



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**



**Anatomia radicular em Orchidaceae epífitas: estratégias
estruturais para maximizar a absorção de recursos**

THAIS ARRUDA COSTA JOCA

Profa. Dra. Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira

(Orientadora)

**Uberlândia/ MG
2016**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**



**Anatomia radicular em Orchidaceae epífitas: estratégias
estruturais para maximizar a absorção de recursos**

THAIS ARRUDA COSTA JOCA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Profa. Dra. Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira

(Orientadora)

Uberlândia/ MG
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

-
- J63a
2016 Joca, Thais Arruda Costa, 1992-
Anatomia radicular em Orchidaceae epífitas: estratégias estruturais para maximizar a absorção de recursos / Thais Arruda Costa Joca. - 2016.
65 f. : il.
- Orientador: Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.
Inclui bibliografia.
1. Biologia vegetal - Teses. 2. Plantas e água - Teses. 3. Orquídea - Raízes - Teses. 4. Parede celular das plantas - Teses. I. Moreira, Ana Silvia Franco Pinheiro. II. Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. III. Título.

CDU: 581



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**


BioVeg

**Anatomia radicular em Orchidaceae epífitas: estratégias
estruturais para maximizar a absorção de recursos**


THAIS ARRUDA COSTA JOCA

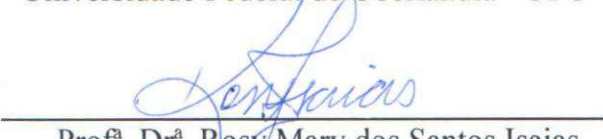
COMISSÃO EXAMINADORA:

Presidente (Orientadora):


Prof.^a. Dr.^a. Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Examinadores:


Prof.^a. Dr.^a. Neuza Maria de Castro
Universidade Federal de Uberlândia - UFU


Prof.^a. Dr.^a. Rosy Mary dos Santos Isaías
Universidade Federal de Minas Gerais- UFMG

Dissertação aprovada em: 26 / 02 / 2016

Dedico aos meus pais Ana Claudia Arruda e Mário César Joca, que permitiram meu sonho, fizeram o impossível para que eu o realizasse e chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

Acredito que neste momento, palavras não sejam suficientes para expressar a enorme gratidão e felicidade em concluir mais essa etapa tão importante da minha vida. Mas é claro que sem a ajuda de pessoas tão presentes e solícitas em minha caminhada, nada disso seria possível. E para estas pessoas devo meu muito obrigada, reiterando indiscutivelmente que “ninguém é um ilha”- Jonh Done, de forma que a ajuda direta ou indireta de vocês, dividiu a responsabilidade depositada em mim e somou minhas forças para chegar até aqui.

Aos meus pais, Ana Claudia e Mário César...vocês foram o suporte, meu porto seguro. Desde o início da minha caminhada acadêmica, não pouparam esforços para me apoiar e me fazer alçar voos cada vez maiores. Obrigada por toda a dedicação de uma vida, e saibam que por onde quer que eu vá é para vocês e por vocês minha caminhada. Agradeço imensamente a Deus por ter me dado a oportunidade de trilhar a vida ao lado de vocês, e, através de todo esse alicerce que construímos através de Suas bênçãos, vencemos. Agora posso dividir esse sonho com vocês, com imensa alegria.

Aos meus avós Mário e Irma, meus tios Milson e Carmen, padrinhos Claudirce e Cristina, agradeço ela preocupação e disposição em sempre me ajudar e por sempre me esperarem de braços abertos quando voltava para casa. Saber que vocês estavam ali, sempre torcendo por mim, me deu forças para continuar.

À mais que um namorado, um companheiro com o qual fui presenteada e agraciada por Deus, Leandro. Você foi o apoio do início ao fim, acreditando em mim mais do que eu mesma, inúmeras vezes. Fez a distância se incurtar dia-a-dia, os dias serem mais leves, sonhando o mesmo sonho, caminhando lado a lado. Obrigada pelo seu apoio, seu amor e carinho que me direcionaram nessa caminhada.

À Professora Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira, orientadora não só para execução deste trabalho, mas para a vida. Foi incrível dividir estes anos com você, que acreditou em mim desde o primeiro dia que nos conhecemos, abraçando minha formação. Agradeço a paciência, todos os ensinamentos que pôde dividir comigo e as oportunidades que me proporcionou, preparando uma melhor profissional a cada dia.

Ao Professor Dr. Denis Coelho de Oliveira, sou extremamente agradecida pelo entusiasmo que a ciência traz em sua vida, e que, mesmo sem saber, incorporou em mim. Seu ânimo em produzir, fazer, realizar, me mostraram que com amor ao que se faz sempre podemos ir mais longe. Me espelho em você como pessoa e profissional.

À professora Dra. Diana Sampaio, pessoa que me fez despertar a paixão pela botânica ainda no primeiro ano de faculdade... devo a você todo o estímulo e paixão pelo o que faço, obrigada!

Aos amigos de mestrado que estão divindo essa caminhada comigo, Fernanda Lechado, Fernanda Monteiro, Jéssyca, Lilian, Márcia, Mariana, Pamella e Tayanara, sorte à nós! Desejo uma caminhada incrível e repleta de vitórias a cada um de vocês. À Angélica, Ligia, Ludmila, Marília, Nayara, Rafael e Stéphanie, meus “veteranos”. Tive com vocês as melhores risadas, viagens, minicursos divididos, comilanças, desabafos e partilhas. A todos vocês, companheiros de trajetória na BIOVEG, obrigada por me acolherem tão bem em Uberlândia e terem se tornado pessoas às quais quero ter sempre em minha vida.

Aos comppanheiros de LAFIVE e LADEVE, Ana Laura, Angélica, Alessandra, Luana, Manoela, Roberta, Tácito e Vitor, obrigada pelo convívio diário e por dividirem de forma tão intensa estes dois anos comigo. Vocês aliviaram pesos, somaram conquistas e foram a alegria dos meus dias. Em especial à amiga Ana Maria, pelas conversas em meio à tanto trabalho, pelas risadas constantes e pelas mensagens de positividade e fé que sempre me trouxe. E à Diana, sempre solícita, me trazendo toda a tranquilidade e sabedoria necessária em horas boas e ruins. Obrigada por me auxiliar na execução dos experimentos, por me acompanhar no laboratório, pelas horas infindáveis de estudos, pelos planos divididos e sonhos compartilhados. Sua amizade foi mais que um presente em minha vida.

Às minhas amigas de moradia, Cristiane, Neftali, Tatiane e Tayanne. Vocês me deram mais que um teto, mas um lar, que nunca imaginei que pudesse ter estando longe de casa. Obrigada por se tornarem minha segunda família.

Às amigas do mestrado em ecologia Helen e Janete, que dividiram disciplinas e transmitiram valiosos conhecimentos em minha caminhada. Um agradecimento especial à Janete, que me incentivou no caminho ao doutorado, e me ajudou de forma inigualável em todo o processo. Sua força me permitiu dar mais este passo na minha vida acadêmica.

Ao Professor Dr. Heraldo Vasconcelos, obrigada por toda ajuda em estatística e por abrir minha cabeça frente à ciência.

Ao Professor Dr. Gerhard Zotz, pela parceria em trabalhos, disponibilizando o material para sua execução e pelas valiosas contribuições ao longo de todo processo.

Às professoras Dra. Neuza Maria de Castro e Dra. Rosy Mary dos Santos Isaías pelas importantes contribuições que sem dúvidas darão a este trabalho.

Por fim, um agradecimento especial aos amigos de longa data, Ana Luiza, Arthur, Carlos, Daniel, Ênia, Flávia, Guilherme, Jéssica Priscila, Jéssica Marzinotto, Karla, Liliane, Matheus, Renata, Roberta, Roberto, Ruan, Vinícius Fernandes e Vinícius Emannuel, pois com vocês aprendi que verdadeiras amizades continuam a crescer, mesmo a longas distâncias.

À Universidade Federal de Uberlândia pelas instalações e pela oportunidade de estar vinculada ao Programa de Pós graduação em Biologia Vegetal, em especial à secretária e amiga Nívia, sempre disposta a ajudar e a me ouvir.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de mestrado.

E a todos de que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado, meu muito obrigada!

*“Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de
repente aprende”.*
(João Guimarães Rosa)

SUMÁRIO

Resumo.....	01
Abstract.....	02
 INTRODUÇÃO GERAL.....	 03
Referências.....	06
 CAPÍTULO 1: INVESTIMENTO DIFERENCIAL EM TECIDOS RADICULARES DE EPÍFITAS COMO ESTRATÉGIA PARA MAXIMIZAR A ABSORÇÃO DE ÁGUA E NUTRIENTES.....	 09
Resumo.....	10
Abstract.....	11
Introdução.....	12
Material e Métodos.....	13
Resultados.....	16
Discussão.....	25
Referências.....	30
 CAPÍTULO 2: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PAREDE CELULAR NOS DIFERENTES TECIDOS RADICULARES DE ORCHIDACEAE EPÍFITAS.....	 35
Resumo.....	36
Abstract.....	37
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	40
Resultados.....	41
Discussão.....	52
Referências.....	58
 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	 63

RESUMO

O ambiente epifítico oferece nutrientes às plantas de forma limitada, sendo marcado por flutuações hídricas constantes. Entretanto, as Orchidaceae são bem sucedidas nesse contexto, evidenciando estratégias estruturais e fisiológicas dos órgãos vegetativos, principalmente para suprir a deficiência de água. As raízes aéreas nestas plantas exibem características anatômicas especiais, sendo constituídas por um estelo envolvido por endoderme, seguida de múltiplas camadas de parênquima cortical delimitadas externamente pela exoderme, e sistema de revestimento composto por múltiplas camadas celulares que formam o velame. Todo esse aparato anatômico revela diferentes estratégias para a maximização da obtenção de água e nutrientes, podendo haver investimento em maior área de velame, que facilita a passagem de água ou maior investimento em estruturas internas, como córtex e cilindro vascular associados ao maior número de células de passagem da endoderme, as quais podem promover uma condução eficaz destes recursos para o interior da planta. O velame, embora composto por células mortas, conserva sua matriz péctica. O caráter negativo desta matriz faz com que cátions sejam retidos e contribuam para a atração de íons negativos, tornando o velame um tecido com maior aporte nutritivo considerando a oferta do meio como limitada. O maior número de cordões de xilema alinhados com as células de passagem da endoderme também pode aumentar a eficiência de transporte, uma vez que facilita a entrada destes íons ao cilindro vascular. A exoderme e a endoderme auxiliam no suporte mecânico em casos de dessecação e constituem barreiras apoplásticas devido à alta impregnação de suberina e/ou lignina, exceto nas células de passagem, onde induzem o transporte simplástico. No parênquima cortical, as pectinas HGAs de alta metil esterificação contribuem para a porosidade da parede celular (aumentando o fluxo de nutrientes para as células) e sua flexibilidade (aumentando sua elasticidade e capacidade de retenção de água). Neste tecido, foram ainda encontradas células com espessamento em phi, uniforme e reticulados, além de células com alta impregnação de suberina nas lamelas. O reforço de lignina nestas células pode também ajudar a evitar o colapso do córtex em condições de baixa umidade, enquanto que a impregnação por suberina gera um caráter hidrofóbico, que contribui para o fluxo de água em direção ao estelo.

Palavras chave: Adaptações anatômicas, transporte de água, ultraestrutura de parede.

ABSTRACT

The epiphytic environment provides limited content of nutrients to plants, marked by constantly water fluctuations. However, the Orchidaceae are successful in this ambience, showing structural and physiological strategies of the vegetative organs, mainly to supply water deficiency. The aerial roots of these plants exhibit anatomic special features, being constituted by a stele surrounded by the endodermis, followed by multiple layers of cortical parenchyma bounded externally by the exodermis, and a dermal tissue composed of multiple cell layers called velamen. This anatomical apparatus reveals different strategies for maximizing water and nutrients uptake, with greater investment in velamen area (facilitates water passage) or greater investment in internal structures, such as cortex and vascular cylinder associated with the higher number of passage cells from endodermis (promote effective management of these resources into the plant). The velamen, regardless of being composed by dead cells, retains its pectin matrix. The negative character of this matrix retains cations and contributes to attract negative ions, which makes velamen a tissue with higher nutritional intake when the environment supply is limited. The higher number of xylem strands aligned with the passage cells of the endodermis can also increase the transport efficiency, since it facilitates these ions entrance on vascular cylinder. The exodermis and endodermis help on mechanical support in cases of desiccation, and constitute an apoplastic barrier due to the high suberin and/or lignin impregnation, except for the passage cells, where its induce the symplastic transport. In cortical parenchyma, the high methyl-esterification of the pectins contributes to the porosity of the cell wall (increasing the flow of nutrients among the cells) and its flexibility (increasing its elasticity and water retention capacity). In this tissue, there were cells with phi, uniform and reticulated thickenings, besides cells with high suberin lamellae. The lignin reinforcement help to prevent the cortex collapse in low humidity conditions, while the suberin impregnation generates a hydrophobic character of the cortex, which contributes to the water flow toward the stele.

Key Words: Anatomical adaptations, water transport, wall ultrastructure.

INTRODUÇÃO GERAL

As Orchidaceae incluem aproximadamente 26000 espécies conhecidas (Joppa *et al.* 2011), bem adaptadas e propícias à explorar habitats com condições extremas (Benzing *et al.* 1983; Pridgeon 1986). Além de constituírem uma das famílias mais diversificadas do reino vegetal, apresentam considerável importância econômica e são frequentemente citadas como referências em projetos de conservação. Toda essa diversidade pode ser explicada pelo fato de, ao longo do processo evolutivo, terem se adaptado à ambientes contrastantes (Cronquist 1981; Black 1973; Dressler 1993). As variações ambientais decorrentes da diversidade de habitats que ocupam, contribuíram para gerar estratégias estruturais e fisiológicas muito peculiares nos órgãos vegetativos (Pabst & Dungs 1975), principalmente para suprir à absorção de água.

O hábito epifítico adquirido dentre as Orchidaceae foi bem sucedido, visto que ocorrem em cerca de 75% de todas as espécies de orquídeas (Atwood 1986). Em geral, flutuações na disponibilidade de água carregada de nutrientes necessários para o desenvolvimento da planta ocorrem neste ambiente (Nadkarni 1986), sobrepondo vantagens como melhores condições de luminosidade e substrato relativamente eximido de competição. As plantas epífitas então, reverterem tais condições adversas de diferentes formas, ressaltando-se mecanismos referentes às folhas, pseudobulbos e raízes, uma vez que são órgãos envolvidos com aquisição e economia de água no ambiente epifítico (Silva & Milaneze-Gutierrez 2004). De certa forma, estas estruturas promovem rápida absorção de água e nutrientes (uma vez que estes constituem recursos com disponibilidade passageira) e permitem o armazenamento interno destas substâncias (pela presença de órgãos de reserva) (Oliveira & Sajo 1999; Ng & Hew 2000).

As raízes de plantas adaptadas ao ambiente epifítico assumem papel importante na aquisição de recursos. Isso porquê, primariamente, as raízes neste ambiente apresentavam função de fixação (Krauss 1948). No entanto, outros papéis que não somente fixação, como absorção (Proença & Sajo 2008), vem sendo associados à estratégias adaptativas em meio ao hábito epifítico, como em Bromeliaceae e Orchidaceae (Segecin & Scatena 2004). As raízes aéreas de plantas epífitas exibem características anatômicas adaptativas, e não só para absorção, mas também para armazenamento e retenção de água, embora tais caracteres não sejam exclusivos, e servem como caracteres deste agrupamento vegetal (Benzing 1990). Em geral, as raízes são constituídas por um estelo envolvido por endoderme, camada mais interna do

córtex. As múltiplas camadas de córtex são delimitadas por uma camada diferenciada, a exoderme. Por fim, o sistema de revestimento muitas vezes é composto de 1 a 20 camadas celulares que juntas formam o tecido denominado velame (Holtzmeier *et al.* 1998; Oliveira & Sajo 1999; Stern & Whitten 1999; Pires *et al.* 2003). Este tecido é definido como uma epiderme estratificada resultante de divisões periclinais das células protodérmicas (Engard 1944) e está presente em diversas famílias, como Orchidaceae, Araceae, Bromeliaceae e outras monocotiledôneas (Fahn 1990). O velame é formado por células mortas compactamente arranjadas, reforçadas com espessamentos parietais reticulados que podem conter muitos campos de pontoação primária (Pridgeon 1987).

Estudos sobre a absorção de água e nutrientes nas raízes velamentosas de orquídeas são escassos, sendo a cinética de absorção quantificada apenas em estudos recentes: em bromélias (Winkler & Zotz 2009) e em orquídeas (Zotz & Winkler 2013). Sabe-se que essa absorção está intimamente ligada à estrutura das raízes, tanto em nível morfológico quanto do ponto de vista ultraestrutural (Meijer & Murray 2001). Isso porque, muito embora o velame seja composto por células mortas com alta capacidade de retenção e absorção de água, acredita-se que as pectinas não só estejam presentes, mas também desempenhe papel importante no estabelecimento funcional das Orchidaceae epífitas. Tal premissa se baseia no fato de que dentre os componentes da parede celular, as pectinas apresentam grande capacidade de formação de géis e consequente de retenção de água, além de serem considerados polissacarídeos com estruturas complexas (Willats *et al.* 2000).

Os polímeros pécticos podem ser classificados em três principais domínios, homogalacturonanos (HGA), ramnogalacturonanos I (RG-I) presentes em grande proporção, e em quantidades relativamente menores, os ramnogalacturonanos II (RG-II) (Ridley *et al.* 2001; Willats *et al.* 2001). Os HGAs são homopolímeros de ácido (1-4)- α -linked-D-galacturônico que dependendo do grau de metil-esterificação podem fazer ligações cruzadas com cátions resultando na formação de géis e consequentemente aumentando a capacidade de retenção de água, ou ter a capacidade de formar géis sem requerer presença de Ca^{2+} resultando no enrijecimento da parede celular (Liu *et al.* 2013, Albersheim *et al.* 2011). Desta forma, avaliar o grau de metil-esterificação das pectinas nas células dos tecidos das raízes de orquídeas através de análises imunocitoquímica, pode gerar dados importantes sobre os diferentes papéis que cada componente da parede pode assumir frente a capacidade de absorção, retenção ou

transporte de água, dentre outros aspectos relacionados à aquisição de recursos nos tecidos.

Muitos estudos anatômicos com raízes de Bromeliaceae foram apresentados nos últimos 60 anos, buscando evidenciar estratégias adaptativas de seus representantes relacionadas ao hábito epifítico (Krauss 1949; Segecin & Scatena 2004; Proença & Sajo 2008; Silva & Scatena 2011). Para orquídeas, as primeiras revisões de anatomia de cunho puramente descritivo (Solereder & Meyer 1930) deram lugar à especulações do ponto de vista funcional dos caracteres anatômicos voltadas a reconhecer os aspectos adaptativos de seus representantes (Dressler 1981; Braga 1987; Scatena & Nunes 1996; Oliveira & Sajo 1999; Silva *et al.* 2006; Moreira *et al.* 2013). Mas, para raízes de Orchidaceae, são necessárias mais informações que possam contribuir com dados concretos da relação entre características anatômicas e a taxa de absorção de recursos, havendo poucos trabalhos com essa finalidade atualmente (Herrera *et al.* 2010; Moreaes *et al.* 2012; Moreira *et al.* 2013; Silva *et al.* 2015). Tendo em vista a carência de dados de cunho morfofisiológico para representantes de Orchidaceae, este estudo teve por objetivos (1) traçar uma correlação entre a caracterização anatômica das raízes de 18 *taxa* de orquídeas e a taxa de absorção de nutrientes; e (2) avaliar a estrutura da parede celular nas raízes de orquídeas, buscando compreender os mecanismos de absorção e transporte de água.

REFERÊNCIAS

- Albersheim P, Darvill A, Roberts K, Sederoff R, Staehelin A. 2011. Plant Cell Walls: From Chemistry to Biology. New York: Garland Science.
- Atwood JT. 1986. Two new species in the *Maxillaria rufescens* complex from Central America. *Lindleyana* 11: 27-33.
- Benzing DH. 1990. Vascular epiphytes. Cambridge: Cambridge University Press.
- Benzing DH, Friedman WE, Peterson G, Renfrow A. 1983. Shootlessness, velamentous roots and the preeminence of Orchidaceae in the epiphytic biotype. *American Journal of Botany* 70: 121–133.
- Black PM. 1973. Orquídeas. Rio de Janeiro, (eds.) Ao Livro Técnico S/A.
- Braga PIS. 1987. Orquídeas. *Biologia floral. Ciência Hoje* 5: 53-55.
- Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York.
- Dressler RL. 1981. The orchids: natural history and classification. Cambridge, Harvard University Press.
- Dressler, R. L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. England, Dioscorides Press, Portland, 312p.
- Engard CJ. 1944. Morphological identity of the velamen and exodermis in orchids. *Botanical Gazette* 105: 457-462.
- Fahn A. 1990. Plant Anatomy. Oxford, Pergamon Press.
- Herrera P, Sáez JP, Kottke I. 2010. Orchids keep the ascomycetes outside: a highly diverse group of ascomycetes colonizing the velamen of epiphytic orchids from a tropical mountain rainforest in Southern Ecuador. *Mycology: An International Journal on Fungal Biology* 4: 262-268.
- Holtzmeier MA, Stern WL, Judd WS. 1998. Comparative anatomy and systematics of Senghas's cushion species of *Maxillaria* (Orchidaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 127: 43-82.
- Joppa L N, Roberts DL, Primm SL. 2011. How many species of flowering plants are there? *Royal Society of Botany* 278: 554-559.
- Krauss BH. 1948. Anatomy of the vegetative organs of the Pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. *Botanical Gazette* 110: 159-217.
- Krauss BH. 1949. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. III – The root and the cork. *Botanical Gazette* 110: 550-587.

