



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Campus Umuarama - Bloco 2D - Uberlândia (MG) - CEP: 38400-902

**INDUÇÃO DA VIA C3/CAM EM FOLHAS DE *DENDROBIUM SW.*
(ORCHIDACEAE) POR VARIAÇÕES DA SAZONALIDADE HÍDRICA**

Barbara Moraes Giolo

Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira

Instituto de Biologia – INBIO

Uberlândia - MG

Dezembro - 2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Campus Umuarama - Bloco 2D - Uberlândia (MG) - CEP: 38400-902

**INDUÇÃO DA VIA C3/CAM EM FOLHAS DE *DENDROBIUM SW.*
(ORCHIDACEAE) POR VARIAÇÕES DA SAZONALIDADE HÍDRICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas,
Universidade Federal de Uberlândia, para a
obtenção do grau de bacharelado em Ciências
Biológicas.

Homologado pela coordenação do Curso

de Ciências Biológicas em __/__/__

Celine de Melo

Uberlândia – MG

Dezembro - 2018

*Dedico com muito carinho ao meu
avô, Arioaldo de Moraes, que
sempre me ensinou o valor de
estudar e ter uma boa educação.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Professora Doutora Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira pela dedicação, paciência e disponibilidade ao sanar minhas dúvidas e me orientar ao longo da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso. Também gostaria de agradecer à Aldineia Buss pelo companheirismo e enorme auxílio durante as minhas coletas e processamento dos dados até tarde da noite.

Sou grata às minhas amigas Thayná do Carmo Vieira que sempre me auxiliou opinando e ensinando na formatação durante o desenvolvimento da parte escrita do projeto, e Brunna Machado Leão Gomes que também me orientou sobre a formatação do texto.

Agradeço também ao LAFIVE – Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia pelo uso dos equipamentos durante o desenvolvimento do projeto.

RESUMO

As plantas epífitas possuem adaptações morfofisiológicas ao meio, que as auxiliaram ao longo de sua evolução a sobreviver em um ambiente de intensa flutuação na disponibilidade de água e nutrientes. A via fotossintética CAM permite que o CO₂ seja fixado no período da noite garantindo um ganho máximo de carbono com uma perda mínima de água. Estudos recentes mostraram que a via CAM (assimilação atmosférica pela PEP-carboxilase) pode ser induzida em espécies de *Dendrobium*. Entretanto, este gênero apresenta folhas delgadas, o que não favorece a expressão deste metabolismo. Nosso objetivo foi comprovar a transição da via C3 para a CAM, induzido por meio do estresse hídrico, e a existência de tal via nas folhas de duas espécies de *Dendrobium*, além de avaliar aspectos que podem contribuir para essa transição. Para tal, foram avaliados a variação diurna dos ácidos orgânicos, a suculência, a massa foliar específica e os teores de pigmentos cloroplastídicos. As duas espécies apresentaram menores valores na acidez titulável durante o regime de estresse hídrico. Foram encontradas diferenças significativas entre indivíduos controle e sob estresse hídrico para suculência de *D. fimbriatum* e, massa foliar específica e razão entre clorofila *a* e *b* de *D. nobile*. Os resultados obtidos sugerem a expressão do mecanismo CAM nas folhas, a indução da via CAM por estresse hídrico natural e a presença de indivíduos C3/CAM facultativos nas duas espécies de *Dendrobium*.

Palavras-chave: metabolismo ácido das Crassulaceas; estresse hídrico; suculência foliar.

ABSTRACT

Epiphytic plants have morphophysiological adaptations to the environment that helped them to survive, through evolution, in locals with an intense fluctuation of water and nutrients availability. The CAM pathway allows CO₂ fixation to occur at night time ensuring a maximum gain of carbon and a minimal loss of water. Recently studies showed that the CAM pathway can be induced in *Dendrobium* species. However, this genus exhibit thin leaves that doesn't favor the expression of it. The purpose was to prove the transition of C₃ to CAM pathway, induced by water stress, and to prove the existence of this pathway in leaves of two *Dendrobium* species. To verify this, titratable acidity, succulence, specific leaf mass and chlorophyll content were measured. Both species showed smaller numbers of titratable acidity during the water stress. Significant differences were found for succulence in *D. fimbriatum* and, specific leaf mass and chlorophyll content in *D. nobile*. The results obtained suggests the expression of CAM pathway in the leaves, induction of CAM pathway by natural water stress and the existence of individuals C₃/CAM facultative in both *Dendrobium* species.

Keywords: Crassulacean acid metabolism; hydric stress; leaf succulence.

