



ANAIS do 37º Congresso Brasileiro de Espeleologia

Curitiba - Paraná, 26 a 29 de julho de 2023



O artigo a seguir é parte integrante dos Anais do 37º Congresso Brasileiro de Espeleologia, disponível gratuitamente em www.cavernas.org.br.

Sugerimos a seguinte citação para este artigo:

ROSA, G. H.; CARDOSO, R. C.; FEITOSA, B. H.; FERREIRA, R. L.; SILVA, O. B.; LIRA, M. F. P.; CASTRO, E. M.. Caracterização fisiofenotípica de componentes estruturais de ativação fotossintética em espécie vegetal ocorrente em caverna. In: MISE, K. M.; GUIMARÃES, G. B.. (orgs.) CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPELEOLOGIA, 37, 2023. Curitiba. *Anais...* Campinas: SBE, 2023. p.264-268. Disponível em: <http://www.cavernas.org.br/anais37cbe/37cbe_264-268.pdf>. Acesso em: *data do acesso*.

Esta é uma publicação da Sociedade Brasileira de Espeleologia.
Consulte outras obras disponíveis em www.cavernas.org.br

CARACTERIZAÇÃO FISIOTIPICA DE COMPONENTES ESTRUTURAIS DE ATIVAÇÃO FOTOSSINTÉTICA EM ESPÉCIE VEGETAL OCORRENTE EM CAVERNA

PHYSIOPHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF PHOTOSYNTHETIC ACTIVATION
STRUCTURAL COMPONENTS IN A PLANT SPECIES OCCURRING IN CAVES.

Guilherme Henrique ROSA; Rafael Costa CARDOSO; Bruno Henrique FEITOSA; Rodrigo Lopes FERREIRA; Orivaldo Benedito da SILVA; Marines Ferreira Pires LIRA; Evaristo Mauro de CASTRO

Centro de Estudos em Biologia Subterrânea (CEBS), Departamento de Ecologia e Conservação, Instituto de Ciências Naturais, Universidade Federal de Lavras, Campus Universitário, CEP 37200-900, Lavras, Minas Gerais, Brasil

Contatos: h.rosaguilherme@gmail.com.

Resumo

O ambiente subterrâneo das cavernas é único do ponto de vista ecológico. Neste ambiente, pode ocorrer uma flora fascinante e adaptada às condições subterrâneas. Este estudo investigou como a espécie *Cupania vernalis* Cambess. (Sapindaceae), ocorrente em diferentes ambientes de características distintas (subterrâneo a pleno sol), pode ser afetada em suas características morfo-fisiológicas. Para isso foi determinada a massa foliar específica de cada indivíduo e quantificadas por Espectroscopia de Absorção no UV/Vis as concentrações de clorofilas a, b e carotenoides totais, considerando respectivamente as absorvâncias em 470, 646 e 663 nm. As concentrações de pigmentos fotossintéticos e massa foliar específica da espécie sofreram alterações, conforme sua ocorrência em locais com diferença de disponibilidade luminosa incidente no ambiente. A espécie possui uma capacidade de plasticidade fenotípica e bioquímica para ajustes fisiológicos, possibilitando a sua ocorrência em diferentes condições de luminosidade, o que torna a espécie potencial candidata a ser usada na restauração dos ambientes cavernícolas.

Palavras-Chave: Cavernas; Flora cavernícola; Adaptações; Características fenotípicas.

Abstract

The subterranean environment of caves is unique from an ecological perspective. In this environment, a fascinating and adapted flora can occur under subterranean conditions. Therefore, this study investigated how the species *Cupania vernalis* Cambess. (Sapindaceae), occurring in different environments with distinct characteristics (subterranean to full sunlight), may be affected in its morpho-physiological traits. For this purpose, the specific leaf mass of each individual was determined, and the concentrations of chlorophylls a, b, and total carotenoids were quantified by UV/Vis Absorption Spectroscopy, considering the absorbances at 470, 646, and 663 nm, respectively. The concentrations of photosynthetic pigments and specific leaf mass of the species underwent changes according to their occurrence in locations with different incident light availability in the environment. The species possesses a capacity for phenotypic and biochemical plasticity for physiological adjustments, enabling its occurrence under different light conditions, which makes it a potential candidate for use in the restoration of cave environments.

