



Universidade Federal De Uberlândia

Instituto De Biologia



Programa De Pós-Graduação Em Ecologia, Conservação E Biodiversidade

Gisely de Souza Santos

**Estrutura e função dos pneumatódios em raízes de *Vanda*
híbrida (Orchidaceae): do macro ao micro**

Uberlândia - MG

Outubro de 2025

Gisely de Souza Santos

**Estrutura e função dos pneumatódios em raízes de *Vanda*
híbrida (Orchidaceae): do macro ao micro**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito para obtenção do
título de Doutora em Ecologia, Conservação e
Biodiversidade.

Orientadora: Profª. Dra. Ana Sílvia Franco
Pinheiro Moreira

Uberlândia - MG

Outubro de 2025

Gisely de Souza Santos

**Estrutura e função dos pneumatódios em raízes de *Vanda*
híbrida (Orchidaceae): do macro ao micro**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências para
obtenção do título de “Doutora em Ecologia,
Conservação e Biodiversidade”.

Aprovada em 30 de outubro de 2025.

Banca examinadora:

Renata do Carmo Oliveira - UFU

Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica) pela Universidade de São Paulo

Rosy Mary dos Santos Isaías - UFMG

Doutorado em Ciências (Botânica) pela Universidade de São Paulo

Andréia Barroncas de Oliveira – UFOB

Doutorado em Botânica pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Vinícius Coelho Kuster – UFSJ

Doutorado em Biologia Vegetal Universidade Federal de Minas Gerais

Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira – UFU

Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal de Minas Gerais
(Orientadora)

Uberlândia - MG

Outubro de 2025

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

S237e
2025 Santos, Gisely de Souza, 1989-
Estrutura e função dos pneumatódios em raízes de Vanda híbrida (Orchidaceae) [recurso eletrônico]: do macro ao micro / Gisely de Souza Santos. - 2025.

Orientadora: Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2026.5013>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Ecologia. I. Moreira, Ana Silvia Franco Pinheiro, 1980- , (Orient.).
II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade. III. Título.

CDU: 574

Rejane Maria da Silva
Bibliotecária-Documentalista - CRB-6/1925



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ecologia, Conservação e Biodiversidade				
Defesa de:	Tese, número 108, PPGECEB				
Data:	trinta de outubro de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	14:30	Hora de encerramento:	18:02
Matrícula do Discente:	12123ECR007				
Nome do Discente:	Gisely de Souza Santos				
Título do Trabalho:	Estrutura e função dos pneumatódios em raízes de Vanda híbrida (Orchidaceae): do macro ao micro				
Área de concentração:	Ecologia				
Linha de pesquisa:	Ecologia de populações				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estrutura e desenvolvimento de plantas do Cerrado				

Reuniu-se por videoconferência a Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Biodiversidade assim composta pelos doutores: Renata Carmo de Oliveira - INBIO/UFU; Rosy Mary dos Santos Isaías - UFMG; Vinícius Coelho Kuster - UFSJ; Andreia Barroncas de Oliveira - UFOB e Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira - INBIO/UFU, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir a senhora presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando a candidata:

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/10/2025, às 09:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andreia Barroncas de Oliveira, Usuário Externo**, em 31/10/2025, às 12:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rosy Mary dos Santos Isaías, Usuário Externo**, em 31/10/2025, às 18:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Carmo de Oliveira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/11/2025, às 09:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vinícius Coelho Kuster, Usuário Externo**, em 03/11/2025, às 17:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6759548** e o código CRC **4953C4B4**.

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Sr. ‘Merino’ e D. Neco, que com muito calo e suor, produzidos com honestidade, sempre trabalharam arduamente para que eu pudesse alcançar oportunidades que não tiveram. Com sua simplicidade me permitiram crescer amando e apreciando a natureza em cada detalhe.

EPÍGRAFE

*“É que tem mais chão nos meus
olhos do que cansaço nas
minhas pernas. Mais esperança
nos meus passos do que tristeza
nos meus ombros. Mais estrada
no meu coração do que medo na
minha cabeça”.*

Autoria desconhecida

AGRADECIMENTOS

Ao Bom Deus, pela proteção, saúde e perseverança concedidas até então.

À Prefeitura Municipal São Desidério pela licença concedida em parte deste percurso e pela liberação para meu deslocamento para condução de experimentos e participação em eventos científicos.

À CAPES pelo apoio financeiro concedido em grande parte deste percurso.

Ao PPGE CB-UFU, por meio de seus docentes, colegiado e servidores técnicos. Aos professores: Rafael Rios pela escuta, conselhos e partilhas, à querida Profa. Vanessa Stéfani e ao João Custódio pelas conversas e apoio desde o Curso de Campo. Aos Professores: Douglas, Maura, Ariadne, Diego Anjos, Natália Leiner, Heraldo Vasconcelos, Paulo Eugênio e Alan Nilo, por todo incentivo e pela partilha de conhecimentos e experiências que levarei para a vida. À Profa. Renata por sua atenção e pela oportunidade em atividades extensionistas.

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Sílvia, pela oportunidade, ensinamentos, estímulo, compreensão, confiança, paciência e solicitude na condução desta pesquisa. Por fazer do LAFIVE um ambiente de trabalho leve e acolhedor, com atenção, afeto e escuta, sobretudo pelos valiosos conselhos, cafés, momentos de descontração e por todas as suas atitudes que me inspiram a ser alguém melhor no mundo e para o mundo.

À minha amiga e colega Jéssica Lima pelo apoio dentro e fora do ambiente acadêmico, pelos cafés e conversas, por encarar a vida com otimismo, pelas partilhas, acolhimento, hospitalidade e pela valiosa parceria em grande parte deste percurso.

Aos demais colegas e amigos que dividiram comigo o Laboratório por toda ajuda, convívio, conversas e companhia (Aprendo muito com todos!). Amanda pela sua atenção, apoio e acolhimento. Ao Denny por tirar dúvidas e oferecer suporte. À Meirielly pela atenção, simpatia e ajuda em algumas etapas dos experimentos. À Maria Eduarda (Duda), pelo apoio, pelos risos e por sempre alegrar nossos dias com suas reflexões e olhar atento e poético. Ao Miguel pelo apoio e motivação. À Larissa pela dedicação e ajuda com os cortes e também à Júlia e Stefani pela oportunidade de convivência.

Ao professor Denis Oliveira pelo apoio, por me lembrar que a vida não é um morango, mas podemos sê-lo, pelas palavras de encorajamento, confiança e por abrir as portas do Laboratório de Anatomia, Desenvolvimento Vegetal e Interações - LADEVI me oportunizando o uso de equipamentos e materiais, abrindo possibilidades de novos aprendizados. Ao Laboratório de multiusuários do Instituto de Química da Universidade

Federal de Uberlândia por meio de seus colaboradores. Aos amigos e colegas do LADEVI, pelas partilhas, ensinamentos e motivação, por me auxiliarem em algumas atividades, em especial a Patrícia pela sua atenção em me indicar materiais, me incentivar a ir a eventos científicos e por se fazerem presentes em vários momentos dentro e fora do meio acadêmico. À Phabliny e ao Pedro por todo o apoio e colaboração. Também agradeço aos demais amigos que a UFU me proporcionou. Ao William (Will) pela companhia, escuta, ajuda e torcida, por partilhar comigo tantos momentos agradáveis e engraçados e, sobretudo, pela preocupação e amizade sincera. À minha comadre Élide Boguea, pelas partilhas, amizade e motivação de sempre. Ao Alisson, Walleska, Jéssyca, Malu, Bárbara, Ingrid, Camila e Cristiane, pelas partilhas, escuta e gentilezas, do menor ao maior gesto. Aos Amigos que fiz no “Prédio Azul”: Beatriz (Bea), Hugo, Selma, Leandro e Lucas pelos preciosos momentos de convivência e partilhas.

À Dra. Lubia Guedes e Narciso Aguilera da Universidade de Concepción - Chile pelas sugestões e pela colaboração com testes histoquímicos. Às admiráveis professoras Rosy Isaias e Andreia Barroncas pelas colaborações e sugestões na qualificação, para aprimoramento desta pesquisa. À Luciana Julião, pelo apoio na edição do relato de meu trajeto estudantil.

Aos meus pais, Ormezindo (Merindo) e Neco, pelo exemplo de vida, por suportarem a saudade e compreenderem minha ausência, por todo gesto de incentivo e cuidado e por não me deixarem duvidar de que posso alcançar meus objetivos, ainda que as circunstâncias da vida se mostrem contrárias. Às minhas irmãs Magali e Ieuzi, que me encorajam e por vezes me auxiliam na conciliação de tarefas cotidianas com o curso. Aos meus irmãos Alisson e Rozeli, que mesmo com suas limitações físicas me proporcionam tanto ensinamento e me impulsionam a viver e fazer de cada dia uma bênção. Às minhas irmãs, Ormeco e Darli, aos meus estimados sobrinhos, avô, tios e madrinha, que almejam comigo esta realização e mesmo distantes sei que seguem torcendo por cada conquista.

Ao meu saudoso padrinho Jeová (In *memorian*), que me incluía em suas preces, me incentivou a seguir estudando e sempre me fez acreditar que mereço ver e vivenciar coisas boas. Ao Kássio e à Stéffany, que no início do curso me ajudaram com a mudança e me incentivam a seguir meus objetivos em outra cidade e estado, dando os primeiros passos dessa jornada comigo. Aos amigos e profissionais do meu município: Hermetina Macedo, Ana Carla Moreno, Danielli Manhezi, Adriana Oliveira, Luzeni Alves, Luciano Pereira e aos colegas da Unidade de Saúde pela motivação e apoio. Aos moradores de Sítio, Derocal e Boqueirão, que gentilmente me recebem em seus domicílios e se

alegrarem comigo por cada conquista. Aos amigos de diferentes credos que tiram um tempinho para elevar uma prece em favor de minha proteção, saúde e sabedoria nesta jornada.

Aos meus professores e amigos da UFOB pelos ensinamentos e incentivos. Às amigas Val, Jeane, Fábria, Zarra e Thaty pelas motivações e palavras de incentivo Aos meus vizinhos e amigos de Sítio do Rio Grande pela colaboração em meu trajeto de idas e voltas. Enfim, gratidão a todos, que torcem e de forma direta ou indireta têm contribuído para que eu chegasse até esta etapa.

Que Deus lhes abençoe sempre!

Sumário

Resumo	14
Abstract.....	13
Introdução geral	14
Referências	17
Capítulo 1: Estrutura e composição da parede celular das unidades de aeração no velame de <i>Vanda</i> híbrida (orchidaceae)	19
Resumo	21
Introdução	22
Metodologia	24
Material vegetal utilizado no estudo	24
Saturação do velame	25
Análises estruturais	25
Análises histoquímicas e imunocitoquímicas	26
Resultados	27
Imunocitoquímica	32
Fluxo apoplástico de água	35
Discussão	37
Aspectos da estrutura e função do velame	37
Aspectos da estrutura das unidades de aeração	38
Conclusão	40
Referências	40
Capítulo 2: Effects of the velamen water saturation on the photosynthetic performance of <i>Vanda</i> hybrid (Orchidaceae), a species with conspicuous pneumathodes	44
Capítulo 3: Estratégias das raízes de <i>Vanda</i> (Orchidaceae) que ensinam a importância de ser flexível: um relato de experiência acadêmica	54
Conclusão geral	66

Resumo

As raízes aéreas presentes em Orchidaceae possuem características anatômicas eficientes em otimizar a obtenção e o uso de água e nutrientes. Dentre elas, destaca-se a formação do velame, uma epiderme simples ou múltipla, constituída por células mortas na maturidade, que permite que as orquídeas sobrevivam em ambientes com escassez ou flutuação hídrica. Algumas espécies apresentam a formação dos pneumatódios no velame. As unidades de aeração correspondem a um conjunto de células que incluem a região do velame acima das células de aeração (o pneumatódio), as células de aeração propriamente ditas e as células especializadas do córtex, cujo funcionamento das unidades de aeração é baseado em duas hipóteses não excludentes, que envolvem mecanismos passivos de funcionamento. Neste sentido esta tese fundamenta-se na hipótese central de que variações estruturais, químicas e fisiológicas influenciam diretamente o desempenho funcional das unidades de aeração, modulando sua eficiência e resposta às condições ambientais. A mesma está estruturada em 3 capítulos. No primeiro capítulo propomos que a funcionalidade das unidades de aeração está ancorada na composição química das paredes de seus diferentes tipos celulares e do restante do velame, o que depende diretamente da composição de suas paredes celulares e das camadas adjacentes, permitindo ajustes dinâmicos na abertura e fechamento dos canais de aeração em resposta a variações ambientais. No segundo, nos propomos a analisar a tolerância do híbrido epífito *Vanda* submetido à alagamento, determinando se a saturação hídrica do velame leva ao estresse oxidativo radicular com efeito sistêmico no metabolismo da planta, discutindo o papel dos pneumatódios na aeração radicular. No terceiro trazemos um resumo de resultados obtidos na forma de divulgação científica por meio de um folheto, além de um relato de experiência acadêmica da autora, ressaltando a importância de cursar um doutorado e valorização do percurso formativo.

Palavras-chave: Epífitas; parede celular; aeração; sistema radicular; saturação; velame;

Abstract

The aerial roots present in Orchidaceae have anatomical characteristics that are efficient in optimizing the acquisition and use of water and nutrients. Among them, the formation of the velamen stands out, a simple or multiple epidermis, consisting of cells that die at maturity, which allows orchids to survive in environments with water scarcity or fluctuation. Some species have pneumatodes in the velamen. The aeration units correspond to a set of cells that include the region of the velamen above the aeration cells (the pneumatode), the aeration cells themselves, and the specialized cells of the cortex. The functioning of the aeration units is based on two non-exclusive hypotheses involving passive mechanisms. In this sense, this thesis is based on the central hypothesis that structural, chemical, and physiological variations directly influence the functional performance of the aeration units, modulating their efficiency and response to environmental conditions. It is structured in three chapters. In the first chapter, we propose that the functionality of the aeration units is anchored in the chemical composition of the walls of their different cell types and the rest of the canopy, which depends directly on the composition of their cell walls and adjacent layers, allowing dynamic adjustments in the opening and closing of the aeration channels in response to environmental variations. In the second chapter, we analyze the tolerance of the epiphytic hybrid *Vanda* subjected to flooding, determining whether the water saturation of the canopy leads to root oxidative stress with a systemic effect on plant metabolism, discussing the role of pneumatodes in root aeration. In the third, we present a summary of the results obtained in the form of scientific dissemination through a brochure, as well as an account of the author's academic experience, emphasizing the importance of pursuing a doctorate and valuing the educational path.

Keywords: Epiphytes; cell wall; aeration; root system; saturation; velamen;

Introdução geral

Plantas epífitas representam uma parcela significativa da diversidade vegetal, sendo responsáveis por até 10% de toda flora vascular e podendo alcançar até 25% das espécies vasculares em países tropicais (Nieder et al. 2001; Zotz & Hietz, 2001). Várias famílias compõem a flora epifítica, com ênfase nas Orchidaceae, Bromeliaceae, Araceae, Gesneriaceae e Polypodiaceae, que contribuem para a elevada riqueza e complexidade estrutural das comunidades nas copas arbóreas (Gentry & Dodson, 1987; Nieder et al. 2001; Zotz, 2013). Dentre os grupos mais diversos, as Orchidaceae destacam-se pelo elevado número de espécies, amplitude de formas de vida e estreitas interações ecológicas (Pérez-Escobar et al., 2024), capazes de colonizar desde ambientes úmidos e sombreados até micro-habitats expostos nas copas (Zhang et al., 2018). Essa diversidade reflete características morfofisiológicas que fazem das orquídeas um modelo privilegiado de estudo para compreender estratégias que favorecem a sobrevivência em ambientes com baixa disponibilidade de recursos (Zotz & Hietz, 2001; Rapp & Silman, 2014).