INTRODUÇÃO

Orchidaceae é uma das maiores e mais ricas famílias de plantas do mundo, apresentam distribuição cosmopolita e ocupam os mais diversos habitats (DRESSLER, 1993; DRESSLER, 2005). Cerca de 70% das orquídeas são epífitas, e estas representam 70% das espécies de angiospermas epífitas do planeta (BENZING *et al.*, 1983; ZOTZ, 2013). Para se fixarem e crescerem sobre as árvores são necessárias adaptações e estratégias que auxiliam na captação de nutrientes e água (LÜTTGE, 1989; BENZING, 1990). Características específicas de cunho morfológico, anatômico e fisiológico representam aspectos estabelecidos no grupo neste ambiente epífita (OLIVEIRA & SAJO, 1999; ZOTZ & HIETZ, 2001). Como adaptações gerais de plantas em déficit hídrico e nutricional, alguns estudos destacam a redução da área foliar e do número de estômatos, folhas suculentas e cutícula espessa, presença de hipoderme e parênquima paliçádico compacto e com várias camadas (WALDHOFF & FURCH, 2002; BOEGER & WISNIEWSKI, 2003). Em orquídeas e outros grupos epífitos, destaca-se a presença de velame nas raízes: uma epiderme multisseriada de células mortas, semelhante a uma esponja, que absorve água e nutrientes (WENT, 1940) e pode auxiliar na prevenção da perda excessiva de água pelo córtex da raiz (JOHANSSON, 1974).

Do ponto de vista fisiológico, duas vias fotossintéticas estão presentes nas epífitas, a síntese orgânica de plantas C3 (Ciclo de Calvin/ Benson) e o Metabolismo Ácido das Crassuláceas (CAM), e as variações entre elas são importantes para a sobrevivência nas condições únicas deste ambiente (BENZING, 1990). Cerca de 57% de todas as plantas epífitas apresentam a via CAM (LÜTTGE, 2004), entretanto para Orchidaceae, indivíduos C3 obrigatórios, C3/CAM intermediários ou facultativos, e CAM obrigatórios (VAASEN *et al.*, 2006; SILVERA, 2010). O metabolismo CAM, é uma via de fixação do carbono que permite maior eficiência do uso da água (TING, 1985; CUSHMAN, 2001; CUSHMAN, 2005). O

mecanismo CAM é definido por três eventos fisiológicos que envolvem a fixação do carbono. O primeiro envolve a abertura dos estômatos e a fixação do carbono atmosférico durante a noite. A fixação é realizada pela fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-carboxilase), armazenando-o no vacúolo na forma de ácidos orgânicos, principalmente o malato. O segundo é o fechamento dos estômatos durante o dia, devido ao aumento da concentração interna de carbono durante a descarboxilação dos ácidos orgânicos. E o terceiro é a utilização do carbono no ciclo de Calvin para formar os carboidratos que serão utilizados ou ficarão armazenados. Mesmo para as espécies CAM obrigatórias, as etapas fisiológicas não são constantes e dependem de condições ambientais como água, temperatura, luz e salinidade (SIPES & TING, 1985; LÜTTGE, 2004). Diferentes indivíduos podem obter o carbono de diferentes formas, via abertura estomática noturna, por captura contínua da atmosfera ou mesmo proveniente da respiração foliar (DODD *et al.*, 2002; LÜTTGE, 2004). A importância desta variação na fixação de CO₂ é ressaltada pelo fato de que, em geral, as espécies C3/CAM facultativas podem apresentar maior resiliência do que as CAM obrigatórias (DODD *et al.*, 2002; TING, 1985). Esta transição entre as vias permite que as plantas sob baixa disponibilidade hídrica e altas temperaturas fechem seus estômatos durante o dia, evitando a perda de água e protegendo a integridade do aparelho fotossintético (WINTER & ZIEGLER, 1992). Por outro lado, quando a disponibilidade hídrica é alta o inverso pode acontecer, permitindo a abertura estomática durante o dia e garantindo a maior fixação de CO₂ com o menos gasto energético possível para a planta.

Algumas espécies apresentam via C3 em condições de ambiente ótimo e mudam para a via CAM em condições de estresse (LÜTTGE, 2004). É possível observar em indivíduos C3/CAM facultativos que durante o período de seca, o estresse hídrico é acompanhado de um aumento da fixação de carbono pela PEP-carboxilase, ou seja, indução da rota CAM (DODD *et al.*, 2002). Estudos de identificação das vias utilizadas têm sido desenvolvidos em diversas

famílias de plantas. QIU e colaboradores (2015) conseguiram induzir em laboratório a expressão do metabolismo CAM em folhas de *Dendrobium nobile* Lindl. Entretanto, RODRIGUES *et al.* (2013) questionam a presença deste metabolismo nas folhas de espécies de orquídeas C3, uma vez que estas geralmente apresentam folhas não suculentas, que não favorecem o armazenamento de ácidos orgânicos. Em seu estudo utilizando uma espécie híbrida de *Oncidium* Sw. (Orchidaceae), RODRIGUES *et al.* (2013) sugerem que o mecanismo CAM pode ser expresso no pseudobulbo, sendo o CO₂ fixado pela PEP-carboxilase transportado para as folhas onde seria utilizado pela ribulose 1-5 bifosfato carboxilase oxidase (rubisco) durante o dia.