- Liu Q, Talbot M, Llevellyn DJ. 2013. Pectin methylesterase and Pectin remodeling differ in fiber walls of two *Gossypium* species with very different fibre properties. Plos One 8: 165-131.
- Meijer M, Murray JAH. 2001. Cells cycle controls and the development of plant form. Current Opinion in Plant Biology 4: 44-49.
- Moraes CP, Leal TS, Brescansin RL, Benelli AP, Sajo MG. 2012. Radicular anatomy of twelve representatives of the Catasetinae subtribe (Orchidaceae: Cymbidieae). Annals of the Brazilian Academy of Sciences 84(2): 455-467.
- Moreira ASFP, Lemos filho JP, Isaias RMS. 2013. Structural adaptations of two sympatric epiphytic orchids (Orchidaceae). Revista de Biologia Tropical 61: 1053-1065.
- Nadkarni NM. 1986. The nutritional effects of epiphytes on host trees with special references to alteration of precipitation chemistry. Selbyana 9: 44-55.
- Ng CKY, Hew CS. 2000. Orchids pseudobulbs - "false" bulbs with a genuine importance in orchid growth and survival? Scientia Horticulturae 83:165 -172.
- Oliveira VC, Sajo MG. 1999. Root anatomy of nine Orchidaceae species. Brazilian Archives of Biology and Technology 42(4): 405-413.
- Pabst GFJ, Dungs F. 1975. Orchidaceae Brasiliensis I. Hildesheim, Kurt Schmersow.
- Pires MFO, Semir J, Pinna GFAM, Felix LP. 2003. Taxonomic separation of the genera *Prosthechea* and *Encyclia* (Laeliinae: Orchidaceae) using leaf and root anatomical features. Botanical Journal of the Linnean Society 143: 293-303.
- Pridgeon AM. 1986. Anatomical adaptations in Orchidaceae. Lindleyana 1: 90-101.
- Pridgeon AM. 1987. The velamen and exodermis of orchid roots. In: ARDITTI, J. Orchid biology: reviews and perspectives IV. Ithaca, Cornell University Press, p. 139-192.
- Proença SL, Sajo MG. 2008. Rhizome and root anatomy of 14 species of Bromeliaceae. Rodriguésia 59(1): 113-128.
- Ridley B, O'neil MA, Mohnen D. 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. Phytochemistry 57: 929-967.
- Scatena VL, Nunes AC. 1996. Anatomia de *Pleurothallis rupestris* Lindl. (Orchidaceae) dos campos rupestres. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 15: 35-43.

- Segecin S, Scatena VL. 2004. Morfoanatomia de rizoma e raízes de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, PR, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 18: 253-260.
- Silva CI, Milaneze-Gutierrez MA. 2004. Caracterização morfo-anatômica dos órgãos vegetativos de *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae). *Acta Scientiarum* 26(1): 91-100.
- Silva IV, Meira RMSA, Azevedo AA, Euclides RMA. 2006. Estratégias anatômicas foliares de treze espécies de Orchidaceae ocorrentes em um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) - MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 20(3): 741-750.
- Silva IV, Scatena VL. 2011. Morfologia de sementes e de estádios iniciais de plântulas de espécies de Bromeliaceae da Amazônia. Seed morphology and early seedling stages in Bromeliaceae from the Amazon. *Rodriguésia* 62(2): 263-272.
- Silva IV, Oliveira RM, Rossi AAB, Silva AB, Oliveira DM. 2015. Use of anatomical root markers for species identification in *Catasetum* (Orchidaceae) at the Portal da Amazônia region, MT, Brazil. *Acta Amazonica* 45(1): 21 – 28.
- Solereder H, Meyer F. 1930. Systematische anatomie der Monokotyledonen. Berlin, Verlag von Gebrüder Borntraeger.
- Stern WL, Whitten WM. 1999. Comparative vegetative anatomy of Stanhopeinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 129: 87-103.
- Willats WGT, McCartney L, Mackie W, Knox JP. 2000. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology* 47: 9-27.
- Willats WGT, McCartney L, Mackie L, Knox P. 2001. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology* 47: 9-27.
- Winkler U, Zotz G. 2009. Highly efficient uptake of phosphorus in epiphytic bromeliads. *Annals of Botany* 103: 477-484.
- Zotz G, Hietz P. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52: 2067-2078.
- Zotz G, Winkler U. 2013. Aerial roots of epiphytic orchids: The velamen radicum and its role in water and nutrient uptake. *Oecologia* 171: 733-741.

CAPÍTULO 1

Investimento diferencial em tecidos radiculares de epífitas como estratégia para maximizar a absorção de água e nutrientes

Thais Arruda Costa Joca, Denis Coelho de Oliveira, Gerhard Zotz, Uwe Winkler, Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira



Investimento diferencial em tecidos radiculares de epífitas como estratégia para maximizar a absorção de água e nutrientes

Thais Arruda Costa Joca^{1,3}, Denis Coelho de Oliveira¹, Gerhard Zotz², Uwe Winkler^{2†}, Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biologia, Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil.

² Universidade de Oldenburg, Institute for Biology and Environmental Sciences, Oldenburg, Germany.

³ Autor para correspondência: thais_arrudacj@hotmail.com

RESUMO

Características do velame, do córtex e do cilindro vascular constituem estratégias estruturais eficientes para o fluxo de água e nutrientes em direção ao interior da raiz. Até o momento, estas características estruturais em epífitas foram discutidas sem nenhuma correlação entre si. Procuramos, assim, traçar uma correlação entre os caracteres anatômicos radiculares de 18 *taxa* de orquídeas epífitas e sua absorção de nutrientes (especificamente fósforo e rubídio). De forma geral, foram observadas duas estratégias distintas: maior área de velame (facilita o fluxo de água e nutrientes), ou maior área de cilindro vascular e córtex (compensa o menor investimento em velame com maior número de cordões de xilema e células de passagem da endoderme). A presença de células de passagem na endoderme e de diferentes tipos de espessamento de parede nas células corticais parecem ter importante papel no fluxo apoplástico e simplástico. A matriz péctica do velame, com caráter negativo, pode reter íons de carga positiva (como Rb^+), enquanto que um maior número de cordões de xilema alinhados com as células de passagem da endoderme seria responsável pela entrada destes íons ao cilindro vascular. Íons de carga negativa, como (PO^{4-}), permaneceriam livres e, apesar de necessitarem de transportadores e carregadores específicos, teriam mobilidade facilitada sem interação específica com caracteres estruturais nas raízes estudadas.

Palavras chave: Orchidaceae, área do velame, absorção de nutrientes.

ABSTRACT

Velamen, cortex and vascular cylinder features constitute efficient structures for water and nutrient flow into the roots. So far, these structural epiphyte characteristics have been discussed without any correlation. We trace a correlation between the root anatomical characters of 18 *taxa* of epiphytic orchids and the values their nutrients uptake (particularly phosphorus and rubidium). In general, we observed two different strategies: larger velamen area (to facilitate water and nutrients flow) or larger vascular cylinder and cortex area (to compensate the lower investment in velamen with higher number of xylem strands, and passage cells in endodermis). The presence of passage cells in endodermis and different types of thickness on cortical cell walls seems to play an important role in the apoplastic and symplastic flow. The velamen pectic matrix, with negative character, can retain positively charged ions (as Rb^+), while a larger number passage cells aligned with the xylem strands are responsible for input these ions into the vascular cylinder. Negatively charged ions, such as (PO_4^-) , remained free and, despite requiring specific carriers, they have facilitated mobility without a specific interaction with structural features in the studied roots.

Key words: Orchidaceae, velamen area, nutrient absorption.

INTRODUÇÃO

O ambiente epifítico impõe uma série de restrições às plantas, levando ao desenvolvimento de estruturas adaptativas, principalmente aquelas que maximizam o uso de água (Withner 1959; Benzing 1990; Zotz & Hietz 2001; Laube & Zotz 2003). Embora a disponibilidade de água e nutrientes seja esporádica e dependente de fontes atmosféricas (Kress 1986; Benzing 1990), espécies que crescem sobre árvores garantem um ambiente com maior oferta de luz (Tsavkelova *et al.* 2001). Sabe-se que aproximadamente 10% de todas as plantas vasculares são epífitas e grande parte destas pertencentes às Orchidaceae, que possui cerca de 72% de suas espécies com hábito epifítico (Rodrigues *et al.* 2013). Desta forma, o sucesso adaptativo deste grupo deve-se as estratégias anatômicas e fisiológicas que buscam compensar a falta de água e nutrientes, promovendo maior eficiência de absorção e utilização destes recursos quando disponíveis (Scatena & Nunes 1996).

Dentre as estratégias adaptativas das raízes de orquídeas, destaca-se a presença do velame (Zotz & Hietz 2001). O velame localiza-se externamente à exoderme, camada mais externa do córtex, e constitui uma epiderme múltipla composta de células mortas (Dycus & Knudson 1957). Inicialmente, Went (1940) propôs que o velame tivesse um papel primordial na captação e imobilização das soluções que chegam à raiz via chuva. Entretanto, para atingir 90% de saturação, o velame precisaria de duas horas exposto à essa condição (Dycus & Knudson 1957). Recentemente, a taxa de absorção de água e nutrientes (como fósforo e rubídio) pelo velame foi quantificada e se mostrou mais rápida e eficiente, com saturação ocorrendo em menos de 60 segundos (Zotz & Winkler 2013). Além da função de absorção de água, o velame também atua reduzindo a perda de água em momentos de baixa disponibilidade hídrica e confere proteção mecânica para a raiz (Dycus & Knudson 1957; Pridgeon 1987; Benzing 1996).

Internamente ao velame, o córtex apresenta células parenquimáticas de preenchimento que, nas Orchidaceae, podem apresentar diferentes tipos de espessamentos parietais, distinguindo-se em reticulado, uniforme ou em phi (Stern 1999; Stern & Judd 2001; Moreira *et al.* 2013). A exoderme e a endoderme (camadas externa e interna do córtex, respectivamente) delimitam o parênquima cortical nestas raízes, e a presença de endoderme e do periciclo atuam como camada limite entre o córtex e o cilindro vascular. Exoderme e endoderme são formadas por células que podem ser altamente lignificadas e mortas na maturidade, além de apresentar células de

passagem (que permanecem vivas) (Pridgeon 1987; Trepanier *et al.* 2008). As células lignificadas funcionam como uma barreira ao movimento de íons e outras substâncias através do apoplasto (Esnault *et al.* 1994; Ma & Peterson 2003), enquanto que as células de passagem são relacionadas ao ganho em eficiência de absorção (Peterson & Enstone 1996). Além de maximizar o transporte de água, as células de passagens selecionam diferentes tipos de solutos a serem transportados para o cilindro vascular (Peterson 1988). Este mecanismo de seleção permite o movimento simplástico entre o meio externo e o córtex, e por sua vez, do córtex ao estelo (Trepanier *et al.* 2008).

Considerando-se as funções atribuídas às células de passagem e ao velame encontradas na literatura, acreditamos que a maior taxa de absorção de nutrientes esteja relacionada com a espessura do velame e com o número de células de passagem (da endoderme e da exoderme). Em vista disso, procuramos uma correlação entre a taxa de absorção de nutrientes (especificamente fósforo e rubídio) com os caracteres anatômicos da raiz avaliados em 18 *taxa* de orquídeas epífitas.

MATERIAL E MÉTODOS

Indivíduos de *Bifrenaria harrissoniae* (Hook.) Rchb.f., *Catasetum planiceps* Lindl., *Cattleya skinneri* Bateman *alba*, *Caularthron bilamellatum* (Rchb.f.) R.E.Schult, *Dendrobium fimbriatum* Hooker, *Dendrobium nobile* Lindl. e *Dendrobium nobile* híbrida, *Dimerandra emarginata* (G.Mey.) Hoehne, *Doritis pulcherrima* Lindl., *Encyclia ghillanyi* Pabst, *Epidendrum ciliare* L., *Epidendrum nocturnum* Jacq., *Gongora unicolor* Schltr., *Miltonia bluntii* Rchb. f., *Phalaenopsis cornu-cervie* Blume & Rchb.f. e *Phalaenopsis* híbrida, *Oncidium* sp. e *Trichoglottis bipunctata* (C.S.P.Parish & Rchb.f.) Tang & F.T.Wang foram fornecidos pelo Jardim Botânico da Universidade de Marburg (Alemanha) e aclimatados em casa de vegetação na Universidade de Oldenburg (Alemanha), à temperatura de 26/20°C (dia/noite) e umidade relativa de 65%. Fragmentos de raízes aéreas maduras foram submetidos a testes de absorção de nutrientes (fósforo e rubídio) no Laboratório de Radioisótopos da Universidade de Oldenburg e posteriormente fixados em paraformaldeído 4% (Roland & Vian 1991). As análises anatômicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia e Desenvolvimento Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia, Brasil.

Experimentos de absorção de nutrientes

Para os testes de absorção de nutrientes, foram escolhidos fósforo e rubídio, visto que seus íons competem pela mesma membrana transportadora e, portanto, sua cinética de consumo geralmente é comparável (Lauchli & Epstein 1970). Para sua respectiva marcação, foram utilizados os radioisótopos de transportadores livres de ácido fosfórico ^{32}P (Hartmann Analytic, Alemanha), contendo 37 MBq em 100 μl de água (com atividade específica inicial de 5,5 MBq nmol^{-1} ^{32}P) e solução de $^{86}\text{RbCl}$ (Hartmann Analytic, Alemanha), com atividade inicial específica de 720 Mbq mg^{-1} Rb^+ .

Quatro segmentos de raízes de cada *taxa*, excisadas a 4 cm de comprimento, foram submergidas nas soluções de incubação em tubos de ensaio, e as taxas de absorção foram determinadas pela diminuição da radioatividade em alíquotas de 10 μl das soluções de incubação (com pH 6,1) após padronizar o volume do líquido, adicionando a solução não marcada ao volume inicial da incubação, misturando com pipetas de Pasteur. O velame foi removido logo acima da porção submersa para evitar a difusão neste tecido. É importante ressaltar que as concentrações às quais as raízes foram submergidas são semelhantes às concentrações reais encontradas na água de chuva e no escoamento pelo tronco das árvores em florestas tropicais (Benzing 2000).

A absorção acumulativa de fosfato e rubídio foi calculada a partir da diminuição da radioatividade na solução de incubação com um volume constante, de acordo com a equação: $\text{absorção (nmol)} = P_{\Sigma} - (dpm_{t0}/dpm_{t1} \times P_{\Sigma})$, onde P_{Σ} é a quantidade inicial de substrato na solução (nmol); dpm_{t0} é a taxa de contagem em 10 μl no início do período de absorção e dpm_{t1} a taxa de contagem em 10 μl ao fim do período de absorção. As taxas foram calculadas com base no comprimento da raiz (cm).

Análises estruturais

Para comparação anatômica das raízes, foram preparadas lâminas histológicas de cortes transversais obtidos à mão a 3 cm do ápice. O material foi clarificado em hipoclorito de sódio 50% (Kraus & Arduin 1997) e corado com solução de safranina alcoólica 1% e azul de astra 0,5% (1:9) (Bukatsch 1972, modificado). As lâminas foram montadas com gelatina glicerizada de Kaiser (Johansen 1940) e o material fotografado em microscópio de luz Leica[®] DM500 equipado com câmera digital Leica[®] ICC50 HD.

Para cada espécie, quatro indivíduos foram analisados (quando disponíveis – ver análise dos resultados). Para cada indivíduo, foram realizados 15 cortes transversais. O diâmetro (mm), o número de camadas, a espessura e área transversal ocupada pelo velame, e as áreas transversais do cilindro vascular e do córtex (mm²) foram mensuradas em três pontos diferentes de um mesmo corte (e retirada sua média), para calcular a porcentagem que o velame e os tecidos internos a ele ocupam da área total da secção transversal das raízes. O número total de células da exoderme e da endoderme, a espessura da parede celular das células exodérmicas e o número de células de passagem foram quantificados. Foi determinada a razão entre as células de passagem e as demais células componentes da endoderme e exoderme. Além disso, foi contado o número de cordões de xilema e floema. Para todas as contagens e medidas, foi utilizado o software IMAGE J 1.x (National Institute of Health, EUA).

Localização histoquímica de proteínas

A presença de proteínas foi utilizada para determinar as células e tecidos vivos. Secções transversais foram incubadas em solução de azul de bromofenol 1% por 10 a 15 minutos (Durrum 1950), lavadas em álcool 50% e montadas em água destilada e deionizada.

Análise dos resultados

Os dados estruturais foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), satisfazendo os padrões de normalidade e homogeneidade de variâncias. Para as espécies *Caularthron bilamellatum*, *Cattleya skinneri alba*, *Dendrobium fimbriatum*, *Epidendrum ciliare* e *M. bluntii*, havia material disponível de apenas um único indivíduo. Para *Phalaenopsis* híbrida, *G. unicolor* e *Trichoglottis bipunctata* havia apenas dois indivíduos disponíveis de cada *taxa*. Por essa razão, estas espécies foram comparadas apenas de forma qualitativa. Para as demais espécies, havia disponíveis quatro indivíduos de cada *taxa*.

Foi avaliada a correlação entre as variáveis mensuradas utilizando-se o teste de Pearson para dados paramétricos, considerando a probabilidade $P \leq 0,05$ para expressar que há relação entre duas características. O mesmo teste foi utilizado para comparar as características estruturais com as taxas de absorção de rubídio e fósforo.

Todos os testes foram realizados utilizando-se o programa SYSTAT 10.2 (SPSS 2000, San Francisco), considerando a probabilidade $P \leq 0,05$ para expressar diferenças significativas.

RESULTADOS

Análises da morfologia e anatomia radicular

As raízes dos 18 *taxa* analisados apresentaram estrutura similar (Fig. 1A), com velame formado por 3 a 11 camadas de células mortas (sem conteúdo proteico, detectado após incubação em solução de azul de bromofenol) e com diferentes padrões de espessamento parietal. No parênquima cortical, foram observadas células com espessamento reticulado (Fig. 1E), uniforme (Fig. 1F) ou em phi (Fig. 1G e H), apenas em algumas espécies ou variando dentro de um próprio *taxa*. Células com espessamento reticulado foram encontradas em *B. harrisoniae* apenas em uma das raízes de um único indivíduo, enquanto que as células com espessamento uniforme foram encontradas em todas as raízes dessa mesma espécie. *Cattleya skinneri alba* apresentou espessamento em phi bem pronunciado por todo o córtex em todas as raízes, enquanto que em *Catasetum planiceps*, este tipo de espessamento ocorreu apenas em três raízes das sete analisadas. Nesta espécie, algumas raízes apresentaram o espessamento em phi circundando todo o córtex, enquanto que em outras raízes, o espessamento em phi estava interrompido. Em *Encyclia ghillanyii*, espessamento em phi pouco pronunciado foi encontrado em apenas uma das raízes. Já em *Trichoglottis bipunctata*, o espessamento reticulado foi encontrado em todas as raízes. Em *Caularthron bilamellatum*, *Dendrobium fimbriatum*, *D. nobile* híbrida, *Dimerandra emarginata*, *Doritis pulcherrima*, *Epidendrum nocturnum*, *Gongora unicolor*, *Phalaenopsis cornucervie* e *Phalaenopsis híbrida*, não foi observado nenhum tipo de espessamento parietal no parênquima cortical (Tabela 1). Exoderme e a endoderme são formadas em sua maioria por células mortas, com paredes apresentando diferentes graus de espessamento, intercaladas por células de passagem (vivas) (Fig. 1B) e, delimitam o parênquima cortical. Os cordões de xilema e floema intercalados no cilindro vascular são imersos em células parenquimáticas que mostram processo de esclerificação centrípeta (Fig. 1C e D).

