

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Carla Mesquita Ramos

**Efeito da saturação hídrica sobre a atividade fotossintética de folhas de
Cattleya loddigesii Lindl e *Cattleya forbesii* Lindl**

Ituiutaba - MG

Abril – 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Efeito da saturação hídrica sobre a atividade fotossintética de folhas de
Cattleya loddigesii Lindl e *Cattleya forbesii* Lindl**

Carla Mesquita Ramos

Orientadora: Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia
para obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Ituiutaba - MG

Abril – 2022

*Dedico com muito carinho
à minha mãe, Lidiane Carvalho,
e aos meus avós, que
me incentivaram sempre nos
estudos e na vida*

AGRADECIMENTO

Adoraria agradecer à Professora Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira pela paciência e disponibilidade em me orientar ao longo do Trabalho de Conclusão de Curso. Aproveitando, gostaria de lembrar e agradecer à Jessica Ferreira, que auxiliou nas coletas e no desenvolvimento deste trabalho com muito carinho.

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

Sumário

Resumo.....	2
1.1 Abstract.....	3
Introdução.....	4
Material e Métodos.....	7
Resultados.....	11
Discussão.....	13
Conclusão.....	16
Referências Bibliográficas.....	17

RESUMO

As Orchidaceae atualmente são constituídas por 25000 espécies, envolvendo particularidades únicas com características morfológicas e adaptações distintas. Tais adaptações apareceram em resposta às diferentes condições ambientais em que cresceram. Mas a predominância no ambiente epifítico, que limita a oferta hídrica, moldou características ligadas à economia hídrica, como pseudobulbos, folhas carnosas e a presença do velame nas raízes. Não poderia ser diferente com seu metabolismo, e frequentemente observamos a via fotossintética CAM. Apesar das variações na expressão deste metabolismo, em geral, durante sua performance, o CO₂ é fixado no período da noite quando os estômatos se abrem, o que garante um ganho máximo de carbono com perda mínima de água. Neste estudo, procuramos entender como as condições de alagamento afetariam o metabolismo fotossintético de duas espécies de *Cattleya*. Tais espécies são ornamentais e frequentemente submetidas ao alagamento pela rega constante. Colocamos como hipótese, que estas condições de alagamento poderiam comprometer a atividade respiratória de suas raízes, e como consequência, afetar o metabolismo foliar, reduzindo a produtividade da planta. Após 72 horas de imersão do sistema radicular, *Cattleya forbesii* apresentou alta variação diurna dos ácidos orgânicos, com maiores concentrações no período da manhã. Entretanto, as 72 horas de imersão não foram suficientes para comprometimento fisiológico de sua atividade fotossintética em *C. forbesii* e *C. loddigesii*.

Palavras-chave: Alagamento; estresse hídrico; metabolismo ácido das Crassuláceas; Orchidaceae

ABSTRACT

The Orchidaceae currently comprise 25000 species, involving unique particularities with morphological characteristics and distinct adaptations. Such adaptations appeared in response to the different environmental conditions in which they grow. But the predominance of the epiphytic environment, which limits the water supply, shaped characteristics linked to the water economy, such as pseudobulbs, fleshy leaves and the presence of canopy in the roots. It could not be different with its metabolism, and we often observe the CAM photosynthetic pathway. Despite the variations in the expression of this metabolism general, during its performance, CO₂ is fixed at night when the stomate open, which guarantees maximum carbon gain with minimal water loss. In this study, we sought to understand how flooding conditions would affect the photosynthetic metabolism of two *Cattleya* species. Such species are ornamental and often subject to flooding by constant watering. We hypothesized that these flooding conditions could compromise the respiratory activity of its roots, and as a consequence. affect leaf metabolism, reducing plant productivity. After 72 hours of immersion of the root system. *Cattleya forbesii* showed high diurnal variation of organic acids, with higher concentrations in the morning. However, the 72 hours of immersion were not sufficient to physiologically compromise their photosynthetic activity in *C. forbesii* and *C. loddigesii*.

Keywords: Flooding; hydric stress; Crassulacene acid metabolism; Orchidaceae.

INTRODUÇÃO

As plantas respondem não apenas à deficiência hídrica, mas também ao alagamento, procurando por meio de mecanismos adaptativos que seus sistemas fotoquímicos e bioquímicos relacionados à fotossíntese suportem situações adversas (Oukarroum et al., 2007). Quando comprometida, a fotossíntese se revela como o principal impedimento ao crescimento, levando a alterações no comportamento fisiológico e redução da produtividade. A saturação hídrica afeta também a aeração na zona radicular e a lixiviação dos nutrientes (Bilibio et al., 2010; Lima et al., 2012). As raízes são estruturas de grande potencial respiratório e, quando em ambiente com excesso de água, estão sujeitas a condições de hipóxia ou mesmo anóxia, ou seja, à redução ou eliminação de oxigênio (Drew, 1997). Como consequência tem-se a redução das taxas respiratórias e inibição de outras atividades metabólicas. O efeito mais comum do alagamento é a redução da transpiração foliar pelo aumento do fechamento estomático (Blanke & Cooke, 2004, Yetisir et al., 2006, Atkinson et al., 2008). Dias-Filho e Carvalho (2000) apontaram que a redução na abertura estomática com decréscimo do nível de absorção de gás carbônico seria a principal causa da diminuição da capacidade fotossintética das plantas alagadas. A deficiência de oxigênio e o baixo potencial redox do solo, induzidos pelo alagamento, afetam desfavoravelmente vários aspectos da fisiologia vegetal, como mudanças na assimilação de carbono, absorção de macronutrientes e supressão do metabolismo respiratório das raízes (Kozlowski, 1997; Pezeshki, 2001; Krezwiser; Papadopoulou; Rennenberg, 2004). Segundo Martínez-Ballesta et al. (2003) e Tournaire-Roux et al. (2003), estresses abióticos como alagamento, entre outros, também afetam a condutância hidráulica dos tecidos, alterando sua resistência ao fluxo de água, além de diminuir a produção de aquaporinas, um dos subgrupos dentro da classe das *Intrinsic Membrane Proteins* (IMPs) responsáveis pelo transporte de água através de membranas. Como resultado, plantas em solos inundados possuem maior dificuldade para absorção d'água, pois este fator aumenta a resistência à absorção, ocorrendo um *deficit* hídrico e uma redução na turgescência celular da planta, limitando o crescimento dos tecidos (expansão foliar), além de causar uma deficiência na translocação de nutrientes do solo para o sistema radicular (Smit et al., 1989; Kozlowski, 1997). Também leva a redução na absorção de nutrientes devido a falta de energia sob essas condições, as plantas não

podem utilizar toda energia luminosa para a produção de ATP e NADPH, aumentando, dessa forma, sua suscetibilidade à fotoinibição (Oukarroum et al., 2007).

