

QUEILA DE SOUZA GARCIA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE TRÊS
ESPÉCIES DE VELLOZIACEAE,
DURANTE OS PROCESSOS DE
DESSECAÇÃO E REIDRATAÇÃO**

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo (a) candidato (a)

Queila de Souza Garcia

e aprovada pela Comissão Julgadora.

14/11/97

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly

V.	Ex.		
TOMBO BC/	32600		
PROC.	395198		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	76,800		
DATA	6/01/98		
N.º CPD			

CM-00104563-4

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

Garcia, Queila de Souza

G165a Aspectos fisiológicos de três espécies de velloziaceae, durante os processos de dessecação e reidratação / Queila de Souza Garcia. -- Campinas, SP: [s.n.], 1997.
80f.: ilus.

Orientador: Carlos Alfredo Joly

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Biologia.

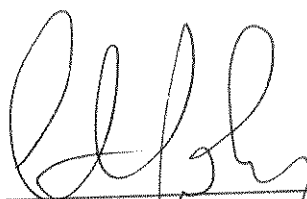
1. Ecologia vegetal. 2. Botânica. 3. Aspectos fisiológicos.
I. Joly, Carlos Alfredo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 01 de outubro de 1997

BANCA EXAMINADORA

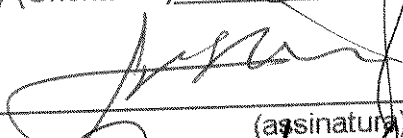
TITULARES:

Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly (Orientador)



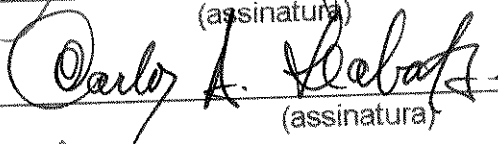
(assinatura)

Prof. Dr. Jorge Vega



(assinatura)

Prof. Dr. Carlos Alberto Labate



(assinatura)

Prof. Dr. Marico Meguro



(assinatura)

Prof. Dr. Sérgio Tadeu Meirelles



(assinatura)

SUPLENTE

Prof. Dr. João Semir

(assinatura)

Prof. Dr. Antônio Celso Novaes Magalhães

(assinatura)

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly pela orientação e, especialmente, por permitir que eu trilhasse um caminho completamente desconhecido, que se mostrou ser um trabalho árduo, mas extremamente gratificante.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Labate (ESALQ-USP, Piracicaba-SP), pela disponibilidade do seu laboratório e pela oportunidade de obter novos conhecimentos.

Ao Prof. Pedro Luís C. A. Alves (UNESP, Jaboticabal-SP), pelo auxílio com o "Leaflab" e pelas inúmeras discussões e sugestões, muitas vezes pelo telefone.

Ao Dr. Ernesto Medina (IVIC, Caracas - Venezuela) por "repartir" comigo um pouco do seu vasto conhecimento de ecofisiologia e pelas sugestões feitas ao manuscrito, que contribuíram para o enriquecimento do mesmo.

Aos Professores Carlos Alberto Labate, Jorge Vega e Sérgio Tadeu Meirelles pelas sugestões.

Aos professores, alunos e funcionários dos Departamentos de Fisiologia Vegetal e de Botânica da UNICAMP pela convivência e colaboração.

Aos colegas, alunos e funcionários do Departamento de Botânica da UFMG pelo apoio e amizade.

À FAPESP pelo financiamento deste projeto.

Ao CNPq e CAPES, pelo auxílio financeiro.

À Auremi e Adriana pelo apoio incondicional e por terem tornado minhas estadias em Campinas muito mais agradáveis.

Aos meus amigos pela força e confiança.

À minha família pelo incentivo de buscar o melhor caminho.

Ao meu companheiro Fábio pelo estímulo constante, pelo auxílio em todas as etapas desse trabalho e, especialmente por sua paciência e compreensão nas horas de desespero e nos infindáveis dias e noites que passei no laboratório.

À Deus por guiar continuamente o meu caminho e principalmente por ter me dado perseverança para continuar, mesmo quando tudo parecia dar errado.

Sumário

Resumo.....	i
Summary.....	iii
Introdução.....	1
Objetivos.....	8
Material e Métodos.....	9
Resultados.....	19
Discussão.....	42
Conclusões.....	59
Referências Bibliográficas.....	60

Resumo

Dessecação é uma das mais extremas alterações que as células podem suportar e poucas espécies vegetais têm protoplasmas que sobrevivem a períodos de baixo conteúdo hídrico. Este estudo comparou o comportamento de três espécies de Velloziaceae durante os processos de dessecação e reidratação, visando esclarecer aspectos da tolerância e sensibilidade à dessecação.

Foram utilizadas folhas destacadas de plantas adultas de *Barbacenia gentianoides*, *Vellozia nivea* e *Nanuzia plicata* (Velloziaceae). As folhas foram dessecadas e reidratadas em condições controladas de laboratório (25°C, UR entre 50 e 60%, 50 μmol fótons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). À medida que as folhas foram dessecando ou reidratando em água destilada, foram retiradas amostras e feitas medidas de conteúdo relativo de água (CRA), liberação de eletrólitos, de solutos com absorvância na faixa de 200 a 400 nm, conteúdo de pigmentos e liberação e consumo de O_2 .

Os dados de condutividade mostram que ocorreu um aumento da liberação de eletrólitos, com a diminuição do CRA, em todas as espécies. A liberação de eletrólitos pelas folhas de *B. gentianoides* e *V. nivea* foi lenta no início da dessecação e mais acentuada no final do processo, enquanto folhas de *N. plicata* apresentaram um aumento moderado da liberação de eletrólitos durante a dessecação. Folhas de *B. gentianoides* e *N. plicata* apresentaram aumento da liberação de solutos com diminuição do CRA, com pico máximo de absorvância em 320 nm, enquanto folhas de *V. nivea* apresentaram pico de absorvância em 280 nm e aumento

discreto da liberação de solutos durante o processo de dessecação. Apenas em folhas de *N. plicata* a diminuição do CRA foi acompanhada pela queda drástica no conteúdo de clorofilas (82%) e ligeira redução no conteúdo de carotenóides (26%); as folhas de *B. gentianoides* e *V. nivea* apresentaram pequenas alterações no conteúdo de pigmentos ao longo do processo de dessecação. A taxa de fotossíntese diminuiu rapidamente nas três espécies durante a dessecação, enquanto a respiração apresentou uma redução bastante lenta, especialmente em folhas de *V. nivea* e *N. plicata*.

Durante a reidratação as folhas de *B. gentianoides* não apresentaram mudanças na aparência e nenhuma atividade metabólica. Folhas de *V. nivea* desenrolaram-se, reduziram a liberação de solutos, apresentaram pouca alteração no conteúdo de pigmentos e retomada do metabolismo, não apresentando, porém, recuperação do mesmo. Em folhas de *N. plicata* o aumento do CRA foi acompanhado pelo aumento do conteúdo de pigmentos, chegando a níveis semelhantes aos obtidos para folhas hidratadas. Nestas folhas ocorreu uma redução da liberação de eletrólitos, bem como de solutos e recuperação total das atividades respiratória e fotossintética. Esses resultados mostram que as folhas de *B. gentianoides* são sensíveis e as de *N. plicata* são tolerantes à dessecação, enquanto as de *V. nivea* mostraram um comportamento intermediário. Provavelmente, as folhas de *V. nivea* dependem de algum sinal da planta para ativar seus mecanismos de proteção aos danos da dessecação e sobrevivem apenas se dessecam na planta intacta.

Abstract

Desiccation is one of the most extreme alterations which cells can support and a few vegetal species have protoplasts which survive after periods of low hydric contents. This study compared the behaviour of three species of Velloziaceae during the processes of desiccation and rehydration, aiming to clarify tolerance and sensitivity aspects to desiccation.

Leaves detached from adult plants of *Barbacenia gentianoides*, *Vellozia nivea* and *Nanuza plicata* (Velloziaceae) were used. The leaves were desiccated and rehydrated in laboratory controlled conditions (25°C, UR between 50 and 60%, 50 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). While the leaves were being desiccated and rehydrated in still water, samples were taken and measured regarding relative water contents (RWC), leakage of electrolytes, and of solutes with absorbance from 200 to 400nm, contents of pigments and evolution of O_2 .

The conductivity data show that an increase in the leakage of electrolytes, with a reduction of RWC, occurred in all of the species. The leakage of electrolytes by the leaves of *B. gentianoides* and *N. plicata* was slow in the beginning of the desiccation and more emphatic in the end of the process while leaves of *N. plicata* presented a moderate increase in the leakage of electrolytes during the desiccation. Leaves of *B. gentianoides* and *N. plicata*

presented an increase in the leakage of solutes with a reduction of RWC, with a maximum peak of absorbance in 320nm, while leaves of *V. nivea* presented a peak of absorbance in 280nm and a discreet increase in the leakage of solutes during the process of desiccation. The reduction of RWC was followed by the drastic fall in the contents of chlorophyll (82%) and a slight reduction in the contents of carotenoid (26%). Leaves of *B. gentianoides* and *V. nivea* presented small alterations in the contents of the pigments along the desiccation process. The photosynthetic rate decreased rapidly in the three species during the desiccation while dark respiration presented a very slow decrease mainly in leaves of *V. nivea* and *N. plicata*.

Leaves of *B. gentianoides* presented no changes in the appearance and no metabolic activity during the rehydration. Leaves of *V. nivea* unrolled, reduced the leakage of solutes, and presented a small alteration in the contents of pigments and retaking of the metabolism, however not presenting its recovery. The increase of RWC was followed closely by an increase of the pigments' contents in leaves of *N. plicata*, reaching levels similar to those obtained for hydrated leaves. A reduction of the leakage of electrolytes, as well as a reduction of solutes and a total recovery of the respiratory and photosynthetic activities occurred in these leaves. These results show that leaves of *B. gentianoides* are sensitive and those of *N. plicata* are tolerant to the desiccation, while those of *V.*

nivea presented an intermediate behaviour. Leaves of *V. nivea* probably depend on a certain signal of the plant to activate their mechanisms of protection against the losses of the desiccation and survive only if they are desiccated in the intact plant.

Introdução

Sobre grandes áreas da superfície terrestre, a falta d'água é o principal fator limitante para a produtividade vegetal e distribuição das espécies de plantas (BEWLEY & KROCHKO, 1982; JONES, 1992). Déficit hídrico desencadeia um complexo de respostas que se manifestam em mudanças aos níveis celular, fisiológico e fenológico (BRAY, 1993). Muitos estudos sobre as respostas das plantas ao déficit hídrico foram feitos com plantas cultivadas, devido à sua importância econômica e porque as espécies usadas na agricultura tradicional são extremamente sensíveis à seca (SWINDALE & BIDINGER, 1981). Entretanto, as respostas de espécies nativas ao estresse hídrico também têm despertado grande interesse dos pesquisadores.

A extensão em que o período sem chuvas afeta as plantas, depende das características físico-químicas do solo, da umidade relativa do ar e das características biológicas das plantas. Assim, para um período de seca afetar uma comunidade vegetal, a falta de chuva deve levar a um déficit hídrico no solo e, em última instância, um déficit hídrico nos tecidos das plantas (JONES *et al.*, 1981).

Qualquer condição desfavorável que afeta ou reduz o metabolismo, o crescimento ou o desenvolvimento de uma planta pode ser considerada como estresse (LEVITT, 1980, LICHTENTHALER, 1996). De acordo com LEVITT (1980), em

relação ao estresse por deficiência hídrica, as plantas podem escapar, evitar ou apresentar tolerância à dessecação.

As plantas que têm a capacidade de escapar da seca, por completarem seu ciclo de vida antes de desenvolverem déficit hídrico, são conhecidas como efêmeras. Elas escapam da seca sem terem mecanismos especiais, mas por apresentarem crescimento rápido e plasticidade fenotípica. Outro tipo de mecanismo é apresentado pelas plantas que evitam a desidratação do tecido, através de adaptações que retardam a perda de água e/ou aumentam a absorção de água. O terceiro mecanismo é a tolerância à dessecação, que é a capacidade de experimentar desidratação protoplasmática, sem injúria permanente.

Dessecação é uma das mais extremas alterações que as células podem suportar e poucas espécies vegetais têm protoplasmas que sobrevivem a períodos de baixo conteúdo hídrico (BEWLEY & KROCHKO, 1982). Uma espécie que pode sobreviver à dessecação e suspender seu metabolismo quando desidratada é tolerante à dessecação ou peciloídrica (WALTER, 1955). As características que diferenciam células tolerantes à desidratação, das sensíveis, não são completamente conhecidas, mas sabe-se que os mecanismos de tolerância à dessecação estão baseados no comportamento das membranas (SMIRNOFF, 1993; SUN *et al.*, 1994).

As plantas peciloídricas ou revivescentes podem ser subdivididas em dois grupos: aquelas que perdem

completamente a clorofila e tornam a recuperá-la quando a água torna-se novamente disponível, chamadas de peciloclorófilas (HAMBLER, 1961) e aquelas que retêm seu conteúdo de clorofila durante a dessecação, denominadas homeoclorófilas (BEWLEY, 1979).

Em muitos aspectos tolerância à dessecação é uma característica primitiva, sendo mais comum em criptógamas do que em fanerógamas (BEWLEY, 1979). Plantas revivescentes são predominantemente espécies pioneiras na colonização de superfícies rochosas e solos pouco profundos, estando geralmente expostas à luz solar direta. Nestas condições, os mecanismos para evitar a seca não são capazes de proteger as plantas do estresse hídrico intenso, favorecendo a seleção de espécies tolerantes (GAFF, 1977). Entretanto, existem exceções, como algumas espécies revivescentes de pteridófitas que crescem sob rochas, onde são parcial ou totalmente sombreadas e outras que vivem em solos profundos, competindo com espécies que evitam a seca (GAFF & LATZ, 1978).

Os primeiros estudos com plantas revivescentes deram maior ênfase aos aspectos estruturais do que aos bioquímicos e fisiológicos (JONES *et al.*, 1981). Mais recentemente vários aspectos dos efeitos da dessecação ao nível celular têm sido abordados na literatura, como o papel do ácido abscísico (GAFF & LOVEYS, 1984; HELLWEGE *et al.*, 1994), mudanças no conteúdo de açúcares e poliálcoois (BIANCHI *et al.*, 1993; POPP & SMIRNOFF, 1995), no conteúdo

de proteínas e atividade de enzimas (DHINDSA & MATOWE, 1981; HARTEN & EICKMEIER, 1986; LEBKUECHER & EICKMEIER, 1992; OLIVER *et al.*, 1993; SCHNEIDER *et al.*, 1993), alterações na composição lipídica e na peroxidação dos lipídios das membranas (STEWART & BEWLEY, 1982; STEVANOVIC *et al.*, 1992; NAVARI-IZZO *et al.*, 1995), bem como a ativação de sistemas antioxidantes (SMIRNOFF, 1995).

Entretanto, a maioria dos trabalhos têm destacado o efeito do estresse hídrico na capacidade fotossintética dessas plantas, seja em relação à assimilação de carbono ou à eficiência fotoquímica, durante os processos de dessecação e reidratação (EICKMEIER, 1979, 1980, 1982; HETHERINGTON & SMILLIE, 1982; SCHWAB *et al.*, 1989; LEBKUECHER & EICKMEIER, 1991; CASPER *et al.*, 1993; EICKMEIER *et al.*, 1993; TUBA *et al.*, 1993a, 1994, 1996; LAWLOR, 1995), tendo alguns deles investigado também o comportamento do processo de respiração (SCHWAB *et al.*, 1989; TUBA *et al.*, 1994, 1996). Porém, as informações sobre a natureza bioquímica e molecular da tolerância à dessecação em plantas ainda não são conclusivas.

