



# RECUPERAÇÃO FISIOLÓGICA EM RAMOS DE *SELAGINELLA CONVOLUTA* (VALK. ET ARN) SPRING (SELAGINELLACEAE) APÓS DESSECAÇÃO SOB EQUILÍBRIO COM ATMOSFERAS DE DIFERENTES GRAUS DE UMIDADE RELATIVA

J. M. Barbosa

K. C. C. de Seixas; S. T. Meirelles; W. B. C. Delitti

Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia, Rua do Matão, Travessa 14 n<sup>o</sup> 321, Cidade Universitária, 05508 - 900, São Paulo, Brasil.  
joycebarbosa.bio@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Plantas tolerantes a dessecação são, segundo Levitt (1980), aquelas que possuem capacidade de sobreviver ao equilíbrio de seus tecidos com ar de baixa umidade relativa.

A ausência ou pouca profundidade do solo das formações de afloramentos rochosos criam condições de seca extrema nos períodos entre as chuvas (Meirelles, 1990). As plantas tolerantes a dessecação encontram nessas condições extremas e inconstantes seu habitat típico.

A capacidade de tolerar a dessecação pode ser considerada rara entre as plantas vasculares, no entanto, um grande número de espécies vasculares nativas do Brasil apresenta indícios de possuí - la (Meirelles *et al.*, 1997).

Uma espécie encontrada no Brasil é a criptógama *Selaginella convoluta* (Valk. Et Arn) Spring, que apresenta sinais foliares que indicam a presença de tolerância à dessecação de folhas e ramos. Em um curto período após a última precipitação chuvosa, touceiras de *S. convoluta* entram em equilíbrio com a baixa umidade relativa do ar, apresentam - se dessecadas e com frondes enroladas, caracterizando um estado latente ou de anabiose. Nesse processo, experimentam uma desidratação intensa sem aparentemente sofrerem injúrias permanentes. Estes sinais, em outras criptógamas estão associados com modificações ultraestruturais com vitrificação do citoplasma (Bewley; Krochko, 1982). Após uma precipitação chuvosa suficiente, as estruturas vivas de *S. convoluta* se expandem novamente e readquirem a coloração verde e o aspecto anterior à desidratação. Entretanto, o processo de reidratação não evidencia a recuperação da capacidade de uso da luz e o retorno das funções de redução apenas esse fato não evidencia a recuperação de seu desenvolvimento, pois se trata de um processo físico não necessariamente atrelado a recuperação fisiológica dos tecidos.

De acordo com Oliver e Bewley (1997), o processo de

tolerância a dessecação deve ser compreendido como um balanço entre a proteção celular contra os danos induzidos pela desidratação dos tecidos em relação ao reparo desses danos. Nesse processo, as condições de dessecação e de reidratação tem grande importância no subsequente estado fisiológico e na recuperação da capacidade fotossintética (Eickmeier, 1983).

## OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo verificar a viabilidade da recuperação fisiológica de ramos de *S. convoluta* após serem submetidos a dessecação sob três graus de umidade relativa do ar.

Espera - se que a recuperação de ramos de *S. convoluta* dessecados a um alto grau de umidade relativa seja menos viável em comparação a ramos dessecados a um baixo grau de umidade relativa do ar.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

Foram utilizados ramos de *Selaginella convoluta* coletadas em dois locais: a) bancadas lateríticas na região do Pantanal sul - mato - grossense, localizados a sul da cidade de Corumbá, MS e b) Afloramento de granito gnaisse da Pedra do Itanhangá - Rio de Janeiro - RJ. Em ambos os casos foram coletadas touceiras em estado naturalmente dessecado e levados ao laboratório.

Os materiais coletados foram mantidos de formas distintas. As touceiras coletadas em Corumbá foram mantidas em um recipiente hermético contendo sílica - gel, enquanto as touceiras coletadas no Rio de Janeiro foram reidratadas e mantidas sob cultivo em vasos ao ar livre por um ano antes do início do experimento.