Keywords: Caves; Cave Flora; Adaptations; Phenotypic traits.

1. INTRODUÇÃO

Cavernas são ambientes únicos do ponto de vista ecológico, com habitats fisicamente diferenciados do meio externo e com características estáveis do ponto de vista climático quando comparado aos ambientes epígeos, com poucas variações dentro da mesma estação ou anualmente (GÖKTÜRK *et al.*, 2011; LIANG *et al.*, 2019; ZHU *et al.*, 2020). Além de estáveis, os habitats subterrâneos são caracterizados

pela escassez total ou baixa luminosidade, afetando significativamente a disponibilidade de recursos para os seres vivos fotodependentes, como as espécies vegetais, selecionando espécies que adotam estratégias adaptativas fascinantes de sobrevivência nestes ambientes (LIU *et al.*, 2019; KIEW, RAHMAN, 2021; SIEVERS *et al.*, 2022).

Historicamente o foco da biologia subterrânea é a fauna, vertente mais estudada e conhecida das

cavernas (HOWARTH, MEDEIROS, 2020; LUNGHI *et al.*, 2020). Porém, muitos outros seres vivos se adaptam e são capazes de viver nesses ambientes, como fungos, microrganismos e plantas.

Apesar da baixa luminosidade na região ecotonal das entradas e claraboias, percebe-se a existência de uma flora diversificada e pouco estudada. Estudos relativos às floras cavernícolas são escassos nos ambientes tropicais, confirmando a necessidade de pesquisas sobre esses ambientes, quando comparados aos outros ecossistemas naturais. Além do fator luz, a umidade elevada, pouca variação de temperatura e disponibilidade de nutrientes são os principais filtros de distribuição de plantas nos ambientes hipógeos (MULEC, 2018; MULEC, 2019). Esses e outros fatores contribuem para a seleção de comunidades de espécies vegetais possivelmente endêmicas destes ambientes, despertando interesse em melhor compreender como a flora cavernícola desenvolve as adaptações necessárias de sobrevivência nesses tipos de habitats e nichos ecológicos.

A plasticidade fenotípica e fisiológica é uma característica adaptativa de relevância em espécies vegetais existentes em ambientes com pouca luminosidade e recursos. Essas plantas apresentam modificações estruturais e fisiológicas, maximizando a capacidade de uso dos poucos recursos disponíveis. Plantas ocorrentes em diferentes ambientes, com características físico-químicas variadas, podem apresentar diferenças significativas em caracteres fenotípicos, como sua área foliar e massa foliar, e fisiológicos, como teores de pigmentos fotossintéticos. Por meio desta pesquisa, objetivou-se compreender como uma espécie ocorrente em ambientes com características ambientais distintas poderia ser afetada em seus aspectos funcionais fisiológicos e morfológicos. Deste modo, existe a possibilidade de alteração nos teores de pigmentos fotossintéticos e massa foliar específica em relação ao habitat em que o indivíduo se desenvolveu.

2. METODOLOGIA

2.1 Área de estudo

A Figura 1, destaca o Parque Estadual do Ibitipoca (PEIB), uma área protegida e definida como Unidade de Conservação de Proteção Integral (UCPI) localizado no município de Lima Duarte, em Minas Gerais. O PEIB é caracterizado por apresentar um grande número de cavernas com grandes dimensões em uma área relativamente pequena, inseridas em rochas quartzíticas, dentre as quais estão presentes algumas das maiores cavernas desta litologia do país (CORRÊA-NETO, BATISTA-FILHO, 1997; WRAY,

SAURO, 2017; RUBBIOLI *et al.*, 2019). Apesar do PEIB estar situado no bioma da Mata Atlântica, características geológicas e geomorfológicas permitem o desenvolvimento de um mosaico de fitofisionomias que variam de campos de altitude, campos rupestres, matas de galeria e pequenas florestas nebulares, apresentando uma flora diversificada.