Desidratação lenta é essencial para a sobrevivência de plantas revivescentes, bem como de folhas destacadas dessas plantas. Estudos realizados com espécies revivescentes têm demonstrado que a desidratação rápida pode ser fatal para algumas espécies, entre as quais *Borya nitida* (GAFF & CHURCHILL, 1976), *Tortula ruralis* (DHINDSA &

MATOWE, 1981), *Tortula ruraliformes* e *Dicranella palustris* (SEEL et al., 1992), *Polypodium virginianum* (REYNOLDS & BEWLEY, 1993a) e *Boea hygroskopica* (SGHERRI et al., 1994). Aparentemente desidratação lenta pode aumentar as chances de sobrevivência, por dar à planta um tempo adicional para conduzir as mudanças necessárias para atingir um estado viável de dessecação (NAVARI-IZZO et al., 1995).

Durante a dessecação de plantas peciloídricas ocorrem modificações ultraestruturais e metabólicas reversíveis, que viabilizam a permanência de suas células em estado inativo durante o período de seca, bem como sua rápida reorganização morfo-metabólica, tão logo haja disponibilidade hídrica (SCHWAB & GAFF, 1986; SCHWAB et al., 1989; ROSSETTO, 1996; BIANCHI et al., 1993). A integridade nuclear e, por sua vez, a integridade do material genético das células, retida durante a dessecação, pode ser um importante aspecto da tolerância à dessecação (BEWLEY, 1979).

As principais características de espécies tolerantes à dessecação são a capacidade de limitar os danos durante a desidratação, para que o metabolismo possa ser rapidamente reativado na reidratação e ter um mecanismo de reparo, especialmente para recuperar a integridade das membranas (BEWLEY, 1979; HARTEN & EICKMEIER, 1986). A estratégia ecofisiológica de plantas peciloídricas representa um complexo compromisso evolutivo entre custos e benefícios

adaptativos, relacionados com o balanço de carbono em ambientes áridos (EICKMEIER, 1979).

A flora revivescente da América do Sul é caracterizada por marcante preponderância de espécies da família Velloziaceae, especialmente freqüentes nos campos rupestres de Minas Gerais, onde a família apresenta uma extraordinária riqueza florística (GAFF, 1987). A família Velloziaceae é essencialmente tropical e apresenta um alto grau de endemismo, contendo cerca de 250 espécies, das quais 30 ocorrem na África e o restante na América do Sul (AYENSU, 1973; MELLO-SILVA, 1991). Do ponto de vista taxonômico e fitogeográfico, Velloziaceae é uma das famílias de plantas mais interessantes, devido às dificuldades que cercam seus limites genéricos e seu padrão de distribuição (AYENSU, 1973).

As velloziáceas vivem preferencialmente em regiões de altitudes elevadas, sendo encontradas em encostas nuas de paredões rochosos ou em afloramentos rochosos, onde sofrem os efeitos de um solo muito reduzido e aquecido pela exposição direta ao sol (CESAR DIOGO, 1926). Essas plantas estão adaptadas a variações muito grandes de microclima, estando sujeitas a uma intensa radiação solar durante o dia e forte condensação da umidade do ar durante a noite (AYENSU, 1973), bem como à periodicidade irregular de disponibilidade hídrica.

Poucas espécies desta família foram investigadas sob o ponto de vista do seu comportamento fisiológico, apesar

de representarem um interessante objeto de estudo, pelas características fisiológicas que devem apresentar para resistir às condições ambientais extremas a que estão expostas. Dentre os trabalhos com espécies brasileiras encontram-se o de MEGURO *et al.* (1977) que aborda o estresse hídrico em *Nanuza plicata*, o de MEIRELLES (1990), sobre ecologia de espécies de afloramentos rochosos, incluindo algumas Velloziaceae e o de ROSSETTO (1997), que faz uma comparação ao nível de ultraestrutura, entre espécies de Velloziaceae, nos estados hidratado e dessecado. Portanto, muitos estudos ainda são necessários para conhecer o comportamento fisiológico de espécies dessa família e assim, esclarecer os mecanismos que determinam a adaptação das mesmas ao seu ambiente natural.

Objetivos

O objetivo geral deste trabalho é obter dados experimentais que permitam conhecer mecanismos fisiológicos e bioquímicos de adaptação a condições de extrema seca, visando esclarecer aspectos fisiológicos da tolerância e da sensibilidade à dessecação.

Especificamente, serão comparadas três espécies da família Velloziaceae, com diferentes respostas ao estresse de dessecação, quanto à permeabilidade das membranas (liberação de eletrólitos e de solutos), ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos e à liberação e consumo de O_2 , em função do conteúdo relativo de água, durante os processos de dessecação e reidratação.

Material e Métodos

1. Seleção das espécies

As espécies de Velloziaceae utilizadas neste estudo foram selecionadas levando-se em consideração alguns critérios básicos. Para seguir a metodologia proposta era necessário que as plantas fossem coletadas adultas em seu habitat e mantidas em casa de vegetação durante os experimentos, inviabilizando o uso de espécies de porte arbustivo. As medidas de fotossíntese e respiração demandam uma área foliar mínima para uma boa expressão da resposta, não sendo possível a utilização de espécies com folhas muito estreitas, que teriam sua resposta prejudicada, especialmente nos estágios finais de dessecação. Assim, tendo em vista o objetivo de comparar aspectos de tolerância e sensibilidade à dessecação, foram escolhidas *Nanuza plicata*, uma espécie tolerante (MEGURO *et al.*, 1977; ROSSETTO, 1992) e outras duas espécies, *Barbacenia gentianoides* e *Vellozia nivea*, que são abundantes em seus ambientes naturais e preenchem os critérios descritos acima.

1.1. Material botânico

Foram utilizadas folhas inteiras e totalmente expandidas de plantas adultas de *Barbacenia gentianoides* Goethart & Henrard (= *Ayltonia gentianoides*) e *Vellozia nivea* L.B. Sm. & Ayensu, coletadas em afloramentos rochosos nas proximidades do Parque Nacional da Serra do Cipó, MG (19° 39'S, 43° 44'W) e de *Nanuza plicata* (Mart.) L.B. Sm. & Ayensu (= *Xerophyta plicata*) (Velloziaceae), coletadas sobre paredões de rochas graníticas no Morro São Bento, Carangola, MG (20° 43'S, 42° 29'W). As figuras 1, 2 e 3 mostram essas espécies em seus habitats e detalhe da flor. Os espécimes foram identificados pelo especialista (R. MELLO-SILVA) e estão depositados no Herbário do Departamento de Botânica, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB).



Figura 1. Exemplos de *Barbacenia gentianoides* em ambiente natural na Serra do Cipó, MG (A) e detalhe da flor (B).



Figura 2. Exemplos de *Vellozia nivea* em ambiente natural na Serra do Cipó, MG (A) e detalhe da flor (B).

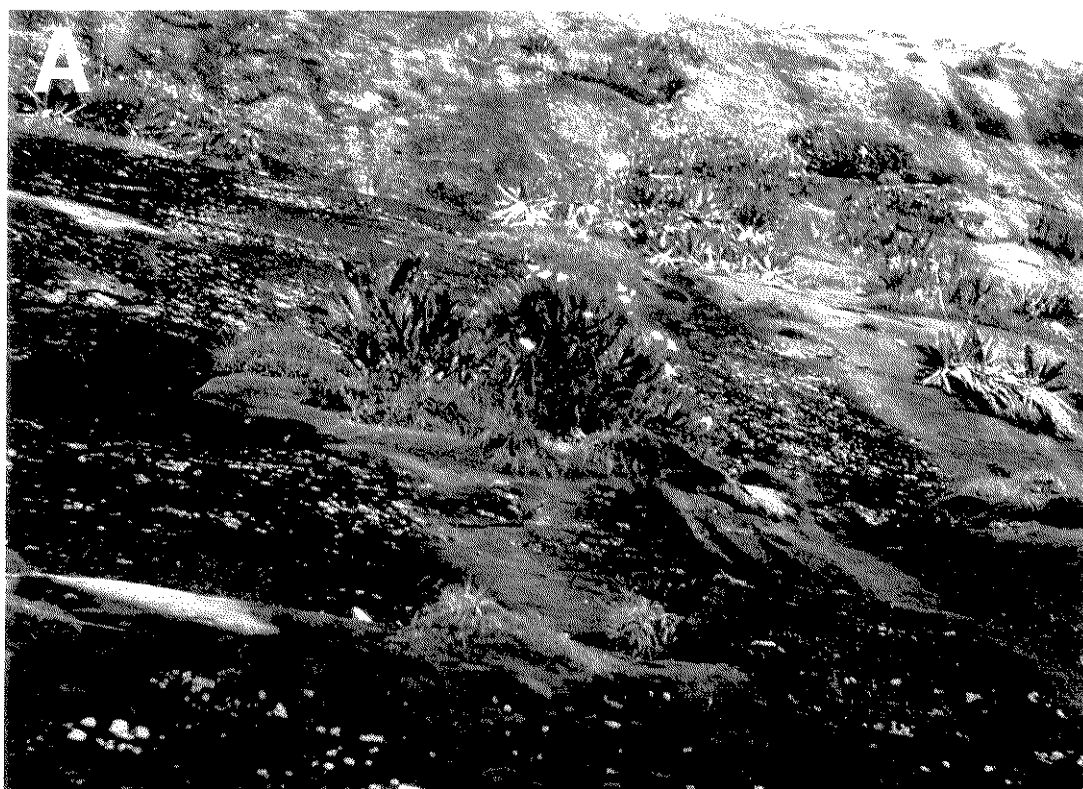


Figura 3. Exemplos de *Nanuza plicata* em ambiente natural no Morro São Bento, Carangola, MG (A) e detalhe da flor (B).

2. Tratamentos

2.1. Indução à dessecação das folhas

As plantas foram mantidas em casa de vegetação com irrigações diárias, para garantir a hidratação das folhas por ocasião do início dos experimentos. Após a coleta, as folhas foram borrifadas com água destilada para manter a saturação hídrica e tornar a desidratação inicial mais lenta. Em seguida as folhas foram submetidas à dessecação em um recipiente de vidro transparente sob lâmpadas gro-lux ($50 \mu\text{mol f\u00f3tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), com umidade relativa do ar (UR) monitorada e mantida entre 50 e 60% e temperatura constante de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Estas condi\u00e7\u00f5es tiveram a finalidade de proporcionar uma desidratação lenta das folhas, uma vez que os trabalhos publicados relatam como desidratação lenta quando a mesma ocorre em UR acima de 40% (SCHWAB *et al.*, 1989) ou dentro de um per\u00edodo de 24 ou 48 horas (KAISER, 1987). Amostras para todas as an\u00e1lises descritas abaixo, foram retiradas do ter\u00e7o m\u00e9dio das folhas, ao longo de um per\u00edodo de, no m\u00ednimo, 48 horas, com intervalos de 4 a 6 horas. Sempre que poss\u00edvel, todas as an\u00e1lises foram feitas com amostras de uma mesma folha, sendo cada folha considerada uma repeti\u00e7\u00e3o.

2.1.1. Determinação do conteúdo relativo de água

Discos de folhas foram pesados imediatamente após a remoção, para obtenção da massa de matéria fresca. Em seguida, os discos foram colocados para flutuar em água deionizada por 24 horas e então pesados para obtenção da massa túrgida. As amostras foram então colocadas em estufa a 70°C por 24h, para obtenção da massa de matéria seca. A partir desses dados foi calculado o conteúdo relativo de água (BARRS, 1968), pela fórmula:

$$\text{CRA (\%)} = [(\text{MF}-\text{MS}) / (\text{MT}-\text{MS})] \times 100, \text{ onde}$$

CRA = Conteúdo Relativo de Água,

MF = Massa da matéria fresca,

MS = Massa da matéria seca e

MT = Massa da matéria túrgida

2.1.2. Liberação de eletrólitos e de solutos orgânicos

A avaliação do efeito da dessecação e da reidratação sobre a permeabilidade das membranas foi feita por medidas de liberação de eletrólitos (condutividade elétrica) e de solutos, com absorbância na faixa de 200 a 400 nm (ultra-violeta / UV), por discos de folhas.

Experimentos preliminares mostraram que a liberação de eletrólitos pelas folhas de todas as espécies se estabilizava após 150 minutos de incubação, sendo utilizado esse tempo de incubação em todos os tratamentos.

Discos de folhas foram pesados e imediatamente colocados em frascos de borel contendo 50 ml de água deionizada (KRISHNAMANI *et al.*, 1984), com condutividade elétrica previamente determinada. A incubação dos discos foi realizada a 25°C por 150 minutos, com agitação. A liberação de eletrólitos foi avaliada pelo incremento na condutividade elétrica e medida com um condutivímetro (B330, Micronal). Após a leitura os discos foram colocados em estufa a 70°C para obtenção da massa de matéria seca. Os valores obtidos foram expressos em $\mu\text{S.g}^{-1}$ de matéria seca (MS).

Para avaliar a liberação de solutos (KRISHNAMANI *et al.*, 1984, LEOPOLD *et al.*, 1981), posteriormente foi feita a leitura de absorbância dessa solução em espectrofotômetro (UV-160A/Shimadzu), nos comprimentos de onda entre 200 e 400 nm, com intervalos de 20 nm. Foram utilizadas as medidas de 320 nm para *B. gentianoides* e *N. plicata* e de 280 nm para *V. nivea*, porque esses comprimentos de onda continham os picos máximos de absorção. Os dados foram transformados e expressos em absorbância. g^{-1} de matéria seca (MS), em função do CRA.

2.1.3. Conteúdo de pigmentos fotossintéticos

Discos de folhas foram pesados (massa de matéria fresca) e macerados em solução acetônica a 80% (v/v). O

extrato foi incubado em câmara fria (-10°C) por 24 horas, centrifugado e teve sua absorbância lida nos comprimentos de onda de 470 nm, 646 nm e 663 nm, em espectrofotômetro (UV-160A/Shimadzu). O cálculo do conteúdo de clorofilas a e b e de carotenóides totais, foi feito de acordo com LICHTENTHALER & WELLBURN (1983) e expressos em $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ de matéria seca (MS), em função do CRA. Foram também calculadas as razões clorofila a/b e clorofila total/carotenóides totais.

2.1.4. Medidas de consumo e liberação de O_2

A determinação da taxa de consumo e liberação de O_2 foi feita pelo método polarográfico, empregando um eletrodo tipo Clark (LD-1 Hansatech, Inglaterra), previamente calibrado segundo DELIEU & WALKER (1981). As folhas foram transferidas para o escuro pelo menos 30 minutos antes do início das determinações. Foram usados discos foliares de 5 cm^2 , em condições saturantes de CO_2 , obtidas com tampão bicarbonato/carbonato de potássio (1:1) na concentração de 1 M. A temperatura da câmara que continha a amostra de folha foi mantida a $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, pela circulação contínua de água, com um banho de água termocirculador. Inicialmente foi verificado o consumo de oxigênio (respiração no escuro), até a estabilização da leitura. Após esse procedimento a fonte de luz era acesa ($1800 \mu\text{mol}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

PAR) sobre o disco foliar e então feita a leitura da liberação de oxigênio (fotossíntese).