Dendrobium é um gênero de orquídea bastante popular e constitui um dos três maiores da família, com aproximadamente 1500 espécies selvagens (CRIBB & GOVAERTS, 2005; LAVARACK *et al.*, 2000). São conhecidas popularmente como olhos de boneca e têm grande valor florístico e ornamental (JONES *et al.*, 1998). Seus indivíduos são todos epifíticos e algumas plantas são bastante flexíveis quanto às vias fotossintéticas que utilizam, variando entre as vias C3 e CAM (WINTER *et al.*, 1983). Neste estudo, consideramos que espécies primariamente C3 podem ter sua via CAM induzida naturalmente devido à sazonalidade hídrica, sem necessariamente ser induzida em laboratório. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi induzir o metabolismo CAM em duas espécies de *Dendrobium* aclimatadas em casa de vegetação aberta e sujeita a variações sazonais do ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Obtenção do material e cultivo de indivíduos

Foram estudadas duas espécies de *Dendrobium* na casa de vegetação localizada atrás do bloco 2D dentro do *campus* Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia. Cinco indivíduos de *D. fimbriatum* Hook. e cinco indivíduos de *D. nobile* Lindl foram aclimatados por 1 ano e receberam duas regas semanais. O experimento foi realizado durante o mês de

julho 2018, período com menores taxas de precipitação (dados obtidos pelo INMET) (Fig. 1A). Durante o experimento, a disponibilidade de água foi suspensa para indução do estresse hídrico. Temperatura e umidade foram monitoradas com um data-logger durante todo o decorrer do experimento (Fig. 1B). Foram utilizadas folhas maduras totalmente expandidas, optando sempre por folhas centrais do pseudobulbo. As coletas foram realizadas no fim da estação chuvosa (abril) e após 30 dias de estresse hídrico natural – julho (conforme período proposto por QIU (2015) para indução do metabolismo CAM dentro do gênero).