Algumas espécies apresentaram maior investimento em área de velame, enquanto outras apresentaram maior proporção de córtex e cilindro vascular em relação à área transversal da raiz. *B. harrisoniae* ($14,60 \pm 3,10 \text{ mm}^2$ de diâmetro), *P. cornu-cervie* ($19,95 \pm 4,81 \text{ mm}^2$) e *Phalaenopsis* híbrida ($26,29 \pm 3,03 \text{ mm}^2$) se destacaram pela maior área da raiz. Contudo, *B. harrisoniae* apresentou maior investimento em área do velame (63% da seção transversal da raiz, tabela 1), enquanto que *P. cornu-cervie* e *Phalaenopsis* híbrida exibiram maiores áreas de córtex e cilindro vascular (~90% da seção transversal da raiz). O maior investimento em velame observado em *B. harrisoniae*, também foi característico de *Caularthron bilamellatum*, *Catasetum planiceps*, *Cattleya skinneri alba*, *Dendrobium fimbriatum* (Fig. 2A), *Dendrobium nobile*, *D. nobile* híbrida, *Epidendrum ciliare*, *Encyclia ghillanyi*, *G. unicolor*, *M. bluntii*, *Oncidium* sp. e *T. bipunctata*, que apresentaram entre 52% (para *C. bilamellatum*) e 97% (para *C. planiceps*) da área de uma seção transversal das raízes ocupada por este tecido. Já em *P. cornu-cervie* (Fig. 2B) e *Phalaenopsis* híbrida, assim como em *Dimerandra emarginata*, *Doritis pulcherrima* e *Epidendrum nocturnum*, a área do córtex e do cilindro vascular representou entre 73% (em *Dimerandra emarginata*) e 90% (para *P. cornu-cervie*) da área total da raiz.

Em relação à razão do número de células de passagem por células espessadas da exoderme (Tabela 1), não houve diferenças significativas entre as espécies (valores entre 0,11 e 0,32). O mesmo foi observado quando comparada a razão do número de células de passagem por células espessadas da endoderme (valores entre 0,19 e 0,62), apesar de *Phalaenopsis* híbrida, *Doritis pulcherrima* e *P. cornu-cervie* apresentarem razões expressivamente menores de 0,19; 0,21 e 0,22 respectivamente, demonstrando haver muito mais células de passagem do que as demais espécies.

O espessamento de parede das células da endoderme foi em “O” para todos os *taxa* avaliados (Fig. 2C). As células da exoderme apresentaram espessamento da parede prevalentemente em “O”, com lume da célula muitas vezes reduzido, como evidenciado em *Cattleya skinneri alba*, *Caularthron bilamellatum*, *Dendrobium fimbriatum* (Fig. 2D), *Dendrobium nobile* e *Oncidium* sp. *Doritis pulcherrima*, *Epidendrum ciliare* (Fig. 2E), *Phalaenopsis* híbrida e *Epidendrum nocturnum* apresentaram células com as paredes periclinais externas e anticlinais mais espessas, formando espessamento em “U” invertido. O mesmo tipo de espessamento foi mantido em todos os cortes analisados do mesmo *taxa*. Quanto à espessura da parede celular da exoderme, foi possível

determinar dois grupos: (1) espécies com menor espessamento - variando entre $2,77 \pm 0,45 \mu\text{m}$ e $4,90 \pm 0,66 \mu\text{m}$ - como em *B. harrisoniae*, *Catasetum planiceps*, *Dimerandra emarginata*, *Dendrobium nobile*, *D. nobile* híbrida, *Doritis pulcherrima*, *E. ghillanyi* (Fig. 2F), *Epidendrum nocturnum*, *G. unicolor*, *M. bluntii*, *Oncidium* sp. e *P. cornucervie*; e (2) espécies com espessamento variando de $6,37 \pm 1,45 \mu\text{m}$ e $11,18 \pm 3,09 \mu\text{m}$, (*Caularthron bilamellatum*, *Cattleya skinneri alba*, *Dendrobium fimbriatum* (Fig. 2E), *Epidendrum ciliare*, *Phalaenopsis* híbrida e *T. bipunctata*).

Em relação ao número de cordões vasculares, a maioria das espécies apresentou de $7,17 \pm 0,23$ (em *G. unicolor*) a $14,4 \pm 5,02$ (em *C.bilamellatum*) cordões de protoxilema. No entanto, *B. harrisoniae*, *Encyclia ghillanyi* e *Phalaenopsis* híbrida foram exceções ($18,89 \pm 0,84$; $18,0 \pm 1,0$; $22,17 \pm 1,18$, respectivamente) e destacaram-se quanto ao investimento nessa estrutura.

Tabela 1. Características estruturais da raiz para 18 *taxa* de orquídeas epífitas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>Bifrenaria harrisoniae</i>	4,3 ± 0,5	14,6 ± 3,0	8,0 ± 0,5	853,0 ± 147	9,2 ± 2,4	1018,2 ± 95,3	5,4 ± 1,0	18,9 ± 0,8	200,2 ± 4,0	51,1 ± 4,0	0,26	O	126,6 ± 15,6	50,6 ± 7,5	0,40	O	2,84 ± 0,1	ret;
<i>Catasetum planiceps</i>	2,8 ± 0,4	6,9 ± 1,5	11,1 ± 0,6	921,8 ± 61	6,7 ± 2,0	712,8 ± 42,2	1,1 ± 0,5	11,4 ± 0,5	134,5 ± 6,5	25,0 ± 0,7	0,19	O	78,4 ± 5,6	48,6 ± 0,3	0,62	O	2,77 ± 0,4	unif
<i>Cattleya skinneri alba</i>	2,1 ± 0,08	3,5 ± 0,3	5,5 ± 0,3	503,6 ± 94	2,5 ± 0,4	567,8 ± 58,3	1,0 ± 0,4	13,5 ± 0,6	182,2 ± 18,3	38,0 ± 3,8	0,21	O	88,8 ± 4,3	35,6 ± 4,4	0,40	O	8,29 ± 1,3	ret;
<i>Caularthron belamellatum</i>	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,6	5,2 ± 0,8	248,8 ± 79	0,9 ± 0,2	297,4 ± 65,6	0,71 ± 0,6	14,4 ± 5,0	121,2 ± 13,9	29,3 ± 6,4	0,24	O	82,2 ± 21,1	38,3 ± 9,4	0,47	O	10,09 ± 1,7	phi
<i>Dendrobium fimbriatum</i>	2,2 ± 0,1	3,7 ± 0,5	10,1 ± 0,6	525,8 ± 47	2,7 ± 0,3	305,1 ± 16,0	1,0 ± 0,2	15,2 ± 0,8	165,5 ± 8,4	19,0 ± 5,3	0,11	O	108,9 ± 6,3	48,2 ± 3,3	0,44	O	6,77 ± 1,7	-
<i>Dendrobium nobile</i>	1,8 ± 0,9	2,5 ± 0,2	6,9 ± 0,6	463,4 ± 28	1,9 ± 0,2	324,7 ± 6,6	0,6 ± 0,1	9,5 ± 0,9	153,1 ± 12,3	31,5 ± 6,1	0,21	O	81,0 ± 7,6	32,8 ± 2,8	0,41	O	4,77 ± 0,4	unif
<i>Dendrobium nobile híbrida</i>	1,6 ± 0,3	2,1 ± 0,6	7,4 ± 0,2	409,9 ± 89	1,6 ± 0,5	301,6 ± 20,7	0,5 ± 0,1	9,2 ± 0,9	150,4 ± 19,8	36,8 ± 2,4	0,25	O	78,9 ± 7,4	31,2 ± 3,11	0,40	O	4,90 ± 0,7	-
<i>Dimerandra emarginata</i>	2,7 ± 0,2	6,0 ± 1,1	3,9 ± 0,4	198,8 ± 33	1,6 ± 0,4	1123,8 ± 92,8	4,4 ± 0,7	11,3 ± 3,0	196,6 ± 16,3	45,5 ± 5,4	0,23	O	73,9 ± 11,7	20,8 ± 6,4	0,28	O	4,58 ± 0,4	-
<i>Doritis pulcherrima</i>	2,4 ± 0,1	4,5 ± 0,5	3,1 ± 0,1	123,4 ± 6	0,9 ± 0,04	1309,0 ± 127,2	3,6 ± 0,5	7,6 ± 0,1	194,0 ± 14,6	46,9 ± 3,4	0,24	U	55,1 ± 2,6	11,6 ± 0,3	0,21	O	4,31 ± 0,5	-
<i>Encyclia ghillanyi</i>	1,3 ± 0,09	1,5 ± 0,2	6,5 ± 0,3	282,6 ± 43	0,9 ± 0,9	282,8 ± 48,1	0,5 ± 0,1	10,8 ± 0,5	90,4 ± 2,9	24,1 ± 1,2	0,27	O	73,5 ± 1,7	30,3 ± 1,5	0,41	O	2,94 ± 0,1	phi
<i>Epidendrum ciliare</i>	2,4 ± 0,5	4,7 ± 1,9	5,4 ± 0,7	410,5 ± 80	2,6 ± 0,9	730,6 ± 135,2	2,1 ± 1,2	18,0 ± 1,0	225,2 ± 50,2	47,6 ± 14,9	0,21	U	105,2 ± 17,2	40,4 ± 11,2	0,38		11,18 ± 3,1	-
<i>Epidendrum nocturnum</i>	3,1 ± 0,2	7,5 ± 0,8	4,0 ± 0,2	212,0 ± 24	1,9 ± 0,2	1174,3 ± 84,7	5,5 ± 0,6	12,0 ± 0,7	219,4 ± 26,0	54,5 ± 3,6	0,25	U	94,5 ± 12,5	27,3 ± 1,9	0,29	O	4,79 ± 0,4	-
<i>Gongora unicolor</i>	1,2 ± 0,08	1,1 ± 0,2	6,2 ± 0,5	303,7 ± 18	0,8 ± 0,04	239,7 ± 14,1	0,3 ± 0,1	7,2 ± 0,2	60,8 ± 0,5	19,3 ± 0,6	0,32	O	47,5 ± 0,2	19,1 ± 0,9	0,40	O	2,91 ± 0,2	-
<i>Miltonia bluntii</i>	2,4 ± 0,2	1,1 ± 0,3	7,3 ± 1,6	321,1 ± 78	0,8 ± 0,2	183,5 ± 25,4	0,3 ± 0,2	7,4 ± 1,6	66,1 ± 10,9	18,8 ± 3,1	0,29	O	60,5 ± 9,4	19,3 ± 4,2	0,32	O	4,22 ± 1,0	unif
<i>Phalaenopsis cornu-cervie</i>	4,5 ± 0,7	20,0 ± 4,8	3,1 ± 0,07	134,4 ± 13	2,1 ± 0,4	1961,3 ± 238,0	17,9 ± 4,4	13,2 ± 1,8	294,7 ± 62,5	69,4 ± 5,0	0,24	O	92,6 ± 23,1	20,0 ± 3,3	0,22	O	4,38 ± 0,1	-
<i>Phalaenopsis híbrida</i>	5,8 ± 0,3	26,3 ± 3,0	3,1 ± 0,01	169,1 ± 2	3,0 ± 0,2	2282,1 ± 242,6	23,3 ± 2,8	22,2 ± 1,2	404,3 ± 24,1	112,1 ± 2,6	0,28	U	142,7 ± 6,5	27,4 ± 1,7	0,19	O	9,15 ± 0,1	-
<i>Oncidium sp.</i>	1,5 ± 0,3	1,2 ± 0,2	7,0 ± 0,3	403,9 ± 51	1,0 ± 0,09	198,5 ± 7,1	0,2 ± 0,2	8,0 ± 1,8	76,3 ± 23,3	22,2 ± 5,0	0,30	O	59,5 ± 9,7	19,6 ± 5,7	0,33	O	3,40 ± 0,6	unif
<i>Trichoglottis bipunctata</i>	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,4	6,8 ± 0,3	297,5 ± 42	1,0 ± 0,3	325,5 ± 46,2	0,5 ± 0,1	10,2 ± 0,9	132,8 ± 13,3	31,0 ± 1,5	0,23	O	70,5 ± 8,1	25,3 ± 3,0	0,36	O	6,37 ± 1,4	ret

1. Diâmetro da raiz (mm); 2. Área transversal da raiz (mm²); 3. Número de camadas do velame; 4. Espessura do velame (µm); 5. Área transversal do velame (mm²); 6. Espessura do córtex (µm); 7. Área transversal do cilindro vascular + córtex (mm²); 8. Número de cordões de xilema; 9. Número de células lignificadas da exoderme; 10. Número de células de passagem da exoderme; 11. Razão entre o número de células de passagem e células totais da exoderme; 12. Tipo de espessamento de parede das células da exoderme (em “O” ou em “U” invertido); 13. Número de células lignificadas da endoderme; 14. Número de células de passagem da endoderme; 15. Razão entre o número de células de passagem e células totais da endoderme; 16. Tipo de espessamento de parede das células da endoderme; 17. Espessura da parede celular das células da exoderme; 18. Tipo de espessamento de parede das células do parênquima cortical (ret) reticulado, (unif) uniforme ou (phi) em phi.

Análises de correlação entre as características anatômicas e a taxa de absorção de Rb e P

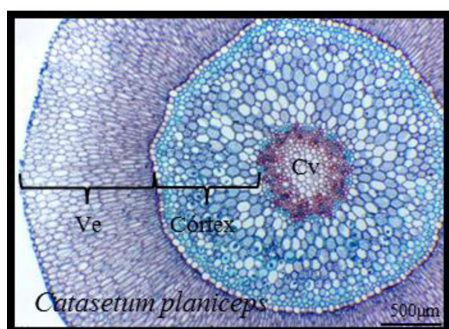
As análises histométricas demonstraram correlação positiva entre algumas características (Tabela 2). Dentre estas, destaca-se a correlação entre a área da raiz em seção transversal (e o diâmetro da raiz, uma vez que a área foi calculada a partir do diâmetro) com a área ocupada pelo cilindro vascular e córtex ($r = 0,96$, $p = 0,0$), com o número de cordões de protoxilema ($r = 0,70$, $p = 0,001$) e, com o número de células de passagem da exoderme ($r = 0,90$, $p = 0,00$). Características do velame como; a área ocupada em seção transversal, o número de camadas celulares e a sua espessura, por sua vez, apresentaram correlação positiva significativa e alta explicação com os caracteres ligados ao transporte de água no interior da raiz (como o número de cordões de protoxilema e o número de células de passagem da endoderme). Em contrapartida, o número de células de passagem da exoderme apresenta correlação negativa com número de camadas do velame ($r = -0,64$, $p = 0,00$). O número de camadas do velame também apresentou correlação negativa com a área ocupada pelo cilindro vascular e córtex ($r = -0,56$, $p = 0,02$), a espessura do córtex ($r = -0,63$, $p = 0,00$) e a espessura da parede celular da exoderme ($r = -0,29$, $p = 0,00$).

A espessura do córtex possui correlação positiva com o número de cordões de protoxilema ($r = 0,54$, $p = 0,02$) e com o número de células de passagem da exoderme ($r = 0,93$, $p = 0,00$). Quando se analisa o número de cordões de protoxilema três correlações positivas são relevantes; quanto maior o número destes cordões vasculares, maior foi o número de células de passagem da exoderme ($r = 0,67$, $p = 0,00$), o número de células de passagem da endoderme ($r = 0,57$, $p = 0,01$) e a espessura da parede celular das células exodérmicas ($r = 0,59$, $p = 0,01$).

Foram encontradas correlações significativas entre as taxas de absorção de rubídio e a área do velame em seção transversal ($r^2 = 0,328$, $p = 0,013$), com o número de cordões vasculares ($r^2 = 0,278$, $p = 0,024$) e com o número de células de passagem da endoderme ($r^2 = 0,215$, $p = 0,052$) (Fig. 3). Não foi observada correlação entre as variáveis anatômicas e as taxas de absorção de fósforo.

Tabela 2. Coeficientes de correlação simples de Pearson entre os caracteres anatômicos obtidos através de dados histométricos de raízes de 18 *taxa* de Orchidaceae. As medidas foram realizadas em 15 cortes transversais de cada indivíduo disponível de cada táxon. Os dados representam a correlação entre as médias.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
-	0.97*	0.51*	0.90*	-0.34 ^{ns}	-0.01	0.90*	0.69*	0.86*	0.87*	0.74*	0.09 ^{ns}	0.10 ^{ns}	1
	-	0.44 ^{ns}	0.96*	-0.39 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	0.91*	0.70*	0.88*	0.90*	0.74*	0.06 ^{ns}	0.12 ^{ns}	2
		-	0.16 ^{ns}	0.44 ^{ns}	0.81*	0.24 ^{ns}	0.53*	0.26 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.57*	0.71*	-0.18 ^{ns}	3
			-	-0.56*	-0.35 ^{ns}	0.93*	0.59*	0.89*	0.93*	0.62*	-0.17 ^{ns}	0.19	4
				-	0.83	-0.63*	-0.12 ^{ns}	-0.54*	-0.64*	-0.06 ^{ns}	0.64*	-0.29*	5
						-0.31 ^{ns}	0.18 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	-0.33 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.79*	-0.23 ^{ns}	6
						-	0.54*	0.91*	0.93	0.55*	-0.18 ^{ns}	0.13 ^{ns}	7
							-	0.74*	0.67*	0.95*	0.57*	0.59*	8
								-	0.95*	0.77*	0.05 ^{ns}	0.42 ^{ns}	9
									-	0.69*	-0.11 ^{ns}	0.33 ^{ns}	10
										-	0.58*	0.46 ^{ns}	11
											-	0.24 ^{ns}	12
												-	13



1. Diâmetro da raiz; 2. Área transversal da raiz; 3. Área transversal do velame; 4. Área transversal do cilindro vascular + córtex; 5. Número de camadas do velame; 6. Espessura do velame; 7. Espessura do córtex; 8. Número de cordões de xilema; 9. Número de células lignificadas da exoderme; 10. Número de células de passagem da exoderme; 11. Número de células lignificadas da endoderme; 12. Número de células de passagem da endoderme; 13. Espessura da parede celular das células da exoderme. * Correlação significativa a 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo.

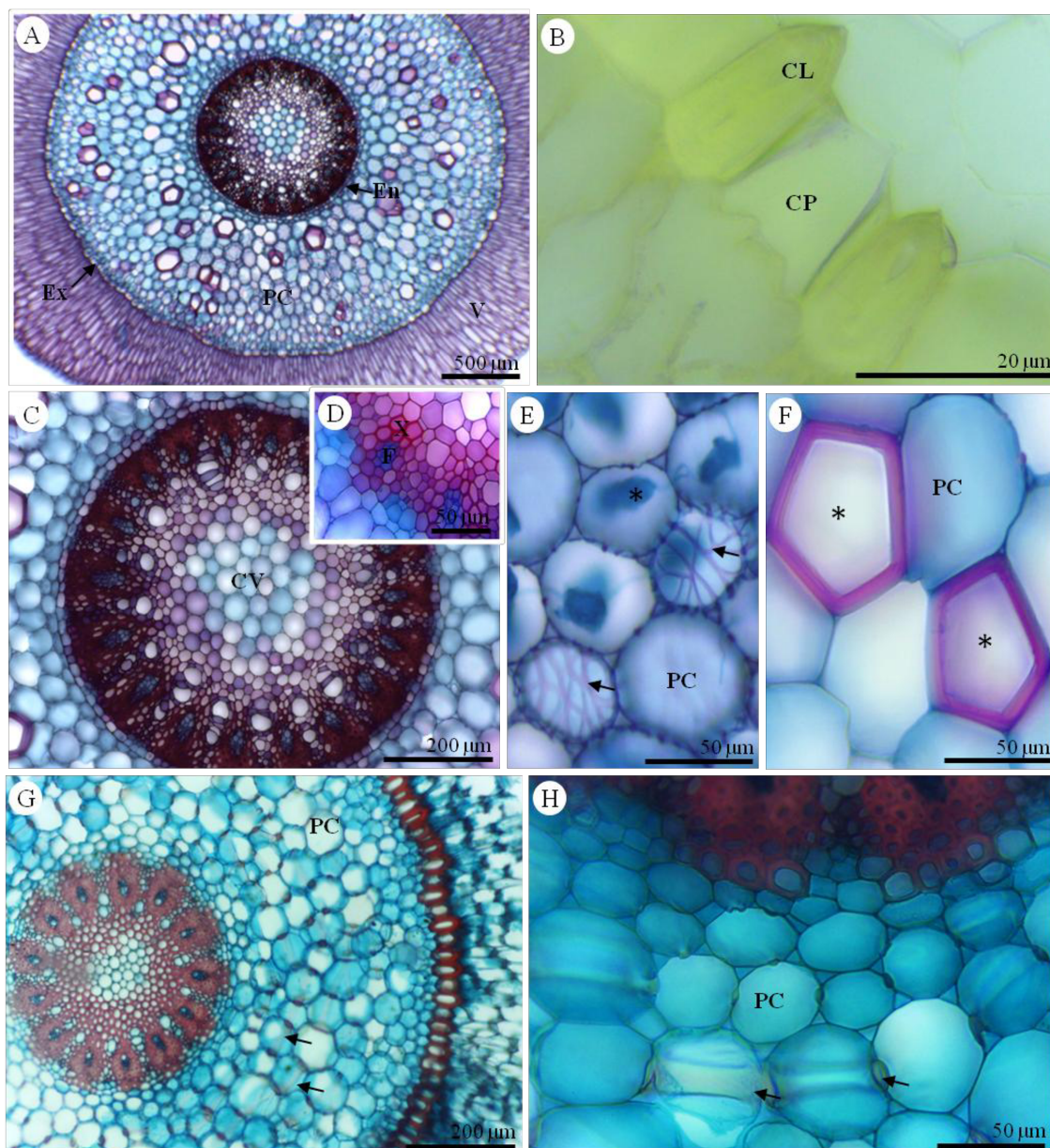


Figura 1. Secções transversais das raízes de Orchidaceae. A) *Bifrenaria harrisoniae*, visão geral do corte transversal de raiz, evidenciando velame, exoderme e endoderme delimitando o parênquima cortical e o cilindro vascular. B) *Caularthron bilamellatum*, detalhe de uma célula de passagem da exoderme viva evidenciando protoplasto com conteúdo proteico e célula lignificada da exoderme, apresentando alto espessamento de parede e lúmen reduzido. C) *Bifrenaria harrisoniae*, cilindro vascular com cordões de xilema e floema intercalados e processo de esclerificação centrípeta do parênquima medular. D) *Catasetum planiceps*, detalhe do cilindro vascular. E) *Catasetum planiceps*, detalhe de células corticais com espessamento reticulado (setas) e micorrizas (*). F) *Bifrenaria harrisoniae*, detalhe de células corticais com espessamento uniforme (*). G e H) *Cattleya skinneri alba*, (G) distribuição e (H) detalhe do espessamento em phi (setas) no parênquima cortical. CL= célula lignificada; CP= célula de passagem; En = endoderme; Ex = exoderme; F = floema; PC = parênquima cortical; X= xilema; V= velame.