2.2. Reidratação das folhas

Folhas dessecadas nas condições descritas no item 2.1, foram colocadas em água destilada (imersão da base e contato do limbo foliar com uma lâmina de água), em condições de temperatura e luz controladas ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $50 \mu\text{mol f\u00f3tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). As amostras para as análises descritas abaixo foram retiradas seguindo o mesmo crit\u00e9rio usado para a coleta das amostras durante a desseca\u00e7\u00e3o, por um per\u00edodo de at\u00e9 72 horas, ap\u00f3s o in\u00edcio da reidrata\u00e7\u00e3o, com intervalos de 6 a 8 horas. Para as medidas de reidrata\u00e7\u00e3o foram utilizadas apenas folhas de *V. nivea* e de *N. plicata*, porque as folhas de *B. gentianoides* n\u00e3o apresentaram nenhuma mudan\u00e7a de apar\u00eancia e do comportamento fisiol\u00f3gico quando colocadas em contato com \u00e1gua.

2.3. An\u00e1lise estat\u00edstica

A tend\u00eancia da varia\u00e7\u00e3o dos dados de libera\u00e7\u00e3o de eletr\u00f3litos e de solutos, bem como de consumo e libera\u00e7\u00e3o de O_2 foi expressa por uma curva obtida atrav\u00e9s de um ajuste polinomial.

Resultados

1. Dessecação

1.1. Liberação de eletrólitos

Os dados de condutividade mostram que ocorreu aumento da liberação de eletrólitos, com a diminuição do CRA, em todas as espécies analisadas (Figura 4).

A liberação de íons pelas folhas de *B. gentianoides* (Figura 4A) foi lenta no início da dessecação, até CRA de 35% e tornou-se muito acentuada no final do processo. O CRA variou de 81,30% a 15,43%, enquanto a condutividade elétrica aumentou de 185,5 $\mu\text{S.g}^{-1}\text{MS}$ para 925,6 $\mu\text{S.g}^{-1}\text{MS}$.

O aumento do efluxo de íons pelas folhas de *V. nivea* foi lento no início da dessecação, até CRA de aproximadamente 40%, tornando-se mais acentuado no final do processo de dessecação (Figura 4B). A variação do CRA foi de 92,0% a 12,7% e a liberação de eletrólitos aumentou de 120,1 $\mu\text{S.g}^{-1}\text{MS}$ para 315,9 $\mu\text{S.g}^{-1}\text{MS}$.

A liberação de eletrólitos pelas folhas de *N. plicata* apresentou um aumento moderado e uniforme durante o processo de dessecação, com pequena diminuição no final do processo, indicando uma tendência de estabilização da saída de íons (Figura 4C). O CRA variou de 98,7% a 12,4% e a condutividade elétrica de 141,9 $\mu\text{S.g}^{-1}\text{MS}$ a 385,0 $\mu\text{S.g}^{-1}\text{MS}$.

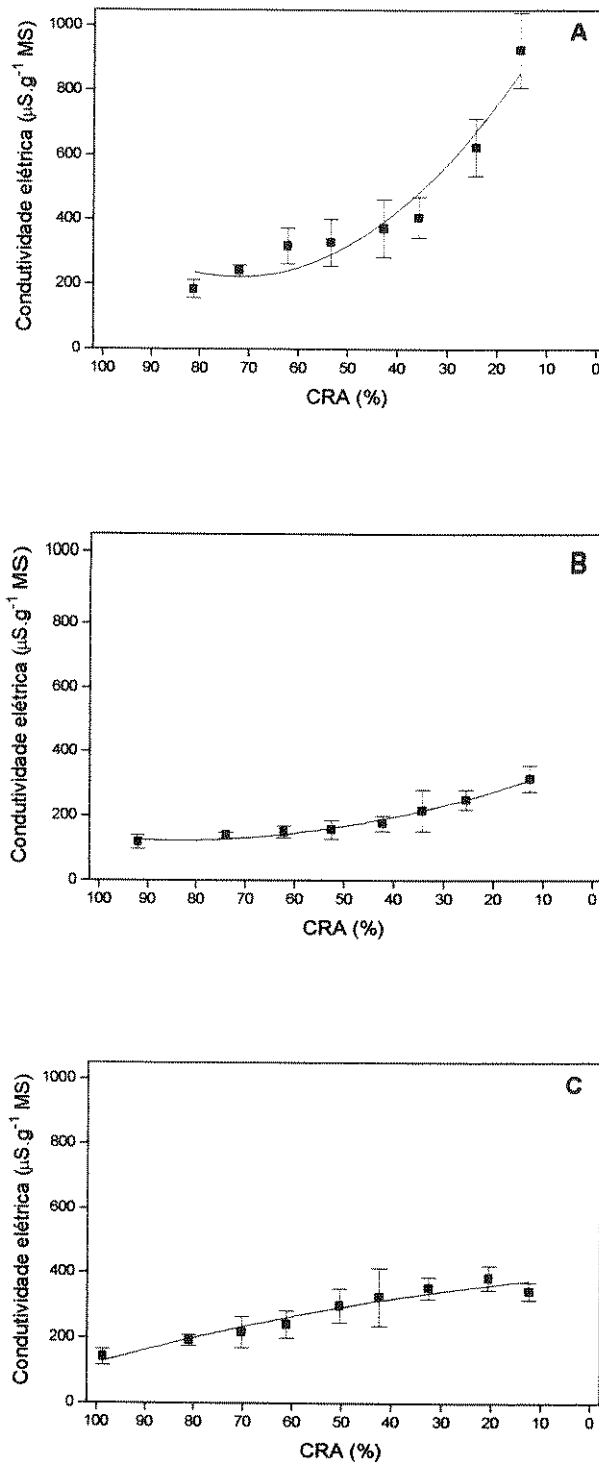


Figura 4 - Avaliação da liberação de eletrólitos, através da condutividade elétrica, em discos de folhas de *B. gentianoides* (A), *V. nivea* (B) e *N. plicata* (C), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a dessecação. Média de 4 repetições \pm desvio padrão.

1.2. Liberação de solutos orgânicos

A absorvância da solução com solutos liberados pelas folhas de *B. gentianoides* mostram que houve aumento da liberação de solutos à medida que diminuiu o CRA, com pico máximo de absorvância em 320 nm (Figura 5A). O processo é relativamente lento no início da dessecação, tornando-se mais acentuado em folhas com CRA menor que 50%.

A liberação de solutos de folhas de *V. nivea* apresentou aumento discreto durante a dessecação, mantendo-se estável em folhas com CRA entre 75 e 35%, com pico máximo de absorvância em 280 nm. No final do processo de dessecação ocorreu um pequeno aumento da liberação de solutos, indicando o mesmo padrão apresentado pelos dados de liberação de eletrólitos (Figura 5B).

As folhas de *N. plicata* apresentaram aumento constante na liberação de solutos com a diminuição do CRA, com pico máximo de absorvância em 320 nm (Figura 5C). Esses resultados foram similares aos observados para liberação de eletrólitos.

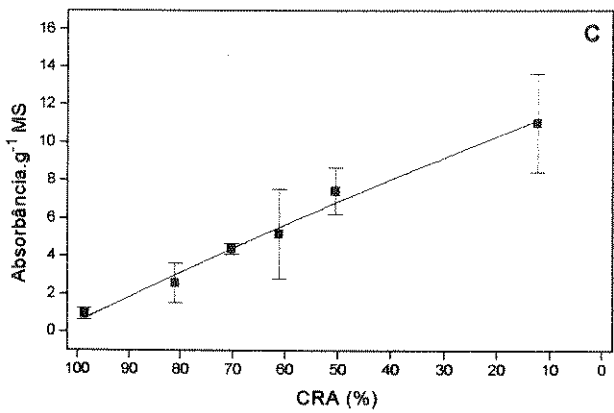
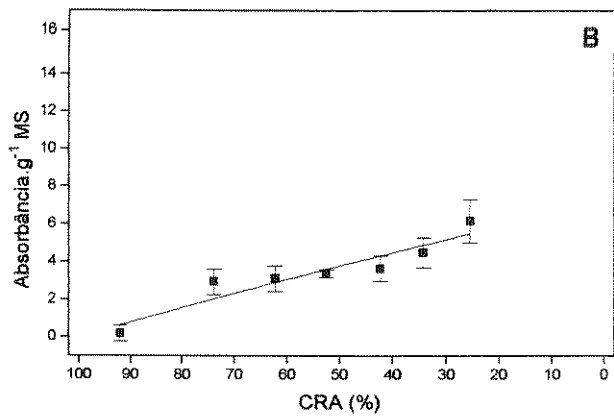
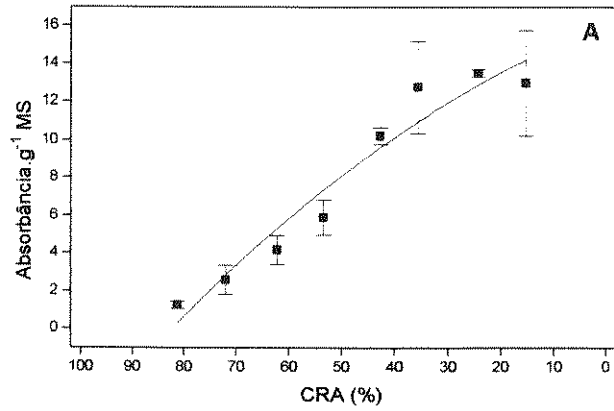


Figura 5 - Absorbância de solutos liberados de discos de folhas de *B. gentianoides* 320nm (A), *V. nivea* 280nm (B) e *N. plicata* 320nm (C), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a dessecação. Média de 4 repetições \pm desvio padrão.

1.3. Conteúdo de pigmentos fotossintéticos

Folhas de *B. gentianoides* apresentaram variações muito pequenas no conteúdo de clorofila *a*, com a diminuição do CRA. O conteúdo de clorofila *b* apresentou uma queda de 24% entre CRA de 80 a 60% que, no entanto, não parece ser significativo. Com CRA que variou de 81% a 25%, o conteúdo de clorofila total apresentou uma tendência de queda, em razão da diminuição da clorofila *b*, enquanto o conteúdo de carotenóides totais manteve-se praticamente constante durante a dessecação (Figura 6A).

Esses resultados refletiram em uma tendência de elevação na razão clorofila *a/b* e de queda na razão clorofila total/carotenóides totais, no início do processo de dessecação de folhas de *B. gentianoides* (Figura 7A), mantendo-se com pouca alteração em folhas com CRA abaixo de 62%.

Folhas de *V. nivea*, com CRA variando de 92% a 13% apresentaram uma diminuição de 36% e 14% no conteúdo de clorofila *a* e de clorofila *b*, respectivamente. O conteúdo de clorofila total apresentou uma diminuição média de 30% e o de carotenóides totais queda de 22%, com pequenas flutuações ao longo do processo (Figura 6B).

Em decorrência desses resultados, a razão clorofila *a/b* mostrou uma tendência de queda, em folhas com CRA abaixo de 40%, evidenciando uma maior degradação da

clorofila *a* em relação à clorofila *b*, enquanto a razão clorofila total/carotenóides totais apresentou pequenas alterações, durante a dessecação de folhas de *V. nivea* (Figura 7B).

A diminuição do CRA de folhas de *N. plicata* foi acompanhada pela queda significativa no conteúdo de pigmentos fotossintéticos. O conteúdo de clorofilas *a* e *b* diminuiu progressivamente durante a dessecação, chegando a 16% e 23%, respectivamente (CRA de 20,5%), do conteúdo desses pigmentos em folhas hidratadas. Enquanto o conteúdo de clorofila total caiu 82%, o conteúdo de carotenóides totais diminuiu apenas 26%, em relação às folhas hidratadas (Figura 6C).

Esses resultados refletiram em diminuição de aproximadamente 29% da razão clorofila *a/b*, enquanto a razão clorofila total/carotenóides totais apresentou uma queda expressiva (76%). Os dados evidenciaram uma maior degradação da clorofila, especialmente da clorofila *a* e a manutenção de grande parte dos carotenóides totais, em folhas de *N. plicata*, durante a dessecação (Figura 7C).

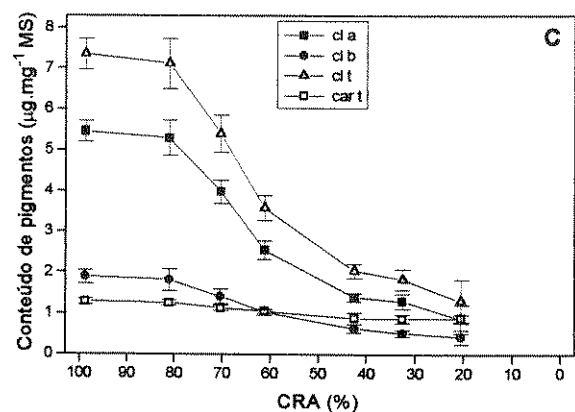
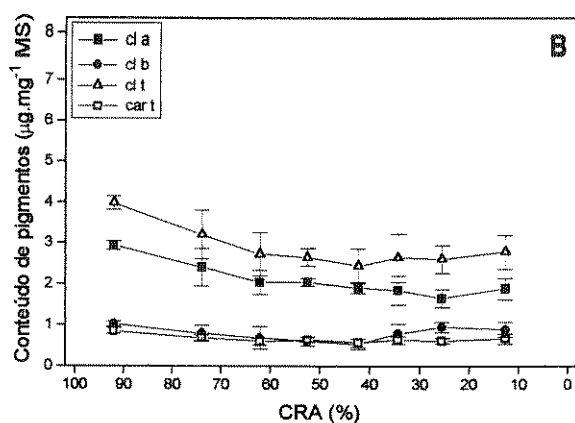
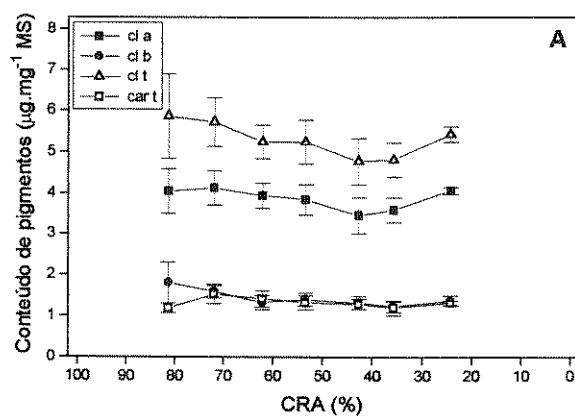


Figura 6 - Conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e de carotenóides totais em folhas de *B. gentianoides* (A), *V. nivea* (B) e *N. plicata* (C), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a dessecação. Média de 4 repetições \pm desvio padrão.