O ambiente epifítico é marcado por elevada heterogeneidade espacial e temporal na disponibilidade de água. Recursos hídricos são obtidos principalmente por chuva, neblina e orvalho, ocorrendo em pulsos intermitentes que alternam com períodos de seca diária e sazonal (Zotz & Hietz, 2001; Rapp & Silman, 2014). Essa condição coloca as epífitas em constante estresse hídrico, já que sua sobrevivência depende de rápida absorção e armazenamento de água em tecidos especializados (Benzing, 1990). Além disso, mudanças climáticas globais, como a redução da nebulosidade e o aumento da frequência de secas prolongadas, têm sido apontadas como fatores de risco para a manutenção da diversidade epifítica (Krömer et al., 2025). Modelos climáticos sugerem que a vulnerabilidade dessas plantas pode resultar em declínios significativos de riqueza e abundância em fragmentos de floresta montana e em regiões tropicais aquecidas (Rapp & Silman, 2014).

Diante dessas pressões ambientais, epífitas desenvolveram uma variedade de adaptações morfológicas. Estruturas como folhas suculentas, tricomas absorventes, pseudobulbos e sistemas radiculares especializados são fundamentais para a regulação hídrica (Benzing, 1990). Considerando-se o sistema radicular, destaca-se inclusive nas Orchidaceae, o velame; tecido morto geralmente multiestratificado que reveste as raízes aéreas e atua como esponja, permitindo a absorção rápida de água e reduzindo a perda

89 por transpiração (Dycus & Knudson, 1957; Porembski & Barthlott, 1988). Além disso,
90 esse tecido exerce papel protetor contra radiação ultravioleta, contribuindo para a
91 sobrevivência em micro-habitats mais expostos (Chomicki et al. 2015). A variação na
92 espessura e na composição do velame entre espécies reflete a diversidade ecológica do
93 grupo e sua plasticidade adaptativa.

94 O desenvolvimento do velame inicia-se com divisões periclinais na protoderme
95 que dão origem a células que se expandem e depositam celulose, hemiceluloses, pectinas
96 e glicoproteínas, constituindo a matriz primária (Joca et al., 2020; Lana et al., 2020;
97 Manokari et al., 2022). O avanço na maturação celular é então marcado pela formação de
98 espessamentos secundários, que se manifestam em padrões helicoidais variados e
99 apresentam porosidade diferenciada. Estudos histoquímicos indicam que esses
100 espessamentos iniciam-se com impregnação lipídica, seguida de deposição de lignina,
101 conferindo maior resistência mecânica e capacidade de transporte apoplástico de água
102 (Joca et al., 2020; Manokari et al., 2022). A composição química das paredes, em especial
103 os diferentes padrões de metilesterificação das pectinas, influencia diretamente a
104 porosidade e a capacidade de hidratação do tecido, características essenciais para a
105 absorção e retenção de água em orquídeas epífitas (Zotz & Winkler, 2013; Joca et al.,
106 2017; Joca et al., 2020). A parede não é uma estrutura estática, mas uma matriz dinâmica,
107 capaz de remodelagem e expansão ao longo do crescimento e da diferenciação celular
108 (Anderson & Kieber, 2020). Em sua maturidade, o velame é composto por diferentes
109 tipos celulares que constituem o epivelame, tilosomos e unidades de aeração, também
110 conhecidas como pneumatódios. O epivelame refere-se à camada mais externa do velame
111 (Porembski & Barthlott, 1988), enquanto as unidades de aeração são formadas por
112 diferentes tipos celulares que interligam a atmosfera ao córtex radicular (Roth-Nebelsick
113 et al., 2017; 2021).

114 Diante da complexidade estrutural e química do velame, torna-se evidente que
115 seus diferentes tipos celulares, incluindo epivelame e células das unidades de aeração
116 (pneumatódios), desempenham papéis complementares na manutenção do balanço
117 hídrico e da aeração do córtex radicular, garantindo sua integridade metabólica em
118 ambientes variáveis. Em particular, as unidades de aeração, ao interligarem a atmosfera
119 ao córtex radicular, podem ser determinantes para a preservação das atividades
120 metabólicas em condições de alagamento, promovendo oxigenação interna e mitigando
121 os efeitos do déficit ou excesso hídrico. Considerando-se o exposto, a presente tese propõe

avaliar variações na composição da parede celular das células do velame e das unidades de aeração, investigando como essas diferenças contribuem para a resiliência funcional das raízes de orquídeas epífitas, especialmente frente a condições de saturação hídrica.

Dessa forma, a mesma está estruturada em 3 capítulos. No primeiro capítulo é proposto que a funcionalidade das unidades de aeração está ancorada na composição química das paredes de seus diferentes tipos celulares e do restante do velame, o que depende diretamente da composição de suas paredes celulares e das camadas adjacentes, permitindo ajustes dinâmicos na abertura e fechamento dos canais de aeração em resposta a variações ambientais. O segundo traz uma análise a tolerância do híbrido epífito *Vanda* submetido à alagamento, determinando se a saturação hídrica do velame leva ao estresse oxidativo radicular com efeito sistêmico no metabolismo da planta, discutindo o papel dos pneumatódios na aeração radicular. Por fim, o terceiro apresenta um resumo de resultados obtidos na forma de divulgação científica por meio de um folheto, bem como um relato da experiência acadêmica da autora, enfatizando a importância de cursar um doutorado e valorizar a trajetória educacional.

Referências

- Anderson CT, Kieber JJ (2020) Dynamic construction, perception, and remodeling of plant cell walls. *Annu Rev Plant Biol* 71:39–69. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-081519-035846>
- Benzing DH (1990) *Vascular Epiphytes: General Biology and Related Biota*. Cambridge University Press, Cambridge. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511525438>
- Chomicki G, Bidel LPR, Ming F, Coiro M, Zhang X, Wang Y, Baissac Y, Jay-Allemand C, Renner SS (2015) The velamen protects photosynthetic orchid roots against UV-B damage, and a large dated phylogeny implies multiple gains and losses of this function during the Cenozoic. *New Phytol* 205:1330–1341. <https://doi.org/10.1111/nph.13106>
- Dycus AM, Knudson L (1957) The role of the velamen of the aerial roots of orchids. *Bot Gaz* 119:78–87. <https://doi.org/10.1086/335966>
- Gentry AH, Dodson CH (1987) Contribution of nontrees to species richness of a tropical rain forest. *Biotropica* 19:149–156. <https://doi.org/10.2307/2388737>
- Joca TAC, Oliveira DC, Brito ES, Silva LC, Moreira ASFP (2017) The velamen of epiphytic orchids: variation in structure and correlations with nutrient absorption. *Flora* 230:66–74. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.03.006>
- Joca TAC, Lana LG, Santos MGO, Moreira ASFP (2020) Chemical composition of cell walls in velamentous roots of epiphytic Orchidaceae. *Protoplasma* 257:103–118. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01425-0>
- Krömer T, Einzmann HJR, Mendieta-Leiva G, Zotz G (2025) Impact of Land-use change on vascular epiphytes: a review. *Plants* 14:1188. <https://doi.org/10.3390/plants14081188>
- Lana LG, Joca TAC, Moreira ASFP (2020) Early development of epiphytic roots: perspectives based on the composition of the velamen cell wall. *Acta Bot Bras* 34:633–644. <https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0140>
- Manokari M, Sudhakar D, Kalpana K, Anbazhagan M, Suresh J, Baskaran P (2022) Assessment of cell wall histochemistry of velamentous epiphytic roots in adaptive response of micropropagated plantlets of *Vanda tessellata* (Roxb.) Hook. ex G. Don.

Plant Cell Tiss Organ Cult 149:685–696. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02284-7>

Nieder, J., Prosperí, J. & Michaloud, G. (2001) Epiphytes and their contribution to canopy diversity. *Plant Ecology* 153, 51–63 (2001).
<https://doi.org/10.1023/A:1017517119305>

Pérez-Escobar OA, Bogarín D, Przelomska NAS, Aeckerman JD, Balbuena JA, Bellot S, Bühlmann RP, Cabrera B et al. (2024) The origin and speciation of orchids. *New Phytol* 242:700–716. <https://doi.org/10.1111/nph.19413>

Porembski S, Barthlott W (1988) Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. *Nord J Bot* 8:117–137. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1988.tb00491.x>

Rapp JM, Silman MR (2014) Epiphyte response to drought and experimental warming in an Andean cloud forest. *F1000Research* 2014:7.[https://doi:10.12688/f1000research.3-7.v2](https://doi.org/10.12688/f1000research.3-7.v2)

Roth-Nebelsick, A., Hauber, F., & Konrad, W. (2017). The velamen radicum of orchids: A special porous structure for water absorption and gas exchange. *Functional Surfaces in Biology III: Diversity of the Physical Phenomena*, 107-120.

Roth-Nebelsick A, Thiv M, Malkowsky Y, Schott R, Heyer A (2021) Structure and functional anatomy of the gas exchange apparatus of leafless orchids: evidence for a control mechanism? *Bot J Linn Soc* 197:249–262.
<https://doi.org/10.1093/botlinnean/boaa067>

Zhang S, Yang Y, Li J, Qin J, Zhang W, Huang W, Hu H (2018) Physiological diversity of orchids. *Plant Divers* 40:196–208. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.06.003>

Zotz G, Hielitz P (2001) The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *J Exp Bot* 52:2067–2078.
<https://doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2067>

Zotz G (2013) The systematic distribution of vascular epiphytes – a critical update. *Bot J Linn Soc* 171:453–481. <https://doi.org/10.1111/boj.12010>

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.
<https://doi.org/10.1007/s00442-012-2575-6>

199	Capítulo 1: Estrutura e composição da parede celular das unidades de aeração no
200	velame de <i>Vanda</i> híbrida (orchidaceae)

201 **ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DA PAREDE CELULAR DAS UNIDADES DE**
202 **AERAÇÃO NO VELAME DE *Vanda* HÍBRIDA (ORCHIDACEAE)**

203

204 Gisely de Souza Santos¹; Jéssica Ferreira de Lima¹; Lúbia María Guedes García²; Denis
205 Coelho de Oliveira³; Narciso Aguilera²; Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira¹;

206

207 ¹Laboratório de Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de
208 Uberlândia, Campus Umuarama, Minas Gerais, Brasil;

209 ²Laboratório de Semioquímica Aplicada, Faculdade de Ciências Florestais; Universidade
210 de Concepción, Chile;

211 ³Laboratório de Anatomia e Desenvolvimento Vegetal e Interações, Instituto de Biologia,
212 Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, Minas Gerais, Brasil;

Resumo

Orquídeas epífitas apresentam adaptações morfológicas e fisiológicas que otimizam a absorção de água e nutrientes, dentre elas, o velame. Quando saturado, esse tecido pode limitar a respiração e a fotossíntese. Nas raízes aéreas as unidades de aeração podem compensar esta condição, e sua funcionalidade depende da estrutura e composição química das paredes celulares. Diante disso, o presente estudo propõe caracterizar a composição química da parede das células do velame e das unidades de aeração em raízes de um híbrido de *Vanda*, importante gênero ornamental. Fragmentos radiculares foram submetidos a análises histológicas e histoquímicas para detecção de lipídios, ligninas e pectinas. Foram realizadas análises imunocitoquímicas para detectar os diferentes tipos de proteínas, hemiceluloses e pectinas por anticorpos monoclonais nas raízes, bem como observação das estruturas em microscopia eletrônica de varredura. Lipídios foram detectados em toda a raiz, principalmente no velame e nas unidades de aeração. No fluxo apoplástico, o velame saturou-se em 1h, mantendo os pneumatódios parcialmente preenchidos, preservando a aeração. Observou-se impregnação lipídica em todo o velame e nas unidades de aeração, incluindo terpenos associados a oleorresinas e óleos essenciais, além de lipídios ácidos, sugerindo funções de impermeabilização, proteção mecânica e manutenção de bolsões de ar. O epivelame apresentou lipídios, mas não reagiu para terpenos ou lipídios ácidos, sugerindo presença de suberina. A lignina foi mais intensa no cilindro vascular e na endoderme, e de forma mais discreta no velame, com maior evidência próxima às unidades de aeração. As análises imunocitoquímicas evidenciaram distribuição diferencial de pectinas, hemiceluloses e proteínas de parede, com homogalacturonanas, arabinanas, galactanas e arabinogalactanos presentes no velame e córtex, mas ausentes ou pouco expressivos no epivelame. Hemiceluloses (arabinoxilanos e heteromananos) também foram identificadas no velame e nas unidades de aeração. Dessa forma, a heterogeneidade na deposição de lipídios, lignina, pectinas e hemiceluloses no velame e em raízes de *Vanda* híbrida corroboram a hipótese de que a funcionalidade das unidades de aeração depende diretamente da composição de suas paredes celulares e das camadas adjacentes, contribuindo para a manutenção da aeração nas raízes em resposta a variações ambientais.

Palavras-chave: Epífitas, parede celular, pneumatódios, velame.

Introdução

Orquídeas epífitas apresentam estratégias morfológicas e fisiológicas que aumentam a eficiência no uso da água em ambientes com baixa umidade ou altas flutuações hídricas. Nas raízes aéreas, por exemplo, o velame maximiza a absorção e retenção de água e nutrientes (Zotz & Winkler et al., 2013; Joca et al., 2017). Atribui-se a este tecido também funções como redução na perda de água, proteção mecânica, redução da carga térmica em raízes que crescem expostas (Pridgeon, 1987; Benzing, 1996; Zotz et al., 2017) e proteção UV (Chomiki et al., 2015). A multiplicidade de funções é essencial à sobrevivência das espécies epífitas, de forma que este tecido funciona tanto como uma barreira protetora quanto garante uma interface dinâmica entre a raiz e o ambiente.

A versatilidade do velame, entretanto, sugere um paradoxo fisiológico: ao mesmo tempo em que favorece a captação e a retenção hídrica (Benzing et al., 1982), sua saturação pode comprometer a difusão de gases, limitando a respiração e a fotossíntese radicular (Santos et al., 2025). Para contornar este desafio, algumas raízes aéreas velamentosas apresentam unidades de aeração. Estas unidades são formadas por um conjunto de células que interligam a atmosfera ao córtex radicular, perpassando pela exoderme (Benzing et al., 1983). Tais estruturas asseguram as trocas gasosas quando as raízes entram em contato com a água e saturam-se rapidamente. São facilmente visualizadas como manchas esbranquiçadas impermeáveis após hidratação da raiz – as manchas permanecem brancas quando o restante do velame torna-se translúcido e permite visualizarmos o córtex fotossintetizante (verde) (Santos et al., 2025).

Descritas no século XIX e inicialmente denominadas pneumatódios (Pridgeon, 1987), as unidades de aeração correspondem a um conjunto de células que incluem a região do velame acima das células de aeração (o pneumatódio), as células de aeração propriamente ditas e as células especializadas do córtex (Roth-Nebelsick et al., 2021; Santos et al., 2025). O funcionamento das unidades de aeração é baseado em duas hipóteses não excludentes, que envolvem mecanismos passivos de funcionamento. A “hipótese do fechamento passivo lateral” pressupõe que a conexão formada pelas células de aeração e as células especializadas do córtex se abre quando ocorre a hidratação do córtex como um todo, fechando novamente quando o córtex se desidrata (Benzing et al., 1983). Posteriormente, foi proposto de forma complementar que o diâmetro das células de aeração é reduzido pela compressão pelas células de paredes espessadas que compõem

a exoderme, também quando ocorre a desidratação do córtex (Roth-Nebelsick et al., 2021). Em ambas as hipóteses, pressupomos que o princípio funcional das unidades de aeração depende da composição química das paredes celulares de cada um de seus componentes, fornecendo flexibilidade de distensão, rigidez e coesão das células quando necessários, e garantindo a dinâmica de abertura e fechamento dos canais de aeração.