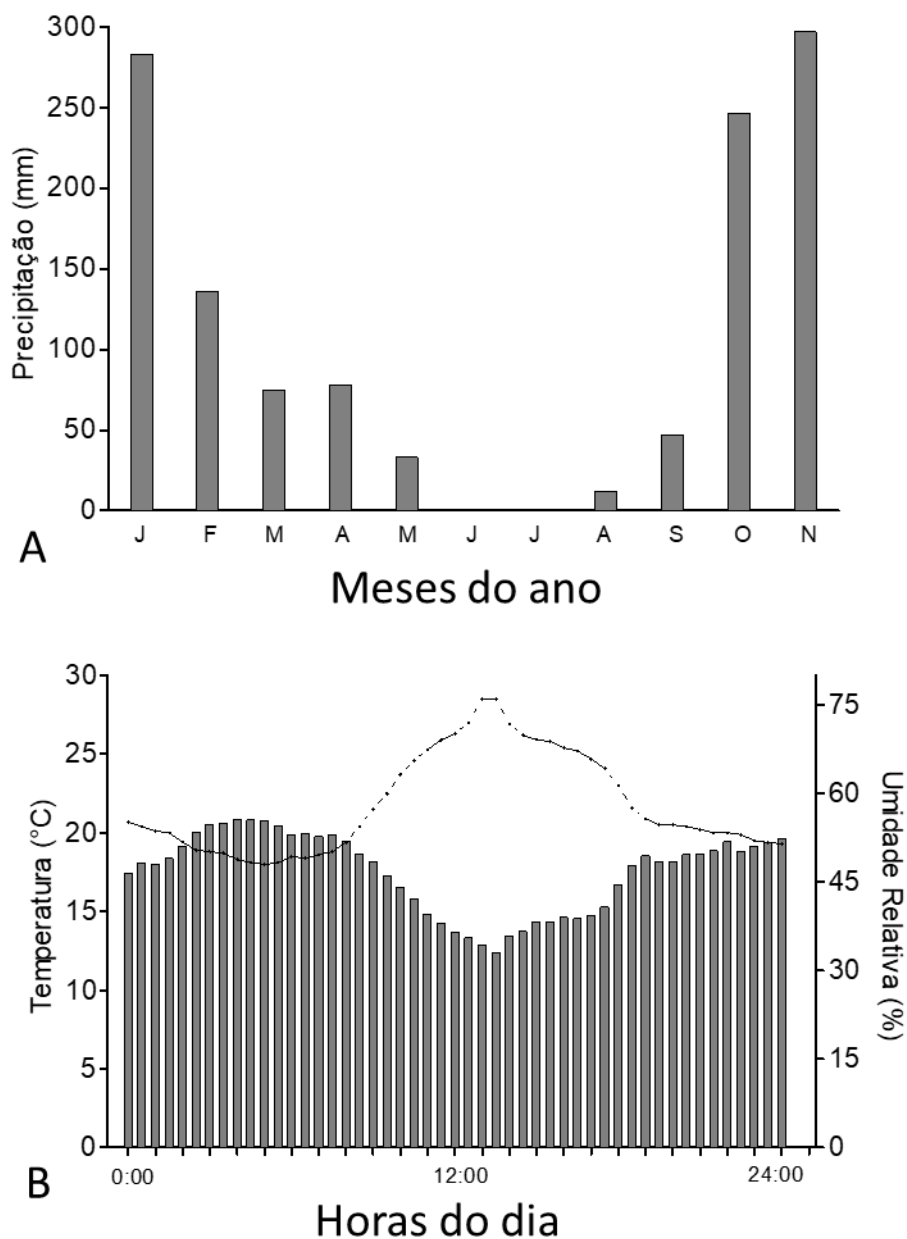


Figura 1 – Dados climáticos. A) Precipitação mensal na cidade de Uberlândia, MG, Brasil, entre janeiro e novembro de 2018 (dados obtidos pelo INMET – acessado em 28/11/2018). B) Curva diária de temperatura e umidade relativa do ar obtida em julho de 2018.

2. Determinação da Acidez Titulável

Para determinar a via fotossintética C3/CAM, foi monitorada a variação diária dos ácidos orgânicos (n=10). Para tal, 200 mg de massa foliar fresca foram coletadas de cada indivíduo antes do amanhecer (6 hrs) e ao fim da tarde (18 hrs). Logo após a coleta, o material

foi pesado, fervido em água destilada por cinco minutos e resfriado à temperatura ambiente, os extratos foram então titulados com NaOH 0,01 N em pH 7,0 (HARTSOCK & NOBEL, 1976).

3. Determinação de suculência e massa foliar específica

Utilizando um fragmento de 0,63 mm² de folha, a suculência (SU) foliar de cada indivíduo (n=10) foi determinada pela diferença entre a massa túrgida (MT) e a massa seca (MS), dividida pela massa seca (OGBORN & EDWARDS, 2012), sendo $SU=(MT-MS)/MS$. A massa túrgida foi obtida após hidratação dos fragmentos por 24 horas, enquanto que a massa seca foi obtida colocando o material em estufa a 60°C por 40 horas (peso constante). Com este mesmo fragmento foi calculada a massa foliar específica (MFE) que é dada pela razão entre massa seca (MS) e área do tecido utilizada (A) (WITKOWSKI & LAMONT, 1991), sendo $MFE=MS/A$.

4. Determinação dos pigmentos cloroplastídicos

Os teores de pigmentos cloroplastídicos, clorofila *a*, *b* e carotenóides, foram determinados à tarde, horário de menor acidez nos tecidos. Para tal, 1,27 mm² de área foliar de cada indivíduo (n=10) foram macerados, utilizando-se extração em acetona 80% e quantificação em espectrofotômetro segundo equações propostas por LICHTENTHALER e WELLBURN (1983).

5. Análises estatísticas

Todos os dados foram comparados entre as coletas dos períodos hidratados e não hidratados, utilizando-se o teste t-student para os dados paramétricos e Kruskal Wallis para os dados não paramétricos.

RESULTADOS

A variação diurna dos ácidos orgânicos (ΔH^+) para ambas as espécies de *Dendrobium* estudadas, mostrou que um maior número de indivíduos expressou o metabolismo CAM quando submetidos a 30 dias de estresse hídrico (Fig. 2). Em *D. fimbriatum*, houve um aumento de 40% dos indivíduos com expressão do metabolismo CAM, enquanto que em *D. nobile* foi observado que 100% dos indivíduos estudados apresentaram este metabolismo quando submetidos ao estresse hídrico.

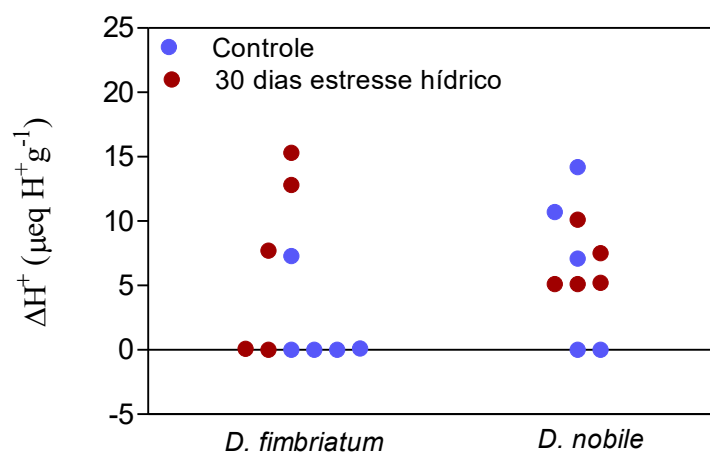


Figura 2 – Variação diurna dos ácidos orgânicos em plantas de *Dendrobium fimbriatum* e *D. nobile* hidratadas (controle), e posteriormente submetidas a 30 dias de estresse hídrico.