Ao todo foram utilizados 45 ramos de *S. convoluta* mantidos em sílica - gel e 24 ramos da touceira cultivada .

Conteúdo relativo de água (CRA)

Para verificar o estado de hidratação durante a dessecação e reidratação, foi estimado o conteúdo relativo de água (CRA%), avaliado pelo cálculo da razão entre o peso fresco (Pf) subtraído do peso seco (Ps) e o peso fresco saturado (Psat) subtraído do peso seco (BARRS, 1968):

$$CRA = \frac{Pf - Ps}{Psat - Ps}$$

O peso fresco saturado foi obtido verificando - se o valor máximo de peso obtido durante o processo de reidratação e o peso seco após 48 horas na estufa a 80<sup>o</sup> C. Para tais medições foi utilizada uma balança analítica.

Fluorescência da Clorofila a

O potencial de uso de luz do fotossistema II (PSII) foi estimado empregando - se a técnica de análise de fluorescência da clorofila a por pulso modulado com auxílio do sistema de monitoramento de fluorescência FMS2 da Hansatech.

O acompanhamento do potencial de uso da luz dos ramos, durante o processo de dessecação e reidratação, foi verificado através da razão Fv/Fm após 20 minutos de aclimação dos ramos ao escuro. Para as amostras cultivadas na estufa as medidas foram tomadas no período da noite.

O PSII das amostras foi considerado recuperado quando obtido valor de Fv/Fm próximo a 0,8.

Dessecação e reidratação

Os ramos de *S. convoluta* mantidos em sílica - gel foram reidratados para verificar sua integridade através da medida de potencial de uso da luz. Essa abordagem permitiu averiguar o estado do PSII nas amostras. A partir deste resultado, foram selecionados os ramos com valores mais próximos de 0,8 para serem utilizados nos experimentos. Após a seleção, os considerados aptos foram arranjados em 3 grupos a serem submetidos aos diferentes tratamentos de dessecação. O mesmo procedimento foi empregado na escolha dos ramos da touceira de *S. convoluta* mantida em cultivo, entretanto, esta medida foi feita diretamente nos ramos em estado hidratado. Após a seleção daqueles viáveis, os ramos foram arranjados em 3 grupos como aqueles mantidos em sílica - gel.

As amostras foram submetidas a atmosferas com diferentes valores de umidade relativa que poderia induzir diferentes taxas de desidratação. Os valores utilizados corresponderam a aproximadamente, 0, 65 e 95 % de umidade relativa obtidos pelo equilíbrio da atmosfera em tubos de ensaio contendo sílica, glicerol concentrado e solução saturada de cloreto de sódio respectivamente (Winston; Bates, 1960).

Os recipientes contendo a solução de sais foram fechados 24 horas antes do início do processo para permitir o equilíbrio do ar com a tensão de vapor da solução.

O processo de reidratação foi realizado de duas formas: I) Após 30 dias de tratamento nas respectivas atmosferas, em que foram usados 45 ramos das *S. convoluta* mantidas em sílica e 15 ramos daquelas cultivadas ao ar livre; e II) Após terem sido verificados valores de Fv/Fm estáveis, utilizando para esse experimento 9 ramos da touceira cultivada. Os ramos foram reidratados em placas de placas de petri com papel de filtro umedecido com água destilada.