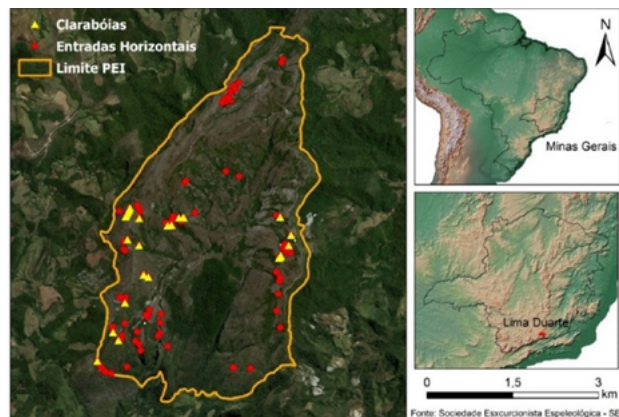


Figura 1: Mapa de localização do Parque Estadual do Ibitipoca (PEIB) delimitado em amarelo. Pontos vermelhos destacam os acessos horizontais às cavernas e triângulos amarelos destacam as claraboias.

Um estudo em desenvolvimento sobre a flora das cavernas do PEIB observou-se que a espécie *Cupania vernalis*, Cambess. (Sapindaceae) estava presente em grande parte das cavernas conhecidas do parque, além de ser encontrada com frequência no sub-bosque e em áreas campestres totalmente expostas à incidência luminosa solar. Foram amostradas folhas de indivíduos presentes nos diferentes ambientes (pleno sol, sub-bosque e cavernas) e em diferentes profundidades de três cavernas escolhidas ao acaso [Gruta Arco do Arlete (25 m da entrada), Gruta dos Viajantes (0 m e 10m da entrada) e Ponte de Pedra (40 m da entrada)]. Como para a quantificação de luminosidade demandaria um levantamento de longo prazo, optou-se por considerar apenas a distância da entrada. Isto implica não apenas uma variação de luminosidade como diversas outras características inerentes ao ambiente subterrâneo, tais como tendência a menores variações climáticas e a aumento da umidade relativa (Figura 2). As amostras de folhas de *Cupania vernalis*, Cambess. (Sapindaceae) foram padronizadas, coletando-se folíolos da terceira folha a partir da gema apical, durante etapa de campo realizado em março de 2023. Após coletadas e armazenadas em recipiente térmico, as amostras foram analisadas nos Laboratórios de Anatomia Vegetal (Setor de Botânica) e Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas (Setor de Fisiologia Vegetal) da Universidade Federal de Lavras.

2.2 Massa foliar específica

A massa foliar específica (MFE) foi determinada a partir da massa das folhas de cada amostra, sendo coletados quatro folíolos da segunda folha do ápice de um indivíduo por ponto. Posteriormente foram escaneadas e calculadas sua área pelo *software ImageJ* (RASBAND,

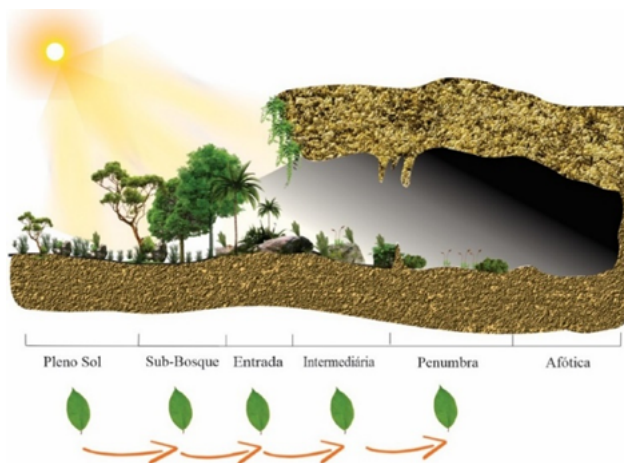


Figura 2: Desenho esquemático dos diferentes ambientes em que foram amostradas as folhas de *C. vernalis*, destacando da esquerda para direita os locais com considerável radiação (pleno sol) até locais de pouca incidência de luz solar (penumbra).