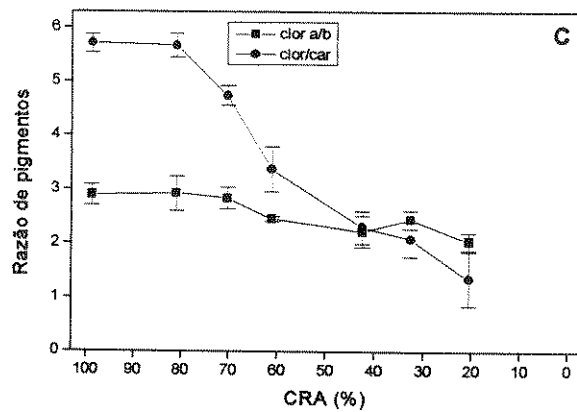
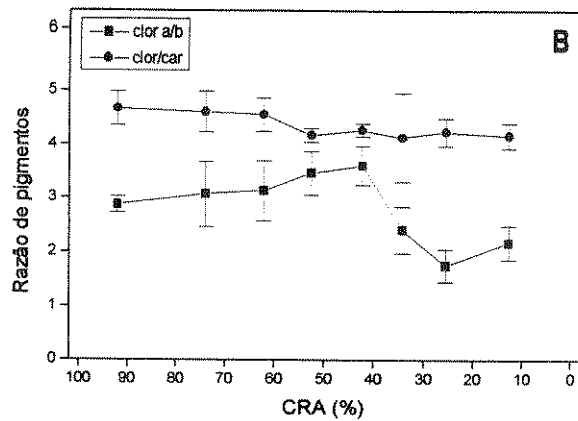
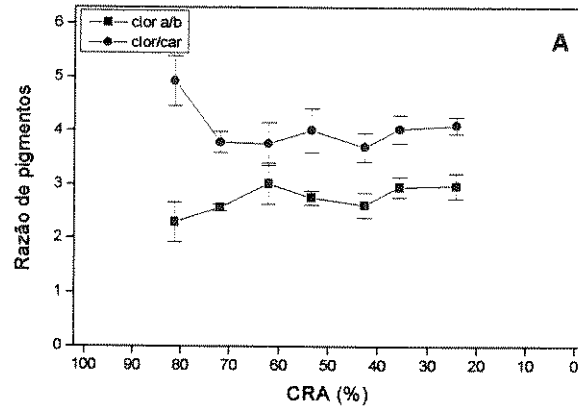


Figura 7 - Razão de clorofila *a/b* e de clorofila/carotenóides de folhas de *B. gentianoides* (A), *V. nivea* (B) e *N. plicata* (C), em função do conteúdo relativo de água, durante o processo de dessecação. Média de 4 repetições \pm desvio padrão.

1.4. Liberação e consumo de O₂

As medidas de liberação de O₂ de folhas de *B. gentianoides* mostram que a fotossíntese diminuiu rapidamente com a dessecação (Figura 8A). Folhas com CRA de aproximadamente 60% apresentaram 56% da atividade fotossintética máxima e apenas 10% da fotossíntese com CRA entre 30 e 40%. Quando as folhas atingiram CRA de cerca de 25% apresentaram consumo de O₂, indicando apenas respiração na luz e folhas com CRA de 15% não apresentaram nenhuma atividade.

A taxa fotossintética das folhas de *V. nivea* apresentou uma queda progressiva à medida que o CRA diminuiu, chegando a 37% da resposta máxima em folhas com CRA de aproximadamente 50% e resposta próxima a zero (0,08 $\mu\text{molO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) com CRA de 24% (Figura 8B). Folhas com CRA de cerca de 12% apresentaram apenas consumo de O₂, na presença de luz.

Os dados de fotossíntese de folhas de *N. plicata*, mostram que a taxa de fotossíntese caiu rapidamente durante o processo de dessecação, chegando a 30% da atividade máxima em folhas com CRA de 62% (Figura 8C). Folhas com CRA menor que 40% apresentaram consumo de O₂ na luz, atingindo valores próximos a zero em folhas com CRA de aproximadamente 12%.

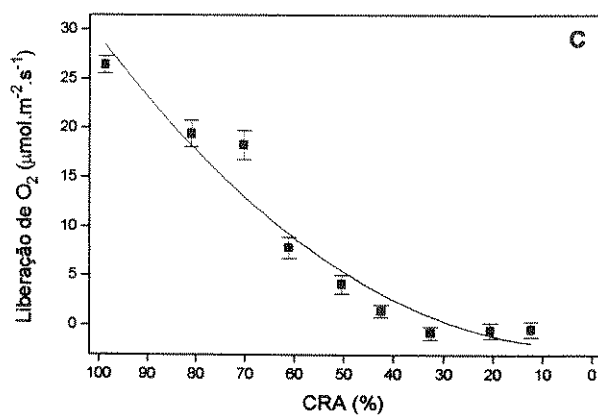
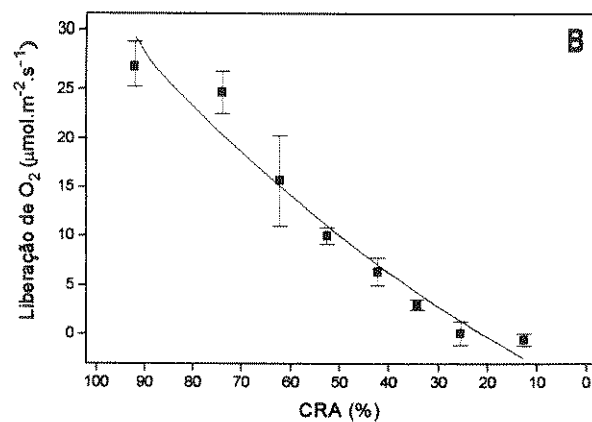
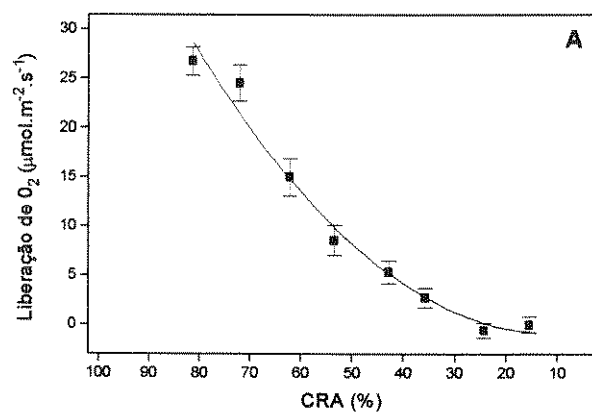


Figura 8 - Taxa de fotossíntese de folhas de *B. gentianoides* (A), *V. nivea* (B) e *N. plicata* (C), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a dessecação. Média de pelo menos 3 repetições \pm desvio padrão.

Em folhas de *B. gentianoides* a respiração no escuro apresentou uma diminuição uniforme ao longo do processo de dessecação, com cerca de 20% da atividade máxima em folhas com CRA entre 20 e 30% (Figura 9A). Folhas com CRA de aproximadamente 15% não apresentaram atividade respiratória.

Em folhas de *V. nivea*, a respiração no escuro apresentou uma diminuição bastante lenta, no início do processo de dessecação, acentuando-se em folhas com CRA menores que 50% (Figura 9B). Folhas com CRA de cerca de 13% atingiram valores de consumo de O₂ no escuro, próximos a zero.

A taxa de respiração no escuro, de folhas de *N. plicata*, manteve-se próxima aos valores máximos até CRA de 60%, diminuindo rapidamente a partir deste ponto (Figura 9C). Folhas com CRA de 32,6% apresentaram ainda cerca de 30% da atividade respiratória de folhas hidratadas e, quando atingiram CRA de 12%, chegaram a valores próximos a zero.

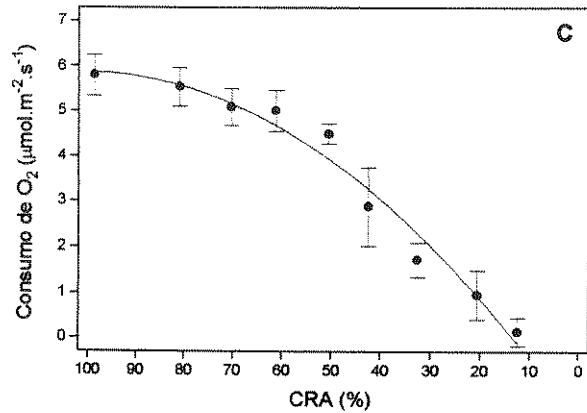
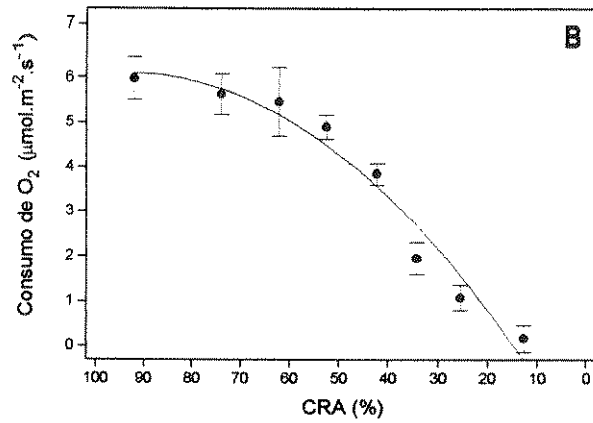
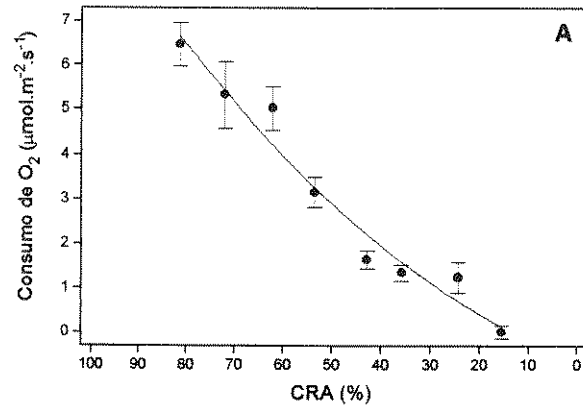


Figura 9 - Respiração no escuro de folhas de *B. gentianoides* (A), *V. nivea* (B) e *N. plicata* (C), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a dessecação. Média de pelo menos 3 repetições ± desvio padrão.

2. Reidratação

Folhas dessecadas de *B. gentianoides* apresentaram-se cinza fosco, com textura quebradiça e levemente retorcidas (helicoidal). Essas folhas, quando em contato com água, não apresentaram mudanças na aparência e na cor em relação às folhas secas (Figura 10A). Durante a reidratação não houve retomada dos processos de fotossíntese e respiração, que haviam sido completamente paralisados durante a dessecação, o que mostra a sensibilidade das folhas dessa espécie à dessecação.

Folhas de *V. nivea* apresentaram-se enroladas, face inferior encobrindo a face superior da folha, com cor marrom escuro, após a dessecação. Após a imersão em água, houve um aumento do CRA, acompanhado do desenrolamento das folhas, que apresentaram uma coloração ainda mais escura (Figura 10B).

Durante o processo de dessecação, folhas de *N. plicata* apresentaram uma coloração amarelada e tornaram-se contraídas longitudinalmente (sanfonado), com área foliar drasticamente reduzida. Quando em contato com água, essas folhas expandiram-se rapidamente e tornaram-se verdes gradativamente (Figura 10C). A reidratação iniciou-se pela base da folha e, em geral, os 5 a 10 cm apicais permaneceram dessecados e com coloração marrom.

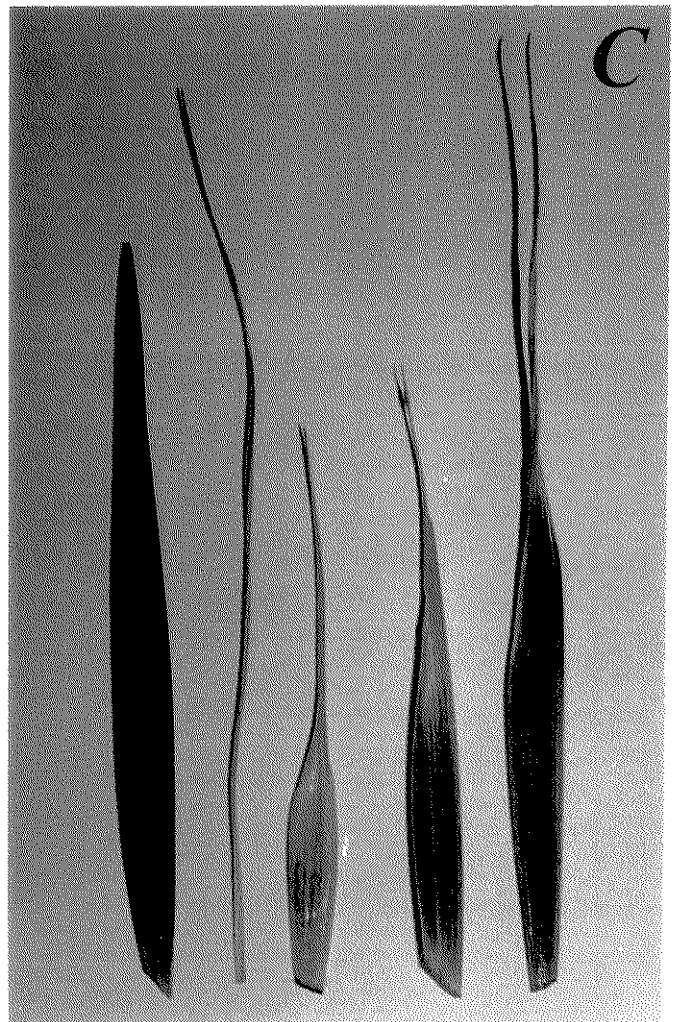
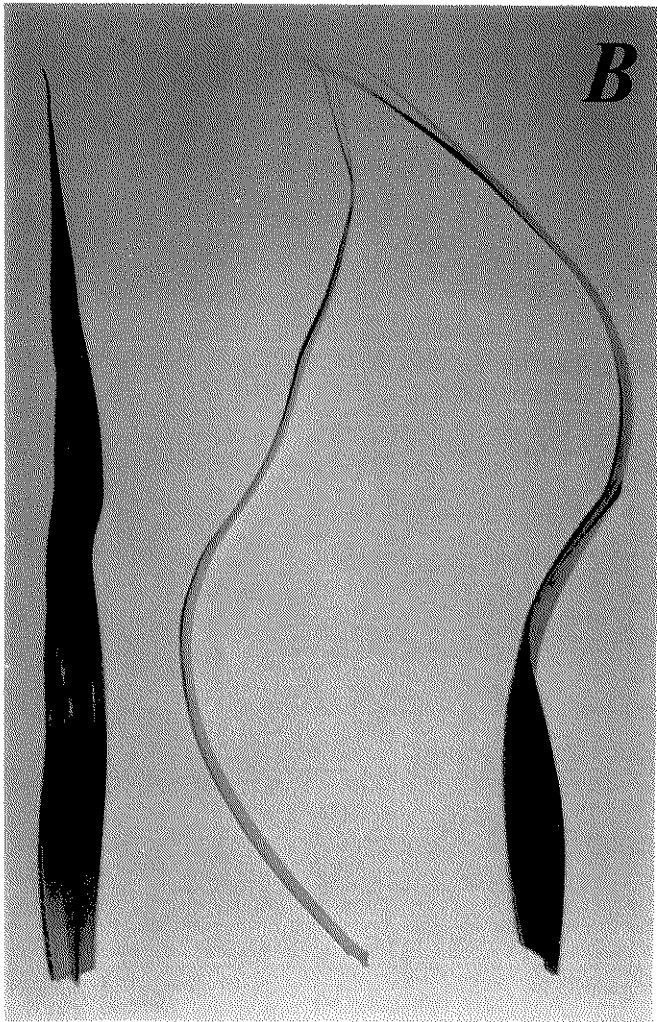
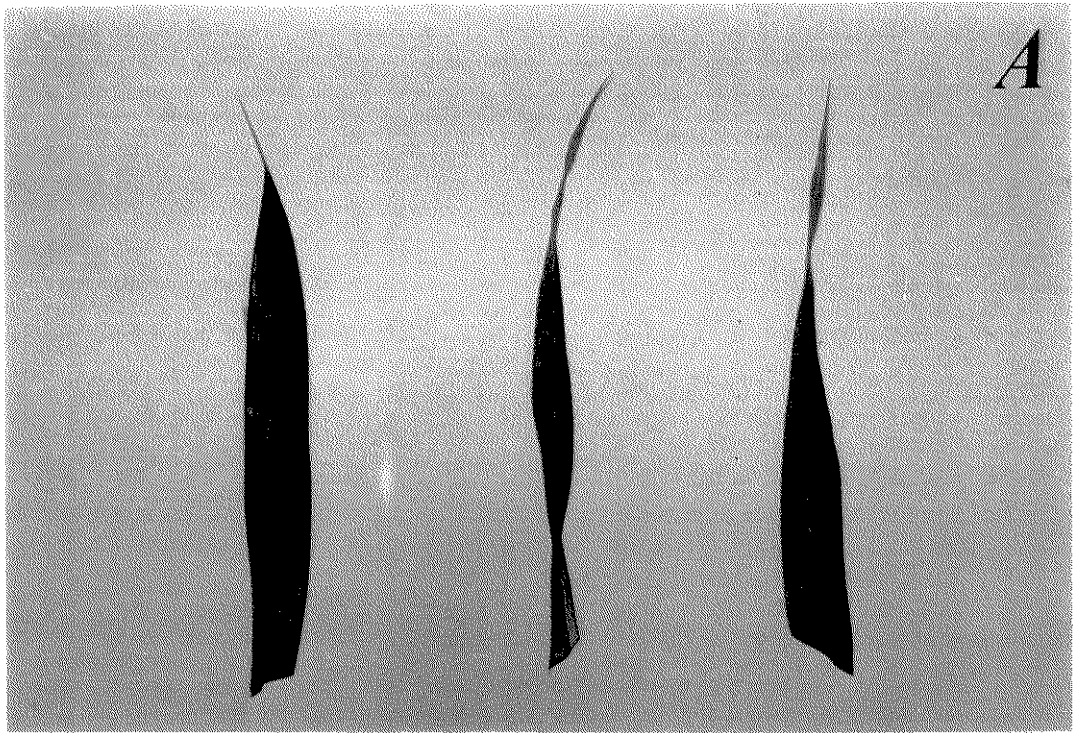