Dessa forma, pode-se dizer que a versatilidade do velame está diretamente relacionada à sua arquitetura celular e composição química das paredes celulares, que criam condições particulares para dinâmica de absorção de água e de trocas gasosas. O velame inicia seu desenvolvimento por meio de divisões periclinais da protoderme, cujas novas células se expandem e desenvolvem paredes com espessamentos secundários. Após amadurecimento, as células sofrem morte celular programada e perdem seu protoplasto, maximizando o transporte apoplástico (Pridgeon, 1987; Joca et al., 2020; Lana et al., 2020; Cantó-Pastor et al., 2025). As paredes primárias do velame são compostas principalmente de celulose, hemiceluloses, pectinas e glicoproteínas (Joca et al., 2020; Lana et al., 2020; Cantó-Pastor et al., 2025). Análises ontogenéticas mostram que a deposição diferencial centrípeta de lipídeos e ligninas ocorre já no seu desenvolvimento inicial (Lana et al., 2020). As paredes celulares têm base celulósica e a impregnação destes componentes (lipídeos e lignina) confere suporte mecânico e atua como facilitador do fluxo apoplástico de água (Joca et al., 2020). Os espessamentos secundários apresentam diferentes padrões, muitas vezes helicoidais e com uma variedade de poros, inicialmente constituídos pelos lipídios e posteriormente por lignina, além de componentes como pectina (Joca et al., 2020; Lana et al., 2020; Manokari et al., 2022). Além disso, os diferentes padrões de metilesterificação das pectinas contribuem para regular a rigidez e a capacidade de retenção hídrica dos tecidos (Joca et al., 2020). Em algumas raízes aéreas fotossintetizantes, também foi descrita a presença de flavonoides (Chomiki et al., 2015).

Entretanto, estes padrões podem variar conforme o estímulo ambiental. Em estudo comparando raízes aéreas e terrestres de *Vanilla phaeantha*, uma espécie de orquídea hemiepipítita, as raízes aéreas mostraram uma composição de parede celular mais complexa que as raízes terrestres, com presença de homogalacturonanos e ramnogalacturonanos-I, pectinas que possivelmente favorecem o influxo de água e nutrientes. Além disso, foram encontradas hemiceluloses e proteínas, como extensinas e xiloglucanas, que aumentam a rigidez e a sustentabilidade da célula (Lima et al., 2024). A relação entre variações na

estrutura química do velame e sua funcionalidade em diferentes condições ambientais em que as raízes crescem reforça a ideia de que a composição química da parede celular do velame pode não ser a mesma em todas as células. Assim, propomos que a funcionalidade das unidades de aeração está ancorada na composição química das paredes de seus diferentes tipos celulares e do restante do velame. Cada parte do complexo velame-exoderme-unidades de aeração deve apresentar características celulares próprias, com variações na composição de pectinas, lipídeos e lignina. Diante disso, o presente estudo propõe caracterizar a composição química da parede das células do velame e das unidades de aeração. Será utilizado como modelo de estudo um híbrido de *Vanda*, um importante gênero de orquídeas ornamentais (Manokari et al., 2022) que apresenta características estruturais que atendem aos objetivos pretendidos.

Metodologia

Material vegetal utilizado no estudo

Foram utilizados fragmentos de raízes de cinco indivíduos de *Vanda* híbrida cultivados na casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. A casa de vegetação é mantida sob condições naturais de temperatura e umidade, sendo o clima local do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen (Alvares et al., 2013) e caracterizado por inverno seco (maio a agosto) e verão quente e chuvoso (outubro a março). As coletas foram realizadas em setembro de 2023, quando a temperatura média anual anterior foi de 21,4 °C. A densidade do fluxo de fótons foi monitorada a cada hora entre 6h e 18h por 3 dias (utilizando o sensor quântico LI-250A, LI-COR, EUA) e apresentou média diária de 1,5 mol m⁻² dia⁻¹.

O híbrido *Vanda* Robert's Delight é derivado do cruzamento entre *Vanda* Kasem's Delight × *Vanda* Mekong Blue, sendo amplamente cultivado no Brasil e considerado uma planta de grande porte, com folhas lineares, espessas e alternadas. Os indivíduos de *Vanda* foram mantidos suspensos, com as raízes livres. A circunferência das raízes foi medida a pelo menos 3 cm do ápice radicular com o auxílio de um paquímetro digital, sendo os pneumatódios (manchas brancas) distribuídos em fragmentos de 10 cm da porção média das raízes, contabilizados com um contador manual e medidas com auxílio do paquímetro digital.

Saturação do velame

Para observar a saturação do velame por água e a conservação das unidades de aeração preenchidas por ar, a solução aquosa 1% de Lucifer Yellow (LY; sal dilithium CH, Sigma) foi aplicada na superfície de fragmentos de raízes de pelo menos 2 cm localizados há pelo menos 3 cm do ápice radicular. Após a aplicação do LY, as raízes foram colocadas em caixas Gerbox forradas com papel filtro umedecido com água destilada e mantidas no escuro (Widholzer, 2005; Eller et al., 2016) por 15 s, 60 s, e 1 h. Posteriormente, foram realizados cortes transversais à mão livre das porções medianas dos fragmentos. Foram montadas lâminas histológicas utilizando glicerina e as seções foram observadas em microscópio com sistema de fluorescência (4000 LED, Leica, Alemanha) acoplado à câmera HD monocromática (DFC3000 G, Leica, Alemanha). Foi utilizado o software de análise LAS X 1.1.0.12420, Leica, comprimentos de onda de excitação de 450–490 nm e filtro de barreira Fitc de 515 nm (Oparka & Read, 1994, modificado).

Análises estruturais

Para observação em microscopia óptica, fragmentos de 1 cm de raízes foram fixados em FAA₇₀ (formaldeído 37%, ácido acético e etanol 70%) por 48 horas e posteriormente armazenados em etanol 70% (Johansen, 1940). Cortes transversais foram obtidos com o auxílio de lâmina de barbear e posteriormente clarificados em solução comercial de hipoclorito de sódio 50%. As secções foram lavadas em água corrente e coradas com solução de safranina 1% e azul de astra 0,05% (1:9, v/v), utilizando-se gelatina glicerinada de Kaiser para montagem das lâminas (Kraus & Arduin, 1997). As lâminas foram observadas em microscópio óptico (DM10000, Leica, Alemanha) acoplado à câmera fotográfica (HD5000, Leica, Alemanha). Parte das amostras fixadas em FAA₇₀ foi desidratada em série etílica e infiltrada em historresina Leica® (Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha). Os blocos foram cortados em secções transversais a 7 µm de espessura usando um micrótomo rotativo (YD305, ANCAP, China). As seções foram coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'Brien & McCully, 1987) para análise em microscopia óptica.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para observação dos espessamentos parietais. Fragmentos das raízes foram retirados a 3 cm dos ápices priorizando as manchas brancas. O material foi fixado em Karnovsky (paraformaldeído

4%, glutaraldeído 0,01 M, e tampão fosfato 0,2 M, pH 7.2) (5:3:2, v/v) (Karnovsky, 1965, modificado por Kraus & Arduin, 1997), gradualmente desidratado em série etílica, submetido à secagem em ponto crítico de CO₂ (EMCPD 300, Leica, Alemanha) e metalizado em ouro (20 a 30 nm de espessura) utilizando o SCD O50 Sputter Coater (BalTec, USA). As amostras foram levadas ao MEV (Veja 3, TESCAN, República Checa) operando em uma voltagem de 10 kV no Laboratório de multiusuários do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.

Análises histoquímicas e imunocitoquímicas

Para determinação da natureza química dos componentes da parede celular, foram realizados testes histoquímicos em cortes à mão livre obtidos a partir do material fixado em FAA 70 (Kraus & Arduin, 1997). As seções foram imersas em Sudan III para detecção de compostos lipídicos totais (Johansen, 1940), em solução alcóolica de florogucina 10% seguida da imersão em solução de ácido clorídrico 25% por 5 minutos para detecção de ligninas (Johansen, 1940), em solução de sulfato azul do Nilo 1% em ácido sulfúrico 1% (1:0,05, v/v) para evidenciar a presença de lipídios neutros, solução aquosa de tetróxido de ósmio 1% para detecção de lipídios insaturados e reagente de NADI para detecção de triterpenos (óleos essenciais e resinas) (Ventrella et al., 2013). Para todos os testes, controles foram realizados conforme recomendação dos protocolos. Lâminas temporárias foram montadas em água destilada e imediatamente registradas em microscópio (DM1000, Leica, Alemanha).

Para confirmação da presença de ligninas nas paredes celulares, as seções à mão livre foram montadas em água destilada e analisadas no microscópio com sistema de fluorescência Leica® DM500 acoplado à câmera HD5000. Foi utilizado filtro DAPI no espectro de excitação entre 385 e 400 nm) (Chomicki et al., 2014).

Para detecção de pectinas específicas, hemicelulose e proteínas de parede via imunocitoquímica, foram utilizadas seções das amostras das raízes infiltradas em historresina. Para marcação de hemicelulose, as lâminas foram pré-tratadas com imersão em tampão CaCl₂ 2 mM contendo 10 µg ml⁻¹ de pectatoliase (CAS 1135-4-6, Sigma-Aldrich) e 50 mM de ácido 3-(ciclohexilamino)-1-pro-panosulfônico (CAPS) (Sigma-Aldrich, EUA), pH 10, por 2 h (Marcus et al., 2008). Em seguida, todas as seções para marcação de hemicelulose, pectinas e epitopos proteicos foram imersas em solução de bloqueio (solução de leite em pó a 3%, Molico® em tampão fosfato salino/PBS) por 30

min. As seções foram incubadas com anticorpos monoclonais primários diluídos em solução de bloqueio (1:5; v/v) por 1 h no escuro. As amostras foram lavadas com PBS três vezes (5 min, cada) e incubadas com o anticorpo primário anti-IgG (Sigma-Aldrich®) diluído em solução de bloqueio (1:100; v/v) por 2 h no escuro. Amostras incubadas em uma solução com anticorpos secundários foram usadas como controles. Por fim, todas as amostras foram lavadas em PBS, montadas em glicerina/água destilada (1:1 v/v) e analisadas em um microscópio de fluorescência (Leica® DM500) acoplado a uma câmera digital (Leica® HD5000). Filtro DAPI (espectro de excitação 385–400 nm) foi utilizado para localizar autofluorescência (Chomicki et al., 2014; Joca et al., 2020) em sobreposição pelo software do microscópio, evidenciando as marcações com anticorpos monoclonais; Nas imagens obtidas, a cor azul indica autofluorescência, enquanto a cor verde indica marcação de anticorpos. Para detecção de pectinas, hemiceluloses e proteínas, foi verificada a ausência e presença da reação de fluorescência na parede celular de fragmentos da raiz de *Vanda*, após incubação com anticorpos monoclonais.

Resultados

As plantas de *Vanda* híbrida estudadas atingiram altura entre 80cm e 1,20m, apresentam sistema radicular composto por raízes adventícias alongadas e cilíndricas, podendo chegar a 80 cm de comprimento e $4,5 \pm 6,2$ mm de diâmetro (Fig. 1A).

Quando secas, as raízes exibem coloração branca a acinzentada e, quando hidratadas exibem coloração verde, com presença de manchas brancas (pneumatódios) com cerca de $0,7 \text{ mm} \pm 3 \text{ mm}$ em comprimento. O número de pneumatódios variou entre as raízes, podendo ser encontradas de 28 a 92 manchas distribuídas ao longo de 10 cm lineares.

Em seção transversal, as raízes são circundadas por um velame formado por 4 a 5 camadas de células mortas na maturidade (Fig. 1A). A camada mais externa, o epivelame, diferencia-se das demais quanto à forma e estrutura da parede celular (Fig. 1B). O epivelame, em geral apresenta células pentagonais em vista transversal, com paredes celulares de espessamentos helicoidais em anastomose, com pequenos poros entremeados (Fig. 1C). As demais células do velame também apresentam espessamentos arranjados de forma helicoidal, porém menos entrelaçados e poros de maior diâmetro (Fig. 1D).

As unidades de aeração (Fig. 2A) são formadas por células do velame (que agrupadas formam as manchas brancas e são denominadas pneumatódios), pela célula de aeração localizada na exoderme e por duas a quatro células adjacentes inseridas no

parênquima cortical (Fig 2A-B). Nas plantas estudadas, o velame se enche de água quando as raízes são hidratadas, porém os pneumatódios frequentemente permanecem com bolhas de ar, facilmente observáveis em microscopia óptica (Fig. 2A).

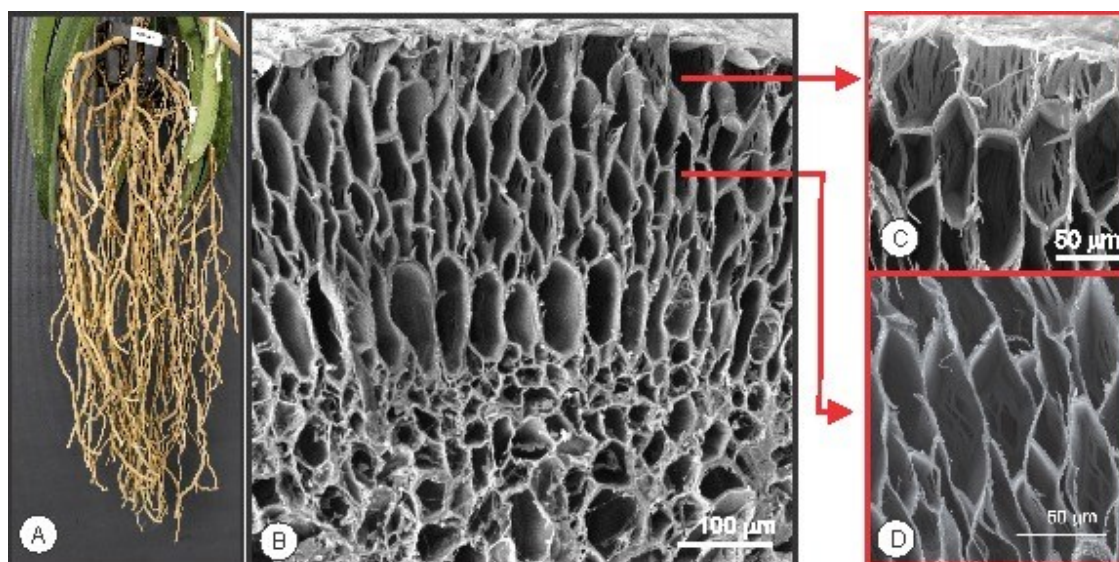


Fig. 1. Raízes de *Vanda* híbrida. A) Estrutura geral do sistema radicular aéreo. B-D) Microscopia eletrônica de varredura. B) Vista geral de uma raiz exibindo o velame, exoderme e células do córtex parenquimático. C) Detalhe das camadas mais externas do velame, com espessamentos helicoidais em anastomose no epivelame. D) Detalhe das células mais internas do velame com células também de parede espessa, porém com maior número de poros.