2018) e em seguida secas em estufa de circulação forçada à 60°C e pesadas em balança (modelo Shimadzu AY220). A obtenção do valor da área total de cada folha foi dividida pela sua massa, obtendo-se valores expressos em g/m² de MFE para cada indivíduo (BORGES *et al.*, 2022).

2.3 Determinação de pigmentos fotossintéticos

Para a extração dos pigmentos fotossintéticos, sendo clorofila a (*Chl-a*), clorofila b (*Chl-b*) e carotenoides totais, adicionou-se 40 mg de folha seca em tubos de falcon contendo 6 mL de etanol 96% por 1 h. Posteriormente as amostras foram filtradas e armazenadas a -4°C em local protegido de luz, procedimento realizado em quadruplicata para cada ponto de ocorrência de *C. vernalis*. A determinação ocorreu por Espectroscopia de Absorção no UV-VIS, nas seguintes absorvâncias: 646 e 663 (clorofila a e b) e 470 (carotenoides totais) nm. As concentrações de *Chl-a*, *Chl-b* e carotenoides totais foram determinadas respectivamente seguindo as equações: $[(13,95 \times Abs_{663}) - (6,88 \times Abs_{646})]$ (1); $[(24,96 \times Abs_{646}) - (7,32 \times Abs_{663})]$ (2); $\{[(1000 \times Abs_{470}) - (2,05 \times \alpha) - (114,8 \times \beta)] / 245\}$ (3) respectivamente, expressas em mg/g de massa fresca⁻¹ (mg/g MF⁻¹). A metodologia de determinação de pigmentos foi baseada e adaptada de Lichtenthaler e Wellburn (1983) e Lichtenthaler e Buschmann (2001).

2.4 Análise dos dados

Os testes estatísticos foram realizados no *software R* (CORE TEAM, 2021) para comparação da variação média dos teores de pigmentos fotossintéticos e MFE, entre os pontos, aplicando testes de médias pareados entre as réplicas amostrais, adequando-se a distribuição dos dados e, posteriormente, a confecção dos gráficos para cada pigmento e MFE.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de pigmentos fotossintéticos para *Chl-a*, *Chl-b* e carotenoides totais são evidenciados na Figura 3. Os valores mais elevados para pigmentos foram registrados nos pontos mais internos da caverna em 40 m e 25 m, respectivamente 6,72 e 4,52 mg/g MF⁻¹ para *Chl-a*, 2,10 e 1,68 mg/g MF⁻¹ para *Chl-b*, 1,67 e 1,07 mg/g MF⁻¹ de carotenoides totais. Segundo o teste de médias, apenas um dos pontos de sub-bosque não se diferenciou significativamente em relação ao ponto interior a 10 m da entrada para *Chl-a* ($p=0,072$) e *Chl-b* ($p=0,24$), no entanto constatou-se diferença significativa entre estes pontos para carotenoides totais ($p < 0,05$). Não foi observada diferença estatística significativa entre os dois pontos de sub-bosque considerando todos os pigmentos. Entre os demais pontos a concentração média dos pigmentos foi significativamente diferente. Embora os indivíduos presentes próximo a entrada das cavernas tenham apresentado um menor teor de pigmentos se comparados aos indivíduos de sub-bosque, observa-se uma tendência geral da diminuição da produção de pigmentos fotossintéticos. Isto configura um gradiente dos locais mais profundos das cavernas (maior teor) para locais mais expostos, como no pleno sol (menor teor).

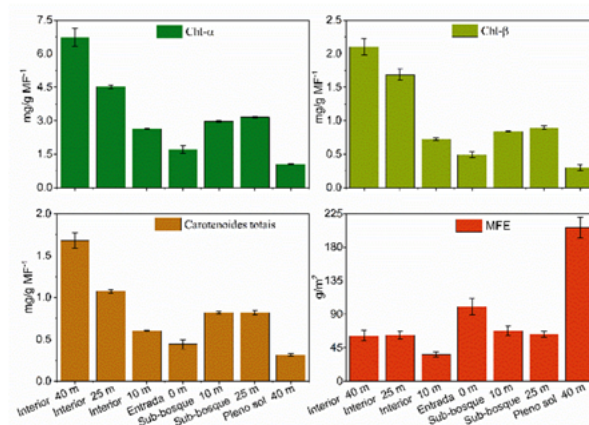


Figura 3: Coluna à esquerda, parte superior em verde escuro valores de *Chl-a*, abaixo em laranja valores de carotenoides totais. Coluna à direita acima, em verde claro valores de *Chl-b* e abaixo em vermelho valores de MFE.