As Orchidaceae apresentam cerca de 28.000 espécies e outros tantos milhares de híbridos, estando distribuídas por quase todo o planeta (Christenhusz & Byng, 2016). Na região tropical, dentro das Américas, o Brasil lidera o número de espécies, com cerca de 2.419 espécies descritas, das quais 1.620 são endêmicas (Barros et al., 2010). O maior número ocorre em florestas úmidas. Por exemplo, na Mata Atlântica ocorrem cerca de 1.257 espécies distribuídas em 176 gêneros, e dentre estas 791 espécies são endêmicas deste domínio (Barros et al., 2009). Cerca de 68% das espécies de epífitas pertencem à Orchidaceae e, a maioria das orquídeas (69%) são epífitas. Essas espécies possuem atributos anatômicos, morfológicos e fisiológicos que as tornam bem-sucedidas no ambiente epifítico (Zotz, 2013).

Além dos atributos morfológicos, o Metabolismo Ácido das Crassulaceae (CAM) pode ser considerado uma adaptação ecofisiológica que garante uma maior eficiência no uso da água pelas plantas (Winter et al., 2005). A via CAM já foi encontrada em 26 famílias de angiospermas, em 38 espécies de pteridófitas aquáticas pertencentes ao gênero *Isoetes* (Lycophyta), em duas espécies de pteridófitas terrestres (epífitas) e em uma família de gimnosperma (Kerbaudy, 2004). Plantas epífitas são aquelas plantas que crescem se apoiando nos troncos de árvores sem retirar nenhum tipo de nutriente. (Granados-Sánchez, D. et al 2003). As orquídeas desenvolveram raízes aéreas para que elas possam se apoiar nesses troncos e conseqüentemente também realizar absorção de nutrientes e água. Nessas raízes podemos observar a presença do velame, a autora Bacelar-Nicolau, P. (2018) descreve a estrutura presente nas orquídeas da seguinte forma, funciona como uma esponja na captação de água (e nutrientes nela dissolvidos) e auxilia na sustentação dessas plantas. Cerca de 57% de todas as plantas epífitas apresentam o metabolismo CAM esta via (Luttge, 2004), das quais as orquídeas apresentam grande representatividade. Dentro das Orchidaceae, podemos encontrar indivíduos C3 obrigatórios, C3/CAM intermediários ou facultativos, e CAM obrigatórios, o que mostra uma grande amplitude de variação no grupo (Vaasen et al., 2006; Silvera et al., 2005; Silveira, 2010). No Metabolismo CAM as plantas mantêm os estômatos fechados durante o dia e os abrem durante a noite. Adicionalmente, durante a noite, também ocorre um aumento nos níveis endógenos de ácidos orgânicos, resultante da fixação do CO₂ obtido através da abertura dos estômatos. Esse evento se dá pela carboxilação de moléculas de fosfoenolpiruvato (PEP) pela ação

da enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC), resultando na formação de oxaloacetato (OAA). O OAA, por sua vez, pode ser utilizado para a formação de malato pela malato desidrogenase (MDH). O malato é uma das formas mais comuns de ácido orgânico entre as espécies que apresentam o CAM. Posteriormente, os ácidos orgânicos são armazenados no vacúolo. Durante o dia ocorre a descarboxilação dos ácidos orgânicos resultando no aumento da concentração interna de CO₂, que pode então ser utilizado normalmente no ciclo de Calvin, pela ribulose 1,5-bisfosfatase carboxilase/oxigenase (RUBISCO), para a formação de esqueletos carbônicos. Neste momento, os estômatos ainda encontram-se fechados e o CO₂ liberado internamente não escapa da folha. Essa elevada concentração interna de CO₂ favorece a atividade carboxilativa da RuBisCo no Ciclo de Calvin (Lopes, 2003).

No período da manhã, além de todo aparato bioquímico, a fase fotoquímica da fotossíntese é ativada. Por meio da cadeia transportadora de elétrons, ATP e NADPH são produzidos como importantes potenciais redutores. Neste processo, nem toda luz é captada pelas clorofilas, e uma pequena razão é perdida na forma de calor ou fluorescência (Rascher et al., 2000). Técnicas que avaliam a fluorescência da clorofila tornam possível avaliar também a eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII) como um método simples, rápido, sensível e não destrutivo, utilizado em investigações de danos ou reparos causados no sistema fotossintético das plantas em função de diversos tipos de estresse (Zanandrea et al., 2006; Correia et al., 2009; Suassuna et al., 2011; Martinazzo et al., 2012). A fluorescência da clorofila *a* permite verificar a atividade do transporte de elétrons na fotossíntese da folha, fornecendo uma análise detalhada da inibição da fotossíntese induzida pelo estresse (Meyer & Genty, 1999). Sendo assim tal processo fisiológico tem sido utilizado como indicador de eficiência quântica é possível estresse fisiológico.

Neste estudo, buscamos averiguar a tolerância de duas espécies de Orchidaceae submetidas a condições de saturação hídrica das raízes, avaliando-se os efeitos sobre suas folhas. Pesquisas na área, tendem a prevenir perdas e melhorar o cultivo com intuito de ampliar a eficiência na extração para obtenção de propriedades benéficas. Avaliar o quanto são capazes de suportar estresse sem danos irreversíveis, caminha para o sucesso no cultivo. Acreditamos que, conforme observado para raízes em geral, o alagamento pode comprometer a atividade respiratória nas orquídeas, e como consequência afetar o metabolismo foliar, reduzindo a produtividade da planta. Dessa forma, avaliamos o efeito do alagamento sobre a atividade fotossintética (variação diurna dos ácidos

orgânicos, fluorescência da clorofila *a* e conteúdo de pigmentos cloroplastídicos) nas folhas de *Cattleya loddigesii* Lindl. e *Cattleya forbesii* Lindl.

MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal (LAFIVE) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Umuarama. Durante a condução do experimento, foram utilizadas 12 plantas de *Cattleya forbesii* (Fig. 1A) e 12 plantas de *C. loddigesii* (Fig. 1B), todas crescidas em vasos de plástico e posteriormente transferidas para vasos de barro. As plantas se aclimataram por 3 meses no viveiro de orquídeas atrás do bloco 2D. Posteriormente, foram divididas em dois tratamentos, sendo 6 plantas mantidas como controle, com 2 irrigações semanais, e outras 6 plantas submetidas ao alagamento por imersão dos vasos em água por 72 horas (Fig. 1C).

