



ESTUDO ECOFISIOLÓGICO DE *IPOMOEA PES - CAPRAE* (CONVOLVULACEAE) E *SCAEVOLA PLUMIERI* (GOODENIACEAE) NA ILHA DE GURIRI, ESPÍRITO SANTO.

F. C. Teotonio (1)

R. F. A. Martins (1); L. O. Caneva (1); D. M. Silva (2); A. R. Falqueto (1,2)

1-Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, Biológicas e Agrárias, Rodovia BR 101 Norte, Bairro Litorâneo, CEP 29932 - 540, São Mateus, Espírito Santo, Brasil. 2-Programa de Pós - Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Avenida Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, 29075 - 910, Vitória, Espírito Santo, Brasil. antelmofalqueto@ceunes.ufes.br; fabianact_bio@hotmail.com

INTRODUÇÃO

As restingas, ecossistemas marginais à Mata Atlântica, formam um complexo de tipos vegetacionais característicos de solos arenosos de origem fúvio - marinha, ao longo do litoral brasileiro (Scarano, 2002). Estes ambientes são caracterizados pela limitada disponibilidade de recursos, principalmente em função de seus solos arenosos nos quais a baixa capacidade de retenção de água e de nutrientes são tidos como fatores determinantes no estabelecimento das espécies vegetais, além das altas taxas de incidência luminosa e os elevados níveis de salinidade. Estas condições ambientais são decisivas na seleção das espécies vegetais que ingresam naquele ecossistema. Assim, somente aquelas que apresentarem alta plasticidade fisiológica estão aptas a colonizá-lo.

A natureza das respostas das plantas à variação na disponibilidade de recursos e condições ambientais das restingas é, em grande parte, modulada por características morfológicas e fisiológicas (De Mattos *et al.*, 2004). As respostas das plantas ao seu habitat no que se refere à utilização dos recursos ambientais disponíveis são refletidas por padrões ecofisiológicos distintos, mesmo embora elas estejam distribuídas em habitats adjacentes e similares geograficamente. Entre as características fisiológicas diretamente afetadas pela disponibilidade de recursos no ambiente, a fotossíntese ocupa uma posição central, por fornecer uma ligação entre os processos internos do metabolismo vegetal e o ambiente externo. A capacidade fotossintética máxima sob condições ótimas dos recursos ambientais é uma característica constitutiva de certos grupos e espécies de plantas. Assim, embora já tenha sido dada alguma importância ao significado ecofisiológico da influência de fatores externos sobre as características morfofisiológicas de espécies vegetais de restinga, somente a partir da última década foi direcionada a devida importância aos estudos de longa duração. Estudos em escala pontual dificultam ou

mesmo impedem a previsibilidade de determinados eventos ecológicos relacionados à aquisição de tolerância e adaptabilidade às variações na disponibilidade de recursos.

Utilizando - se técnicas fisiológicas como a fluorescência transiente O - J - I - P da clorofila *a* é possível monitorar alterações sazonais da estrutura e do funcionamento dos sistemas fotossintéticos das plantas em reflexo às condições ambientais (disponibilidade de recursos), bem como conferir certo grau de previsibilidade quanto à contribuição dessas alterações para o curso de aquisição de carbono. A fluorescência transiente O - J - I - P da clorofila *a* tem sido largamente utilizada em função do seu potencial em prover informações sobre a capacidade fotossintética e “vitalidade de plantas”, auxiliando na compreensão de como os fatores abióticos do ambiente (temperatura, luminosidade, disponibilidade hídrica entre outros) podem influenciar a fisiologia da planta e como este responde a tais estresses. A técnica permite a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo sistema fotossintético, possibilitando o estudo de características relacionadas à capacidade de absorção e transferência de energia na cadeia transportadora de elétrons (Krause & Weiss, 1991). Strasser e Strasser (1995) introduziram um modelo que traduz as mudanças observadas na fluorescência transiente da clorofila para uma ótica quantitativa. Essa análise da fluorescência transiente, ou teste JIP, explica os principais passos do fluxo de energia no fotosistema II (FS II). Além disso, é uma técnica rápida e não destrutiva (Strasser *et al.*, 2004). As análises resultantes deste método revelam um aumento polifásico da fluorescência, com passos básicos partindo de uma origem “O” seguido por duas inflexões “J” e “I” até um pico “P” da fluorescência, originando o que chamamos de curva O - J - I - P.

Assim, este estudo levou em consideração que diferentes espécies vegetais podem apresentar respostas distintas em sua capacidade intrínseca para adquirir os recursos do ambi-

ente, mesmo embora elas estejam distribuídas em habitats adjacentes e similares geograficamente e que atributos fisiológicos como as características fotossintéticas assumam um significado adaptativo. Dessa maneira, o entendimento da dinâmica da variação desses atributos pode contribuir fortemente para a compreensão dos padrões de distribuição das espécies ao longo de gradientes de fatores ambientais.