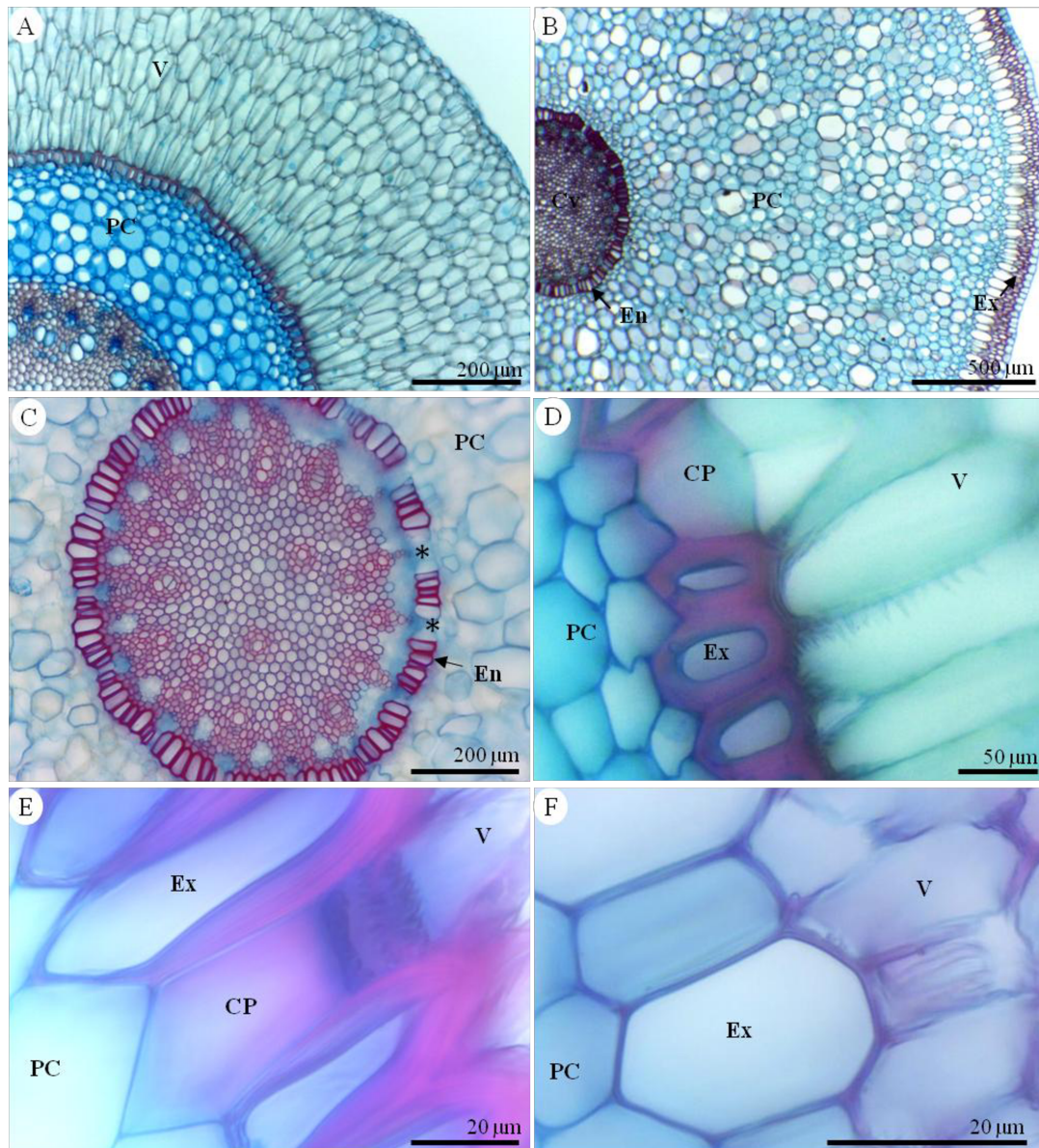


Figura 2. Secções transversais das raízes de Orchidaceae. A) *Dendrobium fimbriatum*, vista geral evidenciando maior área correspondente ao velame. B) *Phalaenopsis cornu-cervie*, vista geral de corte transversal de raiz, evidenciando maior área correspondente ao córtex e cilindro vascular. C) *Phalaenopsis cornu-cervie*, espessamento de parede em “O” nas células da endoderme e células de passagem (*). D) *Dendrobium fimbriatum*, espessamento de parede em “O” nas células da exoderme e células de passagem. E) *Epidendrum ciliare*, espessamento de parede em “U” invertido nas células da exoderme, células de passagem. F) *Encyclia ghillanyi*, com espessamento da parede delgado e em “O” nas células da exoderme. CP = célula de passagem; CV = cilindro vascular; En = endoderme; Ex = exoderme; PC= parênquima cortical; V = velame.

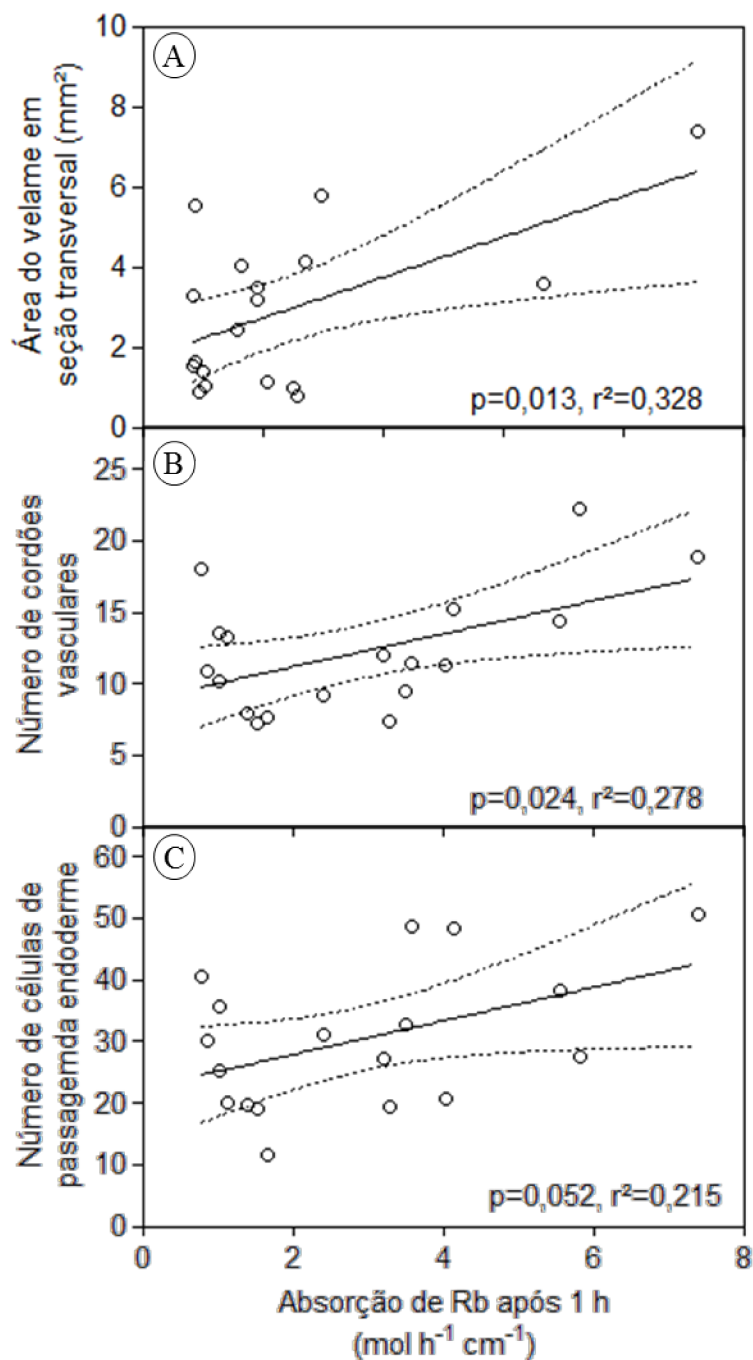


Figura 3. Correlações de Pearson realizada entre as taxas de absorção de rubídio e caracteres anatômicos. A) Área do velame em seção transversal. B) Número de cordões vasculares. C) Número de células de passagem da endoderme. Foi considerada a probabilidade $P \leq 0,05$ para expressar que há relação entre duas características.

DISCUSSÃO

Anatomia estrutural e funcional da raiz

Os *taxa* estudados parecem investir em dois caminhos distintos para garantir a eficiência na absorção de água: maior proporção de velame ou maiores áreas de cilindro vascular e córtex. Funcionalmente, o velame é tido como facilitador na absorção de água, barreira à perda de água e capaz de conferir resistência mecânica (Dycus & Knudson 1957; Benzing *et al.* 1982). Contudo, a análise da relação entre o velame e as diferentes camadas do córtex e cilindro vascular ajuda a compreender quais estratégias estruturais são mais eficientes para maximizar o fluxo de água no interior da raiz. Até o momento, características estruturais da raiz são discutidas de forma independente, sem nenhuma correlação entre si (Peterson & Enstone 1996; Moreira & Isaias 2008). Nos *taxa* avaliados, há uma correlação positiva, com alta explicação, entre o número de cordões vasculares e o diâmetro da raiz. A correlação entre o número de cordões vasculares e a área do velame foi significativa, porém, com baixa explicação. Estes resultados indicam que os *taxa* com menor área do velame, como *B. harrisoniae*, *Epidendrum Ciliare* e *Phalaenopsis* híbrida compensam esta menor área para absorção de água via velame apresentando maior número de cordões de xilema. Assim, haveria nestas espécies um aumento na eficiência no transporte de água e solutos para o restante da planta.

Uma vez que as células do velame estão mortas na maturidade, o transporte de água e nutrientes neste tecido ocorre de forma passiva (Pita & Menezes 2002). Neste caso, os espessamentos parietais (observados em todas as espécies estudadas, porém muito evidentes em *B. harrisoniae*, *C. planiceps*, *Dendrobium nobile* e *D. nobile* híbrida) podem atuar como facilitadores ao fluxo de água e nutrientes. O número de camadas de células no velame está fortemente correlacionado com a área deste tecido ($r=0,83$, $p=0,00$). As orquídeas podem apresentar de uma a 18 camadas de células no velame (Solereder & Meyer 1928; Engard 1944; Dycus & Knudson 1957), com variações particulares dentro de uma mesma espécie (número de camadas celulares, taxa de maturação e tamanho celular, ou padrões de espessamento parietal). Estas variações ocorrem devido às condições ambientais nas quais a planta está inserida ou a fatores genéticos intrínsecos (Dycus & Knudson 1957; Benzing *et al.* 1982). Os espessamentos parietais do velame podem ainda prover maior suporte mecânico (Noel 1974), impedir o

colapso das células durante período de seca (Pridgeon 1987), e, ainda, serem utilizados como um importante caráter taxonômico (Porembski & Barthlott 1988).

O investimento em área ocupada pelo córtex e cilindro vascular implica diretamente no número de células lignificadas e de células de passagem da exoderme e da endoderme. As células lignificadas da exoderme assumem o papel de barreira apoplástica, reduzem a transpiração da raiz e em conjunto com o velame, oferecem proteção mecânica e dificultam o retorno da água do córtex para o meio externo (Sanford & Adalawo 1973; Benzing *et al.* 1982; Ma & Peterson 2003). Tanto o espessamento tipo “O”, quanto o tipo “U” invertido tem o início de seu desenvolvimento com a deposição de suberina, celulose e em seguida lignina (Ma & Peterson 2003). A deposição de lignina, muitas vezes pode dificultar a comunicação das células endodérmicas ou exodérmicas com as demais, reduzindo de forma intensa o lume destas células elevando à sua morte, como pôde ser observado em *Dimerandra emarginata*, *Dendrobium nobile*, *D. nobile* híbrida, *Doritis pulcherrima*, *Epidendrum nocturnum* e *P. cornu-cervie*.

A epiderme nas raízes está em contato direto com o solo e parece ter importante papel seletivo na absorção de água e nutrientes (Barberon & Geldner 2014). Entretanto, a constituição do velame por células mortas inviabiliza sua função seletiva, podendo esta ser transferida às células de passagem da exoderme que forçam, então, um caminho simplástico de entrada na raiz. Na endoderme, as células de passagem estão geralmente alinhadas com os polos de protoxilema, intensificando de forma eficiente o fluxo de água (Peterson & Enstone 1996; Moreira & Isaias 2008). Sendo assim, o maior número de células de passagem na endoderme seria uma estratégia para aumentar o influxo de água para a planta. Mesmo que a raiz não imobilize temporariamente grande quantidade de fluídos, por apresentar pouca área de velame, a passagem do que foi absorvido será mais rápida e altamente acessível aos cordões vasculares. Além disso, quanto mais cordões de xilema estiverem presentes, mais rápido a água e os nutrientes serão distribuídos pelo corpo da planta e melhor será o aproveitamento dos recursos que chegam até ali. É interessante notar que há correlação positiva entre área do velame e o diâmetro da raiz, tendo correlação muito maior com as áreas ocupadas pelo cilindro vascular e córtex, com o número de cordões vasculares e o número de células de passagem, indicando alta eficiência para o transporte de água após sua entrada na raiz.

A presença de diferentes tipos de espessamentos de parede no córtex foi, por muito tempo, relacionada ao suporte mecânico (durante a dissecação) e retenção de água (Haberlandt 1914; Olantunji & Nengrim 1980). Dentre estes, o espessamento em phi é constituído de celulose e lignina (e pouca ou nenhuma suberina) (Wilcox 1962), impregnadas ao redor da parede celular. Nas espécies estudadas, o espessamento em phi localizou-se nas camadas parenquimáticas medianas do córtex, particularidade do espessamento em phi tipo III na classificação proposta por Van Tieghem (1888). Apesar de sua semelhança às estrias de Caspary, o espessamento em phi não forma uma barreira apoplástica efetiva (Pires *et al.* 2003). A permeabilidade do espessamento em phi foi comprovada em diversas espécies de dicotiledôneas (Perumalla *et al.* 1990) e em *Zea mays* (Degenhardt & Gimler 2000). Estudos com *Brassica oleraceae* cultivadas em ambientes com alta salinidade demonstram seletividade efetiva para o movimento de íons (Fernandez-Garcia *et al.* 2009). Entretanto, a descontinuidade destes espessamentos torna-os ineficientes como barreira apoplástica, reforçando sua função como suporte mecânico (Melo 2011) e resistência às pressões exercidas por outras células em expansão (Passioura 1988). Outra função do espessamento em phi seria impedir a entrada de agentes biológicos em direção ao cilindro central, porém não foram realizados estudos de correlação da barreira mecânica e invasão de fungos (Massicotte *et al.* 1988), e também não foi verificada em nosso estudo nenhuma relação na localização das micorrizas e ocorrência deste tipo de espessamento.

Inversamente ao espessamento em phi, os espessamentos reticulados (encontrados em *B. harrisoniae*, *Caularthron bilamellatum*, *Catasetum planiceps* e *Trichoglottis bipunctata*) e uniformes (encontrado em *B. harrisoniae*) podem auxiliar no movimento de substâncias para o cilindro vascular, contribuindo para o fluxo apoplástico (Stern & Judd 2001), ou mesmo para o suporte mecânico do parênquima cortical.

Absorção de nutrientes e sua relação com a estrutura da raiz

Nas raízes de orquídeas, o fluxo para entrada de água e nutrientes assume uma rota apoplástica do velame até a exoderme, quando seu desvio para a rota simplástica nas células de passagem torna-se obrigatório. No parênquima cortical, o fluxo pode retornar ao apoplasto até que encontre uma nova barreira, a endoderme. Neste local, a água e nutrientes voltam ao simplasto até sua entrada no cilindro vascular. A rota apoplástica constitui um caminho para o fluxo de massa e a difusão de água e nutrientes

via espaços intercelulares e parede celular. A parede celular consiste primariamente em uma cadeia de celulose, hemicelulose e glicoproteínas, na qual uma matriz de pectina age como moderadora de troca catiônica. Os monômeros de ácido galacturônico das pectinas contêm grupos carboxílicos (COO^-) com carga naturalmente negativa e funcionam como agentes de troca catiônica. Desta forma, esses monômeros agem como acumuladores naturais de cátions no apoplasto, enquanto que os ânions são repelidos (Barberon & Geldner 2014). Para a entrada dos nutrientes no simplasto, em algum momento, eles devem utilizar carregadores e transportadores específicos da membrana plasmática (Barberon & Geldner 2014).

O rubídio é comumente utilizado como análogo do potássio por conter uma base estrutural compatível com a seletividade dos canais de potássio, de forma que o íon Rb^+ apresenta tamanho e características de permeabilidade similares ao íon K^+ (Gierth & Mäser 2007; Doyle *et al.* 1998). A carga positiva destes íons sugere sua alta afinidade pela parede celular (pectinas - COO^-) de forma que a saturação do velame (alta constituição pectica da parede, Capítulo 2) pode ter contribuído para a correlação significativa entre o velame e as taxas de absorção de Rb^+ . Quando o velame encontra-se saturado, o número de células de passagem da exoderme deixa de ser limitante e os transportadores e canais específicos garantem o transporte transcelular e a entrada no simplasto via exoderme no córtex radicular. Por sua vez, a endoderme e os cordões vasculares assumem o papel no bombeamento do íon que flui em sentido ao cilindro vascular. Neste caso, o parênquima cortical pode não se apresentar saturado como o velame, de forma que as células de passagem da endoderme (alinhadas com os cordões de xilema) seriam limitantes ao transporte deste íon.

O Fósforo é absorvido nas plantas por processo ativo mediado por proteínas transportadoras específicas (Santner *et al.* 2012). O PO_4^{4-} é um íon considerado de livre acesso às raízes quando prontamente disponível em soluções nutritivas, uma vez que apresenta carga negativa e não há restrições ao seu transporte para o interior das células (Santner *et al.* 2012). Talvez estas duas características tenham contribuído para a não correlação entre as características anatômicas e a taxa de transporte do radioisótopo de fósforo.

Conclusões

Além do velame, que já é citado frequentemente na literatura como uma estrutura importante do ponto de vista funcional para epífitas (principalmente quando relacionada à absorção e retenção de água e nutrientes), fica evidente que outros tecidos assumem papel tão importante quanto, quando não há investimento expressivo em constituição velamentosa. Isso revela que estratégias distintas podem ser adotadas para Orchidaceae epífitas, apresentando desde maior investimento em cordões de protoxilema e células de passagem da endoderme, até espessamentos específicos no parênquima cortical que facilitam e auxiliam no fluxo apoplástico e simplástico desses recursos. Quando se correlaciona a constituição péctica detectada no velame com a absorção de nutrientes (em especial rubídio e fósforo), assume-se neste trabalho que a passagem de água e nutrientes pelo velame não ocorre com fluxo livre, pois considerando a composição péctica e sua carga negativa, partimos do princípio que há uma retenção e consequente liberação gradual destas substâncias (especialmente cátions). Novas ideias surgem a partir dessa afirmação, no qual outros *taxa* de outras famílias de hábito epifítico devem ser submetidas a testes de absorção, podendo variar os íons investigados e/ou estabelecendo uma formulação nutritiva composta que possa oferecer mais dados frente a essa nova perspectiva.