Cattleya loddigesii é uma espécie endêmica da Mata Atlântica e atualmente encontra-se em declínio populacional nas florestas do Estado de São Paulo (Abrão & Rodrigues, 2014). É uma espécie de orquídea intensamente comercializada na atualidade e agrupa inúmeros híbridos que apresentam flores grandes e vivamente coloridas (Paula & Silva, 2004). É uma planta de grande porte com cerca de 30 cm de altura, bifoliada e geralmente epífita (Cardoso & Israel, 2005). *Cattleya forbesii* é endêmica do Brasil, ocorre nos Estados do Paraná, Rio de Janeiro e São Paulo, além de registros em Santa Catarina (da Silva Medeiros et al., 2007). É citada na Lista de Espécies Ameaçadas para o município do Rio de Janeiro (Fraga & Menezes, 2000) e no Cites (2005). Morfologicamente é uma planta de médio porte com cerca de 20 cm de altura, bifoliada e predominantemente epífita (Cardoso & Israel, 2005).

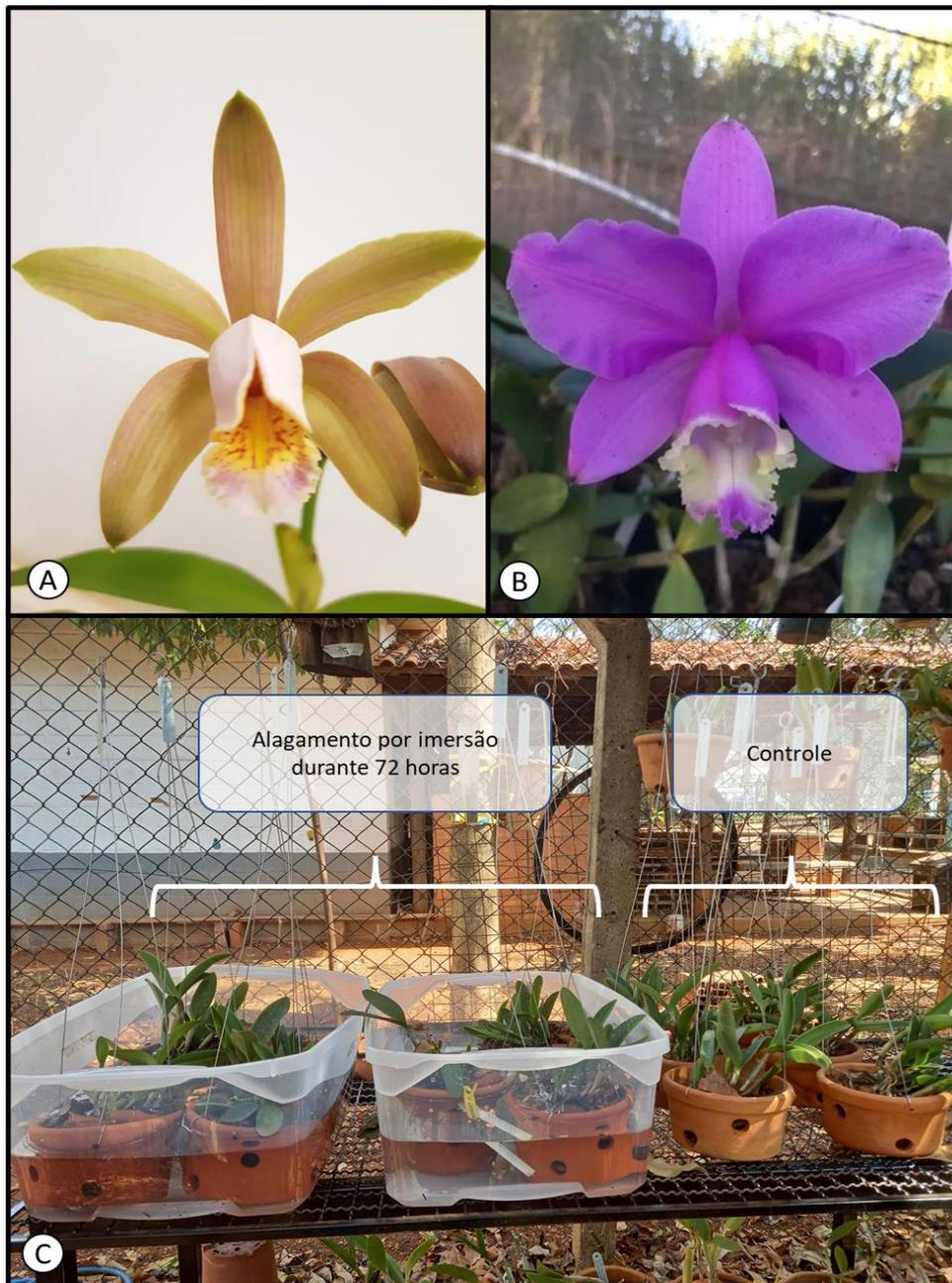


Figura 1. Experimento estabelecido no viveiro de orquídeas atrás do bloco 2D da Universidade Federal de Uberlândia. A) Flor de *C. forbesii* e B) Flor de *C. loddigesii*. C) Durante o experimento foram estabelecidos dois tratamentos. Um grupo de plantas foi mantido como controle e um segundo grupo de plantas foi imerso por 72 horas em água, configurando o tratamento de plantas alagadas.

Avaliação do metabolismo fotossintético

Para determinar o metabolismo fotossintético de cada espécie, a assinatura isotópica do carbono (C^{13}/C^{12}) foi realizada segundo a técnica proposta por Ehleringer & Osmond (1989). Fragmentos de 3 folhas (1 por indivíduo) de cada espécie foram coletados e secos a 50°C para posterior maceração e leitura em espectrômetro de massa (CF-IRMS do Centro de Isótopos Estáveis Carlos Ducatti– CIE da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, Brasil). O metabolismo fotossintético foi determinado comparando-se os valores de δC^{13} encontrados com os valores propostos por Deines (1980), onde o metabolismo C_3 foi caracterizado por valores entre -20 e -35 ‰ e o CAM por valores entre -10 a -22 ‰.

Para se verificar a expressão do metabolismo CAM ao término das 72 horas de alagamento, foi determinada a variação diurna dos ácidos orgânicos. Foram coletados 200 mg de folhas às 6 e às 18 horas. Após a pesagem em balança digital, as amostras foram submetidas à fervura em água destilada por 5 minutos e os extratos titulados contra NaOH 0,01 M (pH 7,0), conforme procedimento descrito por Hartsock & Nobel (1976).