OBJETIVOS

Comparar características da curva O - J - I - P da fluorescência transiente da clorofila *a* e parâmetros do teste JIP entre *Ipomoea pes - caprae* e *Scaevola plumieri*, espécies abundantes no sistema de dunas da restinga de Guriri, litoral Norte do Estado do Espírito Santo.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e condições de amostragem

O estudo foi realizado no sistema de dunas na Ilha de Guriri, localizada a 12 km da cidade de São Mateus, ES (ca. 18°45'S, 39°44'W). A ilha possui linha costeira de aproximadamente 40 km, indo desde a Vila de Barra Nova, ao sul, até a desembocadura do Rio São Mateus, ao norte. O clima característico da região é quente e úmido, com estação seca no outono - inverno e estação chuvosa na primavera - verão. A temperatura média anual varia entre 22°C e 24°C e precipitação média anual varia entre 1.000 e 1.250 mm.

A coleta foi realizada no mês de novembro/2008, período correspondente à pós - seca. As espécies estudadas foram *Ipomoea pes - caprae* (Convolvulaceae) e *Scaevola plumieri* (Goodeniaceae), espécies mais abundantes no sítio de estudo.

Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente ou polifásica (O - J - I - P) da clorofila *a*

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi medida em folhas jovens totalmente expandidas, utilizando - se um fluorômetro portátil (HandyPEA, Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK). As medidas foram realizadas sempre no período da manhã em folhas previamente adaptada ao escuro (uso de cliques foliares) durante 30 minutos. Os sinais de fluorescência foram registrados a cada 10 μ s durante 1 s de iluminação (3000 μ mol fótons m⁻² s⁻¹). A intensidade de fluorescência aos 50 μ s foi considerada com sendo F0 (Strasser *et al.*, 004). Os dados originados da curva O - J - I - P da fluorescência foram derivados de acordo com o teste JIP usando o programa BIOLYSER (Biolyser © R.M. Rodriguez, The Bioenergetics Laboratory, University of Geneva, Geneva, Switzerland). O teste JIP define o máximo fluxo de energia em termos de absorção (ABS), captura ("trapping", TR0), transporte de elétrons (ET0) e dissipação (DI0) e sua relação com sinais da fluorescência (Ft) entre F0 e Fm. A partir destas variáveis basais, calculou - se a eficiência fotoquímica máxima do FS II (Fv/Fm=TR0/ABS). Atualmente, o uso de instrumentos de alta resolução tem permitido a aquisição, em escala de microsegundos, da inclinação da origem do aumento da fluorescência O - J - I - P (dF/dt0), permitindo o cálculo do fluxo de energia capturada por centro de reação

ativo (TR0/RC) e do tamanho médio do sistema antena de captura de energia (ABS/RC). A intensidade de fluorescência obtido aos 2 ms (ponto J) possibilita estimar a probabilidade de redução da QA (QA+ para QA -) por elétrons movidos através da cadeia de transporte de elétrons[ET0/TR0=(FM - FJ)(FM - FO)].ET0/TR0 é diretamente relacionado à redução do pool de plastoquinonas. O fluxo específico de dissipação da energia em nível de sistema antena (DI0/RC), que representa a razão da dissipação total de energia de excitação não capturada nos centros de reação em relação aos centros de reação ativos, o transporte de elétrons excitados (ET0/RC), que considera a reoxidação de QA - através da cadeia de transporte de elétrons, o índice de centros de reação ativos por sessão transversal excitada (RC/CS0) e a probabilidade de transporte de elétrons (ET0/TR0) que indica a probabilidade de um elétron que esteja no acceptor QA seguir na cadeia de elétrons foram analisados (para maiores detalhes, consultar Christen *et al.*, 007).

Análise estatística

Os gráficos dos sinais da fluorescência transiente O - J - I - P foram obtidos automaticamente pelo programa Handy - PEA (Hansatec). Os dados obtidos pelo teste JIP foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando os valores de *F* foram significativos, realizou - se teste de médias de acordo com Tukey (P < 0,05 e P < 0,01).

RESULTADOS

De maneira geral, os resultados obtidos neste estudo revelaram grandes diferenças no comportamento fotossintético de *I. pes - caprae* e *S. plumieri*, abundantes nas dunas da restinga da Ilha de Guriri, litoral norte do Estado do Espírito Santo. As análises foram realizadas no mês de novembro de 2008, período que compreende o final do período de estiagem e início do período de chuvas intensas na região, tornando disponíveis às plantas os diversos recursos do ambiente, o que possibilita a reprodução destas espécies durante os meses de verão.