Durante o processo de dessecação e reidratação, os ramos foram mantidos sob uma temperatura média de 25<sup>o</sup> C e irradiância de 100  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

## RESULTADOS

Os ramos inicialmente mantidos em sílica - gel (experimento I) e aqueles retirados da touceira cultivada em estufa (experimento II) apresentaram grande semelhança quanto ao tempo de reidratação necessária para se atingir um valor de potencial de uso da luz (Fv/Fm) que evidencie a atividade do PSII. Em ambos os experimentos, após 28 horas de reidratação, as amostras submetidas aos déficits hídricos de 0% e 65% possuíam um valor de Fv/Fm maior do que 0,7. A média das amostras do experimento I, depois de 28 horas de reidratação era de 0,785 (tratamento de 0% de umidade relativa) 0,781 (tratamento de 65%) e de 0,415 (tratamento de 95%). Enquanto as amostras do experimento II apresentavam um valor de 0,762 (0%), 0,727 (65%) e 0,595 (95%). Em ambos os experimentos foi possível verificar uma melhor recuperação das amostras submetidas a valores de umidade relativa de 0 % e 65 %. A recuperação das amostras dos tratamentos de 95% de umidade relativa se mostrou mais lenta. Após 28 horas a média do valor do experimento I era de 0,415 e o experimento II era de 0,597. Após 53 horas de reidratação do experimento I e 31 horas do II, os valores médios do potencial de uso da luz dos tratamentos de 95% continuaram baixos: 0,489 (experimento I) e 0,595 (experimento II). Esses valores ainda não são suficientes para afirmar a recuperação da atividade do PSII.

No processo de reidratação dos experimentos I e II as amostras submetidas aos tratamentos de 0% e 65% mostraram associação entre o aumento do conteúdo relativo de água e o aumento do potencial de uso da luz (Fv/Fm). Porém, os tratamentos de 95% de umidade relativa, não acompanharam o aumento do conteúdo relativo de água.

No experimento I, após 28 horas, os valores de Fv/Fm apresentavam - se acima de 0,7 nos tratamentos de 0% e de 65%, e os valores do conteúdo relativo de água eram: 98,94% e 97,42% respectivamente. Entretanto, apesar do conteúdo relativo de água do tratamento de 95% apresentar um valor de 100%, seu Fv/Fm era de 0,415. No experimento II, após 28 horas, os valores de Fv/Fm dos tratamentos de 0% e 65% também apresentavam valores acima de 0,7, e os seus conteúdos relativos de água eram de: 96,39% e 92,43%. Como observado no experimento I, o conteúdo relativo de água do tratamento de 95% é alto (97,65%) e o valor de Fv/Fm de 0,595.

Pode - se observar no experimento I que o CRA médio inicial dos ramos submetidos a 95% de umidade relativa possui valor superior aos dos outros tratamentos, indicando valores altos de CRA durante todo o período de anabiose. No tempo 0, ou seja, o após 30 dias de anabiose e antes de serem reidratados, o CRA médio apresentado pelos ramos do tratamento de 95% é de 21,63 %, contra 2,05% do tratamento de 0% e 6, 68 % do tratamento de 65%.

No experimento III, em que os ramos foram reidratados logo após mostrar estabilidade durante 24 horas nos valores de Fv/Fm, os ramos do tratamento de 95% mostraram uma recuperação rápida, até mesmo superior as dos outros

tratamentos (0% e 65%). Após três horas de reidratação os ramos submetidos a 0% de umidade relativa apresentaram um valor médio de Fv/Fm igual a 0,557, os ramos submetidos a 65% apresentavam um valor médio de 0,508 e os ramos submetidos a 95% apresentaram um valor médio de 0,663. A recuperação mais lenta dos valores de Fv/Fm, observados no experimento I e II, nas amostras submetidas ao tratamento de 95% de umidade relativa permitem afirmar que a dessecação dos ramos de *S. convoluta* a essa umidade parece danificar o aparato fotossintético dos ramos, tornando a recuperação desses ramos menos viáveis.