REFERÊNCIAS

- Arditti J. 1992. Fundamentals of orchid biology. New York, NY, John Wiley & Sons.
- Barberon M, Geldner N. 2014. Radial transport of nutrients: the plant root as a polarized epithelium. *Plant Physiology* 166: 528-537.
- Benzing DH. 1990. Vascular epiphytes. General biology and related biota. Cambridge, Cambridge University Press. p.354.
- Benzing DH. 1996. Aerial roots and their environments. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds) *Plant roots: the hidden half*. Marcel Dekker, New York 875-894.
- Benzing DH. 2000. *Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Benzing DH, Friedman WE, Peterson G, Renfrow A. 1982. Shootlessness, velamentous roots and the preeminence of Orchidaceae in the epiphytic biotype. *American Journal of Botany* 70: 121-133.
- Bukatsch F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung: Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos* 61: 255.
- Cameron, DD, Johnson I, Read DJ, Leake JR. 2008. Giving and receiving: measuring the carbon cost of mycorrhizas in the green orchid, *Goodyera repens*. *New Phytologist* 180: 176-184.
- Degenhardt B, Gimmler H. 2000. Cell wall adaptation to multiple environmental stress in maize roots. *Journal of Experimental Botany* 51: 595-603.
- Doyle DA, Morais CJ, Pfuetzner RA, Kuo A, Gulbis JM, Cohen SL, Chait BT, MacKinnon R. 1998. The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science* 280: 69-77.
- Durum EL. 1950. A microelectrophoretic and microionophoretic technique. *Journal of the American Chemical Society* 72: 2493-2498.
- Dycus AM, Knudson L. 1957. The role of the velamen of the aerial roots of orchids. *Botanical Gazette* 119: 78-87.
- Engard CJ. 1944. Morphological identity of the velamen and exodermis in orchids. *Botanical Gazette* 105: 457-462.

- Esnault AL, Masuhara G, McGee PA. 1994. Involvement of the exodermal passage cells in mycorrhizal infection of some orchids. *Mycological Research* 98: 672-676.
- Fernandez-Garcia N, Lopez-Perez L, Hernandez M, Olmos E. 2009. Role of phi cells and the endodermis under salt stress in *Brassica oleracea*. *New Phytologist* 181: 347-360.
- Gierth M, Mäser P. 2007. Potassium transporters in plants – involvement in K⁺ acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS Letters* 581: 2348-2356.
- Haberlandt G. 1914. *Physiological Plant Anatomy*. 4nd. London, Mantagu Drumond. Mac-Millan.
- Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw Hill Book Co.
- Kraus JE, Arduin M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, EDUR.
- Kress WJ. 1986. The systematic distribution of vascular epiphytes: an update. *Selbyana* 9(1): 2-22.
- Laube S, Zotz G. 2003. Which abiotic factors limit vegetative growth in a vascular epiphyte. *Functional Ecology* 17: 598-604.
- Lauchli A, Epstein E. 1970. Transport of potassium and rubidium in plant roots: the significance of calcium. *Plant Physiology* 45: 639-641.
- Ma F, Peterson CA. 2003. Current insights into the development, structure and chemistry of the endodermis and exodermis of roots. *Canadian Journal of Botany* 81: 405-421.
- Massicotte HB, Peterson RL, Ackerley CA, Melville LH. 1988. Structure and ontogeny of *Betula alleghaniensis* - *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae. *Canadian Journal of Botany* 68: 579-593.
- McKendrik SL, Leake JR, Read DJ. 2000. Symbiotic germination plants in nature: transfer of carbon from ectomycorrhizal *Salix repens* and *Betula pendula* to the orchid *Callorhiza trifida* through shared hyphal connections. *New Phytologist* 145: 539-548.
- Melo HC. 2011. Espessamento em fi de parede celular. *Hoehnea* 38(1): 1-7.

- Moreira ASFP, Isaias RMS. 2008. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51: 83-93.
- Moreira ASFP, Lemos-Filho JP, Isaias RMS. 2013. Structural adaptations of two sympatric epiphytic orchids (Orchidaceae). *Revista de Biologia Tropical* 61: 1053-1065.
- Noel ARA. 1974. Aspects of cell wall structure and the development of the velamen in *Ansellia gigantea* Reichb. f. *Annals of Botany* 38: 495-504.
- Olatunji OA, Nengum RO. 1980. Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 80: 357-370.
- Passioura JB. 1988. Water transport in and to roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39: 245-265.
- Perumalla CJ, Peterson CA, Enstone DE. 1990. A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bands. I. Roots with a uniseriate hypodermis and epidermis. *Botanical Journal of Linnean Society* 103: 93-112.
- Peterson CA. 1988. Exodermal casparian bands: their significance for ion uptake by roots. *Physiologia Plantarum* 72: 204-208.
- Peterson PA, Enstone DE. 1996. Functions of passage cells in the endodermis and exodermis of roots. *Physiologia Plantarum* 97: 592-598.
- Pires MFO, Semir J, Pinna GFAM, Felix LP. 2003. Taxonomic separation of the genera *Prosthechea* and *Encyclia* (Laeliinae: Orchidaceae) using leaf and root anatomical features. *Botanical Journal of the Linnean Society* 143: 293-303.
- Pita PB, Menezes NL. 2002. Anatomia da raiz de espécies de *Dyckia* Schult. f. e *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), com especial referência ao velame. *Revista Brasileira de Botânica* 25(1): 25-34.
- Porembski S, Barthlott W. 1988. Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. *Nordic Journal of Botany* 8: 117-137.

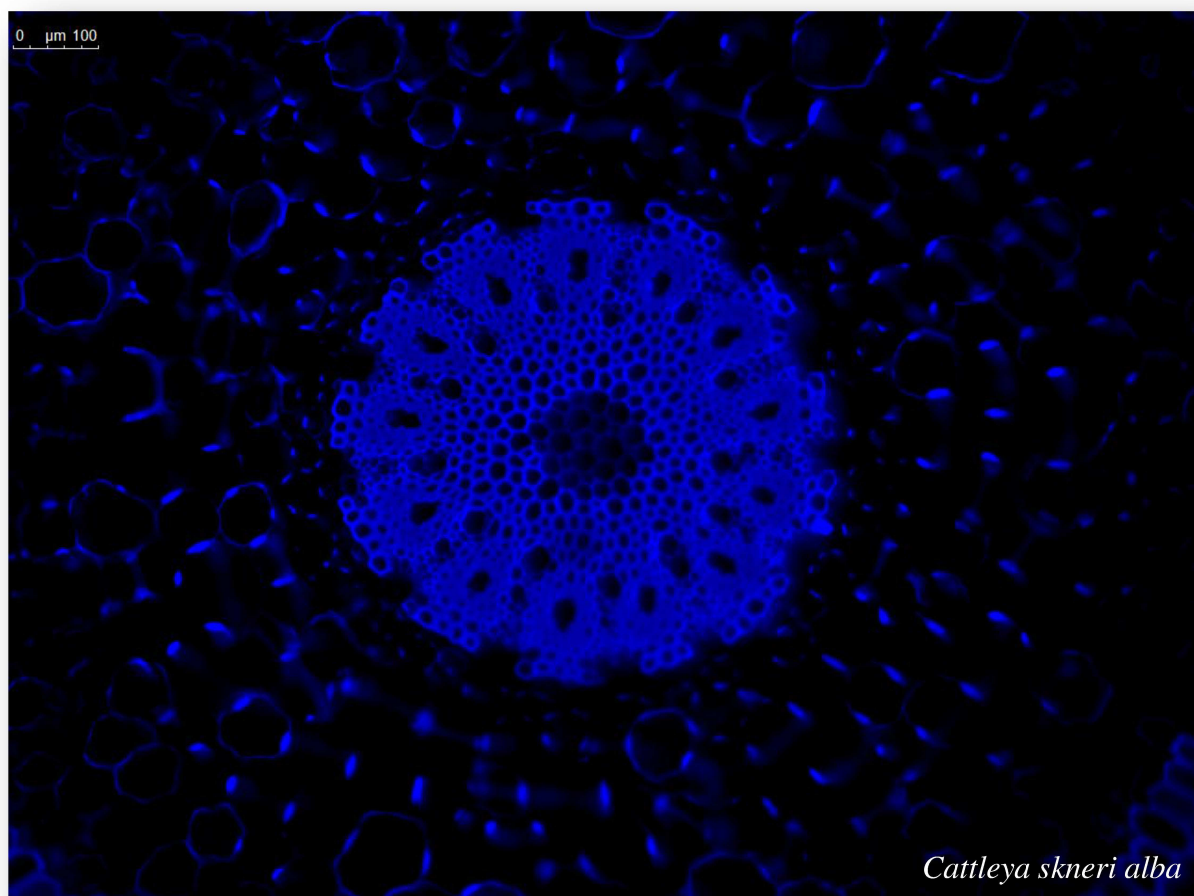
- Pridgeon AM. 1987. The velamen and exodermis of orchid roots. In: Arditti J (eds.) Orchid biology. Reviews and perspectives IV. Ithaca, Nova York, Cornell University Press. p. 139-192.
- Rodrigues MA, Freschi L, Purgato E, Lima VFGAP, Kerbaux GB. 2013. Ethylene Modulates the Developmental Plasticity and the Growth Balance Between Shoot and Root Systems in the In Vitro Grown Epiphytic Orchid *Catasetum fimbriatum*. Plant Growth Regulation 33: 513-525.
- Roland JC, Vian B. 1991. General preparation and staining of thin sections. In Hall JL & HAWES E (eds.). Electron Microscopy of Plant Cells. London, Academic Press.
- Sanford WW, Adanlawo FLS. 1973. Velamen and exodermis characters of West African epiphytic orchids in relation to taxonomic grouping and habitat tolerance. Botanical Journal of the Linnean Society 66: 307-321.
- Santner J, Smolders E, Wenzel WW, Degryse F. 2012. First observation of diffusion-limited plant root phosphorus uptake from nutrient solution. Plant Cell Environment. 35: 1558-1566.
- Scatena VL, Nunes AC. 1996. Anatomia de "*Pleurothallis rupestris*" Lindl. (orchidaceae) dos campos rupestres do Brasil. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 15: 35-43.
- Senthilkumar SKV, Krishnamurthy SJ, Britto SJ, Arockiasamy DI. 2000. Visualization of orchid mycorrhizal fungal structures with fluorescence dye using epifluorescence microscopy. Current Science 76:1527-1528.
- Solereder H, Meyer FJ. 1928. Systematische Anatomie der Monokotyledonen. Berlin, Helfts III e VI, Gebrueder Borntraeger.
- SPSS. 2000. Systat version 10. San Francisco: SPSS Inc.
- Stern WL. 1999. Comparative vegetative anatomy of *Stanhopeinae* (Orchiaceae). Botanical Journal of Linnean Society 129: 87-03.
- Stern WL, Judd WS. 1999. Comparative vegetative anatomy and systematics of *Vanilla* (Orchidaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 131: 353-382.
- Stern WL, Judd WS. 2001. Comparative anatomy and systematics of *Catasetinae* (Orchidaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 136: 153-178.

- Taylor DL, Bruns TD, Leake JR, Read DJ. 2002. Mycorrhizal specificity and function in myco-heterotrophic plants. In: M.G.A. van der Heijden; I. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin, Springer-Verlag p. 375-413.
- Trépanier M, Lamy M-P, Dansereau B. 2008. *Phalaenopsis* can absorb directly through their roots. Plant Soil 319: 95-100.
- Tsavkelova EA, Cherdyntseva TA, Lobakova ES, Kolomeitseva GL, Netrusov AI. 2001. Microbiota of the Orchid Rhizoplane. Microbiology 70(4): 492-497.
- Van Tieghem P. 1888. Le réseau de soutien de l'écorce de la racine. Annales des Sciences Naturelles, Botanique Series 7/8: 375-378.
- Went FW. 1940. Soziologie der Epiphyten eines tropischen Regenwaldes. Annales du Jardin botanique de Buitenzorg 50: 1-98.
- Wilcox H. 1962. Growth studies of the root of incense cedar, *Libocedrus decurrens* I. The origin and development of primary tissues. American Journal of Botany 49: 221-236.
- Withner CL. 1959. The orchids. In: A scientific survey, Withner C. L. (eds.). New York, The Ronald Press Co., ix, p. 648.
- Zotz G, Hietz P. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. Journal of Experimental Botany 52: 2067-2078.
- Zotz G, Winkler U. 2013. Aerial roots of epiphytic orchids: The velamen radicum and its role in water and nutrient uptake. Oecologia 171: 733-741.

CAPÍTULO 2

Composição química da parede celular nos diferentes tecidos radiculares de Orchidaceae epífitas

Thais Arruda Costa Joca, Denis Coelho de Oliveira, Gerhard Zotz, Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira



Composição química da parede celular nos diferentes tecidos radiculares de Orchidaceae epífitas

Thais Arruda Costa Joca^{1,3}, Denis Coelho de Oliveira², Gerhard Zotz³, Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Uberlândia, MG, Brasil.

² Universidade Federal de Uberlândia, Laboratório de Anatomia e Desenvolvimento Vegetal, Uberlândia, MG, Brasil

³ Universidade de Oldenburg, Institute for Biology and Environmental Sciences, Oldenburg, Germany.

³ Autor para correspondência: thais_arrudacj@hotmail.com

RESUMO

A composição química da parede celular interfere na permeabilidade e no armazenamento de água nas raízes, contribuindo para o fluxo apoplástico e simplástico. Em vista da flutuação hídrica no ambiente epifítico, foram utilizadas técnicas de histoquímica e imunocitoquímica para compreender a composição química da parede nos tecidos radiculares de Orchidaceae epífitas. No velame, o carácter negativo da matriz péctica pode auxiliar no acúmulo de nutrientes no apoplasto. Neste sentido, espécies com poucas camadas celulares apresentam maior marcação de pectina nas paredes, indicando um mecanismo de compensação. A impregnação por lignina reforça seu carácter como suporte mecânico e pode auxiliar o fluxo apoplástico. A exoderme e a endoderme constituem barreiras apoplásticas e seletivas, apresentando lamela suberizada e muitas vezes parede lignificada. Juntamente com os reforços de lignina do parênquima cortical, os espessamentos em phi, reticulado e uniforme podem evitar o colapso do córtex em momentos de dessecação. A presença de pectinas altamente metil-esterificadas no parênquima cortical foi relacionada à capacidade de formar géis, causando afrouxamento da parede e aumentando sua porosidade (contribui para o armazenamento de água e o transporte de soluções entre as células). Por fim, células com impregnação lipídica direcionam o fluxo de água em direção ao estelo.

Palavras Chave: Pectinas, Raízes velamentosas, Orquídeas epífitas, Absorção de água.

ABSTRACT

The chemical composition of the cell walls interferes in the water permeability and storage in roots, contributing to the apoplastic and symplastic flow. In view of the water fluctuation in the epiphytic environment, we used histochemical and immunocytochemical techniques to understand the chemical composition of the cell walls in root tissues of some epiphytic Orchidaceae. In the velamen, the negative charge of the pectin matrix can help in nutrient storage in the apoplast. In this sense, species with few cell layers present higher labeling of pectins, indicating a compensation mechanism. The impregnation of lignin reinforces the mechanical support and can help the apoplastic flow. The exodermis and endodermis are apoplastic and selective barriers, presenting suberized lamella and often lignified walls. Together with the lignin reinforcements of the cortical parenchyma (phi, reticulated and uniform thickening), the thickenings can prevent the collapse of the cortex in periods of desiccation. The presence of highly methyl-esterified proteins in the cortical parenchyma was related to the ability to form gels, causing wall loosening and increasing its porosity (contribute to the water storage and solutions transport among cells). Finally, cells with lipid impregnation increase the water flow towards the stele.

Key Works: Pectins, Velamentous roots, Epiphytic orchids, Water absorption.

INTRODUÇÃO

A disponibilidade de recursos hídricos e as estratégias usadas pelas diversas espécies de plantas para usufruir destes recursos, são quesitos essenciais para o seu estabelecimento e crescimento em diferentes habitats (McCree & Fernández 1989). As orquídeas, especialmente as epífitas, utilizam estratégias que visam minimizar os efeitos da flutuação hídrica e de nutrientes do ambiente epifítico (Zotz & Hietz 2001). Dentre estas estratégias, o velame destaca-se pela grande capacidade de absorção e retenção de água atmosférica (Benzing 1990; Roth- Nebelsick 2009), que é prontamente condensada e transportada até o cilindro vascular (Zotz & Winkler 2013). O velame é uma epiderme multiestratificada resultante de divisões periclinais das células protodérmicas (Engard 1944) sendo formado por células mortas na maturidade (Fahn 1990, Cap 1). Adjacente ao velame encontra-se a exoderme, camada externa do córtex, composta por células lignificadas e mortas na maturidade, e por células de passagem (Pridgeon 1987; Trépanier *et al.* 2008). Acredita-se que a maior parte da água e dos nutrientes absorvidos no velame entra no córtex através destas células de passagem (Peterson & Enstone 1996; Moreira & Isaias 2008), e que esta camada não constitui uma barreira para o fluxo em direção ao córtex. Por outro lado, diferentes tipos de espessamento de parede nas células do parênquima cortical, e/ou a presença de células de passagem na endoderme alinhadas aos cordões de xilema parecem ter importante papel no fluxo apoplástico e simplástico (ver Cap. 1).

O fluxo apoplástico nas raízes depende da condutividade hidráulica e de resistência à passagem de água, consideradas relativamente baixas neste órgão. Este fluxo é interrompido na endoderme e na exoderme pela formação das estrias de Caspary ou pela deposição de suberina nas lamelas medianas (Steudle & Ranathunge 2007). No córtex, os espessamentos em phi têm sido discutidos como uma terceira barreira ao fluxo apoplástico, muito semelhante do ponto de vista funcional às estrias de Caspary. Entretanto, os espessamentos em phi são geralmente constituídos apenas de lignina (enquanto que as estrias de Caspary contêm suberina e lignina associadas à sua estrutura celulósica) (Melo 2011). Como consequência, sua permeabilidade à água e nutrientes tem sido demonstrada em trabalhos com diferentes grupos taxonômicos, tanto em monocotilêneas (Degenhardt & Gimler 2000), quanto em dicotilêneas (Perumalla *et al.* 1990).

Além da presença de substâncias como lignina e suberina, a constituição da parede celular envolve a presença marcante de pectinas. As pectinas com diferentes graus de metil-esterificação são essenciais durante o desenvolvimento e crescimento celular e também desempenham papel importante na retenção de água pelo apoplasto (Willats *et al.* 2001). Estas substâncias apresentam grande capacidade de formação de géis e, como consequência, grande capacidade de retenção de água. São consideradas os polissacarídeos com estruturas mais complexas na parede celular (Willats *et al.* 2000) e podem ser classificadas em três principais domínios, homogalacturonanos (HGA), ramnogalacturonanos I (RG-I) e em quantidades relativamente menores, os ramnogalacturonanos II (RG-II) (Ridley *et al.* 2001; Willats *et al.* 2001). Os HGA são sintetizados no complexo de Golgi altamente metil-esterificados e, durante o processo de diferenciação celular podem apresentar perda de grupos metil, levando a formação de pectinas com baixa metil-esterificação (Albersheim *et al.* 2011). Estes HGAs são homopolímeros de ácido (1-4)- α -linked-D-galacturônico que, quando são alto metil-esterificadas, podem fazer ligações cruzadas com cátions resultando na formação de géis e consequentemente aumentar a capacidade de retenção de água. Na presença de Ca^{2+} , estas pectinas podem formar géis e aumentar o enrijecimento da parede celular (Liu *et al.* 2013; Albersheim *et al.* 2011).

A polaridade da matriz péctica decorrente da presença de monômeros de ácido galacturônicos com grupos carboxílicos (COO^-) interfere no fluxo de nutrientes em raízes. Em geral, estes monômeros são acumuladores de cátions no apoplasto, enquanto que os íons negativos são repelidos e permanecem livres (Barberon & Geldner 2014). Até o momento, não foram encontradas discussões quanto à constituição péctica em raízes de espécies epífitas, principalmente em tecidos e estruturas especializadas na absorção e no transporte de água. Partindo da premissa que o velame tem como funções absorver água e conferir proteção mecânica às raízes de várias epífitas, este estudo conjuga técnicas de histoquímica e imunocitoquímica para detectar a presença de pectinas em suas paredes, assim como uma possível variação no grau de metil esterificação deste polissacarídeo. Além disso, detectar a presença deste composto, e outras substâncias (como lipídeos e lignina) que interferem no transporte apoplástico nos tecidos mais internos, pode auxiliar na compreensão do fluxo de água e nutrientes para o interior das raízes epífitas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Fragmentos das raízes de *Bifrenaria harrisoniae* (Hook.) Rchb.f., *Catasetum planiceps* Lindl., *Cattleya skinneri* Bateman alba, *Caularthron bilamellatum* (Rchb.f.) R.E.Schult, *Dendrobium nobile* Lindl., *Dendrobium nobile* Lindl. híbrida, *Dendrobium fimbriatum* Hooker, *Dimerandra emarginata* (G.Mey.) Hoehne, *Doritis pulcherrima* Lindl., *Encyclia ghillanyi* Pabst, *Epidendrum nocturnum* Jacq., *E. ciliare* L., *Gongora unicolor* Schltr., *Miltonia bluntii* Rchb. f., *Oncidium* sp., *Phalaenopsis cornu-cervie* Blume & Rchb.f., *Phalaenopsis* híbrida e *Trichoglottis bipunctata* (C.S.P.Parish & Rchb.f.) Tang & F.T.Wang, foram coletados de exemplares provenientes do jardim experimental da Universität Oldenburg e do Botanical Gardens Herrenhausen, ambos em Oldenburg, Alemanha. As amostras foram fixadas em paraformaldeído 4% (Roland & Vian 1991) e enviadas ao Laboratório de Anatomia e Desenvolvimento Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Análises imunocitoquímicas

As amostras foram desidratadas em série etanólica e infiltradas em Histoiresina® de acordo com as recomendações do fabricante. Posteriormente, foram seccionadas (10 µm) em micrótomo manual (YD315, ANCAP, Brasil) utilizando-se navalhas descartáveis de aço inox de alto perfil e colocadas em lâminas histológicas. As lâminas foram incubadas em anticorpos monoclonais (MAbs) JIM 5 - para epítomos com até 40% de metil-esterificação; e JIM7 – para epítomos com até 80% de metil-esterificação (Willats *et al.* 2000) adquiridos do Centre for Plant Sciences, University of Leeds, UK. O preparo das seções para imunofluorescência seguiu as etapas de bloqueio de ligações não específicas com solução de 3% de proteína do leite (Molico®, Argentina) em solução salina (PBS) por 30 minutos, seguida de incubação em anticorpo monoclonal primário em PBS/proteína de leite por uma hora (1:100). Para controle, o anticorpo primário foi suprimido. As seções foram lavadas em PBS por três vezes, durante cinco minutos cada, e incubadas com o anticorpo secundário IgG anti-rato FITC (Sigma) em PBS/leite por 1:30h no escuro (1:1000). Após novas lavagens em PBS, as seções foram montadas em glicerina/água destilada (1:1) e analisadas em microscópio óptico com sistema de epifluorescência e câmera digital acoplada ao BX-51 (Olympus, Japão), com emissão de filtro FITC.