Os resultados sugerem que *C. vernalis* ocorrentes em ambientes com baixa incidência de radiação solar sofrem um ajuste fisiológico em sua estrutura, elevando a produção de pigmentos fotossintéticos, possibilitando maior aproveitamento na absorção dos fótons luminosos incidentes no ambiente. Assim, apresentam plasticidade fenotípica para

ajuste bioquímico em relação à condição ambiental em que se encontram, garantindo assim recursos para a sua sobrevivência. As concentrações de pigmentos de fixação luminosa podem aumentar em espécies fotossintéticas quando ocorrentes em ambientes cavernícolas, em plantas e algas (MULEC *et al.*, 2008; GRAŠIČ *et al.*, 2020).

Os valores de MFE foram maiores em locais externos à caverna, porém não tão discrepantes quando comparados com os valores obtidos nos indivíduos ocorrentes em regiões mais internas. Também não houve diferença estatística entre os valores obtidos nos locais a 40 e 25 m no interior quando comparado a 10 e 25 m exterior, ambos no sub-bosque. Os valores mais expressivos foram a 40 m exterior (pleno sol) e a 0 m na entrada da caverna, com valores de 206,51 e 100,11 g/m² de MFE, respectivamente. Os menores valores foram registrados em 10 m no interior da caverna, com 35,86 g/m² de razão foliar. Embora não diferiram em todos os pontos, quando se comparam valores MFE obtidos em indivíduos do interior com os do exterior da caverna, os menores valores observados foram registrados no interior e os maiores nos indivíduos do exterior da caverna. Os valores de MFE, observados nos indivíduos ocorrentes no gradiente do interior para o exterior das cavernas, ainda que haja a discrepância do indivíduo amostrado a 0 metros da entrada, tendem a um aumento de seus valores em áreas mais expostas à radiação. Porém, um estudo com um maior número de amostras se faz necessário para confirmar tal tendência. Possivelmente este fato está relacionado com maiores investimentos em biomassa nas folhas das plantas, o que pode possibilitar proteção contra elevada exposição à radiação solar e perda de água por transpiração.

REFERÊNCIAS

- BORGES, N. L. *et al.* The functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest. **Trees**, v. 36, n. 6, p. 1837-1851, 2022.
- CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021. Available at: <https://www.R-project.org/>.
- CORRÊA-NETO, A. V.; BAPTISTA-FILHO, J. Espeleogênese em quartzitos da Serra do do Ibitipoca, sudeste de Minas Gerais. **Revista Anuário do Instituto de Geociências - UFRJ**, Rio de Janeiro, v. 20, p. 75-87, 1997.
- GÖKTÜRK, O. M. *et al.* Climate on the southern Black Sea coast during the Holocene: implications from the Sofular Cave record. **Quaternary Science Reviews**, v. 30, n. 19-20, p. 2433-2445, 2011.
- GRAŠIČ, M.; SOVDAT, T.; GABERŠČIK, A. Frond optical properties of the fern *Phyllitis scolopendrium* depend on light conditions in the habitat. **Plants**, v. 9, n. 10, p. 1254, 2020.