Figura 10 - Folhas de *B. gentianoides* (A), *V. nivea* (B) e *N. plicata* (C), nos estados hidratado, dessecado e reidratado (na ordem, da esquerda para a direita).

2.1. Liberação de eletrólitos

A liberação de eletrólitos pelas folhas de *V. nivea* aumentou durante a reidratação, com uma tendência de estabilidade no final do processo (Figura 11A). Os dados apresentaram desvios muito acentuados, indicando grande variabilidade das amostras.

A liberação de eletrólitos pelas folhas de *N. plicata*, durante a reidratação, diminuiu gradativamente com o aumento do CRA (Figura 11B). A variação do CRA de 64% a 98%, foi acompanhada por uma mudança na liberação de eletrólitos de $158,5 \mu\text{S}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$ a $58,9 \mu\text{S}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$.

2.2. Liberação de solutos

As folhas de *V. nivea* apresentaram uma diminuição da liberação de solutos com absorvância máxima em 280 nm, durante a reidratação (Figura 12A). Esses resultados são contrastantes com os dados de liberação de eletrólitos, que mostram aumento progressivo com o CRA.

A absorvância da solução com solutos liberados pelas folhas de *N. plicata*, em 320 nm, diminuiu gradativamente com o aumento do CRA, mostrando porém, uma grande variabilidade entre as amostras. Esse resultado repetiu o padrão observado para a liberação de eletrólitos (Figura 12B).

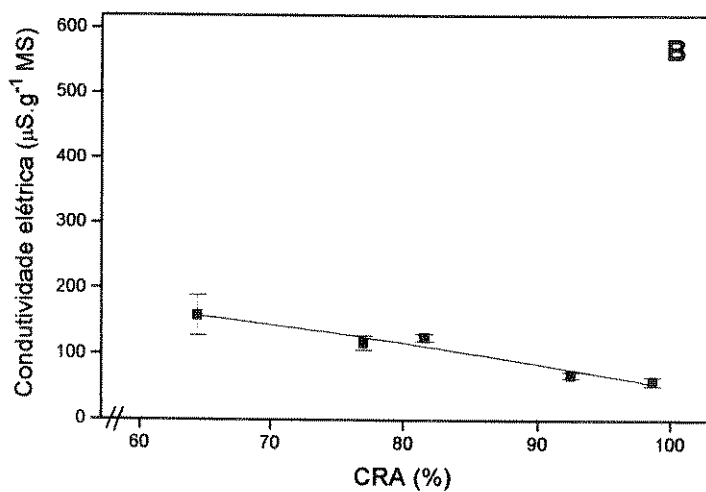
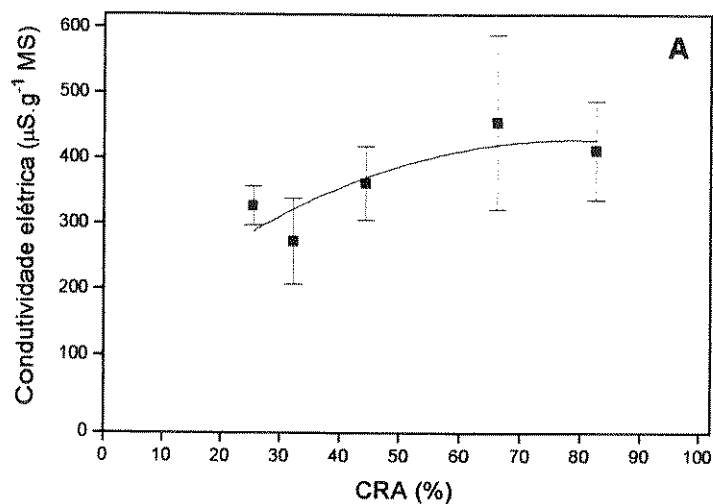


Figura 11 - Avaliação da liberação de eletrólitos, através da condutividade elétrica, em discos de folhas de *V. nivea* (A) e *N. plicata* (B), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a reidratação. Média de pelo menos 3 repetições \pm desvio padrão.

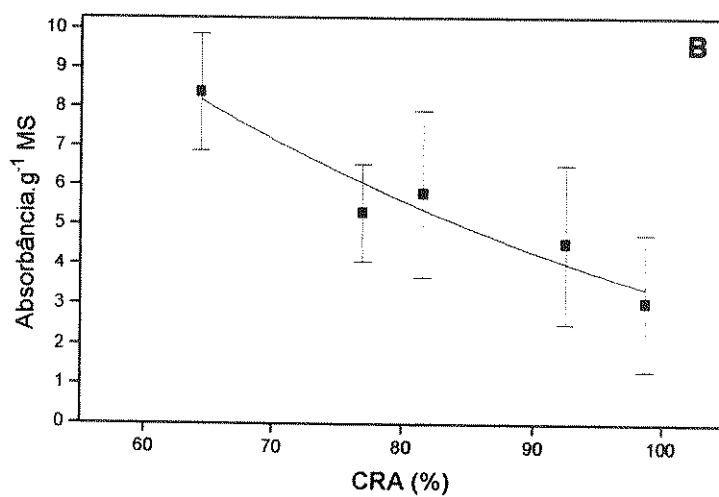
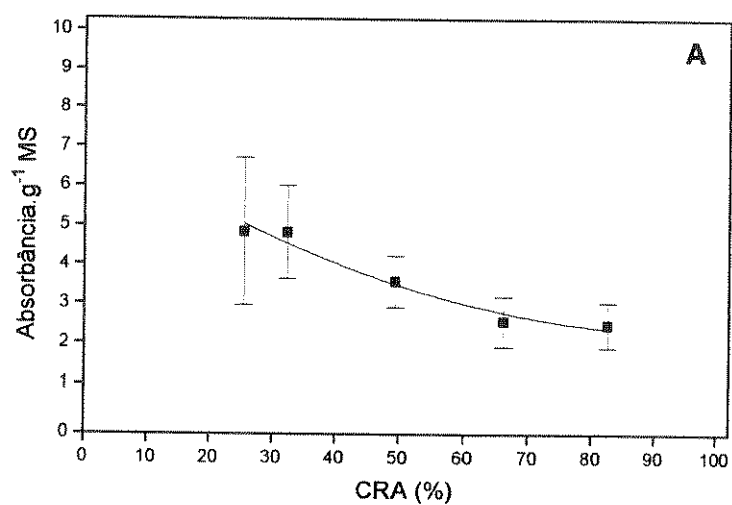


Figura 12 - Absorbância de solutos liberados de discos de folhas de *V. nivea* (A) e *N. plicata* (B), em 280 nm e 320 nm, respectivamente, em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a reidratação. Média de pelo menos 3 repetições \pm desvio padrão.

2.3. Conteúdo de pigmentos fotossintéticos

Em folhas de *V. nivea* o aumento do CRA não foi acompanhado por variação no conteúdo de pigmentos fotossintéticos, que manteve-se praticamente inalterado (Figura 13A). Esses resultados refletiram em pequenas alterações na razão clorofila *a/b* e na razão clorofila total/carotenóides totais, ao longo do processo de reidratação (Figura 14A).

Em folhas de *N. plicata*, durante o processo de reidratação, o aumento do CRA foi acompanhado por aumento no conteúdo de pigmentos fotossintéticos. O conteúdo de clorofila total e de carotenóides totais aumentou gradativamente (Figura 13B), atingindo valores próximos ao de folhas que não sofreram dessecação. A razão clorofila *a/b* apresentou um aumento, porém, com valores abaixo do de folhas hidratadas. A razão clorofila/carotenóides aumentou drasticamente (Figura 14B), mostrando um comportamento inverso ao do processo de dessecação.

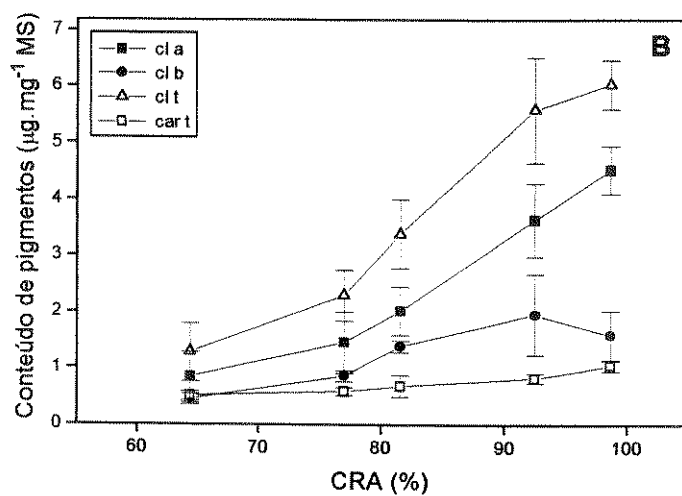
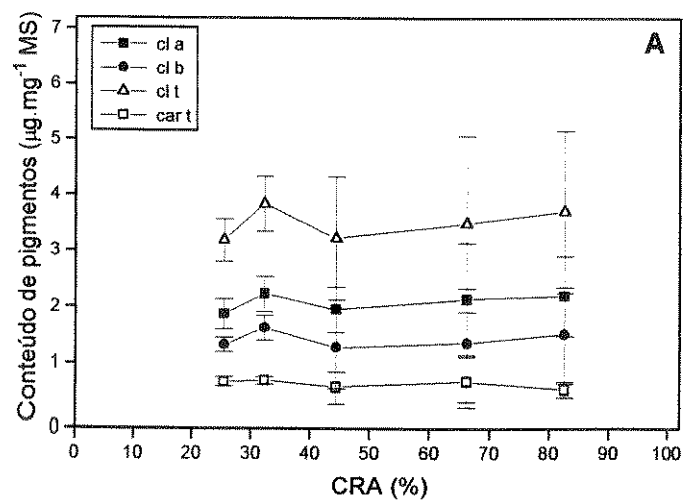


Figura 13 - Conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e de carotenóides totais de folhas de *V. nivea* (A) e *N. plicata* (B), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a reidratação. Média de pelo menos 3 repetições \pm desvio padrão.

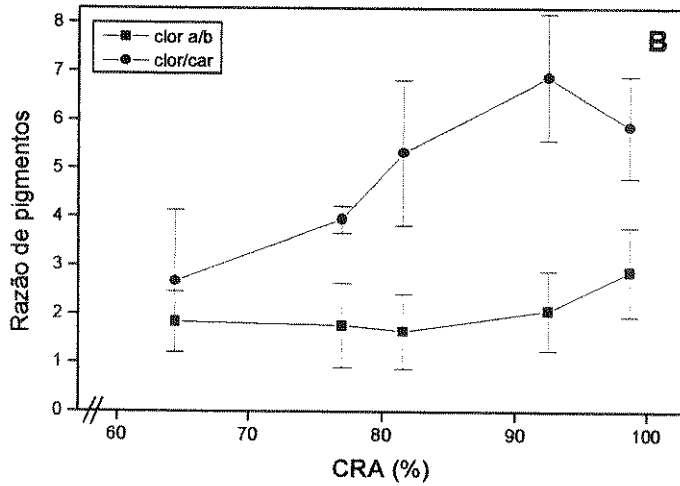
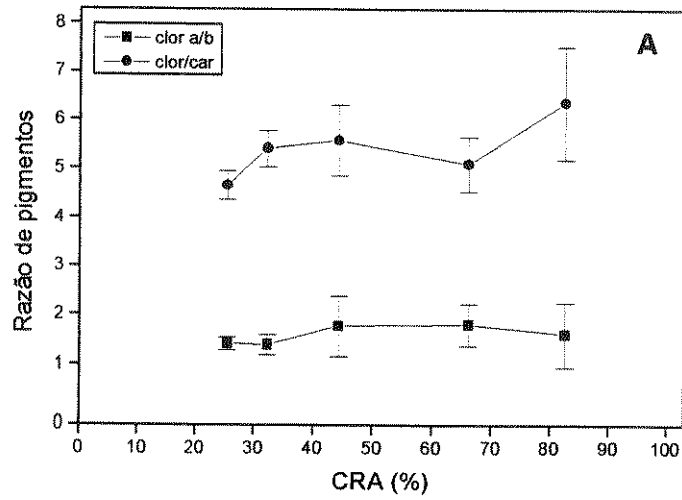


Figura 14 - Razão clorofila *a/b* e clorofila/carotenóides de folhas de *V. nivea* (A) e *N. plicata* (B), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a reidratação. Média de pelo menos 3 repetições \pm desvio padrão.

2.4. Liberação e consumo de O₂

As medidas de troca de O₂ na luz, para folhas de *V. nivea* durante a reidratação, não atingiram valores positivos, até CRA de aproximadamente 83% (Figura 15A). Houve uma retomada das atividades metabólicas, não havendo, porém, uma recuperação.

A taxa de fotossíntese de folhas de *N. plicata*, durante a reidratação, aumentou lentamente com o aumento do CRA, a partir de CRA de cerca de 40% (Figura 15B). Folhas com CRA de 82% apresentaram aproximadamente 50% da resposta máxima, estando a atividade fotossintética praticamente recuperada em folhas com CRA de 99%, com valores muito próximos aos obtidos para folhas totalmente hidratadas, antes da dessecação.