A quantificação de pigmentos, clorofila *a*, *b* e carotenóides, das folhas foi realizada com uma amostra de 1 cm², com peso conhecido, ao final das 72 horas de experimento. As amostras foram pesadas em balança de precisão. Posteriormente, foi realizada a extração dos pigmentos em acetona 80%. O material foi macerado, centrifugado e sua absorbância foi realizada em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 646 e 663 nm (Biospectro, SP-220, Brasil). Os teores de cada pigmento foram obtidos segundo as equações propostas por Lichtenthaler & Wellburn (1983).

Efeitos do alagamento sobre o potencial fotossintético foram avaliados considerando a fluorescência da clorofila *a* ao término do experimento. A fluorescência transitória da clorofila *a* entre a luz e a adaptação ao escuro foi avaliada durante o período da manhã a partir de imagens obtidas pelo Handy Fluor Cam 800MF (Photon Systems Instruments-PSI, República Checa) integrado com software FluorCam 7.0 (protocolo *quenching* do equipamento). As medidas foram realizadas em todas as plantas (n=6 por tratamento/espécies) utilizando-se a média dos valores obtidos para 24 plots. Após uma adaptação ao escuro por 30 min, as plantas foram mantidas continuamente no escuro durante o período de medição da fluorescência. O efeito Kautsky (Stirbet, 2011) foi calculado para determinar o relaxamento da clorofila durante o ciclo de excitação, sendo

considerados como parâmetros neste estudo a fluorescência mínima do fotossistema II (PSII) adaptado ao escuro (F0), o rendimento quântico máximo de fotoquímica do PSII (Fv/Fm), a extinção não fotoquímica em estado estacionário na luz (NPQ) e taxa de declínio de fluorescência em estado estacionário na luz (Rfd). A cor falsa foi usada para exibir as imagens.

Avaliações estruturais e do balanço hídrico foliar

O conteúdo de saturação hídrica (CSH) foi utilizado como indicador de suculência e o conteúdo relativo de água (CRA) como método de avaliação do status hídrico das folhas. Fragmentos de 1 cm² foram coletados no período da manhã em uma folha de cada indivíduo (n = 6 para cada tratamento/espécie). O CSH foi determinado a partir da fórmula $CSH = (MT - MS)/MS$, onde MT é a massa túrgida após hidratação por 24 horas e MS é a massa seca após secagem do material em estufa à 60 °C até atingir peso constante (Ogburn & Edwards, 2012). O CRA foi obtido a partir da equação: $CRA = [(MF-MS)/(MT-MS)]*100$, onde MF corresponde à massa fresca (Witkowski & Lamont, 10991). A área foliar foi obtida com auxílio do software ImageJ (AxionVision 4.8.2 SP3 08-2013). Para o cálculo da biomassa, folhas inteiras, de todos os estratos, foram coletadas, secas em estufa de circulação forçada (Nova Técnica-Termostato 70) a 60°C até atingirem peso constante. A massa foliar específica (MFE) foi obtida pela fórmula $MFE = MS/A$, onde MS é a massa foliar e A corresponde à área foliar (Witkowski & Lamont, 1991).

Análise dos dados

As análises foram realizadas utilizando-se o software JMP 5.0 (SAS Institute Inc., USA). Os dados foram avaliados quanto à normalidade e homoscedasticidade através do teste de Shapiro-Wilk. Como os dados atenderam às premissas, o teste t-student foi aplicado para comparar as plantas controle das plantas alagadas dentro de cada espécie. Quando diferenças foram detectadas, as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey e estão representadas por letras diferentes. Para todas as análises, foi considerado um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A assinatura isotópica do carbono (δC) apresentou valores médios de $-14,95\%$ para *C. forbesii* e de $-16,47\%$ para *C. loddigesii*. Os valores da variação diurna dos ácidos orgânicos (Fig. 2) mostram que *C. forbesii* apresentou maior acúmulo de ácidos orgânicos durante o período da noite quando submetida ao estresse por alagamento.

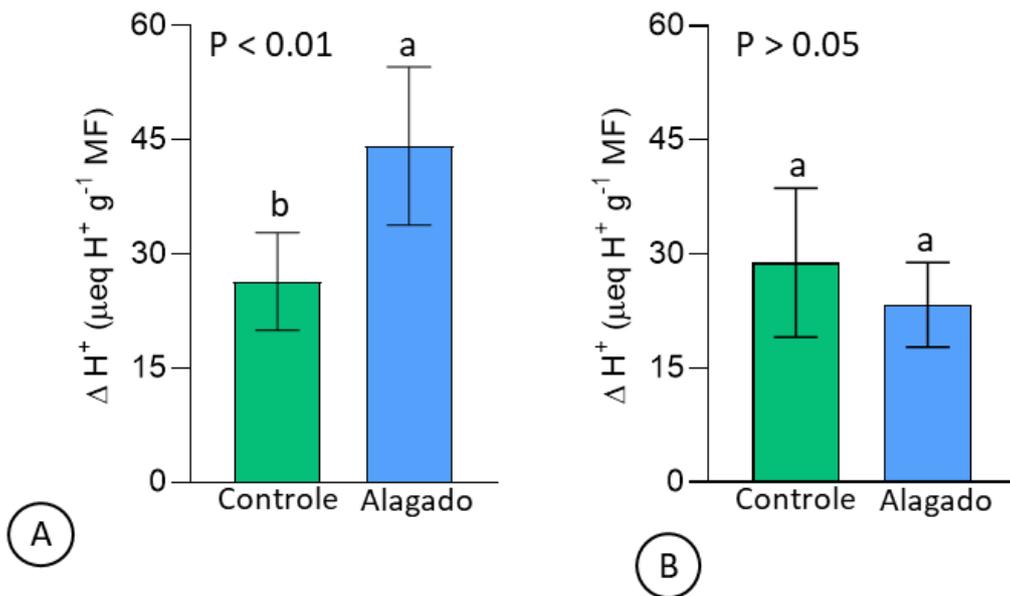


Figura 2. Variação diurna dos ácidos orgânicos em folhas de A) *Cattleya forbesii* e B) *C. loddigesii* mantidas em casa de vegetação com irrigação de duas vezes semanais (controle) ou colocadas em condição de saturação hídrica simulando alagamento por 72 horas (alagada).