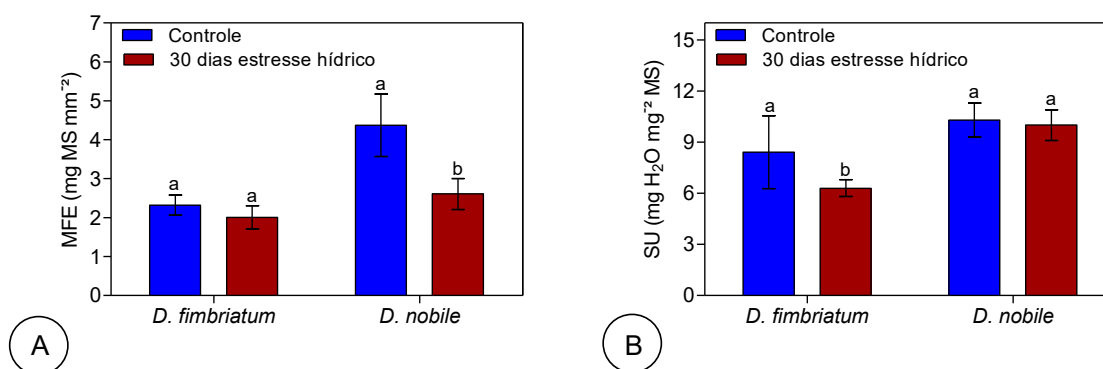


Figura 3 – Valores de (A) massa foliar específica (MFE) e (B) suculência (SU) obtidos para plantas de *Dendrobium fimbriatum* e *D. nobile* hidratadas (controle) e submetidas a 30 dias de estresse hídrico. Os valores representam média \pm desvio padrão ($n = 5$). Letras representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$), de acordo com Kruskal Wallis para SU de *D. fimbriatum* e teste t-student para as demais variáveis.

Dendrobium nobile apresentou redução de aproximadamente 50% dos valores de MFE de suas folhas ($p \leq 0,01$) quando submetidas a 30 dias de estresse hídrico (4,3 mg mm⁻² e 2,6 mg mm⁻², controle e estresse, respectivamente) (Fig. 3A). Entretanto, não houve mudanças para as plantas de *D. fimbriatum*. Já para suculência (SU) *D. fimbriatum* apresentou redução de 25% dos valores ($p \leq 0,05$), enquanto que *D. nobile* não apresentou diferenças significativas (Fig. 3B).

Para os conteúdos de pigmentos cloroplásticos os dados apresentaram diferenças significativas apenas para a razão clorofilas a/b em *D. nobile* ($p \leq 0,05$) (Tabela 1). Para os demais resultados referentes ao conteúdo de pigmentos cloroplásticos, tanto de *D. nobile*, quanto para *D. fimbriatum*, não foram observadas alterações significativas.

Tabela 1 – Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos ($\mu\text{g cm}^{-2}$ MF) para plantas de *D. fimbriatum* e *D. nobile* hidratadas (controle) e submetidas a 30 dias de estresse hídrico.

	<i>D. fimbriatum</i>		<i>D. nobile</i>	
	Controle	Estresse hídrico	Controle	Estresse hídrico
Clorofilas totais	27,91 ± 3,4	33,43 ± 9,47	44,66 ± 6,48	48,28 ± 13,61
Carotenoides	4,77 ± 0,56	6,19 ± 1,53	6,57 ± 0,95	7,46 ± 1,5
Cl a/b	2,66 ± 0,13	2,67 ± 0,12	2,63 ± 0,07*	2,53 ± 0,09*
Cl/carotenoides	5,82 ± 0,27	5,39 ± 0,53	6,80 ± 0,27	6,39 ± 0,07

Resultados com * demonstraram diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com teste t-student.

DISCUSSÃO

O regime de estresse hídrico demonstrou uma tendência à expressão do metabolismo CAM em folhas de *Dendrobium nobile* e *D. fimbriatum*. Apesar de outros parâmetros analisados (principalmente suculência) não sustentarem a hipótese inicial de que a via CAM possa ser induzida nestas plantas, de acordo com as análises da variação diurna dos ácidos orgânicos, as duas espécies apresentaram forte tendência à via CAM. *Dendrobium nobile* pode ser caracterizada como C3/CAM facultativa visto que todos os seus indivíduos sob estresse tiveram resultados positivos nas variações de ΔH^+ , e isso pode ser sustentado em condições experimentais por QIU e colaboradores (2015). Já para *D. fimbriatum*, apesar do aumento observado no número de indivíduos, nem todas as amostras obtiveram resultados positivos nas variações de ácidos orgânicos. QIU e colaboradores (2015) afirmaram que esta espécie é C3 obrigatória com base nas análises de captação líquida de CO_2 . Além disso, a redução significativa da suculência de *D. fimbriatum*, e a redução na razão entre clorofila *a* e *b* de *D. nobile* são fatores que sustentam a confirmação da hipótese de que estas espécies podem expressar a via CAM em resposta à sazonalidade hídrica.

