaram que a espécie possui essencialmente características de alga de sombra, de acordo com estudos anteriores (NECCHI & ZUCCHI 2001, NECCHI 2004a, 2005, NECCHI & ALVES 2005). Porém, revelaram que a alga possui mecanismos eficientes para lidar com altas irradiâncias e apresenta respostas variáveis dependentes da estação do ano e das condições de exposição à luz.

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, J. M., PARK, Y. I. & CHOW, W. S. 1997. Photoinactivation and photoprotection of photosystem II in nature. *Physiol.Plant.* 100: 214–223.
- CONDE-ÁLVAREZ, R.M., PÉREZ-RODRÍGUEZ, E., ALTAMIRANO, M., NIETO, J.M., ABDALA, R., FIGUEROA, F.L., FLORES-MOYA, A. 2002. Photosynthetic performance and pigment content in the aquatic liverwort *Riella helicophylla* under natural solar irradiance and solar irradiance without ultraviolet light. *Aquat. Bot.* 73: 47–61.
- COPERTINO, M. S., CHESHIRE, A. & WATLING, J. 2006. Photoinhibition and photoacclimation of turf algal communities on a temperate reef, after *in situ* transplantation experiments. *J. Phycol.*42: 580–592.
- DEMMIG-ADAMS, B. 1998. Survey of thermal energy dissipation and pigment composition in sun and shade leaves. *Plant Cell Physiol.* 39: 474–482.

- ENSMINGER, I., XYLÄNDER, M. HAGEN, C. & BRAUNE, W. 2001. Strategies providing success in a variable habitat: III. Dynamic control of photosynthesis in *Cladophora glomerata*. *Plant Cell Environ.* 24: 769-779.
- FALKOWSKI, P. G. & LAROCHE, J. 1991. Acclimation to spectral irradiance in algae. *J. Phycol.* 27:8-14.
- FIGUEROA, F. L. & GÓMEZ, I. 2001. Photosynthetic acclimation to solar UV radiation of marine red algae from the warm-temperate coast of southern Spain: A review. *J. Appl. Phycol.* 13: 235-248.
- FIGUEROA, F. L. & VIÑEGLA, B. 2001. Effects of solar UV radiation on photosynthesis and enzyme activities (carbonic anhydrase en nitrate reductase) in marine macroalgae from southern Spain. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 74: 237-249.
- FRANKLIN, L.A., OSMOND, C.B., LARKUM, A.W.D. 2003. Photoinhibition, UV-B and Algal Photosynthesis. In: A.W.D. Larkum, S.E. Douglas, J.A. Raven (Eds.) *Photosynthesis in Algae*. Kluwer Academic Publishers. Pp 352-375.
- HÄDER, D.-T., LEBERT, M., FLORES-MOYA, A., JIMÉNEZ, C., MERCADO, J., SALLES, S., AGUILLERA, J. & FIGUEROA, F.L. 1997. Effects of solar radiation on the photosynthetic activity of the red alga *Corallina elongata* Ellis et Soland. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* 37: 196-202.
- HANELT, D. 1996. Photoinhibition of photosynthesis in marine macroalgae. *Scientia Marina* 60 (Suppl. 1): 243-248.
- HANELT, D., HUPPERTZ, K. & NULTSCH, W. 1993. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in marine macroalgae investigated in the laboratory and field. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 97: 31-37.
- KROMKAMP, J., BARRANGUET, C. & PEENE, J. 1998. Determination of microphytobenthos PSII quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 162: 45-55.
- LEUKART, P. & HANELT, D. 1995. Light requirements for photosynthesis and growth in several macroalgae from a small soft-water stream in the Spessart Mountains, Germany. *Phycologia* 34: 528-532.
- NECCHI, O. JR. 2004a. Light-related photosynthetic characteristics of lotic macroalgae. *Hydrobiologia* 525: 139-155.

- NECCHI, O. JR. 2004b. Photosynthetic responses to temperature in tropical lotic macroalgae. *Phycol. Res.* 52: 140-148.
- NECCHI, O. JR. 2005. Light-related photosynthetic characteristics of freshwater rhodophytes. *Aquatic Botany* 82: 193-209.
- NECCHI, O. JR. 2006. Short-term responses of photosynthesis to temperature and irradiance in the freshwater red algae *Compsopogon coeruleus*. *Algol. Stud.* 119: 125-138.
- NECCHI, O. JR. & ALVES, A.H.S. 2005. Photosynthetic characteristics of the freshwater red alga *Batrachospermum delicatulum* (Skuja) Necchi & Entwisle. *Acta Bot. Bras.* 19 (1): 125-137.
- NECCHI, O. JR. & ZUCCHI, M.R. 2001. Photosynthetic performance of freshwater Rhodophyta in response to temperature, irradiance, pH and diurnal rhythm. *Phycolog. Res.* 49: 305-318.
- ÖQUIST, G., CHOW, W. S. & ANDERSON, J. M. 1992. Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II. *Planta* 186: 450-460.
- OSMOND, C.B. 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: N.R. Baker & J.R. Bowyer (Eds.), *Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field*. Bios Sci. Publ., Oxford, pp. 1-24.
- PLATT, T., GALLEGOS, C.L. & HARRISON, W.G. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* 38, 687-701.
- SAGERT, S., FORSTER, R.M., FEUERPFEL, P. & SCHUBERT, H. 1997. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) from different shore levels. *Eur. J. Phycol.* 32: 363-371.
- WHITE, A.J. & CRITCHLEY, C. 1999. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynth. Res.* 59: 63-72.
- ZAR, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey.