Análises histoquímicas

A presença de pectinas foi determinada em secções à mão, incubadas em álcool 50% para retirar os resquícios de citoplasma celular e posteriormente coradas com vermelho de rutênio 0,02% por um período de 10 minutos (Chamberlain 1932, modificado). Para determinar a constituição dos espessamentos de parede, foram realizados testes para lipídeos e lignina. Para a presença de lipídeos, secções transversais foram incubadas em solução alcóolica de Sudan red 0,5% por 20 a 30 minutos (Sass 1951). Para a presença de lignina, secções transversais foram incubadas em solução alcóolica de Floroglucina 1%, adicionando em seguida solução de ácido clorídrico 25% por um período de 5 minutos (Johansen 1940). Para histolocalização de ligninas, também foi utilizado o filtro DAPI (espectro de excitação: 385-400 nm) (Chomicki *et al.* 2014).

As secções foram montadas em água (exceto para lignina, que permaneceu na solução de floroglucina acidificada) e imediatamente levadas ao microscópio Leica® DM500 acoplado a câmera HD5000.

RESULTADOS

Deteção da presença de pectinas nos tecidos radiculares

Todas as espécies avaliadas apresentaram reação positiva para pectinas no velame, no córtex (incluindo células da endoderme e exoderme) e no cilindro vascular. Entretanto, há uma diferença de intensidade de coloração entre elas (Tabela 1).

No velame, algumas espécies apresentaram fraca coloração (*B. harrisoniae*, *Catasetum planiceps*, *Dendrobium fimbriatum* - Fig. 1A, *Dendrobium nobile*, *D. nobile* híbrida, *Encyclia ghillanyi*, *Epidendrum nocturnum* e *Phalaenopsis* híbrida), intensa coloração nas junções celulares (*Caularthron bilamellatum*, *Dimerandra emarginata* - Fig. 1B, *Epidendrum ciliare*, *M. bluntii* e *Oncidium* sp.), intensa coloração nas paredes periclinais (*Cattleya skinneri alba*, *G. unicolor* e *P. cornu-cervie* - Fig. 1C) e coloração intensa e uniforme em todas as células do velame (*Doritis pulcherrima* e *T. bipunctata*).

Foram encontrados três padrões distintos quanto à composição péctica da parede celular nas células da exoderme: (1) espécies que apresentaram pouco espessamento e intensa coloração, principalmente nas paredes periclinais externas (*B. harrisoniae*,

Catasetum planiceps, *Dimerandra emarginata*, *Doritis pulcherrima* - Fig. 1D, *Encyclia ghillanyi*, *Epidendrum ciliare*, *Epidendrum nocturnum*, *Oncidium* sp. e *P. cornu-cervie*), (2), espécies que apresentaram coloração uniforme e intensa nas paredes periclinais e anticlinais, com ou sem espessamento de parede (*Dendrobium fimbriatum*, *Dendrobium nobile*, *D. nobile* híbrida, *M. bluntii* - Fig. 1E, *Phalaenopsis* híbrida e *T. bipunctata*) e, (3) espécies com alto espessamento da parede celular (“U” invertido) e fraca coloração (*Caularthron bilamellatum* e *G. unicolor* - Fig. 1F). *Cattleya skinneri alba* apresentou fraca marcação péctica nas camadas internas da parede secundária, revelando um padrão distinto de marcação neste tecido em relação aos demais *taxa*. No parênquima cortical, as pectinas estavam presentes com coloração de moderada a intensa por toda a parede primária e lamela média, ficando mais evidente nas junções celulares. Em *B. harrisoniae* (Fig. 1G), destacaram-se as células parenquimáticas com espessamento de parede uniforme. Na endoderme, as pectinas estavam evidentes por toda a parede primária, mesmo que muitas vezes com moderada marcação (como pôde ser observado em *Encyclia ghillanyi* - Fig. 1H, *Epidendrum ciliare*, *Epidendrum nocturnum* e *Oncidium* sp.) ou apenas na lamela média (quando as espécies apresentavam espessamento secundário da parede – como em *D. nobile* híbrida, *Dimerandra emarginata*, *P. cornu-cervie* e *Phalaenopsis* híbrida). Nestes casos, muitas vezes também foi observada fraca marcação da matriz péctica nas camadas internas da parede secundária (*Cattleya skinneri alba* - Fig. 1I, *Dendrobium fimbriatum*, *Dendrobium nobile*, *G. unicolor*, *M. bluntii* e *T. bipunctata*). Em *Doritis pulcherrima*, foi observada intensa marcação de pectina ao redor de todas as células da endoderme (Fig. 1J). Em *Caularthron bilamellatum*, o espessamento da parede secundária era intenso e não foi observada a presença de pectinas nas paredes anticlinais ou periclinais internas, apenas fraca marcação na face de contato com as células do parênquima cortical. Em *B. harrisoniae* e *Catasetum planiceps*, as pectinas foram mais evidentes nas paredes periclinais externas, embora com fraca marcação.

No cilindro vascular, foram marcadas as células do floema e as células parenquimáticas sem processo de esclerificação, especialmente no centro da medula. Exceções foram *Doritis pulcherrima* (Fig. 1J), *Oncidium* sp. e *T. bipunctata*, que apresentaram marcação moderada para todas as células do cilindro vascular.

Composição péctica da parede celular

Os epitopos de HGAs com baixa e alta metil-esterificação, marcados pelos anticorpos JIM 5 e JIM 7, foram observados nos mesmos locais onde a presença de pectinas foi indicada pelo vermelho de rutênio. A intensidade das marcações variaram de fraco, moderado é intenso, conforme o tecido e a espécie analisada (Tabela 1).

No velame, os HGAs de baixa metil-esterificação foram marcadas pelo JIM 5 de forma intensa nas paredes periclinais e anticlinais (exceto epivelame) como em *Phalaenopsis* híbrida (Fig. 3A), de forma fraca a moderada apenas nas junções das paredes celulares e lamelas m dias de *B. harrisoniae*, *Dendrobium fimbriatum*, *Dendrobium nobile*, *D. nobile* híbrida, *Oncidium* sp. (Fig. 3B), *P. cornu-cervie* e *T. bipunctata*, de forma intensa nas paredes periclinais (*Cattleya skinneri alba* - Fig. 3C e *Caularthron bilamellatum*) e de forma fraca a moderada nas demais espécies (Fig. 3D). As espécies *Dimerandra emarginata*, *Encyclia ghillanyi*, *G. unicolor* e *M. bluntii* não apresentaram marcação neste tecido. Na exoderme, os epitopos de HGAs de baixa metil-esterificação foram observados em dois padrões distintos (1) moderadamente a intensamente marcados nas junções celulares (*Dendrobium nobile* híbrida - Fig. 3E e *Epidendrum ciliare*), e (2) intensamente marcados nas paredes periclinais externas, em contato com o velame, nas demais espécies (Fig. 3A e B). *Dimerandra emarginata*, *Doritis pulcherrima*, *Encyclia ghillanyi*, *Epidendrum nocturnum*, *G. unicolor*, *M. bluntii* e *Oncidium* sp. não apresentaram marcações na exoderme. No parênquima cortical, os epitopos de HGAs com baixa metil-esterificação foram marcados de forma moderada nas lamelas m dias e junções celulares (Fig. 3F), exceto em *B. harrisoniae*, *Epidendrum ciliare*, *Epidendrum nocturnum*, *G. unicolor*, *M. bluntii*, *Oncidium* sp. e *T. bipunctata*. Foi observada forte marcação no parênquima cortical para *Dendrobium nobile* híbrida. Já nas células endodérmicas, os epítopos de HGAs com baixa metil-esterificação (ligados ao anticorpo JIM5) foram marcados com intensidade fraca na lamela média e junções celulares (Fig. 3F), exceto em *Catasetum planiceps*, *Dendrobium fimbriatum*, *D. nobile*, *Dimerandra emarginata*, *Encyclia ghillanyi*, *Epidendrum ciliare*, *G. unicolor*, *M. bluntii*, *P. cornu-cervie*. e *T. bipunctata* que não apresentaram marcação.

Foram observados dois padrões distintos para epitopos de HGA de alta metil-esterificação (JIM7) no velame; (1) marcação fraca a moderada nas junções celulares (*Catasetum planiceps*, *Epidendrum ciliare*, *Oncidium* sp. (Fig. 4A), *Phalaenopsis* híbrida e *T. bipunctata*), e (2) marcação moderada a intensa nas paredes periclinais

internas e/ou externas (*B. harrisoniae*, *Cattleya skinneri alba* (Fig. 4B), *Caularthron bilamellatum*, *Dendrobium fimbriatum*, *Dendrobium nobile* e *Dendrobium nobile* híbrida e *P. cornu-cervie*). *Dimerandra emarginata*, *Doritis pulcherrima*, *Encyclia ghillanyi*, *G. unicolor* e *M. bluntii* não apresentaram marcação neste tecido. Na exoderme, as pectinas de alta metil-esterificação foram marcadas de forma intensa na parede periclinal externa em *B. harrisoniae*, *Cattleya skinneri alba* (Fig. 4B), *Caularthron bilamellatum*, *Dendrobium fimbriatum*, *Dendrobium nobile*, *D. nobile* híbrida, *Oncidium* sp., *P. cornu-cervie*, *Phalaenopsis* híbrida e *T. bipunctata*, em toda a parede em *Catasetum planiceps* (Fig. 4C) e *Epidendrum ciliare* ou nas junções da parede celular em *Epidendrum nocturnum* (Fig. 4D). As demais espécies não foram marcadas. No parênquima cortical, os epítomos de HGAs com alta metil-esterificação foram marcados de forma moderada em *Caularthron bilamellatum*, *Dendrobium fimbriatum*, *Epidendrum nocturnum* e *Oncidium* sp. na lamela média e junções celulares. Em *Bifrenaria harrisoniae*, *Catasetum planiceps* (Fig. 4C), *Cattleya skinneri alba*, *Dendrobium nobile*, *Dendrobium nobile* híbrida, *Epidendrum ciliare*, *Phalaenopsis cornu-cervie*, *Phalaenopsis* híbrida, *Trichoglottis bipunctata*, estas áreas foram marcadas de forma intensa, e as demais espécies não apresentaram marcação neste tecido. Já nas células endodérmicas, os epítomos marcados pelo anticorpo JIM7 foram marcados com fraca intensidade na lamela média e junções celulares em *Caularthron bilamellatum*, *Dendrobium fimbriatum*, *Dendrobium nobile* híbrida, *Epidendrum nocturnum*, *P. cornu-cervie* e *Phalaenopsis* híbrida, ou de moderada a intensa nas paredes periclinais externas em *B. harrisoniae* e *Catasetum planiceps* (Fig. 4E). Em alguns casos, o espessamento secundário da parede não permitiu a visualização destas pectinas na endoderme (*Cattleya skinneri alba*, *Dendrobium nobile*, *Epidendrum ciliare*, *Oncidium* sp. e *T. bipunctata*). *Dimerandra emarginata*, *Doritis pulcherrima*, *Encyclia ghillanyi*, *Gongora unicolor* e *Miltonia bluntii*, apesar do pouco espessamento na endoderme, não ocorreu marcação neste tecido.

Tanto para epítomos de HGA de baixa quanto de alta metil- esterificação, nenhuma espécie apresentou marcação nas células de passagem da exoderme e da endoderme.

Tabela 1. Composição pectica da parede celular em diferentes tecidos de 18 *taxa* de orquídeas epífitas. Foi utilizada solução de vermelho de rutênio para detecção da presença de pectinas, anticorpo JIM 7 para localização de epítomos de HGAs com alta metil esterificação e anticorpo JIM 5 para localização de epítomos de HGAs com baixa metil esterificação.

Espécies	Pectinas						Anticorpo JIM 7						Anticorpo JIM 5					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
<i>Bifrenaria harrisoniae</i>	+	+++	+++	+	+	+	+++	+++	+++	+++	-	++	+	+++	-	+	-	+
<i>Catasetum planiceps</i>	+	+++	++	+	+	+	+	+++	+++	+++	-	++	+	+++	+	-	-	++
<i>Cattleya skinneri alba</i>	+++	+	+++	+	+	+	+++	+++	+++	-	-	++	+++	+++	+	+	-	+
<i>Caularthron belamellatum</i>	+++	+	++	+	+	+	++	+++	++	+	-	+	+++	+++	+	+	-	+
<i>Dendrobium fimbriatum</i>	+	+++	++	+	+	+	++	+++	++	+	-	++	+	+++	++	-	-	+
<i>Dendrobium nobile</i>	+	+++	++	+	+	+	++	+++	+++	-	-	+	+	+++	+	-	-	+
<i>Dendrobium nobile híbrida</i>	+	+++	++	+	+	+	++	+++	+++	+	-	++	+	+++	+++	+	-	+
<i>Dimerandra emarginata</i>	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Doritis pulcherrima</i>	+++	+++	++	+++	+	++	-	-	-	-	-	-	+	-	++	+	-	+
<i>Encyclia ghillanyi</i>	+	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>Epidendrum ciliare</i>	+++	+++	++	+	+	+	++	+++	+++	-	-	+	+	+++	-	-	-	+
<i>Epidendrum nocturnum</i>	+	+++	++	+	+	+	-	+++	++	+	-	+	++	-	-	+	-	++
<i>Gongora unicolor</i>	+++	+	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Miltonia bluntii</i>	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Oncidium sp.</i>	+++	+++	++	+	+	++	+	+++	++	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Phalaenopsis cornu-cervie</i>	+++	+++	+++	+	+	+	++	+++	+++	+	-	++	+	+++	+	+	-	+
<i>Phalaenopsis híbrida</i>	+	+++	++	+	+	+	++	+++	+++	+	-	+	+++	+++	+	+	-	+
<i>Trichoglottis bipunctata</i>	+++	+++	+++	+	+	++	+	+++	+++	-	-	++	+	+++	-	-	-	++

1. Velame; 2. Exoderme; 3. Espessamentos ou junções no parênquima cortical; 4. Endoderme; 5. Células de Passagem; 6. Cilindro Vascular. Para detecção de pectinas e para os epítomos de HGAs marcados com anticorpos JIM 7 e Jim 5, os sinais (+), (++),(+++), e (-) indicam marcação fraca, moderada, intensa e nula, respectivamente.

Detecção de lignina e lipídeos

Quanto à detecção de lignina (Tabela 2), todas as espécies apresentaram marcação no velame: apenas nas junções celulares (*M. bluntii* – Fig. 2A e *G. unicolor*); mais evidente nas paredes periclinais externas (*Cattleya skinneri alba*, *Caularthron bilamellatum*, *Encyclia ghillanyi* – Fig. 2B, *Epidendrum ciliare* e *Epidendrum nocturnum*); ou de forma uniforme por toda a parede celular como nas demais espécies. *Doritis pulcherrima* e *P. cornu-cervie* (Fig. 2C) e *Phalaenopsis* híbrida não apresentaram marcação no epivelame. Ligninas foram detectadas também nas células da exoderme e da endoderme em todas as espécies, exceto nas células de passagem (Fig. 2A). No parênquima cortical, foi detectada lignina nos espessamentos em phi de *Cattleya skinneri alba* (Fig. 2D) e *Caularthron bilamellatum*, e nas células com espessamento uniforme (como *B. harrisoniae*, Fig. 2E). A impregnação de lignina também foi observada em várias células esparsas pelo parênquima cortical com paredes delgadas de quase todas as espécies (exceto *D. nobile* híbrida e *Doritis pulcherrima*), sem apresentar aparentemente nenhum tipo de espessamento (Fig. 2A). O cilindro vascular de todas as *taxa* apresentou lignina tanto nas células parenquimáticas (exceto nas células da medula que ainda não iniciaram processo de esclerificação e/ou no periciclo de alguns *taxa*) quanto no xilema (Fig. 2F e G).

O velame não apresentou impregnação lipídica (Tabela 2), exceto por *Dimerandra emarginata* que apresentou leve marcação. As marcações na exoderme e na endoderme, em geral, foram nas paredes periclinais e anticlinais externas ou na parede primária, exceto nas células de passagem que não apresentaram nenhuma marcação para lipídios (Fig. 2H-J). O parênquima cortical apresentou impregnações lipídicas nas paredes primárias de células esparsas em *B. harrisoniae*, *Encyclia ghillanyi*, *Epidendrum ciliare*, *Epidendrum nocturnum*, *G. unicolor*, *M. bluntii*, *Oncidium* sp., *P. cornu-cervie* e *T. bipunctata* (Fig. 2J e K). Em *M. bluntii*, as células com espessamento de parede uniforme também apresentaram deposição de lipídeos (Fig. 2K). Não houve marcação em células do cilindro vascular.

Tabela 2. Determinação da presença de lignina e lipídeos na parede celular em diferentes tecidos de 18 *taxa* de orquídeas epífitas.

Espécies	Ligninas (Floroglucina)						Ligninas (Filtro DAPI)						Lipídios					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
<i>Bifrenaria harrisoniae</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	uniforme	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Catasetum planiceps</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>Cattleya skinneri alba</i>	-	+	-	+	-	-	+	+	Phi	+	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>Caularthron bilamellatum</i>	-	+	Phi	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Dendrobium fimbriatum</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>Dendrobium nobile</i>	-	+	phi e uniforme	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>Dendrobium nobile híbrida</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>Dimerandra emarginata</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
<i>Doritis pulcherrima</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>Encyclia ghillanyi</i>	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Epidendrum ciliare</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Epidendrum nocturnum</i>	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Gongora unicolor</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Miltonia bluntii</i>	-	+	Uniforme	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Oncidium sp.</i>	-	+	Uniforme	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Phalaenopsis cornu-cervie</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Phalaenopsis híbrida</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>Trichoglottis bipunctata</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-

1. Velame; 2. Exoderme; 3. Parênquima cortical; 4. Endoderme; 5. Células de passagem da endoderme e da exoderme; 6. Cilindro vascular. Para lignina e lipídios os sinais indicam marcação positiva (+) e negativa (-) para estas substâncias, respectivamente.