Em geral, a suculência (SU) está presente em plantas que expressam a via CAM e garante à elas certa independência hídrica das variações e limitações na disponibilidade de água do ambiente (VON WILLERT *et al.* 1990; LÜTTGE, 2004; EGGLI & NYFFELER,

2009). Os tecidos suculentos em plantas que expressam a via CAM permitem o acúmulo de ácidos orgânicos durante o período noturno (MOREIRA *et al.*, 2017) e garantem que a atividade fotossintética se mantenha por mais tempo em períodos de estresse hídrico (OGBURN & EDWARDS, 2012). Nos resultados obtidos, observa-se que não houve diferenças significativas na suculência entre o controle e as plantas submetidas ao estresse hídrico em *D. nobile*. Isto reflete uma plasticidade fisiológica interessante, pois a manutenção da água nos tecidos foliares em períodos de seca possibilita a fotossíntese com eficiência durante o ano todo, porém sem queda nas reservas de água da folha, não há aumento da fixação do carbono no período noturno (SMIRNOFF, 1996; TING *et al.*, 1996). A redução no conteúdo de água inicia a fixação do carbono via atividade da PEP-carboxilase, e uma possibilidade é que no sistema em questão este processo esteja ocorrendo em outros tecidos da planta. Como proposto por RODRIGUES *et al.*, (2013), a presença de dutos de aerênquima associados aos feixes vasculares possibilita caminhos livres para trocas gasosas entre folhas e pseudobulbos. Neste sentido, seriam interessantes futuras coletas envolvendo estudos, incluindo anatomia, dos pseudobulbos e raízes, pois talvez seja nestes órgãos que as respostas ao estresse hídrico sejam observadas, e onde tem início a indução da via CAM. Para *D. fimbriatum*, os dados de suculência têm uma redução de 25% nas plantas sob estresse hídrico indicando perda de água. A redução da suculência desencadeia a via CAM, com fixação noturna do carbono pela PEP-carboxilase e reduzindo a perda de água para o ambiente (DODD *et al.*, 2002).

A massa foliar específica (MFE) pode refletir o acúmulo de carbono nas folhas e seu aumento é também uma resposta ao estresse hídrico nas plantas (JURIK, 1986; RASCIO *et al.* 1990). Este índice demonstra ao mesmo tempo os efeitos da densidade e da espessura dos tecidos, que pode aumentar por indução do estresse hídrico, como visto por PITMAN *et al.* (1983). Em folhas esclerófilas, altos índices de MFE condizem com o aumento da proporção

de tecido estrutural (WITKOWSKI & LAMONT, 1991). No experimento conduzido, foram utilizadas folhas maduras, de modo que a expansão e o arranjo dos tecidos (que poderiam acarretar modificações na espessura ou densidade foliar) não se alteram. Modificações na MFE poderiam, então, se originar da deposição de lignina nas paredes celulares (um processo relativamente lento a se considerar 30 dias de experimento) ou de mudanças na dinâmica de carboidratos. Para *D. nobile* no período de estresse hídrico, as folhas apresentaram uma redução de 50% da MFE, e este resultado é contrário ao observado em plantas que utilizam a via CAM. Nas análises de variação dos ácidos orgânicos esta espécie apresentou efetiva expressão do metabolismo CAM para todas as amostras coletadas durante o estresse hídrico, esperando-se, portanto, um aumento na concentração de carboidrato foliar. Contudo, o oposto pode ocorrer também como no caso do estudo de WILSON & NG (1975) que encontraram perda de parede celular em folhas e tecidos vasculares de *Panicum maximum* (Poaceae) sob estresse hídrico.

O regime de estresse hídrico pode gerar moléculas reativas de oxigênio que causam danos estruturais ao aparato fotossintético (SMIRNOFF, 1993), principalmente ao fotossistema II que contém grande parte das clorofilas *b* existentes em uma planta (KERBAUY, 2004). Nos dados sobre pigmentos cloroplastídicos, houve uma redução significativa da razão entre clorofilas *a* e *b* após o estresse induzido, o que já foi observado em cultivos de trigo por LOGGINI *et al.* (1999), e possivelmente está associada a fotoinibição e fotodestruição. Outro fator é a plasticidade da formação de *grana*, ou empilhamento da membrana dos tilacóides nos cloroplastos que é influenciada pela luz. O fotossistema II se encontra majoritariamente nas membranas internas dos *grana*, e aumenta juntamente com o grau de empilhamento na proporção inversa à quantidade e intensidade da radiação de luz que o cloroplasto recebe (ANDERSON & ARO, 1994). O aumento do número de fotossistemas II conseqüentemente leva ao aumento da quantidade total de clorofila *b* e pode explicar essa

redução na razão entre clorofila *a* e *b*. As coletas controle foram realizadas em abril, no outono, e as de estresse hídrico foram em julho, período de inverno quando a intensidade da radiação luminosa é menor e estimula maior grau de empilhamento dos grana para melhor captação de elétrons para a fotossíntese.