As curvas O - J - I - P da fluorescência da clorofila *a*, as quais apresentam um comportamento ascendente polifásico, mostrou um comportamento típico em *I. pes - caprae*. A magnitude dos sinais de fluorescência aumentou desde um nível basal, ou F0, até um nível máximo (Fm) com os pontos intermediários J e I bem definidos. Ao contrário, em *S. plumieri*, a aparência polifásica da curva O - J - I - P mostrou - se muito distinta quando comparada àquela obtida para as demais espécies, com a supressão parcial do ponto J. Grande variação na amplitude do ponto P foi observada entre as espécies, alterando o tempo requerido para se atingir o ponto máximo da produção de fluorescência.

O tempo no qual o sistema fotossintético alcança a taxa máxima de produção dos sinais da fluorescência (TFmax), ou seja, o tempo necessário para se alcançar Fm, mostrou diferenças pouco significativas entre as espécies. O maior valor de TFmax foi observado em *I. pes - caprae*, tendo entre ambas as espécies uma variação de apenas 10,3% na taxa de produção dos sinais da fluorescência. Da mesma forma, não houve diferenças significativas nos níveis da fluorescência inicial (F0) entre as espécies. F0 é o nível mínimo

de fluorescência emitida com todos os centros de reações do PSII abertos. Por outro lado, o nível máximo de produção dos sinais de fluorescência, obtido quando todos os centros de reação do PSII encontram - se fechados ou reduzidos (Fm) foi significativamente maior em *I. pes - caprae*. Incrementos em Fm estão diretamente relacionados à menor eficiência do PS II em reduzir QA, refletindo deficiências do sistema fotossintético devido às condições de stress do ambiente, como altas temperaturas e intensa luminosidade característicos de seus habitats.

Por um lado, (1) se F0 representa a emissão de luz na forma de fluorescência pelas moléculas de clorofilas *a* excitadas, antecedendo sua dissipação em direção ao centro de reação do FS II, o que implica num processo decorrente da atuação do sistema antena e (2) Fm refere - se à produção dos sinais de fluorescência quando todos os centros de reação do FS II encontram - se fechados ou reduzidos, pode - se inferir que as variações nos parâmetros fotossintéticos estudados até aqui ocorrem em nível de uso ou aproveitamento da energia luminosa, ocorrente no âmbito dos centros de reação do FS II e que o sistema de absorção ou captura da energia de excitação não seja um critério adequado para a distinção ecofisiológica das espécies.

Estas observações nos levam à percepção de que a fluorescência em nível de F0 é independente dos eventos fotoquímicos. Entretanto, F0 nem sempre é uma constante, e seu valor pode aumentar quando os centros de reação do FS I I são submetidos a condições que comprometam a transferência da energia de excitação da antena para os centros de reação esteja prejudicada. O valor de F0 é alterado por estresses do ambiente, os quais causam mudanças estruturais nos pigmentos fotossintéticos do FS II. Estresse por temperaturas infraótimas decresce significativamente os valores de F0 e o estresse por temperaturas supra - ótimas é caracterizado por incrementar drasticamente os valores de F0. Entretanto, os valores de F0 são usados como referência para a determinação das outras variáveis da fluorescência.

A área sobre a curva de fluorescência entre F0 e Fm não apresentou diferença significativa entre as espécies. A área representa o tamanho do *pool* de aceptores de elétrons, e inclui QA e QB. Sendo assim, se a transferência da energia de excitação dos centros de reação para o *pool* de plastoquinona é bloqueado por algum motivo, a área da curva é drasticamente reduzida. Observou - se diferenças significativas para os valores de Fv/Fm, que representa a probabilidade de um fóton absorvido ser capturado pelo centro de reação do FS II, com a conseqüente redução de QA (Krause & Weiss, 1991). Fv/Fm foi maior em *I. pes - caprae*, evidenciando sua maior capacidade de redução de QA através da elevada captura de elétrons. Fv/Fm é um bom indicativo da capacidade de captura de energia luminosa dos CRs do FS II abertos, quando as folhas são adaptadas ao escuro e os aceptores de elétrons estão totalmente oxidados (Krause & Weiss, 1991). Normalmente, os valores de Fv/Fm para plantas não estressadas estão sempre próximos de 0,80, independente da espécie estudada. Uma relação Fv/Fm inferior a 0,80 pode indicar a ocorrência de inativação ou danificação aos centros de reação do FS II resultando em processos de fotoinibição. Os valores de Fv/Fm reduzem - se nas plantas submetidas a algum tipo de estresse ambiental, tais como o estresse

hídrico, temperatura, salina e alta irradiância. Entretanto, por outro lado, Fv/Fm pode ser completamente insensível às mudanças na disponibilidade de recursos do ambiente.