Lipídios foram detectados em todas as regiões das raízes de *Vanda*. No velame, destaca-se a impregnação por lipídios nas paredes celulares, incluindo o epivelame e toda a unidade de aeração (Fig. 2A-B). Terpenos foram identificados no cilindro vascular, endoderme, células espessadas do parênquima cortical, exoderme e velame (Fig. 2C-F). No cilindro vascular, os terpenos estavam associados a óleoresinas (Fig. 2C), assim como nas células dos pneumatódios em direção às unidades de aeração (Fig. 2E). Nas células espessadas do parênquima cortical e da exoderme, os terpenos apresentaram associação com óleos essenciais (Fig. 2D, F). Ainda nas células espessadas do parênquima cortical, do velame como um todo e na exoderme, foi observada a presença de lipídios ácidos (Fig. 2G e H). Destaca-se que as células do epivelame apresentaram

impregnação lipídica na parede, porém não reagiram ao NADI (indicador de terpenos)
nem ao Azul do Nilo (lipídios neutros e lipídios ácidos).

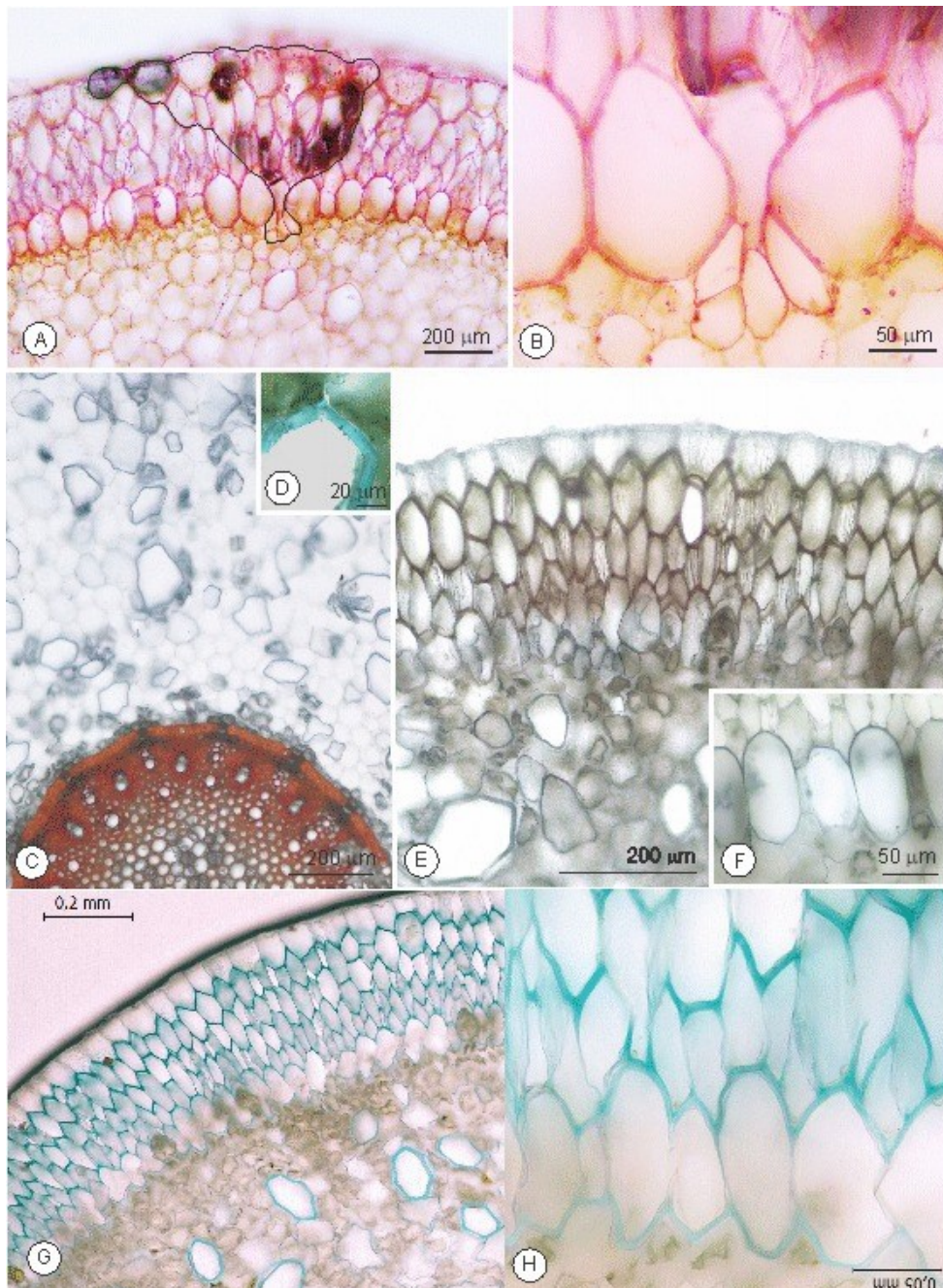
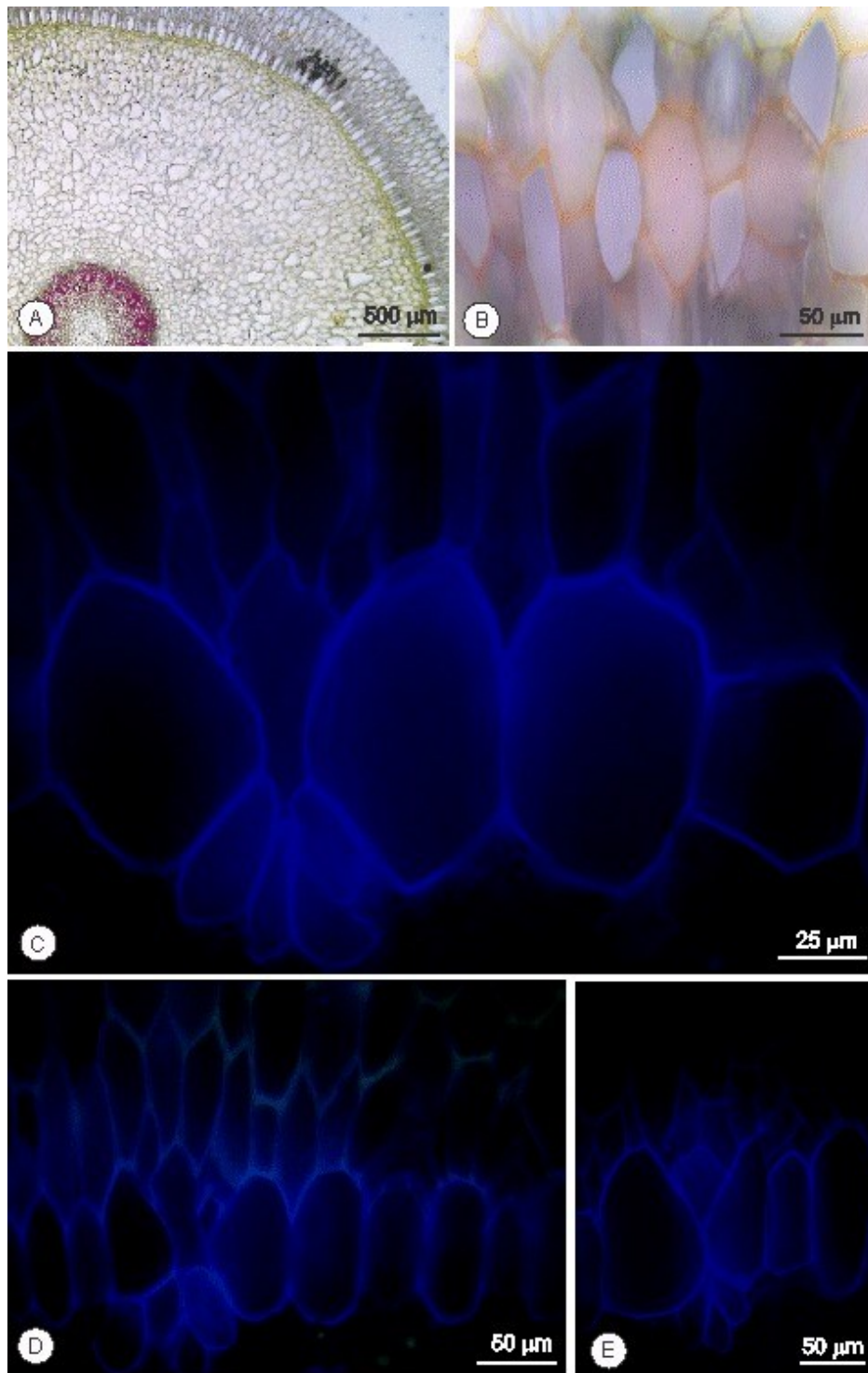


Fig. 2. Testes para diferentes classes de lipídeos em cortes transversais de raízes de *Vanda* híbrida. A) Lipídeos totais (reação com Sudan III) evidenciando a unidade de aeração (delimitada em preto). A coloração mais escura na região do pneumatódio decorre das bolhas de ar que se prendem. B. Detalhe das unidades de aeração, mostrando os pneumatódios no velame, a célula da exoderme e marcação lipídica também nas células

da unidade de aeração presentes no córtex. C - F) Terpenos evidenciados pela reação com NADI. C) Cilindro vascular com coloração vermelha indica a presença de terpenos associados a oleorresinas, enquanto algumas células do córtex parenquimático apresentam parede secundária com impregnação por terpenos aromáticos em óleos essenciais (coloração azul). D) Detalhe de célula do parênquima cortical com parede secundária impregnada por terpenos associados a óleos essenciais. E) Unidades de aeração com coloração avermelhada indicando a presença de terpenos associados a oleorresinas nas células do pneumatódios. F) Detalhe da exoderme impregnada por terpenos associados a óleos essenciais nas paredes periclinais externas. G) Vista geral de secções submetidas à reação com Azul do Nilo, indicando a presença de lipídios ácidos no velame e em algumas células do córtex parenquimático. H) Detalhe das células do velame impregnadas com lipídios ácidos.

A presença de ligninas na parede celular foi evidenciada tanto pela reação com floroglucinol ácido (Fig. 3A e B), quanto pela fluorescência sob filtro DAPI (Fig. 3C-E).

A coloração púrpura indicativa de lignina foi intensa nas células do cilindro vascular e endoderme (Fig. 3A). Nas células espessadas do parênquima cortical, exoderme e velame, a reação ao floroglucinol foi mais baixa (Fig. 3B). No velame, a impregnação por lignina foi mais evidente com o filtro DAPI na parede das células próximas à exoderme das unidades de aeração (Fig. 3C-D). As células da exoderme, inclusive as células de aeração que se conectam ao parênquima cortical, também apresentaram marcação sob fluorescência com filtro DAPI.



493 **Fig. 3.** Cortes transversais mostrando impregnação por lignina nas raízes de *Vanda*
 494 híbrida. A e B) A presença de lignina foi identificada pela coloração utilizando
 495 floroglucinol acidificado. A) Cor púrpura aponta para forte impregnação por lignina nas
 496 células do cilindro vascular e endoderme. B) Baixa reação com floroglucinol nas células
 497 do velame. C-E) Impregnação por lignina evidenciada de forma mais conspícua pela
 498 fluorescência com o filtro DAPI na parede das células próximas à exoderme das unidades

de aeração. As células da exoderme, inclusive as células de aeração que se conectam ao parênquima cortical também foram marcadas quando submetidas à fluorescência com filtro DAPI.

Imunocitoquímica

Epítomos de pectinas, hemiceluloses e proteínas foram detectados por anticorpos monoclonais em fragmentos das raízes de *Vanda* estudadas (Fig. 4; tabela 1). Os epítomos de pectinas homogalacturonanas de baixa e alta metil-esterificação, reconhecidos pelos anticorpos LM19 e LM20, e (1,5) - α -L-arabinanos, reconhecidos por LM6, foram detectados na região do velame, com exceção do epivelame. No córtex, observou-se marcação nas células da exoderme, predominantemente na parede primária, estando também presente nas células que compõem a unidade de aeração. Entretanto, não houve marcação expressiva no plano anticlinal das paredes das células adjacentes (Fig. 4. A-E).

Epítomos de proteína arabinogalactanos, reconhecidos por LM2, foram detectados em todos os tecidos, com exceção do epivelame, apresentando fraca marcação na região anticlinal das células adjacentes (Fig 4. F-G.)

Já os epítomos de pectinas (1,4) - β -D-galactanos reconhecidos por LM5 foram detectados na região do velame, exceto no epivelame. A marcação mais intensa foi observada nas células do velame que não estão em contato com a exoderme. As células do velame em contato com a exoderme, as células da exoderme (incluindo as células de aeração) e as células especializadas do córtex exibiram marcação discreta. No córtex, houve marcação na parede primária das células da endoderme, nas células que compõem a unidade de aeração, com marcação evidente no plano anticlinal das paredes das células adjacentes (Fig. 4.H).

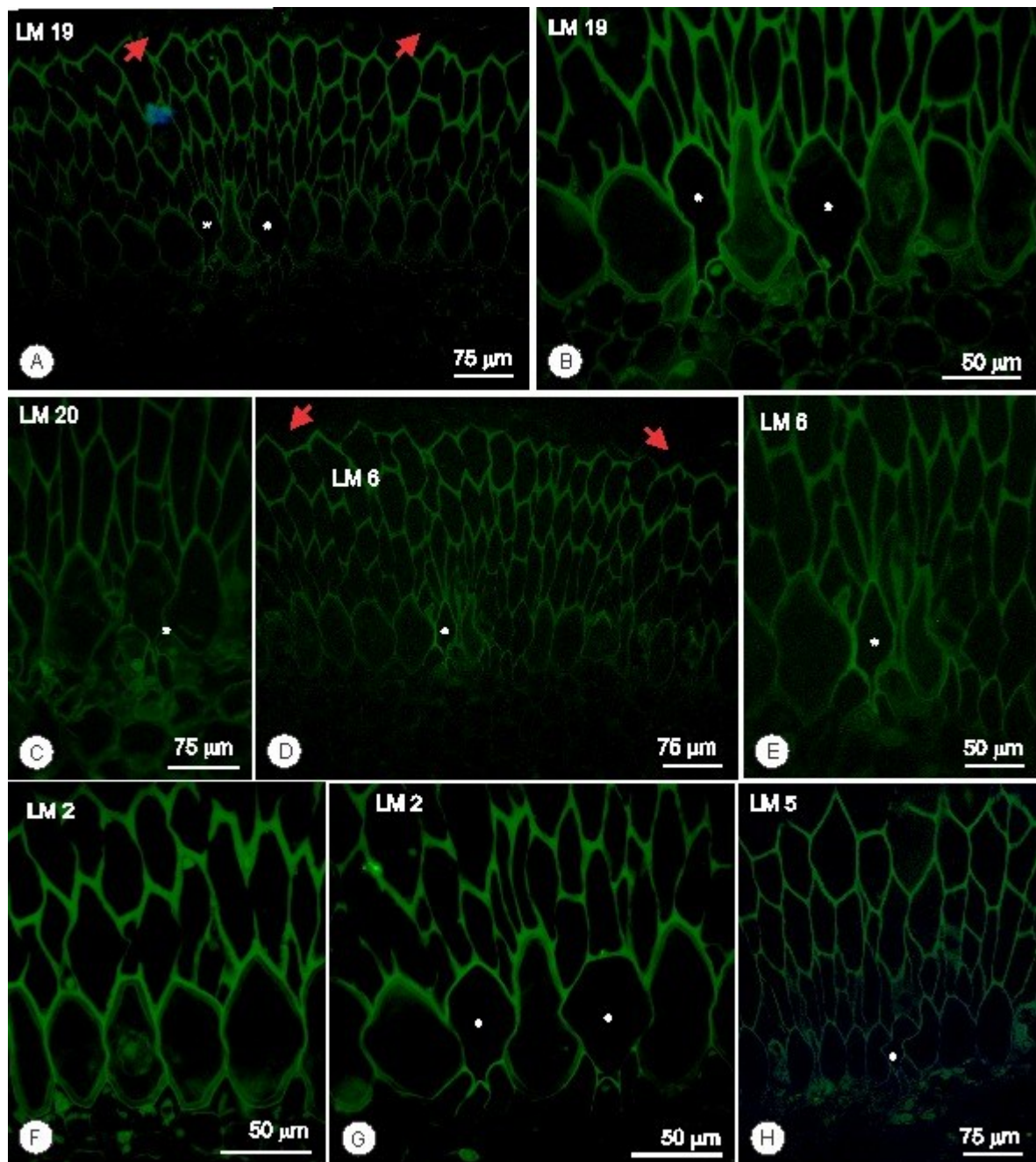


Fig. 4. Cortes transversais mostrando marcações dos epítomos de pectinas e proteínas nas raízes de *Vanda* híbrida, observados em microscopia de fluorescência. A-B) Evidente marcação de pectinas homogalacturonanas de baixa metil-esterificação (LM19), inclusive na região das duas células de aeração da exoderme (*). No epivelame (seta em vermelho) foi observada uma fraca marcação. C) Epítomos de homogalacturonanas de alta metil-esterificação (LM20) com fraca marcação nas paredes das células adjacentes às células de aeração (*). D e E) (1,5)- α -L-arabinanos reconhecidos por LM6, com fraca na região do epivelame (seta vermelha) e mais evidente na região da célula de aeração (*). F-G. Arabinogalactanos reconhecidos por LM2 com evidente marcação nas células do velame,

pneumatódios e células de aeração (*). Nas células especializadas do córtex estavam presentes apenas nas regiões próximas à exoderme. (H) 1,4 - β -D-galactanos reconhecidos pelo LM5. A marcação mais intensa foi observada nas células do velame que não estão em contato com a exoderme. As células do velame em contato com a exoderme, as células da exoderme (incluindo as células de aeração - *) e as células especializadas do córtex apresentaram leve marcação.