Como discutido por MAO & ZHANG (1985), von WILLERT (2005) e QIU (2015), apesar da variação dos ácidos orgânicos indicarem tendência à expressão da via CAM, este método não é suficiente para afirmar a presença deste metabolismo. A confirmação do mecanismo pode ser realizada em um novo experimento através da discriminação de carbonos isótopos, aliada às análises de trocas gasosas noturnas realizadas pela folha e análises do Conteúdo Relativo de Água (CRA) ao longo do período de estresse hídrico. É de interesse que o experimento se repita aumentando o período de estresse hídrico, possivelmente o tempo não foi suficiente para uma intensa expressão do metabolismo CAM nestas plantas.

CONCLUSÃO

Dendrobium nobile e *D. fimbriatum* apresentam folhas de baixa suculência, o que sugere predominância da via fotossintética C3. Entretanto, os resultados deste trabalho demonstram que a via CAM pode ser expressa em condições de déficit hídrico imposto por variações naturais do ambiente. O tempo parece ser um fator crucial na indução da via CAM, e maiores períodos de seca podem favorecer este metabolismo. Alguns parâmetros fisiológicos respondem de forma mais evidente, sendo observada uma redução de água nos tecidos e, em alguns casos, também da massa foliar específica.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J.M. & ARO, E.M. 1994. Grana stacking and protection of photosystem II in thylakoid membranes of higher plant leaves under high irradiance: an hypothesis. *Photosynthesis Research* 41(2): 315–326

- ANDO, T. 1982. Occurrence of two different modes of photosynthesis in *Dendrobium* cultivars. *Sci. Hortic.-Amsterdam* 17: 169-175.
- BENZING, D. H. 1990. *Vascular epiphytes*. Cambridge University Press, Cambridge.
- BENZING, D. H.; FRIEDMAN, W. E.; PETERSON, G.; RENFROW, A. 1983. Shootlessness, velamentous roots, and the pre-eminence of Orchidaceae in the epiphytic biotope. *American Journal of Botany* 70: 121-133.
- BOEGER, M. R. T. & WISNIEWSKI, C. 2003. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 61-72.
- CRIBB P.; GOVAERTS R. 2005. Just how many orchids are there? – In: Raynal-Roques A., Rogeuenant A., Prat D. (ed.): *Proceedings of the 18th World Orchid Conference* 161-172.
- CUSHMAN, J.C. 2001. Crassulacean Acid Metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiology* 127: 1439-1448.
- CUSHMAN, J.C. 2005. Crassulacean Acid Metabolism: recent advances and future opportunities. *Functional Plant Biology* 32: 375-380.
- DODD, A.N.; MORLAND, A.M.; HASLAM, R.P.; GRIFFITHS, H.; MAXWELL, K. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53(369): 569-580.
- DRESSLER, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Portland: Dioscorides Press.
- DRESSLER, R.L. 2005. How many orchid species? *Selbyana* 26: 155-158.

- EGGLI, U. & NYFFELER, R. 2009. Living under temporarily arid conditions – succulence as an adaptive strategy. *Bradleya* 27: 15-38.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M. & BAKER, N. 1989. The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica Biophysica Acta* 990: 87-92.
- HARTSOCK, T.L. & NOBEL, P.S. 1976. Watering converts a CAM plant to daytime CO₂ uptake. *Nature* 262: 574-576.
- JOHANSSON, D. 1974. Ecology of vascular epiphytes in West African rain forest. *ActaPhytogeographicaSuecica* 59: 1-129.
- JONES, W. E.; KUEHNLE, A. R.; ARUMUGANATHAN, K. 1998. Nuclear DNA content of 26 orchid (Orchidaceae) genera with emphasis on *Dendrobium*. *Annals of Botany, New York* 82(2): 189-194.
- JURIK, T.W. 1986. Temporal and spatial patterns of specific leaf weight in successional northern hardwood tree species. *American Journal of Botany* 73: 1083-1092.
- KERBAUY, G. B. 2004. Fisiologia vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- LAVARACK B.; HARRIS W.; STOCKER G. 2000. *Dendrobium* and its Relatives.
- LICHTENTHALER, H.K. & WELLBURN, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11: 591–592.
- LOGGINI, B.; SCARTAZZA, A BRUGNOLI, E.; NAVARI-IZZO, F. 1999. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology* 119: 1091-1099.
- LÜTTGE, U. 1989. Vascular epiphytes: setting the Scene. In *Ecological Studies: Vascular plants as epiphytes*. 1-14.