ABS/RC foi maior em *S. plumieri* quando a comparamos com *I. pes - caprae*. ABS/RC reflete o número total de fótons absorvidos pelas moléculas de clorofila de todos os centros de reação dividido pelo número total de centros de reação ativos. Seus valores fazem menção ao tamanho do sistema antena coletor de luz. Entretanto, os fótons são absorvidos por moléculas de clorofila associadas com a centros de reação ativos e inativos, sendo ABS/RC influenciado pela relação de CRs ativos/inativos (Strasser e Tsimilli - Michael 1998). Analogamente, o valor médio de TR0/RC foi maior em *S. plumieri* quando se comparou com *I. pes - caprae*. TR0/RC refere - se à taxa máxima de captura de elétrons pelo FS II (Strasser *et al.*, 2000), o fenômeno de captura ocorre quando a energia de um fóton absorvido pelas clorofilas do sistema antena leva à redução da QA no centro de reação. ET0/RC foi significativamente maior em *S. plumieri*. Este parâmetro reflete o transporte de elétrons por CR ativo no FS II, isto é, a reoxidação de QA reduzida através do transporte de elétrons no CR ativo. É calculado multiplicando a taxa máxima de captura de elétrons do FS II (TR0/RC) pela probabilidade do transporte do elétron (ET0/TR0).

Os maiores valores de ET0/RC refletiram o aumento no número de turnover de QA (*N*) nesta espécie. Os valores de *N* em *S. plumieri* foram cerca de 17,56% maiores do que aqueles obtidos para *I. pes - caprae*. *N* indica o número de vezes em que QA foi reduzida no tempo compreendido entre 0 e TFmax, sendo expresso como $N = [(TR0/RC \bullet Sm)]$ (Strasser *et al.*, 2000). O parâmetro que apresentou menor variação entre as duas espécies foi o Sm (área relativa), o qual, pela análise dos valores médios das duas espécies, mostrou uma diferença de apenas 4,11%. *Ipomaea plumieri* também se destacou por apresentar maiores taxas de dissipação da energia de excitação (DI0/ RC).

CONCLUSÃO

Em análise à curva O - J - I - P, observou - se parcial supressão do ponto J em *S. plumieri* enquanto nenhuma variação foi observada em Fo. Fm foi significativamente maior em *I. pes - caprae*. O número total de fótons absorvidos pelas moléculas de clorofila de todos os centros de reação (ABS/RC), a taxa máxima de captura de elétrons pelo FS II (TR0/RC), o transporte de elétrons por CR ativo no FS II (ET0/RC) e o número de turnover de QA (*N*) foram significativamente maiores em *S. plumieri*, e refletiram numa menor dissipação da energia de excitação pelos centros de reação do FS II (DI0/ RC). Os resultados obtidos indicam mecanismos de regulação do sistema fotossintético mais eficientes em *S. plumieri*.

REFERÊNCIAS

Christen, D., Schonmann, S., Jermini, M., Strasser, R. J., Défago G. 2007. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca

disease by *in situ* chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Env. Exp. Bot.*, 60: 504 - 514.

De Mattos, E.A.; Cavalin, M.I.G.; Rosdo, B.H.P.; Gomes, J.M.; Martins, L.S.T.; Arruda, R.C.O. Variação espacial e temporal em parâmetros fisiocológicos de plantas. P. 99 - 116. In: ROCHA, C.F.D.; ESTEVES, F.A.; SCARANO, F.R. Pesquisas de longa duração na restinga de Jurubativa. Ecologia, história natural e conservação. São Carlos, RiMa Editora, 2004.

Krause, G.H.; Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis-the basics. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 42: 313 - 349.

Scarano, F.R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annual of Botany*, v.90, p.517 - 524.

Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli - Michael M. 2004, Analysis of the fluorescence transient. In: Papageogiou G, Govindjee (eds) Chlorophyll a fluorescence: a sig-

nature of photosynthesis. *Advances in photosynthesis and respiration*, vol 19. Springer, Dordrecht, pp 321-362.

Strasser, B. J; Strasser R. J. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental question: The JIP - Test. In: Mathis P. (ed), *Photosynthesis: from light to biosphere*. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academy Publisher, pp 977 - 980.

Strasser, R. J e Tsimilli - Michel, M. 1998. Activity and heterogeneity of PS II probed in vivo by the chlorophyll a fluorescence rise O - (K) - J - I - P. In: Garab G (ed) *Photosynthesis: Mecanism and effects*, vol v. Kluwer Academic, Rotterdam, pp 4321-4324.

Strasser, R. J; Srivasta, A; Tsimilli - Michel, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus, M; Pathre, U; Mohanty, P. (eds), *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation*. London, Taylor and Francis, pp 445 - 483.