Segundo Aidar (2005), o estado de conservação do aparato fotossintético está associado diretamente ao estado de hidratação dos tecidos foliares. O fato de que as amostras submetidas aos tratamentos de 95% de umidade relativa não acompanharam o aumento do conteúdo relativo de água, ao contrário do ocorrido com as amostras dos tratamentos de 0% e 65%, reforça novamente um aparente dano no aparato fotossintético. Apesar dos ramos terem sido reidratados por completo, o potencial de uso da luz não demonstrou a mesma melhora. Essa alteração entre a reidratação e o potencial de uso da luz reflete a inativação do PSII, sendo este o principal fotossistema associado as moléculas de clorofila responsáveis pelo sinal de fluorescência da clorofila. Esse dano pode estar relacionado ao alto conteúdo relativo de água (CRA) durante o período de anabiose. De acordo com a Enciclopédia Agrícola Brasileira da Esalq (1999) quando a dessecação de sementes é relativamente lenta, as sementes permanecem expostas durante maior período a níveis de hidratação que permitem a ocorrência de reações químicas degenerativas, inclusive as provocadas por radicais livres. O mesmo pode ocorrer com os ramos de *S. convoluta* durante a anabiose.

Apesar de ocorrer modificações que viabilizam a permanência de células em estado inativo durante o período de seca nas plantas pecilohídricas, como a produção de anti-oxidantes descrita por Sherwin e Farrant (1998), talvez essas não sejam suficientes para impedir danos na integridade fisiológica em plantas com um conteúdo relativo de água muito alto e/ou em um tempo prolongado.

Os resultados do experimento III mostram indícios de que os danos causados ao aparato fotossintético nos tratamentos de 95% são causados durante o período de anabiose.

A rápida recuperação dos ramos após três horas indica que apesar de atingirem um valor de potencial de uso da luz próximo de zero, os ramos ainda não estavam em anabiose. Além disso, a rápida recuperação desses ramos pode indicar que não ocorreram danos aparentes no aparato fotossintético em nenhum dos tratamentos durante o processo de dessecação.

## CONCLUSÃO

O armazenamento de ramos de *S. convoluta* em uma umidade relativa de 95% causa danos ao aparato fotossintético, tornando sua recuperação menos viável.

## REFERÊNCIAS

- Aidar, S. T. 2005. Tolerância à dessecação em *Pleurostima purpurea* (Velloziaceae): trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos e conteúdo relativo de água foliar. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (esalq), Piracicaba.
- Barrs, H. D. 1968. Determination of water deficits in plant tissues. In: Kozlowski, T.T. (ed.). Water deficits and plant growth. Volume I: p. 235 - 368.
- Bewley, J. D.; Krochko, J. E. 1982. Desiccation - tolerance. In: Lange O. L.; Nobel P.S; Osmond C.B.; Ziegler, H. (Ed). Encyclopedia of Plant Physiology: Physiological Ecology. Berlin: Springer - Verlag, v. 12B, chap. 10, p. 325 - 378.
- Eickmeier, W. G.; Casper, C.; Osmond, C.B. 1983. Chlorophyll fluorescence in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* (Hook.&Grev.) Spring. during high - light and desiccation stress, and evidence for zeaxanthin - associated photoprotection. *Planta* 189: 30 - 38.
- ESALQ (Brasil). 1999. Enciclopédia Agrícola Brasileira. Piracicaba, 700 p.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stress, water, radiation, salt, and other stress II, Academic Press, New York.
- Meirelles, S. T. 1990. Ecologia da Vegetação de Afloramentos Rochosos do Litoral da Região Sudeste. 289 f. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Meirelles, S. T.; Mattos, E. A.; Silva, A. C. 1997. Potential desiccation tolerant vascular plants from southeastern Brazil. *Polish Journal of Environmental Studies*, 6, 4.
- Oliver, M. J. ; Bewley, J. D. 1997. Desiccation - tolerance of plants tissue: A mechanistic overview. *Hort Rev.* 18: 171 - 183.
- Sherwin H. W; Farrant J. M. 1998. Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophyta viscosa*. *Plant growth regulation* 24:203 - 210.
- Winston, P. W.; Bates, D. H. 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology*, 41: 232 - 237.