Não foram observadas alterações no CRA, na MFE ou no CSH nas folhas de ambas as espécies estudadas sob condições de alagamento (Fig. 3). Do mesmo modo, as análises do conteúdo de pigmentos cloroplásticos e as análises de fluorescência da clorofila (Tabela 1) não mostraram efeito do alagamento sobre as folhas de *C. forbesii* e *C. lodgesii*.

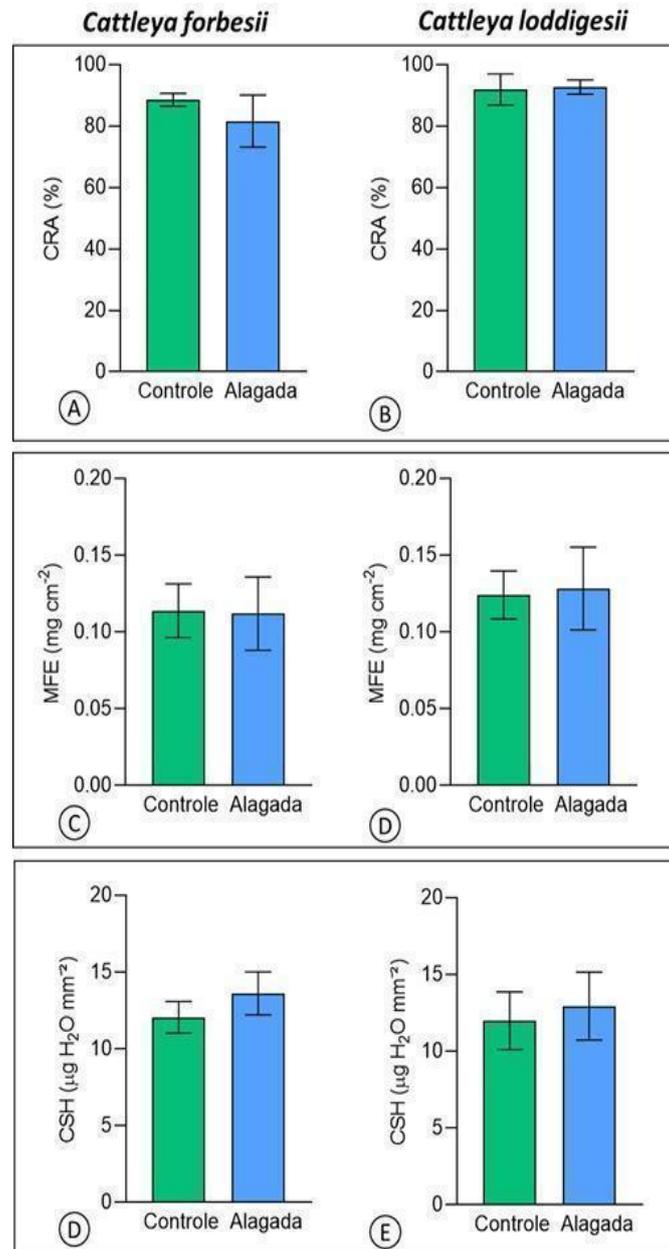


Figura 3. Alterações na condição hídrica da folha e na massa foliar específica de folhas de *Cattleya forbesii* e *C. loddigesii* mantidas em casa de vegetação com irrigação de duas vezes semanais (controle) ou colocadas em condição de saturação hídrica simulando alagamento por 72 horas (alagada). A) e B) representam o conteúdo relativo da água (CRA). C) e D) representam a MFE. E) e F) representam o conteúdo de saturação hídrica (CSH).

Tabela 01 -Valores obtidos para o conteúdo de pigmentos cloroplastídicos e a partir de análise de fluorescência da clorofila a em folhas de *Cattleya forbesii* e *C. lodgesii*. Os dados referem-se às médias de 6 plantas controle e 6 plantas alagadas que tiveram suas raízes submersas por 72 horas. Cl refere-se às clorofilas, carot aos carotenóides, (F0) refere-se à fluorescência inicial, (Fv/Fm) ao rendimento quântico potencial, (NPQ) se define como a extinção não fotoquímica em estado estacionário durante a luz e (Rfd) como a taxa de declínio de fluorescência em estado estacionário na luz.

	<i>C. forbesii</i>			<i>C. lodgesii</i>		
	controle	alagada	Valor P	controle	alagada	Valor P
<i>Teores de pigmentos cloroplastídicos</i>						
Cl totais	0,34 ± 0,11	0,32 ± 0,07	p>0,5	0,38 ± 0,15	0,29 ± 0,09	p>0,5
Cl a/b	2,51 ± 0,08	2,87 ± 0,36	p>0,5	2,11 ± 0,42	2,56 ± 0,12	p>0,5
Cl/carot	5,69 ± 0,34	5,50 ± 0,38	p>0,5	6,37 ± 1,08	6,09 ± 0,72	p>0,5
<i>Fluorescência da clorofila a</i>						
F0	75,4 ± 8,9	76,1 ± 3,2	p>0,5	70,2 ± 6,8	64,4 ± 10,2	p>0,5
Fv/Fm	0,809 ± 0,01	0,803 ± 0,03	p>0,5	0,818 ± 0,03	0,824 ± 0,01	p>0,5
NPQ	0,701 ± 0,29	0,702 ± 0,01	p>0,5	0,808 ± 0,09	0,805 ± 0,21	p>0,5
Rfd	0,962 ± 0,27	0,896 ± 0,32	p>0,5	1,032 ± 0,11	0,976 ± 0,29	p>0,5

DISCUSSÃO

Cattleya é um gênero com 48 espécies das quais 30 ocorrem no Brasil, e destas 25 são endêmicas (van den Berg & Martins 1998). Estas espécies ocupam predominantemente o ambiente epifítico e exibem o metabolismo CAM (Andrade-Souza et al., 2009). Dentre estas espécies que expressam a via CAM, podemos observar duas variações. Espécies CAM constitutivas que realizam uma fixação significativa de CO₂ em condições naturais e que expressam o metabolismo CAM mesmo com disponibilidade de água (Granados-Sanchez et al., 2003). As CAM induzíveis expressam quando são submetidas ao estresse hídrico. Nossos resultados da assinatura isotópica junto com a variação diurna dos ácidos orgânicos colocam *C. forbesii* e *C. loddigesii* como CAM constitutivas, realizando metabolismo CAM mesmo nas plantas controle, sem alagamento.