Para análise de hemiceluloses, os anticorpos LM11 (Arabinoxilanos) e LM21 (Heteromananos) revelaram marcação na região do velame, com exceção do epivelame. No córtex, ambos apresentaram marcação nas células da exoderme e nas células que compõem a unidade de aeração de ambos. Em LM11 não houve evidência no plano anticlinal das células adjacentes (Fig. 5.B-C), ao passo que epítomos de heteromananos reconhecidos por LM21 apresentaram marcação nessa região (Fig. 5. A).

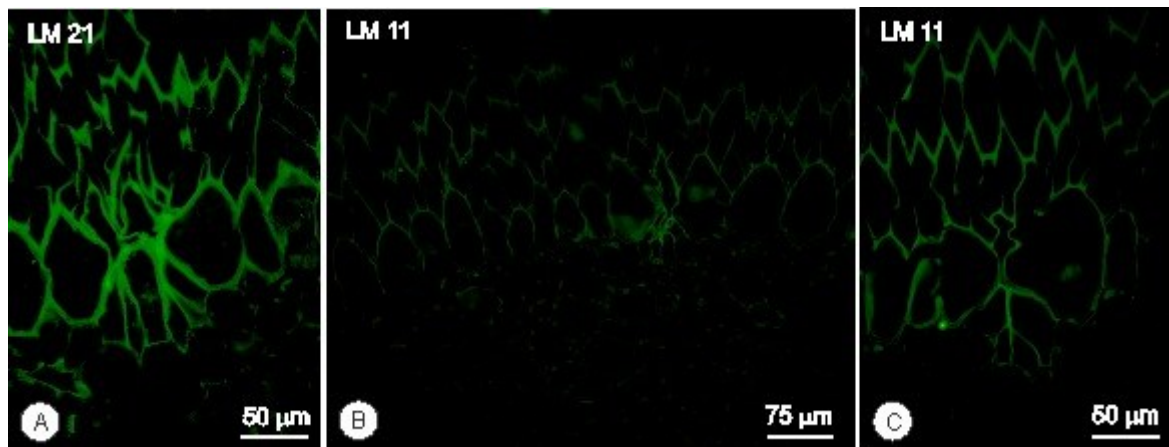


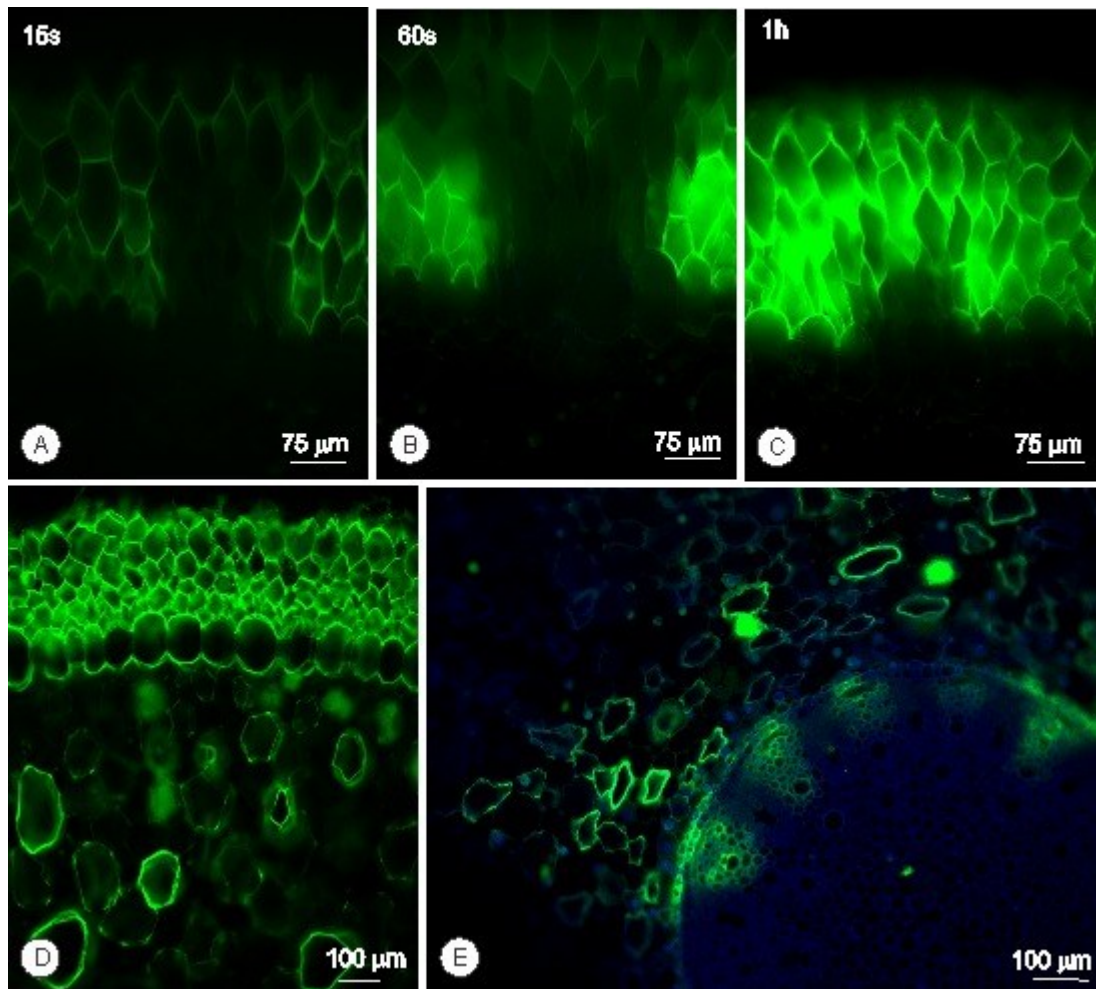
Fig 5. Cortes transversais mostrando marcações dos epítomos de hemicelulose nas raízes de *Vanda* híbrida, observados em microscopia de fluorescência. A) Os heteromananos (LM21) estiverem presentes nas paredes celulares do velame, células de aeração e células adjacentes no córtex. B-C) Os arabinoxilanos (LM11) estiverem presentes nas células do velame, células de aeração e ausentes nas células adjacentes no córtex.

Tabela 1 - Ausência e presença da reação de fluorescência na parede celular de fragmentos da raiz de *Vanda*, após incubação com anticorpos monoclonais para detecção de pectinas, hemiceluloses e proteínas.

Componentes da parede celular	Anticorpos monoclonais	Velame		Exoderme	Unidades de aeração		
		Epi-velame	Demais células		Pneumatódios	Células de aeração	Células especializadas
Pectinas	LM19	-	+	+	+	+	+ (Próximo às células de aeração)
	LM 20	-	+	+	+	+	+ (Próximo às células de aeração)
	LM5	-	+ (exceto na camada próxima à exoderme)	-	+ (exceto na camada próxima à exoderme)	-	-
	LM6	-	+	+	+	+	+ (Próximo às células de aeração)
	LM11	-	+	+	+	+	+
Hemiceluloses	LM21	-	+	+	+	+	+
Proteínas	LM2	-	+	+	+	+	+ (Próximo às células de aeração)

Fluxo apoplástico de água

A presença de água no velame foi detectada pelo ensaio com solução de Lucifer Yellow em todos os tempos do estudo após aplicação da solução (15s, 60s e 1h). Os pneumatódios permaneceram sem água nos primeiros 60 segundos (Fig. 6A-C). Com 1 hora de experimento, o velame já estava saturado e com pneumatódios parcialmente preenchidos por água (Fig. 6C). No córtex parenquimático, a água apoplástica foi marcada principalmente nas células de espessamento parietal (Fig. 6D), entrando pelas células de passagem da endoderme e atingindo as células condutoras do xilema (Fig. 6E).



570

571 **Fig. 6.** Cortes transversais mostrando fluxo apoplástico de água nas raízes de *Vanda*
 572 híbrida. A presença de água no apoplasto foi evidenciada pela coloração verde resultado
 573 da reação com Lucifer Yellow observada em microscopia de fluorescência. A-C) Água
 574 presente nas células do velame após aplicação do reagente por 15s (A), 60s (B) e 1h (C).
 575 Nos tempos de 12s (A) e 60s (B), a passagem de ar pelos pneumatódios é preservada.
 576 Com 1h de experimento (C), as unidades de aeração já se encontram parcialmente
 577 preenchidas por água. D) Água presente nas paredes do velame, exoderme e células com
 578 espessamentos parietais do parênquima cortical. E) A água flui do parênquima cortical,
 579 pelas células de passagem da endoderme e atinge os vasos condutores do xilema.

580

Discussão

Aspectos da estrutura e função do velame

O velame nas raízes de orquídeas é composto por células mortas, poligonais, elípticas ou retangulares, e cujo número de camadas pode variar tanto entre espécies de um mesmo gênero quanto dentro da própria raiz, a depender do contato com o substrato (Lima et al., 2023). Em nosso estudo, as raízes de *Vanda* apresentaram velame com 4 a 5 camadas celulares ao longo de toda sua circunferência, conforme encontrado por Porembski e Barthlott (1988).

A formação da parede primária do velame representa o primeiro estágio ontogenético essencial para a funcionalidade deste tecido. Durante seu desenvolvimento, divisões periclinais na protoderme originam células que se expandem e depositam principalmente celulose, hemiceluloses, pectinas e glicoproteínas, compondo a matriz primária (Joca et al., 2020; Lana et al., 2020; Manokari et al., 2022). De fato, paredes primárias não são consideradas estruturas estáticas, mas sim matrizes dinâmicas capazes de expansão e remodelagem durante o crescimento e a diferenciação celular (Anderson & Kieber, 2020). Essa parede primária apresenta elevada plasticidade, permitindo posterior deposição de camadas adicionais. No velame, a composição química das paredes tem sido associada à capacidade de hidratação e retenção de água do velame, que constitui uma das principais funções deste tecido em orquídeas epífitas (Zotz & Winkler, 2013; Joca et al., 2017). Além disso, as variações nos padrões de metilesterificação das pectinas contribuem para modular a porosidade da parede, influenciando diretamente a regulação hídrica (Joca et al., 2020).

O avanço no processo de maturação celular do velame é marcado pela deposição de espessamentos secundários, evidenciada por diferentes padrões helicoidais e a presença de poros. Estudos histoquímicos demonstraram que tais espessamentos envolvem inicialmente impregnação por lipídios e, posteriormente, deposição de lignina, o que confere maior resistência mecânica e capacidade de transporte apoplástico de água (Joca et al., 2020; Manokari et al., 2022). A associação entre deposição de celulose e microtúbulos durante esse processo reforça que a orientação dos espessamentos secundários segue padrões citosqueléticos conservados (Idris et al., 2021). Esses achados corroboram as observações no híbrido de *Vanda*, em que a presença de espessamentos helicoidais com anastomoses e porosidade variável foi evidente, indicando uma especialização funcional das diferentes camadas celulares do velame.

O epivelame é a primeira camada celular em contato direto com o ar ou com a água, funcionando como a primeira barreira de absorção e proteção. Nesta camada de células foi observada uma diferenciação estrutural clara em relação às demais camadas do velame. As células pentagonais exibem espessamentos helicoidais mais entrelaçados, com poros menores, contrastando com as células internas que apresentam poros mais amplos. Essa diferenciação estrutural foi relatada em estudos anatômicos de diversas espécies de Orchidaceae (Porembski & Barthlott, 1988; Oliveira & Sajo, 2011) e sugere que o epivelame atua como interface de absorção e barreira protetora contra estresses ambientais (Idris et al., 2021). Além disso, análises imunocitoquímicas recentes evidenciaram ausência de marcação significativa de pectinas e proteínas na parede do epivelame, ao contrário do restante do velame e do córtex (Lima et al., 2024). Essa característica também foi observada em nosso estudo, o que aponta para uma composição química especializada, possivelmente adaptada a equilibrar absorção rápida de água e resistência estrutural. A impregnação por lipídeos totais foi evidente, apesar da ausência de terpenos associados a oleorresinas ou lipídeos ácidos, o que sugere a presença de suberina, como comumente descrito para células do velame (Manokari et al., 2022).

Aspectos da estrutura das unidades de aeração

O significado funcional de diferenças estruturais no velame, como a presença de características adicionais, como tilossomos ou pneumatódios, são pouco exploradas (Zotz et al., 2017). A estrutura das unidades de aeração envolve complexos celulares constituídos pelas células do velame, da exoderme e do córtex, formando canais especializados para trocas gasosas (Benzing et al., 1983; Roth-Nebelsick et al., 2021). O conjunto de células das unidades de aeração no velame é denominado pneumatódio, sendo seguido pela célula de aeração na exoderme e por 2 a 4 células adjacentes inseridas no parênquima cortical. Esse padrão foi percebido também em outro estudo com raiz aérea, no qual as unidades de aeração são compostas por uma (ou raramente duas) célula exodérmica com uma fina parede tangencial interna e geralmente duas células corticais diferencialmente espessadas abaixo (Carlsward, 2006). Quando as raízes entram em contato com a água e o velame é hidratado, bolhas de ar são retidas nos pneumatódios, contribuindo para aeração do córtex mesmo em condições de saturação hídrica (Santos et al., 2025). Duas hipóteses explicam a abertura e o fechamento das unidades de aeração: a compressão lateral induzida pela hidratação do córtex e a redução do diâmetro das células de aeração sob pressão mecânica da exoderme (Benzing et al., 1983; Roth-

Nebelsick et al., 2021). Ambas ressaltam o papel da composição da parede celular na dinâmica de abertura e fechamento, fornecendo um elo entre estrutura química e funcionalidade fisiológica.