A taxa de respiração no escuro de folhas de *V. nivea*, manteve-se estável no início da reidratação e diminuiu lentamente em folhas com CRA acima de 45%, chegando a valores próximos a zero em CRA de 83% (Figura 16A). Portanto, não houve recuperação da atividade respiratória durante a reidratação, confirmando as medidas de O₂ na luz.

A respiração no escuro de folhas de *N. plicata*, durante a reidratação, aumentou rapidamente, atingindo 50% da resposta máxima com CRA de 65% (Figura 16B). Folhas com CRA de 77% apresentaram 80% da resposta obtida para folhas hidratadas e a atividade respiratória foi totalmente recuperada em folhas com CRA de 93%.

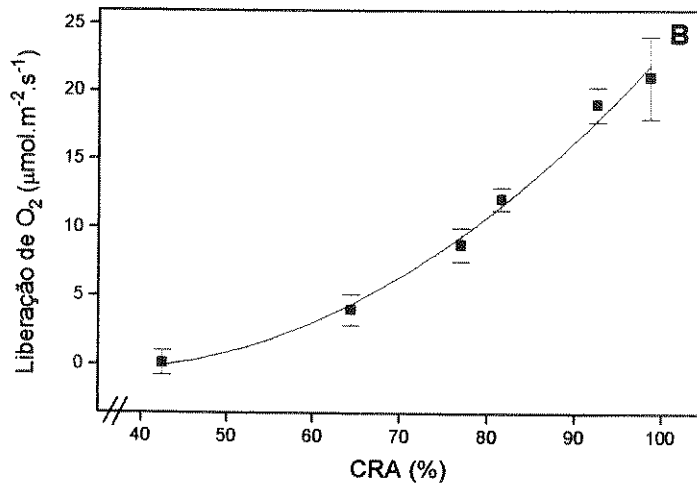
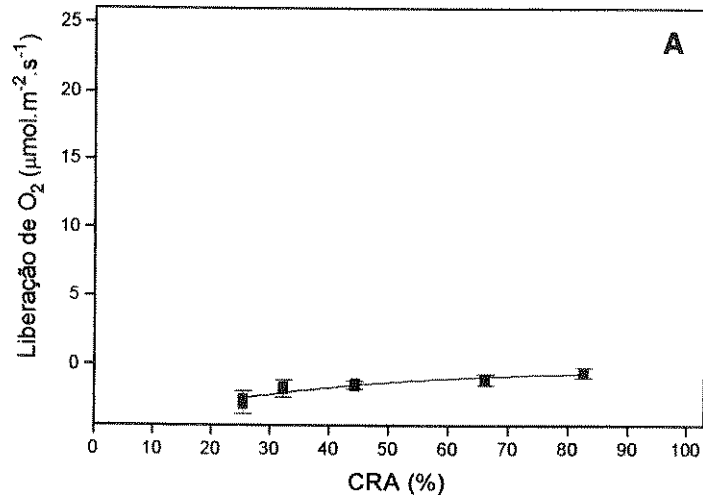


Figura 15 - Taxa de fotossíntese de folhas de *V. nivea* (A) e de *N. plicata* (B), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a reidratação. Média de pelo menos 3 repetições \pm desvio padrão.

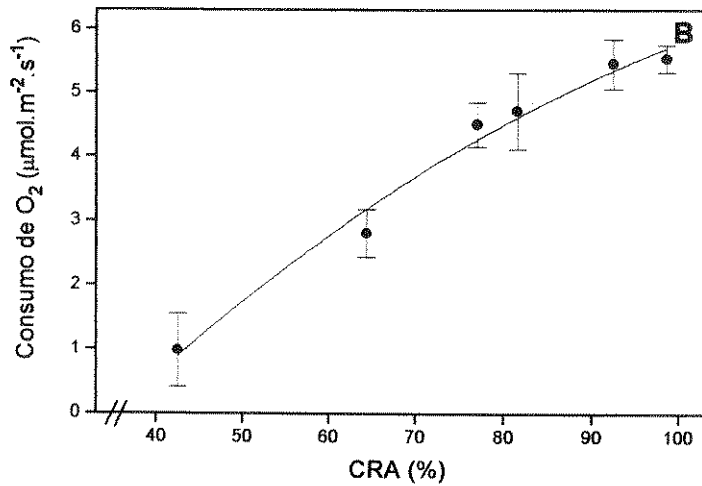
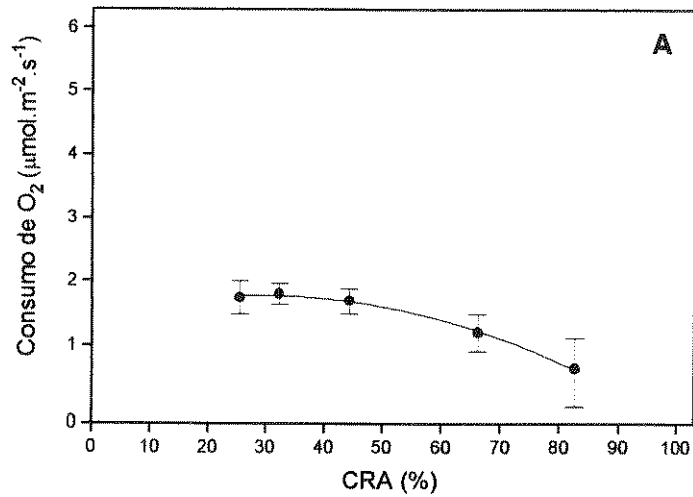


Figura 16 - Respiração no escuro de folhas de *V. nivea* (A) e de *N. plicata* (B), em função do conteúdo relativo de água (CRA), durante a reidratação. Média de pelo menos 3 repetições \pm desvio padrão.

Discussão

Plantas tolerantes à dessecação suspendem seu metabolismo, mas mantêm a capacidade de retomar todas as atividades biológicas após a reidratação. A reconstituição da integridade das membranas durante a reidratação deve ser um pré requisito para a sobrevivência das células, uma vez que o déficit hídrico afeta profundamente as membranas celulares, através de mudanças estruturais ou possíveis rupturas (BEWLEY, 1979; STEVANOVIC *et al.*, 1992).

Os resultados do presente estudo, mostrando o aumento de condutividade elétrica e de absorbância, indicam aumento da permeabilidade das membranas celulares de folhas destacadas de *B. gentianoides*, *V. nivea* e *N. plicata*, que permitiu a saída de eletrólitos e de solutos orgânicos, durante o processo de dessecação.

A liberação de solutos por tecidos foliares durante a dessecação está relacionada com a integridade das membranas de suas células (GUPTA, 1977; LEOPOLD *et al.*; 1981, KRISHNAMANI *et al.*, 1984) e pode ser utilizada como um indicador de danos nas mesmas (BEWLEY & KROCHKO, 1982). A taxa de liberação de eletrólitos aumenta com a injúria da dessecação em todas as espécies, podendo em alguns casos ocorrer um declínio, mesmo com o prosseguimento da desidratação (GUPTA, 1977). O aumento da liberação de eletrólitos sugere perturbação nas propriedades de

transporte das membranas celulares, que pode resultar em alteração do ambiente celular (PALTA, 1990).

Folhas dessecadas de *B. gentianoides* mostraram alta liberação de eletrólitos e de solutos, especialmente no final do processo de dessecação, o que pode ser resultado de danos irreversíveis nas membranas de suas células. O aumento da saída de íons é mais acentuado em folhas com CRA menor do que 30%, sugerindo a manutenção da organização celular até esse limite de dessecação, o que permitiria a recuperação das folhas em um período de seca mais curto ou menos intenso. A observação de rupturas nas membranas celulares das organelas de folhas dessa espécie, no estado desidratado (ROSSETTO, 1997), explicam os resultados encontrados no presente estudo e corroboram o conceito de que o aumento do efluxo de íons e de solutos está relacionado com ruptura ou alteração da integridade das membranas.

Existem evidências de que alterações no estado físico das membranas podem ser consequência de peroxidação de lipídios (ZWIAZEK & BLAKE, 1990), ocorrendo nas fases de dessecação e reidratação (BEWLEY, 1979; DHINDSA & MATOWE, 1981), que contribuem para o efluxo de solutos pelas membranas (DHINDSA et al., 1981). Estudos mostram que existe correlação entre liberação de solutos e aumento da peroxidação de lipídios induzido pela seca e uma relação direta entre tolerância à seca de um tecido e sua capacidade para controlar o nível de peroxidação (DHINDSA

et al., 1981; DHINDSA & MATOWE, 1981). Peroxidação de lipídios acarreta prejuízo das funções das membranas e é muito menor em espécies tolerantes à dessecação, do que em espécies sensíveis (SMIRNOFF, 1993). O descontrole da peroxidação de lipídios pode levar a rupturas nas membranas e eventualmente descompartmentalização celular e morte (DHINDSA & MATOWE, 1981).

Folhas destacadas de *N. plicata* apresentaram aumento constante, mas moderado, na liberação de eletrólitos durante a dessecação, com tendência de estabilização no final do processo e uma marcante redução na liberação de eletrólitos e de solutos orgânicos durante a reidratação. Plantas tolerantes à dessecação liberam menos eletrólitos quando estressadas, do que plantas sensíveis (MARTIN et al., 1987). De acordo com GUPTA (1977) a redução da taxa de liberação de eletrólitos após a reidratação pode indicar que os tecidos foram pouco danificados e que houve uma reorganização da estrutura das membranas e das qualidades semipermeáveis normais. ROSSETTO (1997) verificou que, de um modo geral, as membranas de células desseçadas de *N. plicata* mostraram-se contínuas e sem rupturas após a dessecação, o que corrobora os resultados obtidos para essa espécie no presente estudo, especialmente durante a reidratação. A manutenção dos compartimentos intracelulares tem grande importância para a capacidade de revivescer após o período seco e a perda da compartimentalização pode ser

uma das causas de perda da viabilidade celular de plantas sensíveis à dessecação (NAVARI-IZZO et al., 1995).

A liberação de eletrólitos pelas folhas de *V. nivea*, durante a dessecação, mostrou um resultado intermediário entre *B. gentianoides* (espécie sensível) e *N. plicata* (espécie tolerante), enquanto na reidratação ocorreu um aumento do efluxo de íons. A curva de absorvância (280 nm) mostrou uma liberação moderada de solutos, tanto na dessecação como na reidratação. Esses dados indicam que o dano nas membranas celulares das folhas de *V. nivea*, causado pela dessecação, é menos intenso do que aquele observado para *B. gentianoides* e muito similar ao verificado para *N. plicata*. Essas observações sugerem que, quanto à preservação da integridade das membranas celulares, *V. nivea* pode ocupar uma posição mais próxima da tolerância do que da sensibilidade à dessecação.

Desidratação pode produzir mudanças drásticas na aparência da planta. Diminuição da área foliar é comumente acompanhada por transformações na forma e posição, bem como mudanças na cor das folhas (GAFF, 1977). Durante a dessecação, o movimento e o enrolamento ou contração das folhas, que contribuem para a diminuição de irradiação na superfície foliar, são comuns em plantas revivescentes, incluindo muitas espécies da família Velloziaceae (AYENSU, 1973; GAFF, 1977; ROSSETTO, 1997). Uma redução substancial da área foliar, na fase inicial da dessecação, contribui para uma diminuição da velocidade de perda de água, um

fator que torna a desidratação mais lenta. Essas mudanças na área foliar durante a dessecação têm um papel essencial na síndrome de plantas peciloclorófilas (TUBA *et al.*, 1996).

Em folhas de *V. nivea* e, especialmente, de *N. plicata* verificou-se uma grande redução na área foliar durante o processo de dessecação, o que sugere um mecanismo de diminuição da superfície de transpiração, bem como da incidência de luz sobre os tecidos fotossintetizantes. Folhas destacadas de *N. plicata* impedidas de contraírem-se durante a desidrataação, perderam a clorofila e tornaram-se amarelas em poucas horas. A perda da clorofila de plantas revivescentes quando desseçadas, pode também representar uma estratégia para evitar a fotoxidação (SMIRNOFF, 1993). Folhas de *B. gentianoides* não apresentam nenhum mecanismo relacionado com a redução da área foliar e, portanto, ficam expostas à radiação, com menores chances de evitar a perda de água e a fotoxidação da clorofila.

Em pteridófitas, o encurvamento do caule é um mecanismo morfológico importante para limitar danos induzidos pela luz (LEBKUECHER & EICKMEIER, 1991; MUSLIN & HOMANN, 1992), por reduzir sua ação nos tecidos fotossintetizantes durante a desidrataação. Se o caule for impedido de curvar-se durante a desidrataação, aumenta o grau de fotoinibição e de fotoxidação da clorofila, que podem resultar na perda da atividade do fotossistema II (PSII) (LEBKUECHER & EICKMEIER, 1991). Esses dados estão de

acordo com os observados para *N. plicata*, indicando que a contração da folha pode ser interpretada como um mecanismo para proteger o aparato fotossintético.

Folhas de *N. plicata* quando dessecadas em condições de UR muito alta, próximas a 100%, permaneceram verdes e perderam a capacidade de revivescer, quando reidratadas. Essas observações indicam que nessas condições, onde a perda de água é excessivamente lenta, as folhas não percebem a desidratação a tempo de iniciar os mecanismos de proteção contra os danos da dessecação. A degradação da clorofila parece ser um desses mecanismos, tornando-se essencial para que a folha permaneça viável e possa retomar o metabolismo na reidratação.

A estratégia de evitar ou limitar a fotoinibição e a fotoxidação da clorofila é particularmente importante para as plantas revivescentes, onde os períodos de disponibilidade hídrica são às vezes de curta duração e os danos induzidos por aumento da irradiância podem limitar o ganho de carbono, a longo prazo (LEBKUECHER & EICKMEIER, 1991). Vários sistemas de reação servem para minimizar os danos fotoinibitórios, capturando ou evitando a formação de radicais livres e de outras moléculas reativas, particularmente aquelas derivadas de O₂ (KRAUSE, 1988).

A presença de carotenóides nos aparatos fotossintéticos é essencial para proteger as células dos efeitos prejudiciais de luz e O₂ (SIEFERMANN-HARMS, 1987; DALTON, 1995). O carotenóide β-caroteno pode servir

parcialmente como um pigmento de absorção de luz, porém, sua função principal parece ser a proteção da clorofila a da fotoxidação (LICHTENTHALER, 1987), funcionando também como defesa antioxidante nos cloroplastos e impedindo a peroxidação de lipídios das membranas (DALTON, 1995; SMIRNOFF, 1995). Existe um grande número de trabalhos correlacionando fotoproteção com o aumento do conteúdo do carotenóide zeaxantina nos tilacóides (DEMMING-ADAMS, 1990; BRESTIC et al., 1995). O conteúdo de zeaxantina aumenta em *S. lepidophylla* durante a dessecação, indicando uma via de fotoproteção do PSII de danos fotoinibitórios (EICKMEIER et al., 1993).

Durante o processo de dessecação, folhas destacadas de *B. gentianoides* apresentaram uma queda de 24% no seu conteúdo de clorofila e pouca alteração no conteúdo de carotenóides e folhas de *V. nivea* perderam 30% de sua clorofila total e 22% de seus carotenóides totais. Entretanto, observações em campo e indução de estresse hídrico em casa de vegetação mostraram que as folhas de plantas intactas dessas espécies tornam-se amarelas quando desidratadas e, portanto, perdem grande parte da clorofila. A velocidade da perda de água influencia na degradação da clorofila (GAFF & CHURCHILL, 1976), entretanto, não deve ser o fator determinante dos resultados observados nesse estudo, para *B. gentianoides* e *V. nivea*, uma vez que as folhas dessas espécies passaram por um processo relativamente lento de desidratação. Provavelmente, a

degradação da clorofila nessas espécies depende de algum sinal enviado pelas raízes ou outras partes da planta no início do estresse, o que não ocorre quando as folhas são desidratadas separadas da planta (destacadas).