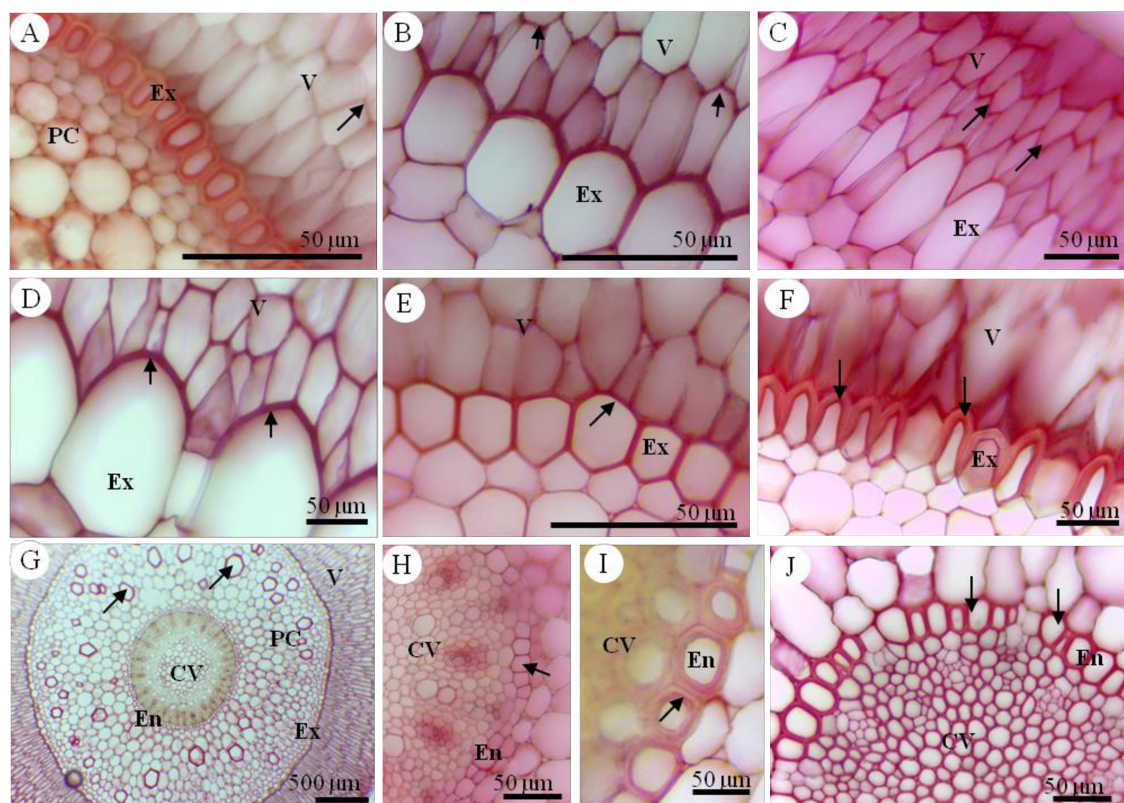


Figura 1. Detecção da presença de pectinas nos tecidos radiculares. A) *D. fimbriatum*, fraca marcação de pectinas no velame (setas). B) *Dimerandra Emarginata*, intensa coloração apenas nas junções celulares (setas). C) *Phalaenopsis cornu-cervie*, intensa coloração nas paredes periclinais do velame (setas). D) *Doritis pulcherrima*, pouco espessamento e intensa coloração na exoderme, principalmente nas paredes periclinais externas (setas). E) *Miltonia bluntii*, apresentam ou não espessamento de parede com coloração uniforme e intensa ao redor de toda a célula (setas). F) *Gongora unicolor*, espécies com alto espessamento da parede celular do velame (U invertido) e fraca coloração (setas). G) *Bifrenaria harrisoniae*, destaque das células parenquimáticas corticais com espessamento de parede uniforme (setas). H) *Encyclia ghillanyi*, pectinas marcadas na parede primária da endoderme, com fraca marcação (setas). I) *Cattleya skinneri alba*, inclusões de pectina nas camadas internas da parede secundária da endoderme (setas). J) *Doritis pulcherrima*, intensa marcação de pectinas ao redor de todas as células da endoderme (setas). En = endoderme; Ex = exoderme; CV = cilindro vascular; PC = parênquima cortical; V= velame.

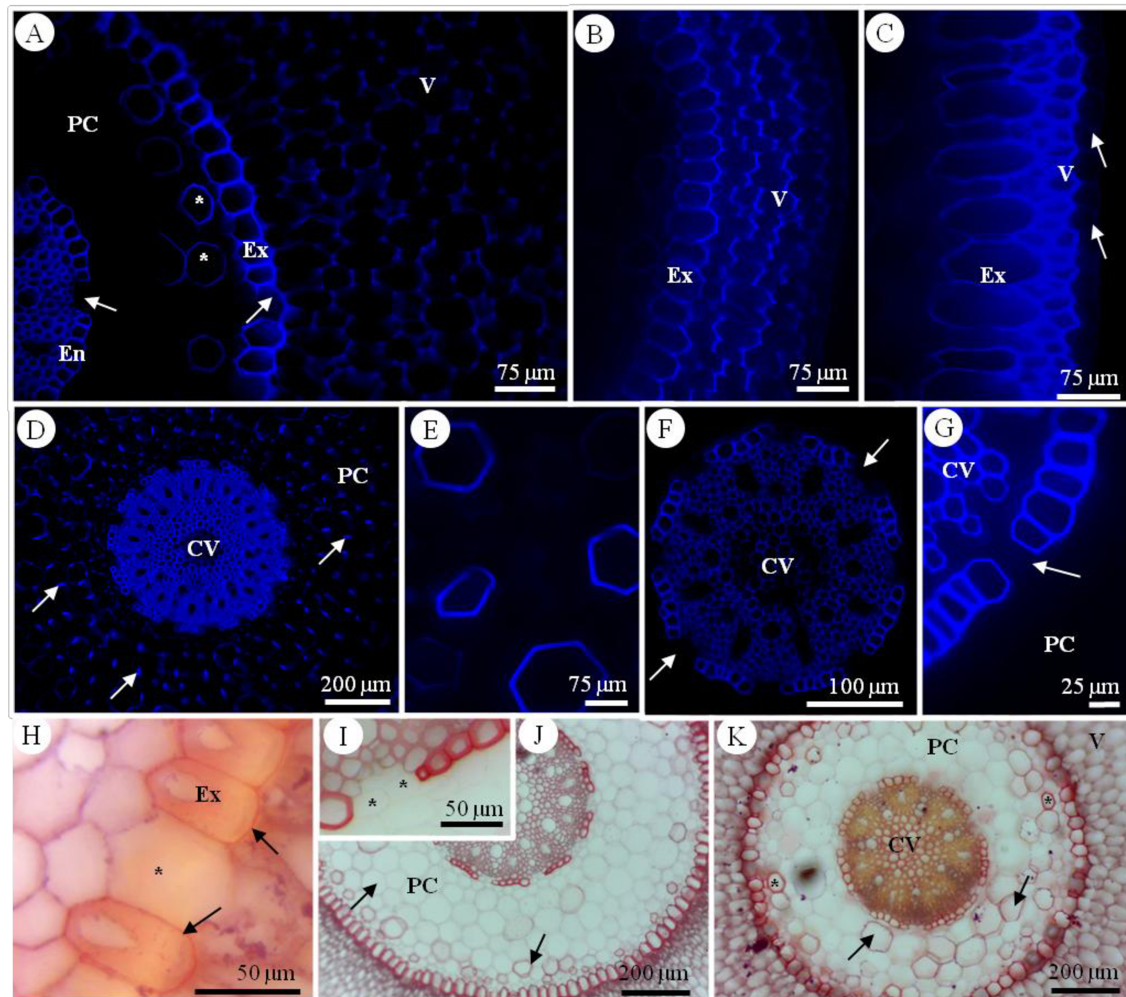


Figura 2. Presença de lignina e lipídios nos tecidos radiculares de 18 taxa de orquídeas epífitas. A - G) Marcação para lignina (Filtro DAPI). A) *Miltonia bluntii*, lignina nas junções celulares do velame, exoderme e endoderme exceto nas células de passagem (setas), células do parênquima cortical (*) e cilindro vascular. B) *Encyclia ghillanyi*, células do velame com marcação intensa nas paredes periclinais. C) *Phalaenopsis cornu-cervie*, células do velame com impregnação por toda a parede, exceto no epivelame (setas). D) *Cattleya skinneri alba*, células com espessamento em phi (setas) no parênquima cortical. E) *Bifrenaria harrisoniae*, células com espessamento uniforme no parênquima cortical. F) *Dendrobium nobile*, cilindro vascular. G) *Epidendrum nocturnum*, células de passagem e periciclo sem marcação para lignina. H-K) Marcação para lipídeos (Sudan Red). H) *Caularthron bilamellatum*, lipídeos nas paredes primárias da exoderme (setas). As células de passagem não foram marcadas (*). I e J) *Trichoglottis bipunctata*, (I) células esparsas com impregnação lipídica na parede primária e (J) detalhe da endoderme evidenciando lipídeos na parede primária, exceto nas células de passagem (*). K) *Miltonia bluntii*, impregnação lipídica nas células de parede primárias (setas) e nas células com espessamento uniforme (*). En = endoderme; Ex = exoderme; CV = cilindro vascular; PC = parênquima cortical; V = velame.

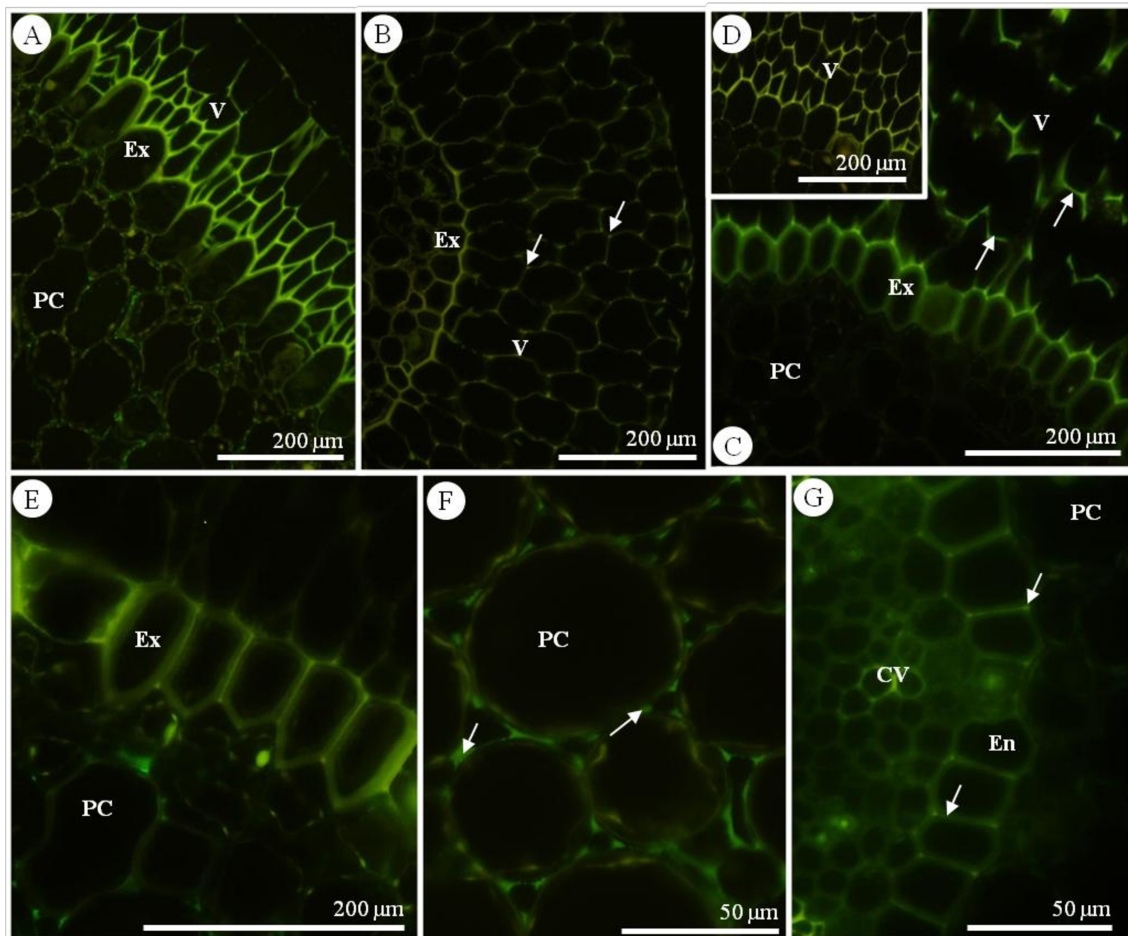


Figura 3. Pectinas com baixa metil-esterificação detectados pelo anticorpo JIM5 em raízes epífitas de Orchidaceae. A) *Phalaenopsis* híbrida, intensa marcação nas paredes do velame. B) *Oncidium* sp., moderadora marcação nas junções celulares (setas). C) *Cattleya skinneri alba*, intensa marcação nas paredes periclinais externas (setas). D) *Epidendrum nocturnum*, moderada marcação nas paredes periclinais internas do velame (setas). E) *Dendrobium nobile* híbrida, exoderme moderadamente marcada nas junções celulares. F) *Dendrobium nobile* híbrida, fraca intensidade na lamela média e junções celulares (setas). G) *Doritis pulcherrima*, fraca marcação na lamela média e junções celulares da endoderme. En = endoderme; Ex = exoderme; CV = cilindro vascular; PC = parênquima cortical; V= velame.

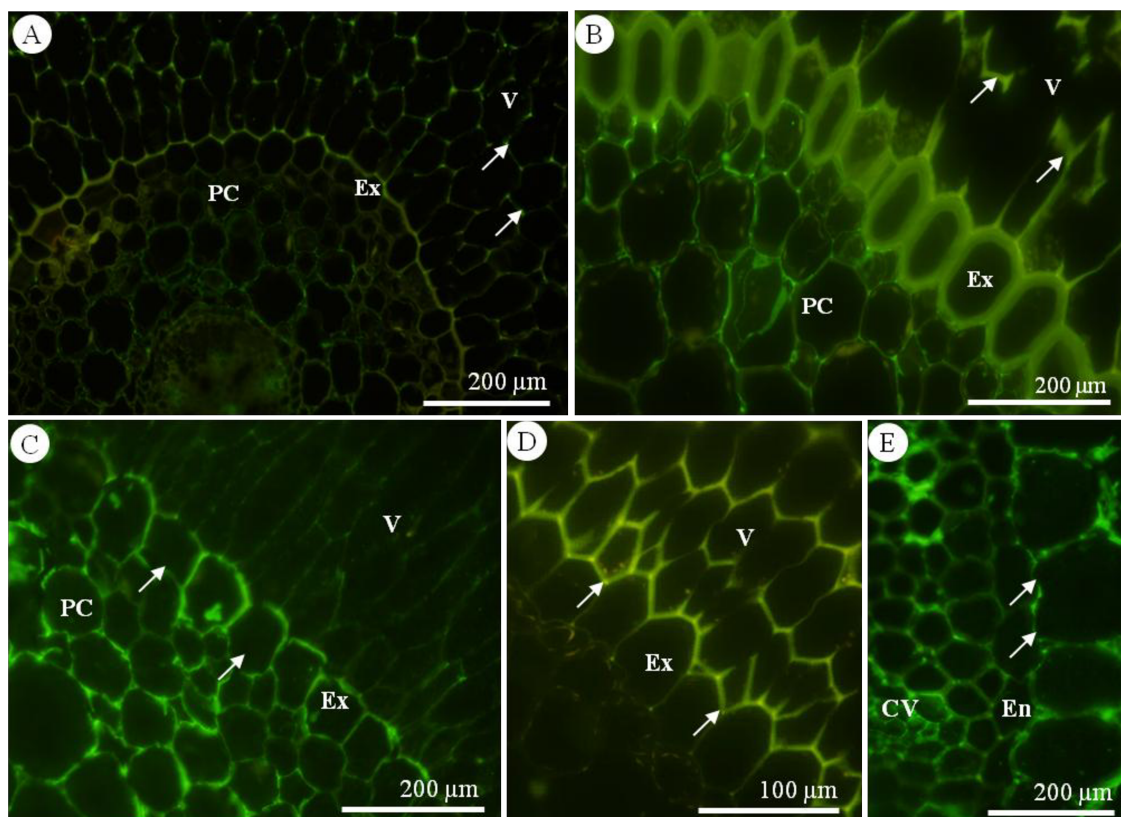


Figura 4. Composição pécica da parede das células do parênquima cortical e do velame (JIM7). A) *Oncidium* sp., moderada marcação nas junções celulares do velame (setas). B) *Cattleya skinneri alba*, marcação intensa nas paredes periclinais externas do velame e na parede periclinal externa da exoderme (setas). C) *Catasetum planiceps*, marcação em todo o entorno da célula da exoderme (setas) e intensa marcação na lamela média e junções celulares do córtex (*). D) *Epidendrum nocturnum*, marcação nas junções da parede celular na exoderme (setas). E) *Catasetum planiceps*, marcação intensa nas paredes periclinais externas da endoderme. En = endoderme; Ex = exoderme; CV = cilindro vascular; PC= parênquima cortical; V= velame.

DISCUSSÃO

Composição da parede celular no velame

A constituição química do velame é basicamente celulose, com diferentes graus de impregnação de lignina e suberina que podem variar consideravelmente de acordo com o estágio de maturação da raiz e entre espécies diferentes (Dycus & Knudson 1957; Noel 1974). Em nosso estudo, todas as espécies apresentaram marcação positiva para lignina, reforçando o papel desta substância no velame como suporte mecânico (Noel 1974), principalmente evitando colapso celular durante a desidratação. Oliveira e Sajo (1999) trabalharam com nove espécies de orquídeas epífitas e, na maioria delas, as paredes do velame também continham impregnação deste composto (principalmente nos seus espessamentos). Mas a principal função do velame nas raízes permeia a eficiência na absorção de água. Neste sentido, é possível que a constituição pectica da parede celular e a impregnação por suberina assumam maior importância. Apesar de frequente referência quanto à presença de suberina no velame (Dycus & Knudson 1957; Oliveira & Sajo 1999), apenas *Dimerandra emarginata* apresentou leve impregnação lipídica detectada pela solução de Sudan em nosso estudo. De fato, a presença de suberina pode estar relacionada ao estágio de maturação do velame ou ocorrer principalmente em locais específicos, como nos pneumatódios, garantindo o suprimento de ar em momentos de saturação completa (Dycus & Knudson 1957).

Por outro lado, as pectinas estão envolvidas em processos fisiológicos de extrema importância para a planta, incluindo a formação de gel e a adesão celular (Albersheim *et al.* 2011), o que contribui para retenção de água e nutrientes no velame (ver Capítulo 1). São componentes principais nas paredes celulares primárias e estão relacionadas com a porosidade, a aderência e a flexibilidade (Jarvis 1984; Albersheim *et al.* 2011). Além disso, a carga negativa dos grupos carboxílicos das pectinas apresenta alta afinidade pelos cátions, especialmente Al^{3+} , Fe^{3+} e Cd^{2+} (Blamey *et al.* 1990; Chang *et al.* 1999; Zhu *et al.* 2012). Íons de carga negativa, como PO_4^- também apresentam afinidade pelos Al^{3+} , Fe^{3+} e Ca^{2+} , resultando na formação de FePO_4 , AlPO_4 e $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Zhu *et al.* 2015). Desta forma, estas substâncias poderiam formar depósitos naturais no apoplasto, podendo ser disponibilizadas em momentos de necessidade, tal como observado em raízes de milho cultivadas em condições limitadas de fósforo (Zhu *et al.* 2015). Não só a presença, mas também a composição dos diferentes tipos de pectinas é importante para as propriedades funcionais da parede celular vegetal, principalmente

durante o crescimento e desenvolvimento dos tecidos e sua funcionalidade (Knox 1997; Albersheim *et al.* 2011). A distribuição dos epitopos pécnicos no velame (ver Tabela 1) foi determinada apenas em tecidos maduros. Tal fato corrobora a detecção histoquímica de pectinas, sem diferenças significativas na marcação entre o grau de metil-esterificação, e revela diferentes padrões da parede celular. A alta metil-esterificação pode aumentar a capacidade de absorver água através da formação de géis (Albersheim *et al.* 2011). Já a presença de baixa metil-esterificação pode aumentar a rigidez da parede contribuindo para sustentação mecânica (Hongo *et al.* 2012) neste tecido.

Em geral, as espécies que apresentaram maior número de camadas celulares do velame, apresentaram paredes mais espessas, com maior marcação de ligninas e pectinas. Tal fato pode trazer uma nova discussão quanto às características do velame e sua função. É possível que não apenas o número de camadas ou a espessura do velame estejam correlacionados com a eficiência na absorção de água, mas também a qualidade da parede celular; paredes mais espessas aumentam a capacidade de armazenamento de íons. Vale lembrar que a constituição da parede celular pode variar de acordo com as condições ambientais, inclusive nas Orchidaceae (Dycus & Knudson 1957). Apesar das características do velame também se alterarem de acordo com as condições do ambiente, sua plasticidade é limitada, sendo utilizado como caráter taxonômico por alguns autores (Sanford & Adanlawo 1973). Assim, deve-se considerar que, apesar das plantas utilizadas neste estudo serem provenientes de casa de vegetação, a origem e a história evolutiva de cada uma das espécies não pode ser desconsiderada.

Exoderme e endoderme como barreiras apoplásticas

O acesso de substâncias para o interior das células corticais é influenciada pela exoderme, bem como a passagem destas em direção ao cilindro vascular é fortemente influenciada pela endoderme (Hose *et al.* 2001). Por definição, a exoderme constitui um tipo especial de hipoderme que desenvolve estrias de Caspary nas paredes anticlinais de suas células, assim como a endoderme (Peterson & Perumalla 1990). Tais estrias de Caspary são constituídas basicamente por suberina (Hose *et al.* 2001), substância de origem lipídica, e funcionam como uma barreira apoplástica (Kolattukudy *et al.* 1975; Hose *et al.* 2001). Enstone e colaboradores (2003) questionaram a necessidade de uma exoderme e uma endoderme com funções similares de seletividade. Encontraram como resposta a sequência de maturação destas camadas; raízes com maturação tardia da endoderme permaneceriam “desprotegidas” da entrada de substâncias em geral. Outro

ponto levantado seria que a posição periférica da exoderme nas raízes, a qual deixa-a muito distante do estelo. Neste caso, o volume apoplástico do parênquima cortical poderia ser preenchido por íons que, de certa forma, poderiam ser reabsorvidos pelas células corticais, em um ciclo pouco produtivo, reforçando a necessidade de uma segunda barreira apoplástica.