- LÜTTGE, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93: 629-652.
- LÜTTGE, U.; HARICLASAN, M.; FERNANDES, G. W.; MATTOS, E. A.; TRIMBORN, P.; FRANCO, A. S.; CALDAS, L. S. & ZIEGLER, H. 1998. Photosynthesis of mistletoes in relation to their hosts at various sites in tropical Brazil. *Trees* 12: 167-174.
- MAO Z.Y., ZHANG W.J. 1985 A simple method for determining CAM plant. *Plant Physiol. Commun.* 35: 55-56.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. INMET, 2018. Página inicial. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home2/index>>. Acesso em 28/11/2018.
- MOREIRA, A.S.F.P.; BORBA, E.L.; OLIVEIRA, D.C. ; ISAIAS, R.M.S. ; DUCATTI, C. ; LEMOS-FILHO, J.P. 2017. Intermediate C3-CAM metabolism in *Bulbophyllum involutum*: a species with limited leaf morphological variation in relation to light. *South African Journal Of Botany* 113: 40-46.
- OGBURN, R.M. & EDWARDS, E.J. 2012. Quantifying succulence: a rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage. *Plant, Cell and Environment* 35: 1533-1542.
- OLIVEIRA, V.D.C. & SAJO, M.D.G. 1999. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 22(3): 365-374.
- PITMAN, W. D.; HOLT, E. C.; CONRAD, B. E. & BASHAW, E. C. 1983. Histological Differences in Moisture-Stressed and Nonstressed Kleingrass Forage 1. *Crop science* 23(4): 793-795.
- QIU, S.; SULTANA, S.; LIU, Z.D.; YIN, L.Y. & WANG, C.Y. 2015. Identification of obligate C3 photosynthesis in *Dendrobium*. *Photosynthetica* 53(2): 168-176.

- RASCIO, A.; CEDOLA, M.C.; TOPANI, M.; FLAGELLA, Z.; WITTMER, G. 1990 Leaf morphology and water status changes in *Triticum durum* under water stress. *Physiol Plant* 78: 462-467.
- RODRIGUES, M.A.; MATIZ, A.; CRUZ, A.B.; MATSUMURA, A.T.; TAKAHASHI, C.A.; HAMACHI, L.; FÉLIX, L.M.; PEREIRA, P.N.; LATANSIO-AIDAR, S.P.; AIDAR, M.P.M.; DEMARCO, D.; FRESCHI, L.; MERCIER, H. 2013. Spatial patterns of photosynthesis in thin- and thick leaved epiphytic orchids: unravelling C3-CAM plasticity in an organ-compartmented way. *Annals of Botany* 112:17–29.
- SILVERA, K.I. 2010. Crassulacean acid metabolism in tropical orchids: integrating phylogenetic, ecophysiological and molecular genetic approaches. *71(6)*: 1-253.
- SIPES, D.L. & TING, I.P. 1985. Crassulacean acid metabolism and Crassulacean acid metabolism modifications in *Peperomia camptotricha*. *Plant Physiology* 77: 59-63.
- SMIRNOFF, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist, Cambridge* 125: 27-58.
- SMIRNOFF, N. 1996. Regulation of crassulacean acid metabolism by water status in the C3/CAM intermediate *Sedum telephium*. *Crassulacean acid metabolism* 176-191.
- TING, I.P. 1985. Crassulacean acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology* 36: 595-622.
- TING, I. P.; PATEL, A.; KAUR, S.; HANN, J. & WALLING, L. 1996. Ontogenetic development of crassulacean acid metabolism as modified by water stress in *Peperonia*. *Crassulacean acid metabolism* 204-215.
- VAASEN.A.; BEGEROW.D.; HAMPP. R. 2006. Phosphoenolpyruvate carboxylase genes in C3, crassulacean acid metabolism (CAM) and C3/CAM intermediate species of the

- genus *Clusia*: rapid reversible C3/CAM switches are based on the C3 housekeeping gene. *Plant Cell Environ.* 29: 2113-2123.
- VON WILLERT, D. J.; ARMBRÜSTER, N.; DREES, T. & ZABOROWSKI, M. 2005. *Welwitschia mirabilis*: CAM or not CAM—what is the answer?. *Functional Plant Biology*, 32(5): 389-395.
- VON WILLERT, D.J.; ELLER, B.M.; WERGER, M.J.A.; & BRINCKMANN, E. 1990. Desert succulents and their life strategies. *Vegetatio* 90: 133-143.
- WALDHOFF, D. & FURCH, B. 2002. Leaf morphology and anatomy in eleven tree species from Central Amazonian floodplains (Brazil). *Amazoniana* 17: 79-94.
- WENT, F. W. 1940. Soziologie der Epiphytene in estropischen Regenwaldes. *Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg* 50: 1-98.
- WILSON, J. R. & NG, T. T. 1975. Influence of water stress on parameters associated with herbage quality of *Panicum maximum* var. *trichoglume*. *Aust, J, Agric, Res* 26: 127-136.
- WINTER K.; WALLACE B.; STOCKER G. *et al.* 1983. Crassulacean acid metabolism in Australian vascular epiphytes and some related species. *Oecologia* 57: 129-141.
- WINTER, K. & ZIEGLER, H. 1992. Induction of crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* increases reproductive success under conditions of drought and salinity stress. *Oecologia*, 92: 475-479.
- WITKOWSKI, E. T. F.; LAMONT, BYRON B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88: 486-493.
- ZOTZ, G. & HIETZ, P. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52(364): 2067-2078.

ZOTZ, G. 2013. The systematic distribution of vascular epiphytes - a critical update. *Botanical J. Linnean Soc.* 171: 453-481.

Barbara Moraes Giolo
Aluna

Profa. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira
Orientadora

Uberlândia - MG

Dezembro - 2018