A análise lipídica revelou diferenças marcantes entre as células das unidades de aeração e as demais células do velame. Enquanto o velame e as unidades de aeração apresentaram forte impregnação para lípidos totais, as unidades de aeração exibiram ainda acúmulo de lípidos específicos, incluindo terpenos associados a óleorresinas e óleos essenciais, além de lípidos ácidos. A impregnação lipídica por oleorresinas exerce papel de impermeabilização e proteção mecânica, complementando ligninas e suberinas já descritas para o velame, o que contribui para preservar aeração nos pneumatódios em condições de saturação hídrica (Roth-Nebelsick et al., 2021). Muitos terpenos também apresentam propriedades antioxidantes e fotoprotetoras, neutralizando espécies reativas de oxigênio produzidas pela alta incidência luminosa, o que se relaciona com o papel do velame na proteção contra radiação UV-B (Chomicki et al., 2015). Por sua vez, os lípidos ácidos participam da formação de polímeros hidrofóbicos como cutina e suberina (Philippe et al., 2020). Essa heterogeneidade sugere que a composição lipídica confere propriedades hidrofóbicas localizadas, que preservam bolsões de ar e contribuem para o fluxo de água dentro das unidades de aeração. Estudos recentes destacam que tais modificações lipídicas em paredes celulares são cruciais para estabelecer barreiras seletivas em tecidos vegetais especializados, aproximando o velame das orquídeas a outros modelos de paredes impregnadas por suberina e cutina (Philippe et al., 2020).

As análises imunocitoquímicas indicaram diferenças relevantes na composição de pectinas e proteínas de parede entre as células das unidades de aeração e o restante do velame. Enquanto homogalacturonanas de baixa e alta metilesterificação, arabinanas e galactanas foram amplamente detectadas no velame interno e no córtex, sua presença foi reduzida ou ausente no epivelame. Tais resultados já foram observados anteriormente por Lana et al. (2020) e Lima et al. (2024). Do mesmo modo, epitopos de proteínas como arabinogalactanos foram identificados em células do velame e das unidades de aeração, mas não no epivelame. Essa distribuição diferencial sugere que a plasticidade mecânica e a capacidade de distensão controlada das paredes celulares nas unidades de aeração dependem de uma composição específica de pectinas e proteínas estruturais (Guedes et al., 2025). Dessa forma, as unidades de aeração representam uma especialização anatômica e bioquímica que garante a integração entre absorção hídrica, retenção de ar e trocas gasosas, assegurando a sobrevivência de raízes expostas a ambientes variáveis.

Conclusão

A análise das características estruturais e químicas do velame em raízes de *Vanda* híbrida evidencia uma relação entre função e composição química das paredes celulares, que não é homogênea ao longo do tecido. Foi observado que diferentes camadas do velame e as unidades de aeração apresentam características celulares específicas, incluindo variações na presença de pectinas, lipídios e lignina. O epivelame, com células pentagonais, espessamentos helicoidais mais complexos e poros menores, parece atuar como interface de proteção e absorção, enquanto as células internas e as unidades de aeração demonstram especialização bioquímica, incluindo acumulação de terpenos, oleorresinas e lipídios ácidos, que contribuem para impermeabilização e retenção de ar. Essa heterogeneidade estrutural e química suporta a hipótese de que a funcionalidade das unidades de aeração depende diretamente da composição de suas paredes celulares e das camadas adjacentes, contribuindo para a manutenção da aeração nas raízes em resposta a variações ambientais.

Referências

- Alvares CA., Stape J.L., Sentelhas PC., Arditti J. 2013. *Fundamentals of Orchid Biology*. John Wiley, New York.
- Anderson CT, Kieber JJ (2020) Dynamic construction, perception, and remodeling of plant cell walls. *Annu Rev Plant Biol* 71:39–69. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-081519-035846>
- 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, pp 875–894
- Benzing DH, Friedman WE, Peterson G, Renfrow A (1983) Shootlessness, velamentous roots, and the pre-eminence of Orchidaceae in the epiphytic biotope. *Am J Bot* 70:121–133. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1983.tb12347.x>
- Carlswardl, S. (2006). *Anatomy and Function of the Velamen in Orchid Roots*. *Acta Botanica Brasílica*, 20(3), 1-9. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062006000300001>
- Cantó-Pastor, A., Manzano, C., & Brady, S. M. (2025). A way to interact with the world: complex and diverse spatiotemporal cell wall thickenings in plant roots. *Annual Review of Plant Biology*, 76.

714 Chomicki G, Bidel LPR, Jay-Allemand C (2014) Exodermis structure controls fungal
 715 invasion in the leafless epiphytic orchid *Dendrophylax lindenii* (Lindl.) Benth. ex
 716 Rolfe. *Flora* 209:88–94. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.03.004>.

717 Chomicki G, Bidel LPR, Jay-Allemand C (2015) The velamen protects photosynthetic
 718 orchid roots against UV-B damage, and a large dated phylogeny implies multiple
 719 gains and losses of this function during the Cenozoic. *New Phytol* 205:1330–1341.
 720 <https://doi.org/10.1111/nph.13106>

721 Durrum EL (1950) A microelectrophoretic and microionophoretic technique. *J Am Chem*
 722 *Soc* 72:2493–2498. <https://doi.org/10.1021/ja01163a037>

723 Eller CB, Lima AL, Oliveira RS (2016) Cloud forest trees with higher foliar water uptake
 724 capacity and anisohydric behavior are more vulnerable to drought and climate
 725 change. *New Phytol* 211:489–501. <https://doi.org/10.1111/nph.13952>

726 Guedes LM, Oliveira DC, Silva EA, Moreira ASFP (2025) Integrated insights into the
 727 cytological, histochemical, and cell wall composition features of *Espinosa nothofagi*
 728 (Hymenoptera) gall tissues: implications for functionality. *Protoplasma* 262:149–
 729 165. <https://doi.org/10.1007/s00709-024-01895-3>

730 Idris NA (2021) Cell wall development in the velamen of the orchid *Miltoniopsis*
 731 investigated by confocal microscopy. *Malays J Microsc* 10:23–34.

732 Joca TAC, Oliveira DC, Brito ES, Silva LC, Moreira ASFP (2017) The velamen of
 733 epiphytic orchids: variation in structure and correlations with nutrient absorption.
 734 *Flora* 230:66–74. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.03.006>

735 Joca TAC, Lana LG, Santos MGO, Moreira ASFP (2020) Chemical composition of cell
 736 walls in velamentous roots of epiphytic Orchidaceae. *Protoplasma* 257:103–118.
 737 <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01425-0>

738 Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw Hill Book Company.

739 Kraus JE, Arduin M. 1997. *Manual basico de metodos em morfologia vegetal*. Rio de
 740 Janeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Editora Universidade Rural.

741 Lana LG, Joca TAC, Moreira ASFP (2020) Early development of epiphytic roots:
 742 perspectives based on the composition of the velamen cell wall. *Acta Bot Bras*
 743 34:633–644. <https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0140>

744 Lima JF, Oliveira DC, Kuster VC, Moreira ASFP (2023) Aerial and terrestrial root habits
 745 influence the composition of the cell walls of *Vanilla phaeantha* (Orchidaceae).
 746 Protoplasma 262:87–98. <https://doi.org/10.1007/s00709-023-01841-y>

747 Lima JF, Oliveira DC, Kuster VC, Moreira ASFP (2024) Cell wall complexity in aerial
 748 roots of *Vanilla phaeantha*: implications for water and nutrient uptake. Protoplasma
 749 263:211–223. <https://doi.org/10.1007/s00709-024-01956-7>

750 Manokari M, Sudhakar D, Kalpana K, Anbazhagan M, Suresh J, Baskaran P (2022)
 751 Assessment of cell wall histochemistry of velamentous epiphytic roots in adaptive
 752 response of micropropagated plantlets of *Vanda tessellata* (Roxb.) Hook. ex G. Don.
 753 Plant Cell Tiss Organ Cult 149:685–696. [https://doi.org/10.1007/s11240-022-02284-](https://doi.org/10.1007/s11240-022-02284-7)
 754 [7](https://doi.org/10.1007/s11240-022-02284-7)

755 Moreira, A. S. F. P., & Isaias, R. M. D. S. (2008). Comparative anatomy of the absorption
 756 roots of terrestrial and epiphytic orchids. Brazilian archives of biology and
 757 technology, 51, 83-93.

758 Oliveira VC, Sajo MG (2011) Root anatomy of nine Orchidaceae species. Braz Arch Biol
 759 Technol 42:83–93. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000500012>

760 Oparka K.J., Read E.D. 1994. The use of fluorescent probes for studies of living plant
 761 cells. In: Harris N., Oparka K.J. (Eds), Plant Cell Biology: A Practical Approach.
 762 Oxford University Press, Oxford, UK: 27–50.

763 Philippe G, Sorensen I, Jiao C, Sun X, Fei Z, Domozych DS, Rose JKC (2020) Assembly
 764 and origins of specialized lipidic cell wall scaffolds in plants and algae. Curr Opin
 765 Plant Biol 55:11–19. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.02.004>

766 Porembski S, Barthlott W (1988) Velamen radicum micromorphology and classification
 767 of Orchidaceae. Nord J Bot 8:117–137. [https://doi.org/10.1111/j.1756-](https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1988.tb00587.x)
 768 [1051.1988.tb00587.x](https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1988.tb00587.x)

769 Pridgeon AM (1987) The velamen and exodermis of orchid roots. In: Arditti J (ed) Orchid
 770 biology. Reviews and perspectives IV. Cornell University Press, Ithaca, pp 139–192

771 Roth-Nebelsick, A., Hauber, F., & Konrad, W. (2017). The velamen radicum of orchids:
 772 A special porous structure for water absorption and gas exchange. *Functional*
 773 *Surfaces in Biology III: Diversity of the Physical Phenomena*, 107-120.

774 Roth-Nebelsick A, Thiv M, Malkowsky Y, Schott R, Heyer A (2021) Structure and
 775 functional anatomy of the gas exchange apparatus of leafless orchids: evidence for a
 776 control mechanism? *Bot J Linn Soc* 197:249–262.
 777 <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boaa067>

778 Ventrella MC, Almeida VC, Souza GM (2013) Métodos histoquímicos aplicados às
 779 sementes. UFV, Viçosa.

780 Santos, GS., Lima, JF, Moreira, A. S. F. P. (2025). Effects of the velamen water saturation
 781 on the photosynthetic performance of Vanda hybrid (Orchidaceae), a species with
 782 conspicuous pneumathodes. *Flora*, 152846.

783 Silveira M (1989) Preparação de amostras biológicas para microscopia eletrônica de
 784 varredura. In: Souza W, Haddad A, Sesso A, Silveira M, Barth OM, Machado RD,
 785 Souto-Padrón T (eds) *Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica*.
 786 Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, Rio de Janeiro, pp 71–79.

787 Widholzer CFN (2005) Bases anatômicas do transporte de água e solutos através da
 788 epiderme foliar: estudos anatômicos e ontogenéticos da epiderme foliar de
 789 *Sophranitis cernua* Ldl. (Orchidaceae). Ph.D. Thesis, Universidade Federal do Rio
 790 Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, pp 50–83

791 Zotz G, Schickenberg N, Albach D (2017) The velamen radicum is common among
 792 terrestrial monocotyledons. *Ann Bot* 120:625–632

793 Zotz G, Winkler U (2013) Aerial roots of epiphytic orchids: the velamen radicum and its
 794 role in water and nutrient uptake. *Oecologia* 171:733–741.
 795 <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2575-6>

**Capítulo 2: Effects of the velamen water saturation on the photosynthetic
performance of *Vanda* hybrid (Orchidaceae), a species with conspicuous
pneumathodes**

Gisely de Souza Santos, Jéssica Ferreira de Lima and Ana Silvia Franco
Pinheiro Moreira

(Artigo publicado em setembro de 2025 na revista *Flora*)



Highlighted Student Research

Effects of the velamen water saturation on the photosynthetic performance of *Vanda* hybrid (Orchidaceae), a species with conspicuous pneumathodes

Gisely de Souza Santos , Jessica Ferreira de Lima , Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira *

Laboratory of Plant Physiology, Institute of Biology, Federal University of Uberlândia, Campus Umuarama, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Edited by Hermann Heilmeyer

Keywords:

Cam
Chlorophyll *a* fluorescence
Hypoxia
Orchid
Oxidative stress
Photosynthetic pigments

ABSTRACT

Anatomical and physiological characteristics in orchids efficiently optimize the acquisition and use of water, such as the velamen in the roots, and the expression of crassulacean acid metabolism (CAM). However, the water saturation of the velamen may generate hypoxic conditions, which the presence of pneumathodes may reduce. The present study aimed to analyze the tolerance of the epiphyte *Vanda* hybrid subjected to water saturation, determining whether the velamen water saturation leads to root oxidative stress with a systemic effect on plant metabolism, and discussing the role of pneumathodes in root aeration. Five individuals were used as controls, and five were subjected to root system submersion for 120 h (time intervals: 0, 24, 72, and 120 h after submersion). Fragments of leaves and roots were used to obtain the specific mass and the relative water content, and to quantify the diurnal organic acid changes, the contents of chloroplast pigments, and chlorophyll *a* fluorescence. Histochemical analyses were performed to detect oxidative stress in the roots. The initial submersion of the roots led to plant hydration and increased CAM expression and photochemical quantum yield by leaves. Pneumathodes remained white throughout the experiment, but the submerged roots exhibited higher oxidative stress than those of control plants after 120 h of submersion. In addition to the connection between the root cortex and the external environment, the air pockets formed by pneumathode cells and the O₂ product of photosynthetic metabolism can reduce or at least delay the effects generated by water saturation conditions at the root.

1. Introduction

Morphological, physiological, and biochemical adaptations can be associated with a plant's ability to tolerate waterlogged soils (Pan et al., 2021). In general, waterlogging refers to environments in which the presence of water varies from a fully saturated soil to complete submersion (flooding) of the root system (Striker, 2012). Under flooding stress, ethylene levels increase, and oxygen levels in intercellular spaces rapidly decrease (Loreti et al., 2016). A decrease in oxygen availability can limit mitochondrial respiration, leading to a condition known as hypoxia (Striker, 2012). Under anaerobic conditions, there is an increase in the concentration of protons in the cell cytoplasm, causing acidification. Changes in the cellular pH lead to the blockade of aquaporins, causing a reduction in water uptake by the plant that can lead to a systemic effect (Tournaire-Roux et al., 2003).

In contrast to flooding conditions, Orchidaceae have many epiphytic species or species that grow in xeric environments. Strategies that favor development in environments with low water availability, including

aerial roots with velamen, emerged as alternatives for adaptation to this environment (Benzing et al., 1983; Zhang et al., 2018). The velamen is a tissue composed of epidermal cells that are dead at maturity and specialized in water absorption (Joca et al., 2020; Idris et al., 2021). It can have one to many cell layers, whose thickened walls with high lipid and lignin impregnation facilitate apoplastic transport (Silva and Scatena, 2011; Zott and Winkler, 2013; Joca et al., 2020). However, under water saturation conditions, some species may show limited gas diffusion through the velamen, potentially leading to hypoxia, similar to the effects of waterlogging conditions. In this context, photosynthesis in the root cortex plays a role in the production of O₂ (Moreira et al., 2013; Roth-Nebelsick et al., 2021), while the presence of pneumathodes, structures that form impermeable patches, helps to maintain a connection between the root surface and the cortical cells. These spots allow gas exchange in these roots even when the velamen is filled with water (Roth-Nebelsick et al., 2021).

Pneumathodes are especially important in species without leaves (Benzing et al., 1983), but are also found in other orchids. The

* Corresponding author.