4. CONCLUSÕES

Ao considerar e avaliar indivíduos de *C. vernalis* ocorrentes em ambientes de características distintas, considerando como principal fator o gradiente do pleno sol até regiões mais profundas das cavernas, os resultados sugerem que a espécie apresenta plasticidade fenotípica e bioquímica para ajuste fisiológico de síntese de pigmentos em condições de ambiente cavernícola, e capacidade de alteração de sua morfologia foliar conforme se desenvolva em ambientes com condições ambientais distintas. Sendo assim a espécie é capaz de ocorrer em ambientes com marcantes diferenças nas condições físico-químicas e de abundância de recurso luminoso, oferecendo assim, subsídios de aclimatação, conferindo a sobrevivência e consequentemente manutenção da espécie. Estes fatores, ainda que careçam de maiores estudos, mostram que a espécie estudada funciona como um elemento importante na colonização vegetal nas regiões ecotonais de entradas de cavernas, apresentando potencial para restauração destes ambientes.

5. AGRADECIMENTOS

À administração do Parque Estadual do Ibitipoca (PEIB) por todo apoio, ao Centro de Estudos em Biologia Subterrânea (CEBS/UFLA) e a Sociedade Excursionista e Espeleológica (SEE/UFOP) e todos os membros que participaram e auxiliaram nos trabalhos de campo. Também ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, ao Laboratório de Anatomia Vegetal e à disciplina de Anatomia Ecológica de Fanerógama do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, todos estes da Universidade Federal de Lavras (UFLA), bem como às agências de financiamento CAPES, FAPEMIG e CNPQ.

- HOWARTH, F. G.; MEDEIROS, M. Hawaiian lava tube cave associated Lepidoptera from the collections of Francis G. Howarth and Fred D. Stone. **Bishop Museum Occasional Papers**, v. 129, p. 37-54, 2020.
- KIEW, R.; RAHMAN, R. A. Plant diversity assessment of karst limestone: a case study of Malaysia's Batu Caves. **Nature Conservation**, v. 44, p. 21-49, 2021.
- LIANG, Y.; WANG, Y.; WANG, Q.; WU, J.; SHAO, Q.; ZHANG, Z.; EDWARDS, R. L. East Asian summer monsoon climates and cave hydrological cycles over Dansgaard-Oeschger events 14 to 11 revealed by a new stalagmite record from Hulu Cave. **Quaternary Research**, v. 92, n. 3, p. 725-737, 2019.
- LICHTENTHALER, K. H.; BUSCHMANN, C. K. Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. **Curr Prot Food Anal Chem (Suppl 2)**, p. 1-6, 2001.
- LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. 1983.
- LIU, W.; WYNNE, J. J. Cave millipede diversity with the description of six new species from Guangxi, China. **Subterranean Biology**, v. 30, p. 57-94, 2019.
- LUNGI, E.; GIACHELLO, S.; ZHAO, Y.; CORTI, C.; FICETOLA, G. F.; MANENTI, R.. *et al.* Photographic database of the European cave salamanders, genus *Hydromantes*. **Scientific Data**, v. 7, n. 1, p. 171, 2020.
- MULEC, J. Lampenflora. In: Encyclopedia of caves. Academic Press, p. 635-641, 2019.
- MULEC, J. Phototrophs in caves. In: MOLDOVAN, O. T.; KOVÁČ; L.; HALSE; S. **Cave ecology**. Springer, p. 91-106, 2018.
- MULEC, J.; KOSI, G.; VRHOVŠEK, D... Characterization of cave aerophytic algal communities and effects of irradiance levels on production of pigments. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 70, n. 1, p. 3-12, 2008.
- RASBAND, W. S. IMAGEJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. 1997-2018. Available at: <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- RUBBIOLI, E.; AULER, A.; MENIN, D.; BRANDI, R. **Atlas das Grandes Cavernas do Brasil**. Editora Rigel, 2019.
- SIEVERS, C. *et al.* Plant bedding construction between 60,000 and 40,000 years ago at Border Cave, South Africa. **Quaternary Science Reviews**, v. 275, p. 107280, 2022.
- WRAY, R. A. L.; SAURO, F. An updated global review of solutional weathering processes and forms in quartz sandstones and quartzites. **Earth-Science Reviews**, v. 171, p. 520-557, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2017.06.008>.
- ZHU, J.; TONG, L.; LI, R.; YANG, J.; LI, H... Annual thermal performance analysis of underground cave dwellings based on climate responsive design. **Renewable Energy**, v. 145, p. 1633-1646, 2020.