Sob condições de laboratório, folhas destacadas de *N. plicata* perderam 82% de sua clorofila total e somente 26% de seus carotenóides totais. Uma perda similar de clorofila foi verificada durante a dessecação de outras espécies revivescentes como *Borya nitida* (87%) (HETHERINGTON & SMILLIE, 1982) e *Xerophyta scabrida*, que perdeu 85% de sua clorofila total e 62% de seus carotenóides totais (TUBA et al., 1996). A preservação da maior parte dos carotenóides nas folhas desseçadas de *N. plicata* pode ter um papel essencial na reorganização do aparato fotossintético como um todo, no processo de reidratação (TUBA et al., 1993b).

Durante os processos de dessecação e reidratação ocorrem mudanças ultraestruturais que sustentam a necessidade de um sistema protetor eficiente, que é exclusivo de tecidos tolerantes à dessecação e pode ajudar a restabelecer funções normais após a reidratação (SCHNEIDER et al., 1992). Observações ao nível de ultraestrutura revelaram que a dessecação induziu a desorganização de tilacóides em folhas de *N. plicata*, porém, núcleo e nucléolo mantiveram sua integridade (ROSSETTO, 1997). Observações semelhantes foram verificadas em outras espécies peciloclorófilas como *B. nitida* (GAFF et

al., 1976), *X. villosa* (HALLAN & GAFF, 1978) e *X. scabrida* (TUBA et al., 1993a), indicando que a integridade do material genético da célula, retida durante a dessecação, pode ser um importante aspecto da tolerância à dessecação (BEWLEY, 1979).

Folhas desseçadas de *B. gentianoides* não apresentaram alterações de forma e de cor quando em contato com a água, mostrando sensibilidade à dessecação. Folhas de *V. nivea* expandiram-se e apresentaram uma coloração escura quando reidratadas. Folhas desseçadas de *N. plicata*, completamente contraídas e apresentando uma coloração amarelada, mostraram expansão foliar e tornaram-se verdes após a reidratação, exibindo um conteúdo normal de clorofilas e de carotenóides totais e aparência similar à de folhas hidratadas, antes da dessecação. Resultados semelhantes aos obtidos para *N. plicata* também foram observados em outras espécies revivescentes de Velloziaceae como *Vellozia schnitzleinia* (OWOSEYE & SANFORD, 1972), *X. villosa* (HALLAN & GAFF, 1978) e *X. scabrida* (TUBA et al., 1993a), bem como em espécies de outras famílias como *Trilepis pilosa* (Cyperaceae) (HAMBLER, 1961) e *B. nitida* (Liliaceae) (GAFF & CHURCHILL, 1976).

Fotossíntese e respiração são processos metabólicos complexos que dependem da integridade funcional das membranas (SCHWAB et al., 1989). As funções metabólicas têm sensibilidade diferenciada ao estresse; o processo

respiratório é mais resistente à desidratação do que a fotossíntese, tanto em espécies sensíveis, como em tolerantes à dessecação (SCHWAB *et al.*, 1989). Altas concentrações de proteínas do estroma, que cristalizam com conteúdo de água celular ainda relativamente alto, podem ser a causa dessa susceptibilidade do processo fotossintético (KAISER, 1987).

Em folhas destacadas das três espécies investigadas nesse estudo, a fotossíntese mostrou-se muito mais sensível à dessecação, do que a respiração. A atividade fotossintética de folhas destacadas de *B. gentianoides*, de *V. nivea* e de *N. plicata*, diminuiu rapidamente com o estresse de dessecação, não havendo muita diferença entre as espécies. Em folhas de *B. gentianoides*, a respiração no escuro apresentou uma redução marcante, acompanhando a diminuição do CRA, apesar de mais lenta do que a diminuição da fotossíntese. Entretanto, nas folhas de *V. nivea* e de *N. plicata*, a respiração manteve-se próxima aos valores máximos até CRA de aproximadamente 50%, diminuindo rapidamente em folhas com CRA abaixo de 40%.

Respostas similares às encontradas para *V. nivea* e *N. plicata* foram observadas para algumas espécies revivescentes. Em folhas destacadas de *Craterostigma plantagineum* a respiração no escuro foi independente do estresse hídrico, tendo um declínio rápido apenas quando as folhas atingiram CRA abaixo de 25%, enquanto a fotossíntese

caiu rapidamente, durante a fase inicial da desidratação (SCHWAB *et al.*, 1989). Em *X. scabrida* a taxa de fotossíntese diminuiu rapidamente com a perda de turgescência, enquanto a respiração decresceu lentamente (TUBA *et al.*, 1996).

Folhas desseccadas de *B. gentianoides* não apresentaram retomada do metabolismo, quando em contato com água. Observações em campo mostraram que essa espécie, apesar de ocupar preferencialmente fendas de rocha, onde o substrato é relativamente mais profundo, está sujeita a períodos de seca severa, quando suas folhas se desidratam e morrem. Entretanto, a planta mantém o meristema vivo, que rebrota quando a água torna-se novamente disponível no ambiente. Observações semelhantes foram feitas por ROSSETTO (1997), em experimentos acompanhados em casa de vegetação, que mostraram o aparecimento de folhas novas em plantas secas, após quatro semanas de irrigação. Portanto, pode-se inferir que, apesar das folhas de *B. gentianoides* não serem tolerantes à dessecação, a planta apresenta uma estratégia para sobreviver ao período seco, podendo retomar a atividade meristemática após o início das chuvas e manter-se no ambiente.

Durante a reidratação de folhas destacadas de *V. nivea* ocorreu um aumento do CRA acompanhado pela retomada da atividade respiratória, porém, a taxa de consumo de O₂ diminuiu gradativamente com o aumento do CRA. Na presença de luz ocorreu apenas consumo de O₂, não havendo

recuperação do metabolismo fotossintético. Esses resultados mostram que as folhas de *V. nivea*, apesar de retomarem o metabolismo, não conseguem mantê-lo, indicando que folhas destacadas dessa espécie apresentam algum impedimento para o mecanismo de revivescência e confirmam os resultados obtidos para os outros parâmetros analisados neste estudo.

A observação de que folhas de muitas espécies revivescentes só sobrevivem à dessecação na planta intacta (NAVARI-IZZO *et al.*, 1995), sugere que as folhas de *V. nivea*, provavelmente, necessitam de algum sinal da planta para ativar seus mecanismos de proteção aos danos causados pela desidratação. A degradação da clorofila pode ser um desses mecanismos, uma vez que ela ocorre na planta intacta, mas não em folhas destacadas.

O ácido abscísico pode ser um importante componente das respostas à seca em muitas plantas, movendo-se das raízes para a parte aérea, para regular o metabolismo em função da disponibilidade hídrica (DAVIES & ZHANG, 1991). O ABA está envolvido no controle de processos fisiológicos e seu papel principal pode ser o de preparar o tecido para entrar em um novo estado fisiológico, mudando a direção do metabolismo celular (HETHERINGTON & QUATRANO, 1991). Vários trabalhos mostram que a desidratação de células vegetais pode levar a uma acumulação de ABA (DAVIES *et al.*, 1994; TENHUNEN *et al.*, 1994; LESHEM & KUIPER, 1996) que, provavelmente, serve como um mecanismo de percepção do

início do estresse hídrico e um gatilho de respostas adaptativas (GAFF & LOVEYS, 1984).

A aplicação exógena de ABA pode aumentar a tolerância à dessecação e estimular a degradação da clorofila durante a desidratação (GAFF & LOVEYS, 1984), bem como diminuir a liberação de eletrólitos em espécies tolerantes à dessecação (REYNOLDS & BEWLEY, 1993b). Em folhas de *V. nivea* o ABA pode ser o sinal que determina a ativação de mecanismos de proteção ao estresse de dessecação, desencadeando as respostas de revivescência. Nesse caso, as folhas dependeriam do transporte de ABA produzido na raiz, o que pode explicar o comportamento fisiológico intermediário apresentado pelas folhas destacadas dessa espécie, ao estresse de dessecação.

Em folhas reidratadas de *N. plicata* a respiração começa rapidamente após a imersão em água, enquanto a fotossíntese é retomada algum tempo depois. O processo respiratório torna-se rapidamente ativo e totalmente operacional antes das folhas atingirem a turgescência total, enquanto a fotossíntese aumenta lentamente e só recupera sua atividade após as folhas estarem totalmente hidratadas. Resultados semelhantes foram observados para outras espécies revivescentes como *C. plantagineum* (SCHWAB *et al.*, 1989) e *X. scabrida* (TUBA *et al.*, 1994), onde a recuperação da respiração foi rápida e a da fotossíntese mais lenta.

Em plantas tolerantes à dessecação, quando a água torna-se novamente disponível, o complexo respiratório é o primeiro a ser reativado. A respiração produz energia para a reorganização do sistema fotossintético, bem como para a reorganização morfológica e metabólica das células (GAFF *et al.*, 1976). Uma comparação geral da atividade enzimática, em frondes dessecadas de *S. lepidophylla*, indica que as enzimas do processo fotossintético são menos conservadas do que as enzimas respiratórias e essa diferença pode explicar a rápida retomada da respiração e o atraso no desenvolvimento da atividade fotossintética verificada nessa e em outras espécies revivescentes, durante a reidratação (HARTEN & EICKMEIER, 1986). Esses resultados indicam que, enquanto a conservação de enzimas pode ser importante na reativação dos processos fisiológicos, a síntese *de novo* de algumas enzimas, durante a reidratação, também contribui para a total recuperação fisiológica de plantas tolerantes à dessecação (HARTEN & EICKMEIER, 1986).

Estudos ultraestruturais mostraram que em tilacóides de *B. hygroscopica*, uma espécie revivescente, ocorre um aumento de lipídios neutros durante a seca e uma diminuição na reidratação, indicando que as reservas lipídicas são usadas para reparação da respiração, tão logo a água esteja disponível (NAVARI-IZZO *et al.*, 1995). ROSSETTO (1997) verificou a presença de glóbulos osmiofílicos, provavelmente de natureza lipídica, no citoplasma de folhas de *N. plicata*, enquanto em *B. gentianoides* os mesmos

encontram-se dentro do vacúolo. Esta pode ser uma forma de conservação de lipídios dentro das células, que podem ser utilizados em caso de necessidade de substrato para a produção de energia ou para a produção de membranas (PEARCE, 1982; STEPONKUS, 1984). O fato de grânulos osmiofílicos de células hidratadas de *B. gentianoides* estarem dentro do vacúolo, pode dificultar o acesso e a utilização dessas reservas para a produção de membranas (ROSSETTO, 1997). Portanto, o mecanismo de reparação das membranas pode ser menos eficiente em *B. gentianoides* do que em *N. plicata*, cujas reservas lipídicas encontram-se no citoplasma.

Pelas observações de fotossíntese e respiração fica claro que mesmo as plantas revivescentes não escapam dos danos durante a dessecação. Enquanto a mitocôndria parece ser bem protegida, a julgar pela sua atividade durante os processos de dessecação e reidratação, as membranas dos tilacóides sofrem alterações durante a desidratação, que tornam-se aparentes pelo atraso na recuperação da atividade fotossintética durante a reidratação (SCHWAB et al., 1989). Portanto, plantas revivescentes peciloclorófilas, como *N. plicata*, precisam ter a capacidade de perder e ressintetizar clorofilas e conseqüentemente, de recuperar a funcionalidade do aparato fotossintético (TUBA et al., 1993a).

Esse estudo revelou que as espécies de Velloziaceae investigadas, apresentam diferentes estratégias para

manterem-se em seu ambiente natural e que suas folhas têm sensibilidade diferenciada ao estresse de dessecação. Folhas destacadas de *B. gentianoides* são sensíveis à dessecação, porém, a planta sobrevive ao estresse hídrico, mantendo o meristema vivo e apresentando folhas novas quando a água torna-se disponível. Folhas destacadas de *N. plicata* são tolerantes à dessecação, tornando-se metabolicamente ativas após o contato com a água, independente de quão severo e extenso seja o período seco. As folhas de *V. nivea* apresentaram resultados que sugerem uma posição intermediária nesta classificação. A manutenção da integridade das membranas, indicada pelos dados de condutividade e de absorbância, um requisito básico para a manutenção das funções fisiológicas e a retomada do processo de respiração na reidratação, apesar de não ter havido uma recuperação do metabolismo, indicam um potencial de tolerância das folhas de *V. nivea* à dessecação. O ABA pode ser o sinal que determina a ativação de mecanismos de proteção ao estresse por dessecação, em plantas intactas dessa espécie.

Esse gradiente de respostas ao estresse hídrico, observado nas três espécies, pode ter sua origem na diferença entre os habitats ocupados pelas mesmas. *Barbacenia gentianoides* ocorre preferencialmente em fendas de rochas, onde o substrato é mais profundo e a radiação menos intensa, fatores que contribuem para uma menor evapotranspiração. Isso permite que as plantas só

experimentem déficit hídrico quando a seca é prolongada e que a perda total das folhas seja um evento esporádico na vida dessa espécie. Os indivíduos de *V. nivea* ocupam afloramentos rochosos expostos à luz solar direta, geralmente em altitudes elevadas, onde ocorre acentuada condensação da umidade do ar. Além disso, as folhas de *V. nivea* são muito pilosas, característica importante para reduzir a transpiração e que permite também a adsorção e absorção da água disponível no ar atmosférico. Desse modo, a deficiência hídrica para essa espécie é um processo sazonal, que se instala gradativamente, o que pode permitir a preparação dos tecidos da planta para a dessecação. *Nanuzia plicata* ocupa paredões rochosos íngremes e totalmente expostos à radiação solar, com substrato bastante reduzido. Esses fatores determinam flutuações imprevisíveis na disponibilidade de água, as quais podem provocar mudanças drásticas no conteúdo hídrico das células. Portanto, essa espécie depende de mecanismos fisiológicos relativamente rápidos e eficientes, que preparem os tecidos para manterem-se viáveis, durante os períodos intermitentes de seca. Essas observações sugerem que os ambientes ocupados por essas espécies proporcionam pressões seletivas diferenciadas, que atuam como agentes determinadores dos comportamentos fisiológicos evidenciados nesse estudo.

Conclusões

O estresse por dessecação em folhas destacadas de *B. gentianoides*, *V. nivea* e *N. plicata* foi caracterizado por aumento na liberação de eletrólitos e de solutos orgânicos, que sugere alterações na permeabilidade das membranas celulares durante a dessecação. Essas alterações foram mais marcantes em *B. gentianoides*, indicando danos irreversíveis em suas membranas.

Durante a dessecação ocorreu uma redução rápida da taxa de fotossíntese e lenta da respiração, evidenciando uma maior sensibilidade do processo fotossintético em relação à respiração, nas espécies analisadas.

Durante o processo de reidratação ficou evidenciado que folhas destacadas de *B. gentianoides* são sensíveis à dessecação e que folhas de *N. plicata* são tolerantes, enquanto folhas destacadas de *V. nivea* mostraram um comportamento intermediário.

A redução da liberação de solutos e a retomada parcial dos processos metabólicos em folhas destacadas de *V. nivea*, durante a reidratação, sugerem que as mesmas têm capacidade potencial de recuperação, provavelmente controlada por um sinal hormonal da planta intacta.