Em algumas espécies, além da deposição das estrias de Caspary nas paredes anticlinais da exoderme e da endoderme, suas células podem desenvolver uma lamela de suberina. Esta lamela pode interromper os plasmodesmas levando à morte celular (Ma & Peterson 2000). Entremeadas às células da exoderme e endoderme com deposição de suberina, estão as células de passagem, que interrompem seu desenvolvimento prematuramente e acabam por apresentar um atraso ou ausência na suberização da lamela e/ou deposição de lignina em suas paredes (Von Guttenberg 1968; Enstone *et al.* 2003), conforme detectado pelo teste com Sudan em nosso estudo e assim como discutido por Enstone e colaboradores (2003). Na exoderme, o desenvolvimento das estrias de Caspary e da lamela de suberina pode reduzir a superfície de membrana (transporte transcelular ou entrada simplástica) em até 84% (Kamula *et al.* 1994). Tal redução pode gerar um efeito negativo na absorção de íons, como observado para absorção de PO_4^{3-} em raízes de milho (Ferguson & Clarkson 1976). Por outro lado, Enstone e colaboradores (2003) levantam que a superfície de contato da endoderme com o córtex radicular corresponde a apenas 1% da superfície total de membranas das células do córtex e da epiderme, não gerando neste caso, um efeito negativo para a absorção de nutrientes.

Quando a deposição da lamela de suberina não interrompe os plasmodesmas, e as células permanecem vivas, pode ocorrer a deposição de lignina (Wang *et al.* 1995). A deposição da parede secundária pode ser irregular e sugere forte resistência mecânica (Enstone *et al.* 2003), importante para evitar o colapso do córtex. O processo final da diferenciação pode culminar na morte das células e, consequentemente levar a um decréscimo significativo de pectinas (Albersheim *et al.* 2011). A deposição de lignina e suberina é mais evidente nas células endodérmicas (Schreiber *et al.* 1999) e, de fato, os testes com vermelho de rutênio apresentaram forte marcação para pectinas principalmente na exoderme. Dentre os dois tipos de pectinas detectadas na exoderme, as com baixa metil-esterificação ajudam a manter uma estrutura rígida da parede (Jarvis 1992) e, juntamente com uma matriz mais espessa relacionada com a resistência à

compressão (Jarvis & McCann 2000), corroboram a alta sustentação mecânica desta camada.

Composição da parede celular no parênquima cortical

Quando a rigidez da parede celular é baixa, há um maior grau de metil-esterificação (Morris *et al.* 2000), conforme observado nas células do parênquima cortical das espécies estudadas. A presença de pectinas com alta metil-esterificação nesta região pode estar relacionada à incapacidade de formar uma estrutura rígida quando em contato com Ca^{2+} e, neste caso, estes epitopos são mais flexíveis do que os epítopos não esterificados ou pouco esterificados (Davis *et al.* 1980). A alta esterificação das pectinas é também relacionada à forte capacidade em formar géis na matriz da parede celular, gerando um afrouxamento dessa estrutura e aumentando sua porosidade (Willats *et al.* 2001; Wolf & Greiner 2012). Isso sugere que a presença de forte marcação por JIM7 nas regiões de junções celulares facilita o transporte de soluções entre as células corticais. A matriz de gel formada é capaz de sofrer mudanças reversíveis no volume, que podem ser induzidas por alterações na temperatura, pH e/ou concentração de sais (Carpita & Gibeaut 1993). A presença de pectinas com alta metil-esterificação no parênquima cortical, poderia então, ajudar na capacidade de armazenamento de água pela célula.

O fluxo de água e nutrientes no parênquima cortical é influenciado não apenas pela matriz péctica, mas também por células com diferentes tipos de espessamento de parede, ou impregnações de suberina, distribuídas por todo o córtex. Tal impregnação e espessamento no parênquima cortical são altamente influenciados por condições ambientais variáveis, nem sempre se mostrando constantes entre as raízes de uma mesma espécie, ou mesmo dentro de um próprio indivíduo. O espessamento em phi é constituído por celulose e lignina (Wilcox 1962; Hass *et al.* 1976; Degenhard & Gimler 2000), conforme observado em *Cattleya skinneri alba*, *Caularthron bilamellatum* e *Dendrobium nobile*. Isso é o que o distingue das estrias Caspary, uma vez que estas contém suberina e lignina, e não apenas este último composto entremeado à sua estrutura celulósica (Peterson & Perumala 1990). A presença de lignina do espessamento em phi confere permeabilidade à membrana (Melo 2011), auxiliando consequentemente a condução apoplástica de água e nutrientes até a endoderme. Tal fato foi testado e confirmado em diversos trabalhos, dentre eles o realizado por Peterson *et al.* (1981) em *Pelargonium hortorum* L.H. e *Pyrus malus* L., que utilizando um

corante de baixo peso molecular, constataram o movimento apoplástico do mesmo pelos espessamentos em phi.

Células corticais com espessamento uniforme em raízes de orquídeas foram anteriormente descritas por Stern e Judd (2001). Os autores sugerem a constituição por lignina, o que poderia contribuir para o fluxo apoplástico e aumentar a resistência mecânica à dessecação no parênquima cortical. Entretanto, a presença de lignina foi confirmada em nosso estudo apenas nos espessamentos uniformes. Os espessamentos reticulados não apresentaram impregnação lipídica ou por lignina, permanecendo sua constituição química ainda incerta. Um terceiro tipo de células foi observado no parênquima cortical em quase metade das espécies estudadas; células que apesar de não apresentarem espessamento de parede, mostraram impregnação lipídica evidente. Tal impregnação pode sugerir o processo de suberização da lamela como ocorre nas células da endoderme e exoderme, representando um estágio de maturação anterior às células com espessamentos de parede uniforme de lignina. Entretanto, a simples presença de grande quantidade de células com parede de caráter hidrofóbico poderia contribuir para o transporte apoplástico no parênquima cortical em direção ao estelo.

Conclusões

Avaliando se há variação no grau de metil-esterificação de homogalacturanos presentes na parede celular dos tecidos, no velame foram revelados diferentes padrões, embora a marcação com epitopos de alta e baixa metil-esterificação encontradas relevam uma possível função de acúmulo de nutrientes no apoplasto. Estes íons podem ser liberados gradualmente para o córtex para ser disponibilizado no cilindro vascular, conforme a necessidade da planta. A mesma variação de padrões ocorreu com a exoderme e endoderme, embora a marcação de baixa metil-esterificação revela auxílio em manter a estrutura rígida da parede, importante neste tecido. No parênquima cortical, um maior grau de metil-esterificação foi evidenciado, confirmando a capacidade de formação de géis que contribuem para o armazenamento de água e o transporte de soluções entre as células neste tecido. Outras substâncias, como lipídeos e lignina, interferem no transporte apoplástico nos tecidos mais internos, sendo que no velame, a lignina é reforçada como presença fundamental para atuar como suporte mecânico e auxiliar neste fluxo apoplástico (produto da deposição irregular com grande comunicação entre as células). Na endoderme, a maior deposição de lignina e suberina atuam ofertando maior resistência mecânica para evitar o colapso do córtex. E, além disso, os espessamentos encontrados no parênquima cortical (phi, reticulado e uniforme) atuam como barreira mecânica, evitando que em momentos de dessecação, as células do córtex não entrem em colapso.

Nota do autor quanto à detecção de lignina

Apesar de existirem muitas técnicas disponíveis para coloração de lignina nos tecidos vegetais (Johansen 1940; Jensen 1962), muitas vezes a sensibilidade destas técnicas não é suficiente para detectar pequenas quantidades deste composto (Brundrett *et al.* 1988), especialmente em monocotilêneas. A microscopia de fluorescência então é utilizada nestes casos, por serem muito mais sensíveis visto que geram um contraste muito melhor quando um objeto de luz é visualizado em um campo escuro (O'brien & Mcculloch 1981). Em nosso estudo, a floroglucina acidificada proposta por Johansen (1940) permitiu a visualização de lignina apenas nas paredes das células exodérmicas, endodérmicas e do cilindro vascular. No parênquima cortical e no velame, foi necessária a utilização da microscopia de fluorescência com filtro DAPI. Desta forma, esta técnica se mostrou muito mais eficaz. Nossos resultados para lignina utilizando o método de detecção de fluorescência com uso do filtro DAPI, corroboram Brundrett e

colaboradores (1988), que utilizando o fluorocromo berberina e azul de anilina, demonstrou eficiência ao compreender muitos aspectos de estruturas de raízes, como em *Cattleya aurantiaea* (Batem.) Para esta espécie, estes autores encontraram velame levemente marcado, exoderme e endoderme intensamente fluorescentes (exceto nas células de passagem), córtex com espessamentos em phi irregulares, e estelo fortemente lignificado (com exceção do floema), assim como em nosso estudo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG pela bolsa de mestrado (T.A.C. Joca).

REFERÊNCIAS

- Albersheim P, Darvill A, Roberts K, Sederoff R, Staehelin A. 2011. Plant Cell Walls: From Chemistry to Biology. New York: Garland Science.
- Barberon M, Geldner N. 2014. Radial transport of nutrients: the plant root as a polarized epithelium. *Plant Physiology* 166: 528-537.
- Benzing DH. 1990. Vascular epiphytes. Cambridge, Cambridge University Press.
- Blamey FPC, Edmeades DC, Wheeler DM. 1990. Role of cation exchange capacity in differential aluminum tolerance of *Lotus* species. *Journal of Plant Nutrition* 13: 729-744.
- Brundrett M, Enstone D, Peterson C. 1988. A berberine-aniline blue fluorescent staining procedure for suberin, lignin, and callose in plant tissue. *Protoplasma* 146: 133-142.
- Carpita NC, Gibeaut DM. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants-consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal* 3: 1-30.
- Chamberlain, CJ. 1932. Methods in plant histology. Chicago, The University of Chicago Press.
- Chang YC, Yamamoto Y, Matsumoto H. 1999. Accumulation of aluminum in the cell wall pectin in cultured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cells treated with a combination of aluminum and iron. *Plant, Cell and Environment* 22: 1009-1017.
- Chomicki G, Bidel LPR, Jay-Allemand C. 2014. Exodermis structure controls fungal invasion in the leafless epiphytic orchid *Dendrophylax lindenii* (Lindl.) Benth. ex Rolfe. *Flora* 209: 88-94.
- Davis MAF, Gildley MJ, Morris ER, Powell DA. 1980. Intermolecular association in pectin solutions. *International Journal of Biological Macromolecules* 2: 330-332.
- Degenhardt B, Gimmler H. 2000. Cell wall adaptations to multiple environmental stresses in maize roots. *Journal of Experimental Botany* 51: 595-603.
- Dycus AM, Knudson L. 1957: The role of the velamen of the aerial roots of orchids. *Botanical Gazette* 119: 78-87.
- Engard CJ. 1944. Morphological identity of the velamen and exodermis in orchids. *Botanical Gazette* 105: 457-462.

- Enstone DE, Peterson CA, Ma F. 2003. Root endodermis and exodermis : structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation* 21: 335–351.
- Fahn A. 1990. *Plant anatomy*. Oxford, Pergamon Press.
- Ferguson IB, Clarkson DT. 1976. Ion uptake in relation to the development of a root hypodermis. *New Phytology* 77: 11-14.
- Haas DL, Carothers ZB, Robbins RR. 1976. Observations on the phi thickenings and caparian strips in *Perlagonium* roots. *American Journal of Botany* 63: 863-867.
- Hongo S, Sato K, Yokoyama R, Nishitani K. 2012. Demethylesterification of the primary wall by PECTIN METHYLESTERASE35 provides mechanical support to the *Arabidopsis* stem. *Plant Cell* 24: 2624–2634.
- Hose E, Clarkson DT, Steudle E, Schreiber L, Hartung W. 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany* 52: 2245-2264.
- Jarvis MC. 1984. Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. *Plant Cell and Environment* 7: 153–164.
- Jarvis MC. 1992. Control of thickness of collenchyma cell walls by pectins. *Planta* 187: 218-220.
- Jarvis MC, McCann MC. 2000. Macromolecular biophysics of the plant cell wall: concepts and methodology. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 1–13.
- Jensen WA. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W.H. Freeman, San Francisco, p. 408.
- Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw Hill Book Co.
- Kamula SA, Peterson CA, Mayfield CI. 1994. The plasmalemma surface area exposed to the soil solution is markedly reduced by maturation of the exodermis and death of the epidermis in onion roots. *Plant, Cell and Enviroment* 17: 1183-1193.
- Knox JP. 1997. The use of antibodies to study the architecture and developmental regulation of plant cell walls. *International Review of Cytology* 171: 79-120.
- Kolattukudy PE, Kronman K, Poulose AJ. 1975. Determination of structure and composition of suberin from the roots of carrot, parsnip, rutabaga, turnip, red beet,

- and sweet potato by combined gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *Plant Physiology* 55: 567-573.
- Liu Q, Talbot M, Llevellyn DJ. 2013. Pectin methylesterase and pectin remodeling differ in fiber walls of two *Gossypium* species with very different fibre properties. *Plos One* 8: 165-131.
- Ma F, Peterson CA. 2000. Plasmodesmata in onion (*Allium cepa* L.) roots: a study by improved fixation and embedding techniques. *Protoplasma* 211: 103-105.
- McCree KJ, Fernández CJ. 1989. Simulation model for studying physiological water stress responses of whole plants. *Crop Science* 29: 353-360.
- Melo HC. 2011. Pectin thickening of cell wall. *Hoehe* 38(1): 1-7.
- Moreira ASFP, Isaias RMS. 2008. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51: 83-93.
- Morris GA, Foster TJ, Harding SE. 2000. The effect of the degree of esterification on the hydrodynamic properties of citrus pectin. *Food Hydrocolloids* 14: 227–235.
- Noel ARA. 1974. Aspects of cell wall structure and the development of the velamen in *Ansellia gigantea* Reichb.f. *Annals of Botany* 38: 495-504.
- O'brien TP, McCully ME. 1981. The study of plant structure principles and selected methods. Melbourne, Termarcaphi Pty.
- Oliveira VC, Sajo MG. 1999. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 22(3): 365-374.
- Perumalla CJ, Peterson CA, Enstone DE. 1990. A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bands. I. Roots with a uniseriate hypodermis and epidermis. *Botanical Journal of the Linnean Society* 103: 93-112.
- Peterson CA, Perumalla CJ. 1990. A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bands. II. Roots with a multiseriate hypodermis or epidermis. *Botanical Journal of the Linnean Society* 103: 113-125.
- Peterson CA, Enstone DE. 1996. Functions of passage cells in the endodermis and exodermis of roots. *Physiologia Plantarum* 97: 592-598.

- Peterson CA, Emanuel ME, Humphreys GB. 1981. Pathway of movement of apoplastic fluorescent dye tracers through the endodermis at the site of secondary root formation in corn (*Zea mays*) and broad bean (*Vicia faba*). *Canadian Journal of Botany* 59: 618-625.
- Pridgeon AM, 1987. The velamen and exodermis of orchid roots. In: Arditti J (ed), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives, IV*. New York, Ithaca, Cornell University Press, p. 140–192.
- Ridley B, O'neil MA, Mohnen D. 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry* 57: 929-967.
- Roland JC, Vian B. 1991. General preparation and staining of thin sections. In Hall JL & HAWES E (eds), *Electron Microscopy of Plant Cells*. London, Academic Press.
- Roth-Nebelsick A. 2009. Pull, push and evaporate. The role of surfaces in plant water transport. In: Gorb S (ed) *Functional surfaces in biology. Little structures with big effects*, vol 1. Berlin, Springer, p. 141–162.
- Sanford WW, Adanlawo I. 1973. Velamen and exodermis characters of the West African epiphytic orchids in relation to taxonomic grouping and habitat tolerance. *Botanical Journal of Linnean Society* 66: 307-321.
- Sass J E. 1951. *Botanical microtechnique*. 2.ed. Ames, The Iowa State College Press.
- Schreiber L, Hartmann K, Skrabs M, Zeier J. 1999. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *Journal of Experimental Botany* 50: 1267- 1280.
- Stern WL, Judd WS. 2001. Comparative anatomy and systematics of *Catasetinae* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 136: 153-178.
- Steudle E, Ranathunge K. 2007. Apoplastic water transport in roots. In: *The apoplast of higher plants: compartment of storage, transport and reactions*. Sattelmacher, B. and Horst, WJ., Eds. Berlin, Springer, p. 119-130.
- Trépanier M, Lamy M-P, Dansereau B. 2008. *Phalaenopsis* can absorb directly through their roots. *Plant Soil* 319: 95-100.

- Von Guttenberg H. 1968. Der primaäre Bau der Angiospermenwurzeln. In: Linsbauer K, editor. Handbuch der Pflanzenanatomie v. 8. Berlin: Gebrüder Borntraeger, p 141-159.
- Wang XL, McCully ME, Canny MJ. 1995. Branch roots in *Zea*. V. Structural features that may influence water and nutrient transport. *Botânica Acta* 108: 209-219.
- Wilcox H. 1962. Growth studies of the root of incense cedar, *Libocedrus decurrens*. I. The origin and development of primary tissues. *American Journal of Botany* 49: 221-236.
- Willats WGT, Limberg G, Buchholt HC, Alebeek GJV, Benen J, Christensen TMIE, Visser J, Voragen A, Mikkelsen JD, Knox JP. 2000. Analysis of pectic epitopes recognized by hybridoma and phage display monoclonal antibodies using defined oligosaccharides, polysaccharides, and enzymatic degradation. *Carbohydrate Research* 327: 309–320.
- Willats WGT, McCartney L, Mackie W, Knox JP. 2001. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology* 47: 9-27.
- Wolf S, Greiner S. 2012. Growth control by cell wall pectins. *Protoplasma* 249(2): 169-175.
- Zotz G, Hietz P. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52: 2067–2078.
- Zotz G, Winkler U. 2013. Aerial roots of epiphytic orchids: The velamen radicum and its role in water and nutrient uptake. *Oecologia* 171: 733-741.
- Zhu XF, Lei GJ, Jiang T, Liu Y, Li GX, Zheng SJ. 2012. Cell wall polysaccharides are involved in P-deficiency-induced Cd exclusion in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 236: 989–997.
- Zhu XF, Wang ZW, Wan JX, Sun Y, Wu YR, Li GX, Shen RF, Zheng SJ. 2015. Pectin enhances rice (*Oryza sativa*) root phosphorus remobilization. *Journal of Experimental Botany* 66(3): 1017-1024.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No decorrer desta dissertação, foi possível avaliar diferentes estruturas e tecidos radiculares que nos permitiram detectar estratégias desenvolvidas pelas orquídeas epífitas para adquirirem de forma mais eficiente os recursos disponíveis no meio. Dentre essas estratégias, destacam-se maior investimento em velame ou em estruturas internas (maior área de cilindro vascular e córtex, com aumento expressivo no número de células de passagem). Os dados fornecidos aqui não expressam que maior investimento em determinado tecido, anula a funcionalidade de outros, uma vez que o conjunto gera maior eficiência no fluxo apoplástico e simplástico para o interior da raiz. Entretanto, esse investimento mais expressivo em determinadas estruturas podem compensar a falta de investimento em outras, muitas vezes em decorrência de estímulos ambientais ou característico de determinadas espécies. Foi possível concluir também que, a matriz péctica detectada no velame, apresenta carga negativa e pode ter um caráter funcional extremamente importante em reter íons de carga positiva (como visto com Rb^+), enquanto que um maior número de cordões de xilema alinhados com as células de passagem da endoderme podem permitir a entrada destes íons ao cilindro vascular de forma mais eficiente. Entretanto, novos testes de absorção devem ser realizados, com mais íons determinados em compostos nutritivos e buscando uma possível marcação (com corante específico) para detectar o caminho da absorção de água e nutrientes, verificando dessa forma a contribuição efetiva de cada tecido nas vias apoplásticas e simplásticas.

As características químicas avaliadas da parede celular nos fornecem novos dados, e outros são corroborados com trabalhos que buscam relacionar composição e absorção/ fluxo de água. Na parede celular das células do velame, a presença de pectinas levantou como hipótese de que esta estrutura pode auxiliar no acúmulo de nutrientes no apoplasto. A impregnação por lignina reforça seu papel como suporte mecânico e pode auxiliar o fluxo apoplástico. A camada externa e interna do córtex, a exoderme e a endoderme, são confirmadas como barreiras apoplásticas e seletivas, apresentando lamela suberizada e muitas vezes parede lignificada. Entretanto, no parênquima cortical, a detecção de pectinas altamente metil-esterificadas nos leva a crer que pode estar relacionada à capacidade de formar géis, contribuindo para o armazenamento de água e o transporte de soluções entre as células. Além disso,

espessamentos em phi, reticulado e uniforme encontrados nessa região são interpretados como barreira mecânica para evitar o colapso do córtex em momentos de dessecação.