Cattleya forbesii e *C. loddigesii* toleraram o estresse por alagamento durante o período avaliado, não sendo observado um comprometimento fisiológico de sua atividade fotossintética. A *C. forbesii* mostrou antes de sofrer consequências negativas na raiz, ela absorveu muita água,

reservou e essa hidratação nas folhas levou a maior produção e armazenamento de ácidos orgânicos durante o período noturno. A expressão do metabolismo CAM é caracterizada pela abertura estomática durante o período da noite, no qual a fixação do CO₂ e por processos bioquímicos ocorre a redução a malato. Este composto orgânico é transportado para o vacúolo, juntamente com íons H⁺, causando a típica acidificação noturna das plantas CAM (Osmond, 1978; Cushman, 2001). Durante o período diurno, a descarboxilação do malato e refixação de CO₂ são realizadas pela ação da enzima ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), no citosol, reduzindo assim a acidez nos tecidos da planta (Osmond, 1978; Cushman, 2001; Herrera, 2008). Assim, a marcante particularidade deste tipo de metabolismo fotossintético é a separação temporal entre a fixação de CO₂ e sua assimilação em compostos orgânicos. Plantas tolerantes a inundações são capazes de manter a absorção de CO₂ fotossintético durante a inundação, a respiração em tecidos submersos, condutância estomática durante a inundação. E medidas de resposta a saturação hídrica como troca gasosa nas folhas. Índices de condutância estomática e fotossíntese diminuiu com espécies sensíveis ao alagamento e aumenta ou se mantém em espécies tolerantes dependendo do período avaliado.

Valores de Fv/Fm indicam que mesmo sobre condições de alagamento as duas espécies de orquídeas estudadas não sofreram danos irreversíveis que pudesse afetar a fase fotoquímica da fotossíntese. Os pigmentos cloroplastídicos (que também não se alteram) fazem uso da energia absorvida, transferindo energia de excitação para os centros de reação do PSII (Almeida & Maestri, 1996). Diferenças na assimilação de CO₂ em espécies que expressam a via CAM estão relacionadas a fatores ambientais, como a temperatura do ar. No entanto, tal fato não foi observado, uma vez que os valores de Fv/Fm permaneceram similares e não foram observadas variações bruscas de temperatura ao longo do experimento.

Os pigmentos fotossintéticos conhecidos como clorofilas e carotenóides são responsáveis por absorver luminosidade que será utilizada na fotossíntese. Esses pigmentos estão localizados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos. Para acompanhamento desses indicadores, trabalhou-se com a técnica de fluorescência no qual se avalia a eficiência fotossintética, indicando os fatores ambientais e as consequentes mudanças no estado fisiológico das plantas diretamente ou indiretamente. A técnica torna possível avaliar a eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII) por meio de um método simples, rápido, sensível e não destrutivo utilizado em investigações de danos ou reparos causados no sistema fotossintético das plantas, em função de diversos tipos de

estresse (Zanandrea et al., 2006; Correia et al., 2009; Suassuna et al., 2011; Martinazzo et al., 2012). Neste cenário, o uso de parâmetros de fluorescência tem sido difundido principalmente no estudo de fotossíntese por ser um método que, além de não destrutivo, permite analisar qualitativa e quantitativamente a absorção e o aproveitamento da energia luminosa através do PS2 e as possíveis relações com a capacidade fotossintética (Mouget; Tremblin, 2002; Netto et al., 2005).

Em temperatura ambiente (temperatura fisiológica, 20 a 250 C), a fluorescência é uma luz emitida e exibe um ponto máximo de emissão na faixa de 682 nm e outro ponto menos pronunciado em 740 nm (Krause & Weis, 1994).

Os três processos de dissipação da energia luminosa pelas moléculas de clorofilas (Ph+F+D) são competitivos, ou seja, alterações nas taxas fotossintéticas e na dissipação de calor causará alterações complementares na emissão da fluorescência. Sendo assim, 7 alterações na fluorescência podem mostrar a ausência ou presença de comprometimentos no processo fotossintético.

Em contexto, o índice de massa foliar específica (MFE) não apresentou nenhuma alteração, e partindo desse preceito não há acúmulo de metabólitos. Neste caso, é necessário lembrar que não foram constatados no trabalho o surgimento de raízes adventícias causadas pelo alagamento ou o desenvolvimento de novas folhas. Internamente, poderíamos incluir, ainda, a formação lisígena do aerênquima como produto do alagamento. A presença do aerênquima reduz substancialmente impedimentos ao transporte de oxigênio, reduzindo também riscos de danos metabólicos por hipóxia ou anóxia (Jackson & Armstrong, 1999). O processo lisígeno de formação do aerênquima, envolve sinalizações por etileno, com subsequente processo de transdução que iniciará a morte celular. Neste processo, serão observados a degeneração da parede celular e do protoplasto, com a formação dos espaços intercelulares (Jackson & Armstrong, 1999). Os valores de MFE indicam que não houve formação de lacunas de ar. Os resultados do CRA e CSH se mostram constantes entre os tratamentos, sem alterações no status hídrico das folhas. Tal resultado nos leva a considerar que não ocorreram alterações com relação ao funcionamento dos estômatos.

Tendo a PEP-carboxilase uma função anaplerótica, para dar suporte à biossíntese e assimilação de nitrogênio, principalmente em condições de estresse (Plaxton & Podesta, 2006; Sweetlove et al., 2010). As altas concentração de CO₂ aumentam a eficiência de síntese de açúcares, pois com alto teor de CO₂ ocorre maior atividade carboxilase da rubisco, em detrimento da atividade oxigenase. O grau de tolerância de um determinado genótipo vegetal ao alagamento ou ao

encharcamento do solo está diretamente relacionado à sua capacidade de desenvolver respostas bioquímicas, fisiológicas e morfoanatômicas que garantam mecanismos eficientes de manutenção do crescimento ou, no mínimo, de manutenção de funções vitais para a sobrevivência sob condições de anoxia ou de hipóxia (Colmer; Flowers, 2009; Mollard et al., 2008; Sairam et al., 2008; Yin et al., 2009). No experimento ocorreu grande concentração de ácido málico nas folhas de *C. forbesii*, aumentando a acidez. Essa resposta ao alagamento, estocando carbono para que a fotossíntese não seja comprometida, é combustível para a síntese de açúcares e posterior aumento da produtividade. Por outro lado, apesar das folhas de *C. lodgesii* não apresente resposta à condição de alagamento de suas raízes, mostraram que estas espécies mantiveram seus padrões fisiológicos no período avaliado.