CONCLUSÃO GERAL

Os principais resultados do estudo das respostas de curto período das características fotossintéticas da alga vermelha *Batrachospermum delicatulum* a temperatura e irradiância podem ser resumidos conforme segue:

- 1- A fotossíntese líquida do isolado em cultura e da população natural apresentou sob condições fixas de temperatura e irradiância um padrão de variação diária representado por dois picos: o primeiro (geralmente maior) durante a manhã e o segundo (menor) durante à tarde. Este concorda com o padrão observado em macroalgas marinhas e algumas rodófitas continentais. Os valores de ETR (taxa de transporte de elétrons) também apresentaram padrão semelhante de variação diária, o que demonstra a ocorrência de ritmos endógenos que controlam as taxas fotossintéticas. Portanto, estes resultados confirmam a hipótese inicial de que em laboratório, sob condições constantes de temperatura e irradiância, a espécie demonstraria a ocorrência de ritmos endógenos, tanto para material de campo quanto de cultura por ambas as técnicas.
- 2- No estudo em condições naturais, as variações diárias dos parâmetros RQE (rendimento quântico efetivo) e RQP (rendimento quântico potencial) apresentaram correlação negativa com a irradiância nas duas épocas de amostragem (junho-inverno, outubro-primavera) assim como valores similares no início e final do dia, indicando respectivamente alta pressão de excitação sobre o fotossistema II (FSII) e boa capacidade de recuperação e ausência de fotodano irreversível ao aparato fotossintético. Foram observados níveis de recuperação mais baixos na primavera, que sugerem maior pressão de excitação sobre o FSII, atribuído à maior irradiância nesta época. Os valores de NPQ (extinção não-fotoquímica) também apresentaram correlação negativa com a irradiância (significativa apenas no inverno), o que possivelmente indica uma baixa capacidade de dissipação da energia absorvida pelos centros de reação. Assim, a evidente resposta à irradiância, confirmou a hipótese inicial de que sob condições variáveis de temperatura e irradiância no estudo em campo, a espécie apresentaria respostas sensíveis a irradiância, por tratar-se de alga de sombra.

- 3- Os valores de fotossíntese máxima ($F_{\max}$), eficiência fotossintética (α) e rendimento quântico, derivados das curvas de fotossíntese-irradiância, foram maiores em baixa irradiância para o isolado em cultura e para as plantas em condições naturais em novembro (primavera). Também nestas condições, os valores de I_k (parâmetro de saturação) foram sempre menores, exceto nas plantas em condições naturais testadas em laboratório. Estes resultados confirmam em parte a hipótese de que em condições experimentais de baixa irradiância, tanto a alga em condições naturais quanto a de cultura, apresentariam maiores valores de α e menores valores de I_k .
- 4- Nas condições de alta irradiância em laboratório e em campo, os valores de β (fotoinibição) foram significativamente maiores do que sob baixa irradiância. Fato que confirmou a hipótese inicial de que a fotoinibição seria maior sob alta irradiância.
- 5- Dados de rendimento quântico, derivados das curvas de indução escuro/luz, revelaram boa capacidade de recuperação em laboratório e em campo. Isto sugere ausência de fotodano irreversível ao aparato fotossintético devido à exposição a elevadas irradiâncias e indica também que esta espécie possui mecanismos eficientes para lidar com os altos níveis de irradiância a que está exposta diária e sazonalmente ($970 - 2400 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Porém, a hipótese inicial de que a taxa de recuperação do rendimento quântico seria maior em condições de baixa irradiância foi corroborada apenas pelo isolado em cultura e pelas algas em condições naturais no inverno.
- 6- A correlação positiva entre ETR e NPQ observada nas curvas de indução (exceto em alta irradiância com plantas de campo e na condição natural no inverno) indica outro tipo de controle dinâmico da fotossíntese: um aumento na conversão de energia do FSII pelo transporte de elétrons estaria diretamente relacionado a um aumento na dissipação térmica da energia em excesso capturada pelos centros de reação quando expostos por tempo prolongado a altas irradiâncias.

Em resumo, as características fotossintéticas de *B. delicatulum* mostraram ampla faixa de respostas, principalmente à irradiância, refletindo grande tolerância à esta

variável. Além disso, as respostas de curto período confirmaram características essencialmente de alga de sombra. Entretanto, a espécie possui mecanismos eficientes para lidar com altas irradiâncias e apresenta respostas variáveis dependentes da estação do ano e das condições de exposição à luz, características que provavelmente contribuem para sua ampla distribuição espacial e ocorrência temporal.