E-mail address: anasilviamoreira@ufu.br (A.S.F.P. Moreira).

whitish-greyish coloration characterizes the surface of the velamen before it becomes wet. After wetting, the velamen cells, except for the pneumathode region, become translucent because they are filled with water instead of air. Pneumathodes compose the outer face of an aeration unit that leads to an interface between the cortex and the velamen (Benzing et al., 1983). These aeration units are formed by pneumathodes that are directed to aeration cells in the exodermis, which usually show thinner walls than adjacent cells with U-shaped thickenings. Internally to the exodermis, the aeration cells are followed by specialized cells that form a duct that connects the cortex to the pneumathode cells (Benzing et al., 1983; Roth-Nebelsick et al., 2021). Initially, Benzing et al. (1983) proposed that the aeration units operate through a passive mechanism, suggesting that the specialized cells in the cortex are pressed when the entire cortex becomes dehydrated, a process known as the “lateral passive closure hypothesis”. Thus, according to this hypothesis the pores between specialized cortical cells would passively open or close in response to the cortex’s hydration status. Subsequently, Roth-Nebelsick et al. (2021) proposed a second hypothesis complementary to the first one, in which the diameter of the aeration cell is reduced by compression when the cortex becomes dehydrated. The aeration cells of the exodermis have thin walls and are often compressed between the thick-walled exodermal cells, anchored to the specialized cells of the cortex. During hydration, the cell turgor increases and leads to cell expansion at the cortex. As a result, the circumference of the cortical exodermis also increases, further opening the aeration cells.

In addition to the structural strategies related to the xeric environment, Crassulacean Acid Metabolism (CAM) is usually associated with the water use efficiency by plants. In some species, the CAM expression is obligatory (constitutive CAM), whereas it may be facultative for others. The facultative CAM expression allows CAM expression in stress conditions, reverting to the C_3 phenotype when the environmental stress is removed (Winter and Holtum, 2014). Most studies on facultative CAM plants in response to water stress address drought conditions rather than flooding, including in Orchidaceae (Cushman and Borland, 2002; Lüttge, 2004). In contrast, changes in CAM expression have also been observed in species subjected to flooding, highlighting that this metabolic shift is not exclusive to drought conditions. Species of *Isoetes* are submerged plants where CO_2 fixation by phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPcase) is facilitated by its high affinity for HCO_3^- (Keeley, 1982). When the flooding condition is temporary and the water levels decrease, their microphylls (leaf-like structures typical of this group) emerge and encounter the atmosphere, with deactivation of CAM expression and plants remaining in the C_3 mode for carbon acquisition (Keeley, 1983; Winter and Holtum, 2014).

Indeed, plants encounter a variable number of environmental signals throughout their life. Although environmental agents can act individually, it is more common to act together, especially considering the availability of CO_2 , nutrients, water and light, or conditions of temperature and salinity (Lüttge, 2004, 2010). The stress conditions most associated with the CAM expression involve low water availability and salinity (Cushman, 2001; Cushman and Borland, 2002; Freschi and Mercier, 2012). It is known that the biochemical processes that involve stress signaling for CAM expression under these conditions (changes in cytosolic Ca^{2+} , Ca^{2+} -dependent kinases, abscisic acid and other hormones, nitric oxide, and hydrogen peroxide) (Freschi and Mercier, 2012) are similar to multiple stress events, including flooding conditions (Ahmad et al., 2012; Sharma et al., 2012; Zhu, 2016; Sasidharan et al., 2018).

Orchids stand out among the most commercialized flowers; in 2018, they accounted for a significant portion of the global flower trade, with annual sales of more than US\$ 4 billion (Zhang et al., 2018). Due to their exuberance, they have added value, which means that more studies are needed to optimize their cultivation (Vendrame et al., 2014; Faria et al., 2018). However, yield losses due to poor irrigation can result in several damages to plant structures, including the development of pathogens and root system decay caused by waterlogging (Cardoso, 2005). Despite

the aeration units in several Orchidaceae species (Benzing et al., 1983), velamen water saturation can obstruct pneumathodes, impairing gas exchange and thus imposing a condition of water saturation that can lead to hypoxia, similar to the effects caused by flooding. The genus *Vanda* Jones ex RB comprises monopodial Orchidaceae species whose habit is mainly epiphytic, reaching up to 2 m in height (Gardiner et al., 2013). *Vanda* species may exhibit a weak CAM or CAM-intermediate in their leaves, but no nocturnal acid accumulation is observed in their roots (Sma-Air and Ritchie, 2020). The presence of pneumathodes was previously described by Benzing et al. (1983) for the genus, and for that reason, it was chosen for this study. Therefore, the present study aimed to determine the tolerance of *Vanda* hybrid (Orchidaceae) to water saturation conditions of the roots. Specifically, we aimed to (1) determine oxidative stress by root submersion, causing systemic stress and changing the photosynthetic yield, and (2) discuss the role of pneumathodes in the case of water saturation of the velamen.

2. Materials and methods

For the experiments, we used the hybrid *Vanda* Robert’s Delight, derived from crosses between *Vanda* Kasem’s Delight $\times$ *Vanda* Mekong Blue. It is one of the most popular and widely cultivated hybrids in Brazil, considered a large-sized plant, with linear, thick, and alternate leaves. The roots are thick and elongated and were cultivated free (Fig. 1). Ten *Vanda* hybrid plants were used in the experiments, with five individuals maintained as controls and five subjected to flooding conditions (submersion). The control plants were irrigated in a greenhouse twice a week, while the plants under flooding conditions had the entire root systems completely submerged for 120 h, changing the water every 24 h of experiment. The individuals of *Vanda* were kept suspended, in a greenhouse located the Institute of Biology of the Federal University of Uberlândia (UFU), municipality of Uberlândia, Minas Gerais State. The greenhouse is maintained under natural temperature and humidity conditions; the local climate is of the Cwa type according to the Köppen classification (Alvares et al., 2013), characterized by dry winter (May to August) and a rainy and hot summer (October to March). The annual average temperature was 21.4 °C. The samples were collected in September 2023; with the maximum temperature recorded during the experiment of 34 °C and the minimum of 21 °C. The photon flux density was monitored every hour between 6 am and 6 pm during the experiment (using the quantum sensor LI-250A, LI-COR, USA) and recorded an average daily of 1.5 mol $m^{-2} day^{-1}$.

2.1. Analyses of specific mass and relative water content

For the analyses of the specific mass (SM) and relative water content (RWC), leaf and root fragments (5 cm) from the root apex of each control individual ($n = 5$) and under submersion ($n = 5$) were excised every 24 h until 120 h of the experiment. For the leaves, 6.4 mm² discs were removed from the median region, avoiding the central midrib. For the roots, 1 cm long fragments whose diameters were measured with a digital caliper were used. The leaf and root fragments were immediately weighed to obtain the fresh mass (FM), immersed for 24 h to obtain the turgid mass (TM), and then oven-dried to a constant weight to obtain the dry mass (DM). SM was calculated considering $SM = DM/A$, where A is the area of the fragment, as proposed by Witkowski and Lamont (1991), whereas RWC was calculated using the formula $RWC = (FM-DM)/(TM-DM) \times 100$, according to Turner (1981).

2.2. Evaluation of CAM metabolism expression

The diurnal variation of the titratable acidity (ΔH^+) was evaluated to verify the expression of CAM over time (0 h, 24 h, 72 h, and 120 h). The acidity accumulated overnight was obtained in fresh leaves and roots (200 mg for each sample) collected at 6 am and 6 pm, and the difference in the titratable acidity at these two time points was represented by

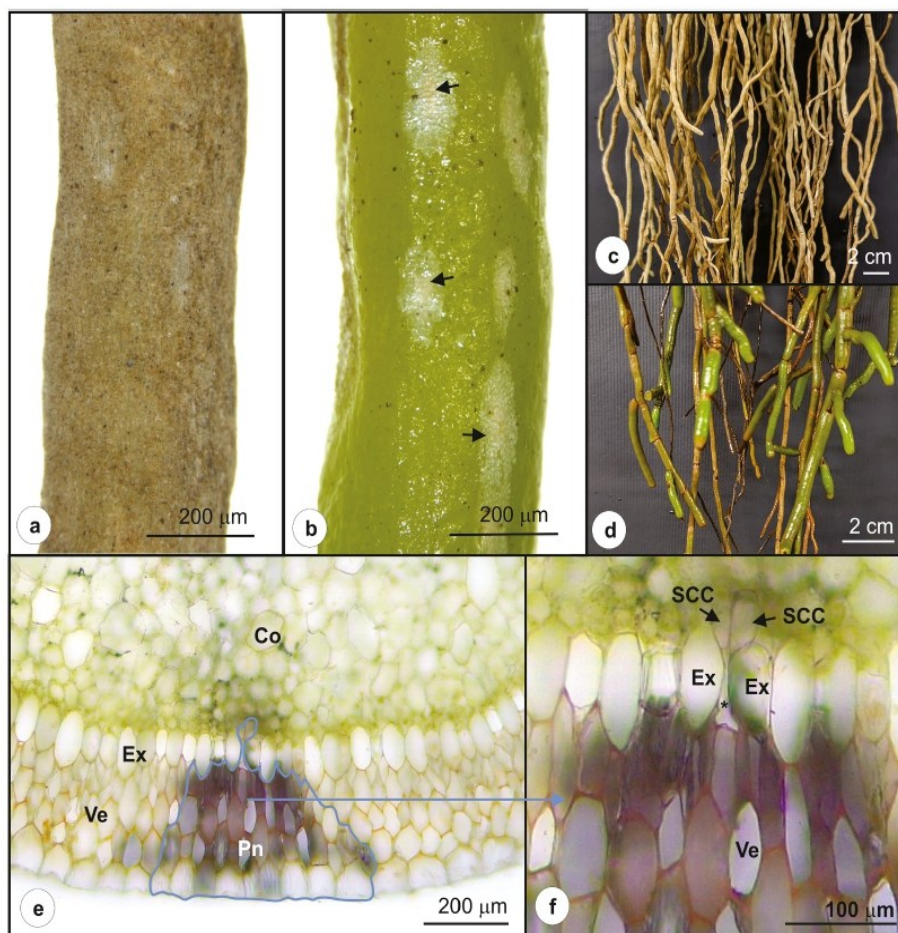


Fig. 1. *Vanda* hybrid roots. (A) Dehydrated velamen, white/gray in color. (B) The hydrated velamen is translucent and allows visualization of the cortical parenchyma containing chloroplasts (green color). The white spots refer to air-filled pneumathodes (arrows). (C) General appearance of the root system of control plants, with dehydrated velamen. (D) General appearance of the root system of plants submerged for 120 h. In these roots, the pneumathodes had already been filled with water, making them no longer visible as white spots. (E) Cross-section of fresh roots of the control plants. The aeration unit (delimited in blue) is formed by the pneumathode cells in the velamen, by the aeration cell through the exodermis, and by the specialized cells in the cortical parenchyma. The dark color is due to the air bubbles that form in the aeration unit. (F) Detail of the aeration unit showing the specialized cells (arrows), the aeration cell through the exodermis (asterisks), and the velamen cells. Co: cortex, Ex: exodermis, Pn: pneumathode, SCC: specialized cells in the cortex, Ve: velamen.

ΔH^+ . The samples were boiled in distilled water for 5 min, and the extracts were titrated with 0.01 N NaOH, according to the procedure described by [Hartsock and Nobel \(1976\)](#).

2.3. Content of chloroplast pigments and chlorophyll a fluorescence

Two leaf (1 cm², at the middle portion, avoiding the leaf midrib) and root (1 cm in length) fragments of each plant were used to quantify the content of chloroplast pigments. The samples were immersed in 80 % acetone (v/v) for 48 h, macerated, and centrifuged at 1000 rpm for 5 min. The absorbances of the supernatant were determined at 470, 646, and 663 nm using a spectrophotometer (Biospectro, SP-220). The chlorophyll *a*, *b*, and carotenoid contents were determined according to [Lichtenthaler and Wellburn \(1983\)](#).

To monitor the stress caused by root submersion in plants over time (0 h, 24 h, 72 h, and 120 h), the chlorophyll *a* fluorescence in photosystem II (PSII) was evaluated in the roots and leaves ([Lichtenthaler and Miehé, 1997](#)). An imaging fluorimeter (Handy FluorCam - PSI - Photon Systems Instruments) coupled to the FluorCam 7.0 software (quenching protocol) was used, considering the following parameters: the maximum quantum yield of PSII after dark adaptation (F_v/F_m) ([Oxborough, 2004](#)),

the quantum yield of light-adapted PSII (QYmax) ([Genty et al., 1989](#)), and the fluorescence decay ratio (R_{fd}) as an empirical parameter to assess plant vitality ([Lichtenthaler and Miehé, 1997](#)).

2.4. Histochemical analyses for the detection of oxidative stress

Histochemical tests were performed to detect the presence of hydrogen peroxide (H₂O₂) and superoxide anion (O₂⁻). Cross-sections of fresh and recently collected fragments of the leaves and roots of the control plants, and after 120 h of submersion, were used. For hydrogen peroxide detection, the sections were placed in 0.5 % 3,3'-diaminobenzidine (DAB-CAS 91–95–2) ([Rossetti and Bonnatti, 2001](#)). The sections were observed under a light microscope with an attached camera (Leica DM 1000), and positive results were obtained by brown staining. For superoxide anion detection, leaf and root fragments were incubated overnight in 0.2 % nitroblue tetrazolium (NBT- CAS 298–83–9) in 50 mM sodium phosphate buffer solution (pH 7.5) ([Kaur et al., 2016](#)). The samples were immersed in ethanol and glycerol (9:1) in a water bath at 100 °C to remove chlorophyll. Subsequently, the samples were sectioned with a razor blade, and the slides were mounted using glycerin. The sections were observed under a light microscope,

and the superoxide anions were indicated by blue pigmentation.

2.5. Data analysis

To determine differences in the SM, RWC, and chloroplast pigment content (root – Chl *b*, total chlorophyll, carotenoids, and Chl *a/b*) between the control and treatment groups (0 h, 24 h, 72 h and 120 h – time of root submersion) of *Vanda* hybrid, a repeated measures ANOVA (Bakeman, 2005) was performed using the “ezANOVA” function from the ez package. For the analysis of nonparametric data, which did not meet the assumptions of the absence of outliers and normality of the data (Shapiro–Wilk test), we used the Friedman test (leaves – RWC, SM, Chl *a* and Chl *b*, total chlorophyll, and carotenoids contents, Chl *a/b*, chlorophyll/carotenoids and acidity; roots – Chl *a*, chlorophyll/carotenoids and acidity). To verify variations in the chlorophyll *a* fluorescence parameters (QY_{max} , F_v/F_m , and R_{fd}) of the leaves and roots between the control and treatment group, linear mixed models (LMM) were constructed, with individuals as random effects. The analyses were performed using R software (i386 4.4.0; R Development Core Team, 2024), and the significance level was set at 5 %.

3. Results

When the velamen is dry, the roots of *Vanda* hybrid seem whitish/greyish (Fig. 1A and C), and, when in contact with water, the velamen is quickly saturated. In this case, it is translucent and allows visualization of the cortical parenchyma containing chloroplasts (the roots exhibit green coloration) (Fig. 1B and D). When the pneumathodes remain filled with air, they retain the whitish color and are easily visualized (Fig. 1B). After 120 h of immersion, when saturated, the pneumathodes also become translucent and reflect green (Fig. 1D). The roots of *Vanda* hybrid studied here showed a velamen with 4 to 5 cell layers (Fig. 1E), with cells slightly elongated along the anticlinal axis and an epivelamen (outermost cell layer) clearly distinguishable by its change in shape at the surface interface (Fig. 1E). The pneumathodes connect the atmosphere to specialized cortical cells through the velamen and the aeration cells that traverse the exodermis, forming the aeration unit (Fig. 1F).

The SM of both roots ($\chi^2 = 6.6$; Df = 4; $P > 0.05$) and leaves ($F = 2.73$; Df = 4, 12; $P > 0.05$) did not change over the submergence times (Fig. 2A). Compared with the control plants, the leaves showed higher values of RWC after 120 h of submersion ($\chi^2 = 13$; Df = 4; $P < 0.05$; Fig. 2B). Root hydration was observed during the first 24 h of the experiment (RWC values, $F = 63.04$; Df = 4, 12; $P < 0.0001$). However, after 72 h of submersion, a significant reduction in root RWC was detected.