CONCLUSÃO

Em suma, as espécies de *Cattleya* resistiram ao alagamento durante 72 horas, não sendo observado comprometimento fisiológico de sua atividade fotossintética. Com resultados positivos na *C. forbesii*, sugerindo maior acúmulo de ácidos orgânicos durante o período da noite quando submetida ao estresse, sugerindo potencial fotossintético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrão, M. & Rodrigues, C. 2014. Desenvolvimento de plântulas de *Cattleya loddigesii* Lindl.(Orchidaceae) em diferentes concentrações de ácido naftalenoacético e benziladenina. 21ª Reunião Anual do Instituto de Botânica. 04: 02:04.
- Almeida, A. A. F. De & Maestri, M. 1996.Characteristics of slow chlorophyll fluorescence emission in four *Coffea arabica* genotypes submitted to water stress. *Photosynthetica*.32: 161-169.
- Andrade-Souza, V.; Almeida, A.A.F.; Corrêa, R.X. & Costa, M.A. 2009. Leaf carbon assimilation and molecular. *Genetics and Molecular Research*.8: 976-989.
- Barros, F., Rodrigues, V. T. & Batista, J. A. N. 2009. Orchidaceae. In: J.R. Stehmann, R.C. Forzza, A. Salino, M. Sobral, D.P. Costa & L.H.Y. Kamino (eds.). *Plantas da Floresta Atlântica*. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 1: 372-403.
- Barros, F.; Vinhos, F.; Rodrigues, V. T.; Barberena, F. F. V. A. & Fraga, C. N. 2010. Orchidaceae in R.C. Forzza, et al (org.). *Catálogo de plantas e fungos do Brasil- Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. 2:1344- 1426.
- 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.
- Bilibio, C.; Carvalho, J. A.; Martins, M.; Rezende, F. C.; Freitas, E. A. & Gomes, L. A. 2010. Desenvolvimento vegetativo e produtivo da berinjela submetida a diferentes tensões de água no solo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 14: 730-735.
- Blanke, M. M. & Cooke, D. T. 2004. Effects of flooding and drought on stomatal activity, transpiration, photosynthesis, water potential and water channel activity in strawberry stolons and leaves. *Plant Growth Regulation*.42: 153-01.

- Buckeridge, M. S.; Yepes, A.; de Souza, A. P.; Marabesi, M. & Tonini, P. P. 2009. Comparação entre os sistemas fotossintéticos C3 e C4. 04: 02-04
- Cardoso, J. C. & Israel, M. 2005. Levantamento de espécies da família Orchidaceae em Águas de Sta. Bárbara (SP) e seu cultivo. Horticultura Brasileira. 23:169-173.
- Christenhusz, M. J. M. & Byng, J. W. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. Revista Phytotaxa. 261: 201–217.
- Caudle, K. L., & Maricle, B. R. 2012. Effects of flooding on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and oxygen stress in plants of varying flooding tolerance. Transactions of the Kansas Academy of Science. 115: 5-18.
- Cockburn, W.; Goh, C.J. & Avadhani, P.N. 1985. Photosynthetic carbon assimilation in a shootless orchid. *Chiloschista usneoides* (Don) LDL. Plant Physiology. 77:83-86
- Colmer, T. D. & Flowers, T. J. 2008. Flooding tolerance in halophytes. New Phytologist. 179:964-974.
- Correia, K. G.; Fernandes, P. D.; Ghey, H. R.; Nobre, R. G. & da Silva Santos, T. 2009. Crescimento, produção e características de fluorescência da clorofila a em amendoim sob condições de salinidade. Revista Ciência Agronômica. 40: 514-521.
- Cushman, J. C. 2001 Crassulacean Acid Metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. Plant Physiol. 127:1439-1448.
- Da Silva, M. A.; Pegaroro, C. S. & Petini-Benelli, A. Uma forma nova e correta de denominação em *Cattleya forbesii* Lindl. Orquidário volume 28, número 2. 2:4.
- Deines, P. 1980. The isotopic composition of reduced organic carbon. Handbook of environmental isotope geochemistry..
- Drew, M. C. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. Annual review of plant biology. 48: 223-250.
- Ehleringer, J. R. & Osmond C.B. 1989. Stable isotopes. In: Pearcy, R.W., Ehleringer, J.R., Mooney, H.A. and Rundel, P.W., Eds. Plant Physiological Ecology: Field Methods and Instrumentation. Kluwer, London. 281: 06-12
- Else, M. A.; Tiekstra, A. E.; Croker S. J.; Davies, W. J.; Jackson, M. B. 1996. Stomatal closure in flooded tomato plants involves abscisic acid and a chemically unidentified anti-transpirant in xylem sap. Plant Physiology. 112:239-247.

- Fraga, C.N. & Menezes, L.F.T. 2000. Orchidaceae. Secretaria Municipal de Meio Ambiente, eds. Espécies Ameaçadas de Extinção no Município do Rio de Janeiro: Flora e Fauna. Secretaria do Meio Ambiente da Prefeitura do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ.J. 33-34.
- Freschi, L.; Azevedo, L. V. G.; Purgatto, E. & Mercier, H. 2007. Sinalização hormonal da indução da fotossíntese CAM em bromélia epífita C3-CAM facultativa submetida ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Biociências*. 5: 468-470.
- Granados-Sánchez, D.; López-Ríos, G. F.; Hernández-García, M. Á. & Sánchez-González A. 2003. Ecología de las plantas epífitas. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*. 9:101-111.
- Hartsock, T.L. & P.S. Nobel. 1976. Watering converts a CAM plant to daytime CO₂ uptake. *Nature*. 262:574 -576.
- Herrera, A.; Ballestrini, C. & Tereza, W. 2008 Nocturnal sap flow in the C3-CAM species, *Clussia minor*. *Tress*. 22: 491-497.
- Jackson, M. B. & Armstrong, W. 1999. Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. *Plant Biology*. 1: 274-287.
- Joca, T. A. C.; Oliveira, D.C.; de, Zotz G., Winkler, U. & Moreira, A.S.F.P. 2017. The velamen of epiphytic orchids: variation in structure and correlations with nutrient absorption. *Flora*. 230: 66-74.
- Kerbaui, G. B. 2004. *Fisiologia Vegetal*. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 7.
- Kozłowski, T. T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph*. 17: 01-29.
- Kraus, M. L.; Weis, P. & Crow J. H. 1987 The excretion of heavy metals by the salt marsh cord grass, *Spartina alterniflora*, and *Spartina's* role in mercury cycling. *Marine Environmental Research*. 20: 307-316.
- Kreuzwieser, J.; Papadopoulou, E.; Rennernberg, H. 2004. Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. *Plant Biology, Freiburg*. 6:299-306.
- Lichtenthaler, H. and Wellburn, A. 1983. Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. *Biochemical Society Transactions* 603: 591-592.