Referências Bibliográficas

- AYENSU, E.S. 1973. Biological and morphological aspects of the Velloziaceae. *Biotropica* 5: 135-149.
- BARRS, H.P. 1968. Determination of water deficits in plant tissues. In Kozłowski (ed.), *Water deficits and plant growth*. Academic Press, New York, pp.235-368.
- BEWLEY, J.D. 1979. Physiological aspects of desiccation tolerance. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 30: 195-238.
- BEWLEY, J.D. & KROCHKO, J.E. 1982. Desiccation tolerance. In Lange (ed.) *Encyclopedia of plant physiology - New Series*, 12B. Springer Verlage, Berlim, pp. 325-378.
- BIANCHI, G.; GAMBA, A.; LIMIROLI, R.; POZZI, N.; ELSTER, R. SALAMINI, F. & BARTELS, D. 1993. The unusual sugar composition in leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*. *Physiol. Plant.* 87: 223-226.
- BRAY, E.A. 1993. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.* 103: 1035-1040.
- BRESTIC, M.; CORNIC, G.; FRYER, M.J. & BAKER, N.R. 1995. Does photorespiration protect the photosynthetic apparatus in French bean leaves from photoinhibition during drought stress? *Planta* 196: 450-457.
- CASPER, C.; EICKMEIER, W.G. & OSMOND, C.B. 1993. Changes of fluorescence and xanthophyll pigments during dehydration in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* in low and medium light intensities. *Oecologia* 94: 528-533.

- CESAR DIOGO, J. 1926. As folhas das vellozias e seu aparelho regulador da transpiração. *Arc. Museu Nac. RJ.* Vol 28: 15-41.
- DALTON, D.A. 1995. Antioxidant defenses of plants and fungi. in S. Ahmad (ed.) *Oxidative stress and antioxidant defenses in Biology.* Chapman & Hall, NY, pp. 298-355.
- DAVIES, W.J. & ZHANG, J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 55-76.
- DAVIES, W.J.; TARDIEU, F. & TREJO, C.L. 1994. How do chemical signals work in plants that grow in drying soil? *Plant Physiol.* 104: 309-314.
- DELIEU, T. & WALKER, D.A. 1981. Polarographic measurement of photosynthetic oxygen evolution by leaf discs. *New Phytol.* 89: 165-178.
- DEMMING-ADAMS, B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochem. Biophys. Acta* 1020: 1-24.
- DHINDSA, R.S., PLUMB-DHINDSA, P. & THORPE, T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* 32: 93-101.
- DHINDSA, R.S. & MATOWE, W. 1981. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.* 32: 79-91.

- EICKMEIER, W.G. 1979. Photosynthetic recovery in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* after wetting. *Oecologia* 39: 93-106.
- EICKMEIER, W.G. 1980. Photosynthetic recovery of resurrection spikemosses from different hydration regimes. *Oecologia* 46: 380-385.
- EICKMEIER, W.G. 1982. Protein synthesis and photosynthetic recovery in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla*. *Plant Physiol.* 69: 135-138.
- EICKMEIER, W.G.; CASPER, C. & OSMOND, C.B. 1993. 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.
- GAFF, D.F.; ZEE, S.-Y. & O'BRIEN, T.P. 1976. The fine structure of dehydrated and reviving leaves of *Borya nitida* Labill. - a desiccation-tolerant plant. *Aust. J. Bot.* 24: 225-236.
- GAFF, D.F. & LATZ, P.K. 1978. The occurrence of resurrection plants in the Australian flora. *Aust. J. Bot.* 26: 485-492.
- GAFF, D.F. & CHURCHILL, D.M. 1976. *Borya nitida* Labill. - an Australian species in the Liliaceae with desiccation-tolerant leaves. *Aust. J. Bot.* 24: 209-224.
- GAFF, D.F. & LOVEYS, B.R. 1984. Abscisic acid content and its effects during dehydration of detached leaves of desiccation tolerant plants. *J. Exp. Bot.* 35: 1350-1358.

- GAFF, D.F. 1977. Desiccation tolerant vascular plants of southern Africa. *Oecologia* 31: 95-109.
- GAFF, D.F. 1987. Desiccation tolerant plants in south America. *Oecologia* 74: 133-136.
- GUPTA, R.K. 1977. A study of photosynthesis and leakage of solutes in relation to the desiccation effects in bryophytes. *Can. J. Bot.* 55: 1186-1194.
- HALLAN, N.D. & GAFF, D.F. 1978. Reorganization of fine structure during rehydration of desiccated leaves of *Xerophyta villosa*. *New Phytol.* 81: 349-355.
- HAMBLER, D.J. 1961. A poikilohydrous, poikilochlorophyllous angiosperm from Africa. *Nature* 191: 1415-1416.
- HARTEN, J.B. & EICKMEIER, W.G. 1986. Enzyme dynamics of the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* (Hook. & Grev.) Spring during rehydration. *Plant Physiol.* 82: 61-64.
- HELLWEGE, E.M.; DIETZ, K-J.; VOLK, O.H. & HARTUNG, W. 1994. Abscisic acid and the induction of desiccation tolerance in the extremely xerophilic liverwort *Exormotheca holstii*. *Planta* 194: 525-531.
- HETHERINGTON, S.E. & SMILLIE, R.M. 1982. Humidity-sensitive degreening and regreening of leaves of *Borya nitida* Labill. as followed by changes in chlorophyll fluorescence. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 587-599.
- HETHERINGTON, A.M. & QUATRANO, R.S. 1991. Mechanisms of action of abscisic acid at the cellular level. *New Phytol.* 119: 9-32.

- JONES, H.G. 1992. Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology. 2^a ed. Cambridge University Press.
- JONES, M.M.; TURNER, N.C. & OSMOND, C.B. 1981. Mechanisms of drought resistance. In: The physiology and biochemistry of drought resistance in plants (L.G.PALEG & D.ASPINALL, eds.). Academic Press, Sydney.
- KAISER, W.M. 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71: 142-149.
- KRAUSE, G.H. 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* 74: 566-574.
- KRISHNAMANI, M.R.S., YOPP, J.H. & MYERS, O. 1984. Leaf solute leakage as a drought tolerance indicator in soybean. *Phyton* 44: 43-49
- LAWLOR, D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. In N.Smirnoff (ed.) *Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation*. Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, pp. 129-160.
- LEBKUECHER, J.G. & EICKMEIER, W.G. 1991. Reduced photoinhibition with stem curling in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla*. *Oecologia* 88: 597-604.
- LEBKUECHER, J.G. & EICKMEIER, W.G. 1992. Photoinhibition of photophosphorylation, adenosine triphosphate content, and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (NADP⁺) following high-irradiance desiccation of *Selaginella lepidophylla*. *Can. J. Bot.* 70: 205-211.

- LEOPOLD, A.C., MUSGRAVE, M.E. & WILLIAMS, D.M. 1981. Solute leakage resulting from leaf desiccation. *Plant Physiol.* 68: 1222-1225.
- LESHEM, Y.Y. & KUIPER, P.J.C. 1996. Is there a GAS (general adaptation syndrome) response to various types of environmental stress? *Biol. Plant.* 38: 1-18.
- LEVITT, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Vol II Water, radiation, salt and other stresses. Academic Press, New York.
- LICHTENTHALER, H.K. & WELLBURN, A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- LICHTENTHALER, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* Vol. 148, pp. 349-382. Academic Press.
- LICHTENTHALER, H.K. 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol.* 148: 4-14.
- MARTIN, U.; PALLARDY, S.G. & BAHARI, Z.A. 1987. Dehydration tolerance of leaf tissues of six woody angiosperm species. *Physiol. Plant.* 69: 182-186.
- MEGURO, M.; JOLY, C.A. & BITTENCOURT, M.M. 1977. Stress hídrico e alguns aspectos do comportamento fisiológico em *Xerophyta plicata* Spreng. - Velloziaceae. *Bol. Botânica Univ. S. Paulo* 5: 27-42.

- MEIRELLES, S.T. 1990. Ecologia da vegetação de afloramentos rochosos do litoral da Região Sudeste. Tese de Mestrado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Campinas.
- MELLO-SILVA, R. 1991. The infra-familial taxonomic circumscription of the Velloziaceae: A historical and critical analysis. *Taxon* 40: 45-51.
- MUSLIN, E.H. & HOMANN, P.H. 1992. Light as a hazard for the desiccation-resistant 'resurrection' fern *Polypodium polypodioides* L. *Plant Cell Envir.* 15: 81-89.
- NAVARI-IZZO, F.; RICCI, F.; VAZZANA, C. & QUARTACCI, M.F. 1995. Unusual composition of thylakoid membranes of the resurrection plant *Boea hygroskopica*: changes in lipids upon dehydration and rehydration. *Physiol. Plant.* 94: 135-142.
- OWOSEYE, J.A. & SANFORD, W.W. 1972. An ecological study of *Vellozia schnitzleinia*, a drought-enduring plant of Northern Nigeria. *J. Ecol.* 60: 807-817.
- OLIVER, M.J.; MISHLER, B.D. & QUISENBERRY, J.E. 1993. Comparative measures of desiccation-tolerance in the *Tortula ruralis* complex. I. Variation in damage control and repair. *Am. J. Bot.* 80: 127-136.
- PALTA, J.P. 1990. Stress interactions at the cellular and membrane levels. *HortScience* 25: 1377-1388.
- PEARCE, R.S. 1982. Ultrastructure of tall fescue (*Festuca arundinaceae*) cells fixed while exposed to lethal or non-lethal extracellular freezing. *New Phytol.* 92: 259-272.

- POPP, M. & SMIRNOFF, N. 1995. Polyol accumulation and metabolism during water deficit. In N.Smirnoff (ed.) Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation. Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, pp. 199-215.
- REYNOLDS, T.L. & BEWLEY, D. 1993a. Characterization of protein synthetic changes in a desiccation-tolerant fern, *Polypodium virginianum*. Comparison of the effects so drying, rehydration and abscisic acid. J. Exp. Bot. 44: 921-928.
- REYNOLDS, T.L. & BEWLEY, D. 1993b. Abscisic acid enhances the ability of the desiccation-tolerant fern *Polypodium virginianum* to withstand drying. J. Exp. Bot. 44: 1771-1779.
- ROSSETTO, E.S. 1992. Aspectos celulares de folhas de *Xerophyta plicata* Spreng. (Velloziaceae), durante os processos de dessecação e revivescência. Tese de Mestrado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Campinas.
- ROSSETTO, E.S. 1997. Comparação ultraestrutural entre folhas hidratadas e desseçadas de três espécies de Velloziaceae: duas revivescentes e uma sensível à dessecação. Tese de Doutorado em Ciências, Universidade Estadual de Campinas.

- ROSSETTO, E.S. & DOLDER, H. 1996. Comparison between hydrated and desiccated leaves of a Brazilian resurrection plant. A light and scanning electron microscopy approach. *Rev. Brasil. Biol.* 56: 553-560.
- SCHNEIDER, K.; WELLS, B.; SCHMELZER, E.; SALAMINI, F. & BARTELS, D. 1993. Desiccation leads to the rapid accumulation of both cytosolic and chloroplastic proteins in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* Hochst. *Planta* 189: 120-131.
- SCHWAB, K.B. & GAFF, D.F. 1986. Sugar and ion content in leaf tissues of several drought tolerant plants under water stress. *J. Plant Physiol.* 125: 257-265.
- SCHWAB, K.B.; SCHREIBER, U. & HEBER, U. 1989. Response of photosynthesis and respiration of resurrection plants to desiccation and rehydration. *Planta* 177: 217-227.
- SEEL, W.E.; HENDRY, G.A.F. & LEE, J.A. 1992. The combined effects of desiccation and irradiance on mosses from xeric and hydric habitats. *J. Exp. Bot.* 43: 1023-1030.
- SGHERRI, C.L.M.; LOGINNI, B.; BOCHICCHIO, A. & NAVARI-IZZO, F. 1994. Antioxidant system in *Boea hygroskopica*: changes in response to rapid or slow desiccation and rehydration. *Phytochemistry* 37: 377-381.
- SIEFERMANN-HARMS, D. 1987. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiol. Plant.* 561-568.

- SMIRNOFF, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol.* 125: 27-58.
- SMIRNOFF, N. 1995. Antioxidante systems and plant response to the environment. In N.Smirnoff (ed.) *Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation*. Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, pp. 217-243.
- STEPONKUS, P.L. 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 543-584.
- STEVANOVIC, B.; PHAM THI, A.T.; MONTEIRO DE PAULA, F. & VIEIRA DA SILVA, J. 1992. Effects of dehydration and rehydration on the polar lipid and fatty acid composition of *Ramonda* species. *Can. J. Bot.* 70: 107-113.
- STEWART, R.R.C. & BEWLEY, J.D. 1982. Stability and synthesis of phospholipids during desiccation and rehydration of a desiccation-tolerant and a desiccation-intolerant moss. *Plant Physiol.* 69: 724-727.
- SUN, W.Q.; IRVING, T.C. & LEOPOLD, A.C. 1994. The role of sugar, vitrification and membrane phase transition in seed desiccation tolerance. *Physiol. Plant.* 90: 621-628.
- SWINDALE, L.D. & BIDINGER, F.R. 1981. Introduction: The human consequences of drought and crop research priorities for their alleviation. In: *The physiology and biochemistry of drought resistance in plants* (L.G.PALEG & D.ASPINALL, eds.). Academic Press, Sydney.

- TENHUNEN, J.D.; HANANO, R.; ABRIL, M.; WEILER, E.W. & HARTUNG, W. 1994. Above- and below-ground environmental influences on leaf conductance of *Ceanothus thyrsiflorus* growing in a chaparral environment: drought response and the role of abscisic acid. *Oecologia* 99: 306-314.
- TUBA, Z.; LICHTENTHALER, H.K.; CSINTALAN, Z. & PÓCS, T. 1993a. Regreening of desiccated leaves of the poikilochlorophyllous *Xerophyta scabrida* upon rehydration. *J. Plant Physiol.* 142: 103-108.
- TUBA, Z.; LICHTENTHALER, H.K.; MAROTI, I. & CSINTALAN, Z. 1993b. Resynthesis of thylakoids and functional chloroplasts in the desiccated leaves of the poikilochlorophyllous plant *Xerophyta scabrida* upon rehydration. *J. Plant Physiol.* 142: 742-748.
- TUBA, Z.; LICHTENTHALER, H.K.; CSINTALAN, Z.; NAGY, Z. & SZENTE, K. 1994. Reconstitution of chlorophylls and photosynthetic CO₂ assimilation upon rehydration of the desiccated poikilochlorophyllous plant *Xerophyta scabrida* (Pax) Th. Dur. et Schinz. *Planta* 192: 414-420.
- TUBA, Z.; LICHTENTHALER, H.K.; CSINTALAN, Z.; NAGY, Z. & SZENTE, K. 1996. Loss of chlorophylls, cessation of photosynthetic CO₂ assimilation and respiration in the poikilochlorophyllous plant *Xerophyta scabrida* during desiccation. *Physiol. Plant.* 96: 383-388.
- WALTER, H. 1955. The water economy and the hydrature in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 6: 239-252.

YOUNG, A.J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* 83: 702-708.

ZWIAZEK, J.J. & BLAKE, T.J. 1990. Effects of preconditioning on electrolyte leakage and lipid composition in black spruce (*Picea mariana*) stressed with polyethylene glycol. *Physiol. Plant.* 79: 71-77.