- Lopes, B. A. 2003. Aspectos importantes da fisiologia vegetal para o manejo. Viçosa: UFV. 55: 15-28.
- Luttge, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany*. 93: 629-652.
- Luttge, U. 2006. Photosynthetic flexibility and ecophysiological plasticity: questions and lessons from *Clusia*, the only CAM tree, in the neotropics. *New Phytologist*. 171: 7-25.
- Martinazzo, E. G; Ramm, A. & Bacarin, M. A. 2012. The chlorophyll a fluorescence as an indicator of the temperature stress in the leaves of *Prunus persica*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 2: 237-246.
- Martínez-Ballesta, M. C. Aparicio, F., Pallás, V., Martínez, V., & Carvajal, M. 2003. Influence of saline stress on root hydraulic conductance and PIP expression in *Arabidopsis* *Journal of Plant Physiology*. Minneapolis. 160:689-697.
- Meyer, S. & Genty, B. 1999. Heterogeneous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubiginosa* L. during water stress and abscisic acid treatment: induction of a metabolic component by limitation of CO₂ diffusion. *Planta*. 210: 126-131.
- Mollard, F. P. O.; Striker, G. G.; Ploschuk, E. L.; Vega, A. S. & Insausti P. 2008. Flooding tolerance of *Paspalum dilatatum* (Poaceae: Paniceae) from upland and lowland positions in a natural grassland. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 203: 548-556.
- Mouget, J-L. & Tremblin, G. 2002. Suitability of the fluorescence monitoring system (FMS, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. *Aquatic Botany*. 74: 219-231.
- Netto, A.T.; Campostrini, E.; Oliveira, G.J. & Bressan-Smith. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam. 104: 199-209.
- Nicolau; P. B. 2018. Observe as raízes das suas orquídeas!. *Lusorquídeas*. 10:99-103.
- Ogburn, R.; Matthew, E. E. J. 2012. Quantifying succulence: a rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage. *Plant, Cell & Environment*. 35: 1533-1542.

- Oukarroum, A.; El Madidi, S.; & Schansker, G. & Strasser, R. J. 2007. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environmental and Experimental Botany*. 60: 438-446.
- Osmond, C. B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology*.29: 379-414.
- Paula, C.C. & Silva, H.M.P. 2004. Cultivo prático de orquídeas. Viçosa, UFV. 106: 5-100.
- Pikart, F. C & Mioto, P. T. 2016. Metabolismo ácido das crassuláceas: considerações ecofisiológicas e evolutivas. *Laboratório de Ensino de Botânica*. 138: 137- 223.
- Plaxton, W. C. & Podestá F. E. 2006. The functional organization and control of plant respiration. *Critical Reviews in Plant Sciences*.25:159-198.
- Rascher, U.; Liebing, M. & Luttge, U. 2000. Evaluation of instant light-responses curves of chlorophyll parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. *Plant Cell & Environment*. Oxford. 23: 1397-1405.
- Sairam, R.; Kumutha, D.; Ezhilmathi, K.; Deshmukh, P. & Srivastava, G. 2008. Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. *Biologia Plantarum*. 52: 401-412.
- Silveira, K.I. 2010. Crassulacean acid metabolism in tropical orchids: integrating phylogenetic, ecophysiological and molecular genetic approaches. 71: 06-253.
- Silvera, K & Lasso, E. 2016. *Ecophysiology and Crassulacean Acid Metabolism of Tropical Epiphytes*. 'Tropical Tree Physiology'. (Eds G Goldstein, LS Santiago). Springer International Publishing: Cham. 25-43
- Silvera, K.; Santiago, L.S.; Winter. K. 2005. Distribution of crassulacean acid metabolism in orchids of Panama: evidence of selection for weak and strong modes. *Functional Plant Biology* 32: 397-407.
- Sit, B.; Stachoniak, M.; Van Volkenburgh, E. 1989 Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic roots stress. *Journal of Experimental Botany*, Oxford. 40:89-94.
- Suassuna, J. F., de Melo, A. S., Costa, F. S., Fernandes, P. D., Ferreira, R. S., & da Silva Sousa, M. S. 2011. Eficiência fotoquímica e produtividade de frutos de meloeiro cultivados sob diferentes lâminas de irrigação. *Semina: Ciências Agrárias*. 32: 1251-1262.

- Stirbet, A. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *J. Photoch. Photobio. B.* 104: 236-257.
- Sweetlove, L. J.; Beard, K. F.; Nunes-Nesi, A.; Fernie, A. R & Ratcliffe R. G. 2010. Not just a circle: flux modes in the plant TCA cycle. *Trends in plant science.* 15: 462-470.
- Tombolato, A. F. C. & Costa, A. M. M. 1998. Micropropagação de plantas ornamentais. Campinas, Instituto Agrônômico. *Boletim técnico.* 174: 10-35.
- Tournaire-Roux, C.; Sutka, M.; Javot, H.; Gout, E.; Gerbeau, P.; Luu, D. T. & Maurel, C. 2003. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature, London.* 425: 393-397.
- Van den Berg, C. & Martins P.S. 1998. Biogeography of Brazilian Cattleyas: Geographic Distribution, Morphological Variability, Evolutionary and Taxonomic Consequences. In: *Proceedings of the 15th World Orchid Conference, Rio de Janeiro, 1996.* Naturalia Publications, Turriers. 315-320.
- Vassen, 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.
- Winter, K.; Aranda, J. & Holtum, J.A.M. 2005. Carbon isotope composition and water-use efficiency in plants with crassulacean acid metabolism. *Functional Plant Biology.* 32: 5. 381-388.
- Witkowski, E. T. F. & Lamout, B. B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia.* 88: 486-493.
- Yetisir, H.; Caliskan, M. E.; Soylu, S. & Sakar, M. 2006. Some physiological and growth responses of watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai] grafted onto *Lagenaria siceraria* to flooding. *Environmental and experimental botany.* 581: 1-8.
- Yin, D.; Chen, S.; Chen, F.; Guan Z. & Fang, W. 2009. Morphological and physiological responses of two chrysanthemum cultivars differing in their tolerance to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany.* 67: 87-93.

- Zanandrea, I.; Nassi, F. L.; Turchetto, A. C.; Braga, E. J. B.; Peters, J. A. & Bacari, M. A. 2006. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. *Revista Brasileira de Agrociência*. 12: 157-161.
- Zotz, G. 2013. The systematic distribution of vascular epiphytes - a critical update: Vascular Epiphytes. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 171: 453–481.