The diurnal variation in organic acid content showed an increase in acidity in the leaves during the night after 72 h of submersion ($\chi^2 = 14.75$; Df = 4; $P < 0.01$), whereas in the roots, it had an increase only at 24 h ($\chi^2 = 11.74$; Df = 4; $P < 0.05$) (Fig. 3).

The content of chloroplast pigments in the leaves decreased in terms of chlorophyll *a*, *b*, total chlorophyll, and carotenoids at 72 h of submersion (Table 1). There was no difference in the ratio of chlorophyll *a/b* or the ratio of total chlorophyll/carotenoids in the leaves between the submersion times analyzed. The chlorophyll *a* content was lower in the roots after 72 h of submersion. No differences in the other parameters related to the pigment content at the different root immersion times were detected.

The QY_{max} and F_v/F_m values in the leaves showed an increase after 24 h of submersion (QY_{max} : $\chi^2 = 50.66$; Df = 4; $P < 0.0001$, and F_v/F_m : $\chi^2 = 30.66$; Df = 4; $P < 0.0001$) (Fig. 4A and B). In the roots, no differences were observed for QY_{max} ($\chi^2 = 7.66$; Df = 4; $P > 0.05$) (Fig. 4A), but F_v/F_m also showed an increase in the first 24 h after submersion ($\chi^2 = 19.76$; Df = 4; $P < 0.0001$) (Fig. 4B). The R_{fd} values of the leaves increased after 24 h of submersion ($\chi^2 = 32.07$; Df = 4; $P < 0.0001$), whereas the R_{fd} values of the roots did not significantly differ ($\chi^2 = 8.14$; Df = 4; $P > 0.05$) due to large variation at 24 and 72 h

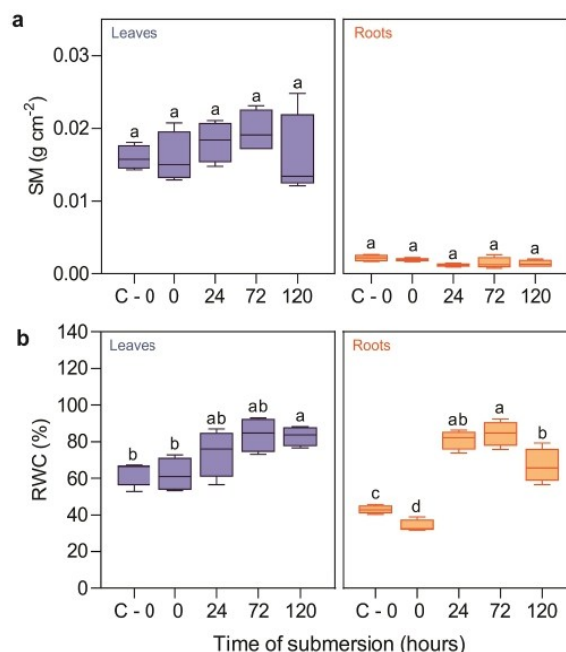


Fig. 2. Variations in the specific mass (SM, A) and relative water content (RWC, B) of leaves (purple) and roots (orange) of *Vanda* hybrid in an experiment simulating flooding of the root systems. The data refer to the control plants at time 0 (C-0) and plants with submerged roots for 120 h (0, 24, 72, and 120 h). Boxplots represent the median, dispersion of the data (quartiles and interquartile range), and the whiskers indicating variability outside the upper and lower quartiles. Different letters indicate differences between the control and the submersion times of the leaves and roots according to the repeated measures ANOVA followed by Bonferroni's post-hoc test ($P < 0.05$).

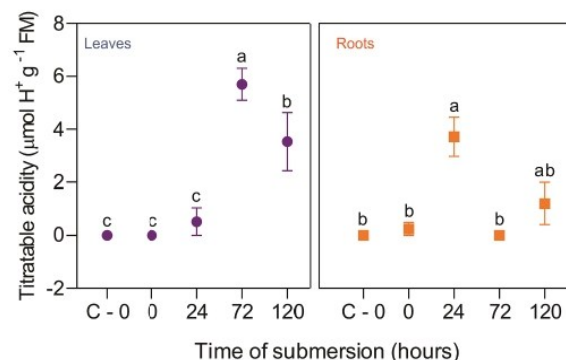


Fig. 3. Differences in titratable acidity (ΔH^+ between 6 am and 6 pm) of *Vanda* hybrid roots (orange) and leaves (purple) in an experiment simulating flooding of the root system. The data refer to the control plants at time 0 (C-0) and plants with submerged roots for 120 h (0, 24, 72, and 120 h). Means $\pm$ standard error ($n = 5$). Different letters indicate differences between the control and root submersion times according to the Friedman test followed by Bonferroni's post-hoc test ($P < 0.05$).

(Fig. 4C).

An increase in oxidative stress was visually detected using histochemical tests. In the control roots, the highest hydrogen peroxide labeling was observed in the cortical parenchyma, with low labeling in the vascular cylinder (more evident in the passage cells of the endodermis and the pericycle cells) (Fig. 5A–C). In the submerged roots, a strong reaction to hydrogen peroxide was observed throughout the cortical

Table 1

Content of chloroplast pigments (mg g⁻¹ FW) in leaves and roots of *Vanda* hybrid in an experiment simulating flooding of the root system. The data refer to the control plants at time 0 (C-0), and plants with submerged roots for 120 h (0, 24, 72, and 120 h).

Submersion time (hours)						χ^2	Df	P
Plant organ	Control	Treatment						
	(0–120 h)	0 h	24 h	72 h	120 h			
Leaf								
Chlorophyll a	0.41 ± 0.04a	0.47 ± 0.07a	0.29 ± 0.03ab	0.20 ± 0.02b	0.27 ± 0.03ab.	14.6	4	< 0.01
Chlorophyll b	0.17 ± 0.02ab	0.20 ± 0.03a	0.13 ± 0.4ab	0.08 ± 0.02b	0.13 ± 0.01ab	15.4	4	< 0.01
Total Chl (a + b)	0.58 ± 0.05a	0.67 ± 0.10a	0.42 ± 0.04ab	0.28 ± 0.02b	0.43 ± 0.04ab	14.8	4	< 0.01
Carotenoids	0.11 ± 0.01a	0.12 ± 0.03a	0.08 ± 0.01ab	0.06 ± 0.02b	0.08 ± 0.11ab	14.6	4	< 0.01
Chlorophyll a/b	2.36 ± 0.13	2.34 ± 0.03	2.29 ± 0.13	2.09 ± 0.20	2.18 ± 0.11	9	4	> 0.05
Chl (a + b)/carot	5.40 ± 0.22	5.57 ± 0.55	5.02 ± 0.15	5.71 ± 0.55	5.21 ± 0.39	7.6	4	>0.05
Root								
Chlorophyll a	0.14 ± 0.05a	0.10 ± 0.03ab	0.06 ± 0.02ab	0.06 ± 0.01b	0.07 ± 0.02ab	13	4	< 0.05
Chlorophyll b	0.07 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.01	3.22*	4, 12	> 0.05
Total Chl (a + b)	0.21 ± 0.07	0.16 ± 0.04	0.12 ± 0.02	0.10 ± 0.04	0.10 ± 0.03	6.54*	4, 12	> 0.05
Carotenoids	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.004	0.02 ± 0.003	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.003	2.47*	4,12	> 0.05
Chlorophyll a/b	2.23 ± 0.05	2.01 ± 0.18	1.82 ± 0.11	1.55 ± 0.56	1.96 ± 0.12	3.12*	4, 12	> 0.05
Chl (a + b)/carot	5.50 ± 0.27	4.86 ± 1.27	3.73 ± 0.96	4.36 ± 0.94	6.31 ± 1.32	7.2	4	> 0.05

Different letters indicate differences between the root's control and submersion times according to repeated measures ANOVA (* - F value) or the Friedman test (both at 5 % significance).

parenchyma, near the vascular cylinder (and here we can include the medulla of the own vascular cylinder) (Fig. 5D–F) and near the velamen (compare control roots – Fig. 5G,H and treated roots – Fig. 5I,J). On the other hand, the analysis for detecting superoxide anions revealed no differences between the control roots or those that remained submerged for 120 h. The superoxide anion was detected more evidently in the passage cells of the exodermis and endodermis, pericycle, and phloem (Fig. 6).

4. Discussion

Before any discussion involving the effects of submersion on the roots and leaves of *Vanda* hybrid, it is necessary to consider that the epiphytic environment imposes a water restriction on the plants that grow there (Kumagai et al., 2001; Zotz and Hietz, 2001; Ferrari et al., 2024), often leading to a convergence of structural and physiological strategies that maximize the efficient use of water (Zotz and Hietz, 2001; Ferrari et al., 2024). Although the studied plants were irrigated daily before the experiment and were healthy, with no signs of dehydration, the submersion of the roots led to their complete saturation within 24 h of the experiment (evidenced by the increase in the RWC of the roots) and to a gradual increase in the leaf RWC up to 120 h of the experiment. At 24 h of the experiment, an activation of the photochemical metabolism of the leaves was observed, which preserved high rates of maximum PSII quantum yield (F_v/F_m) and of the quantum efficiency of light-adapted PSII (QYmax) until the end of the experiment.

4.1. Effects of water saturation on roots

There are >25,000 species of orchids, of which a large majority develop velamen (Porembski and Barthlott, 1988; Zotz, 2013; Zotz et al., 2017). This tissue is widely distributed in the family, is present in the five subfamilies that make up the group and can be found in both epiphytic and terrestrial plants, but its absence has been reported in some specific terrestrial species (Porembski and Barthlott, 1988; Zotz et al., 2017). The velamen is highly specialized in water absorption and increases the efficiency of epiphytic species in acquiring this resource. When in contact with water, the velamen is quickly filled and becomes saturated (approximately 15 s), reaching its maximum hydration in approximately one minute (Zotz and Winkler, 2013). After entering the velamen, water passes through the passage cells and reaches the cortical parenchyma. In our experiment, 24 h after submersion, the *Vanda* hybrid roots had slightly more than twice the RWC, a condition that was maintained throughout the 120 h of the experiment.

When the velamen was saturated, the root reflected a greenish color, and, in the *Vanda* hybrid plants studied here, pneumathodes remained white. The white spots (pneumathodes) were distributed in bands or randomly but are considered large (reaching up to 1 mm in length) when compared with other orchid species (Benzing et al., 1983). After being submerged for a long time (120 h), the pneumathodes became translucent and reflected a green color. This suggests that, in some cases, pneumathode cells might be filled with water instead of air. Therefore, the oxidative stress at the end of the experiment indicated that even in the presence of pneumathodes, the water film formed on the external part of the root could reduce gas exchange and impose stress conditions on the roots.

One of the first responses to environmental stress is the accumulation of reactive oxygen species (ROS), which leads to oxidative stress (Sharma et al., 2012). The natural production of these molecules is increased under unfavorable environmental conditions, leading to an imbalance between their production and the active antioxidant system in plants (antioxidant metabolites, enzymes, and other small molecules capable of dissipating ROS) (Lal et al., 2019). The superoxide anion (O_2^-) is the main ROS formed during stress conditions through O_2 reduction. Compared to H_2O_2 , O_2^- is a reactive molecule with a short lifetime and a half-life of approximately 1 μ s. Because it is a charged molecule that cannot cross biological membranes, O_2^- is compartmentalized and is quickly removed from its site of production by an efficient antioxidant mechanism (Lal et al., 2019), which could help explain why we did not find these molecules scattered in large amounts throughout the photosynthetic cortical parenchyma. On the other hand, its presence was restricted to the passage cells of the exodermis and endodermis, as well as the pericycle cells adjacent to them in the endodermis. These cells may not be natural sites of high production and thus do not present an efficient antioxidant system.

O_2 molecules can react with one electron and two protons to produce H_2O_2 , in a reaction that may or may not be catalyzed by superoxide dismutase (SOD) (Lal et al., 2019). These molecules are moderately reactive and have a relatively longer lifespan, being generated in greater quantities by the activity of the mitochondrial and chloroplast electron transport chain (Lal et al., 2019), which would explain their accumulation in photosynthetic cortical parenchyma cells. However, there is little evidence of high metabolic activity by parenchyma cells in the vascular cylinder, which do not require an efficient antioxidant mechanism, thus leading to redox imbalance. In addition, H_2O_2 molecules can move through aquaporins in membranes and travel through cells (Bienert et al., 2007), which leads to accumulation in cell walls. The oxidative stress indicated by the greater reaction to H_2O_2 in the *Vanda*

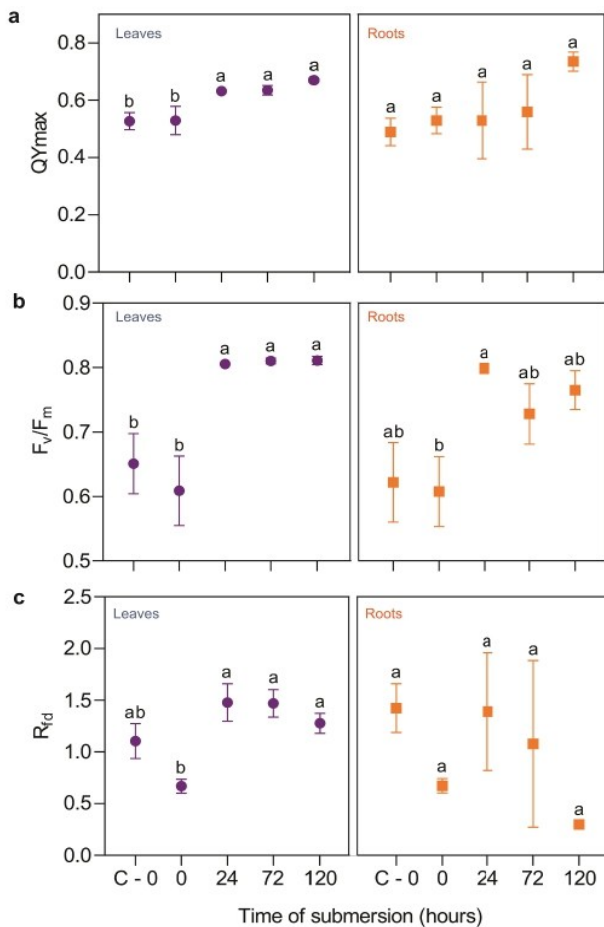


Fig. 4. Parameters obtained from chlorophyll *a* fluorescence in the leaves (purple) and roots (orange) of *Vanda* hybrid in an experiment simulating flooding of the root system. (A) quantum efficiency of light-adapted PSII (QYmax); (B) Maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m); and (C) PSII fluorescence decline ratio (R_{fd}). Means ± standard error (*n* = 5). Different letters indicate differences between the control and root submersion times according to the LMM, with means compared using the “emmeans” function (from the “emmeans” package) (*P* < 0.05).

hybrid roots under submersion conditions for 120 h did not seem sufficient to compromise photochemical metabolism effectively. Thus, the connection between the root cortex and the external environment formed by aeration units, together with the O₂ product of photosynthetic metabolism, could reduce or at least delay the effects generated by velamen saturation in the roots.

Although little studied, the expression of CAM by photosynthetic aerial roots has been previously described in epiphytic orchids (Winter et al., 1985; Goh and Kluge, 1989; Kluge et al., 2001; Lüttge, 2004). In our study, a slight increase in the overnight accumulation of organic acids was observed in the roots only at 24 h of the experiment, coinciding with high values of F_v/F_m. In a previous study measuring the dynamics of the *Vanda* root photosynthesis during the day, Sma-Air and Ritchie (2020) did not register acidity accumulation overnight, indicating no CAM expression in roots. They observed rapid photosynthetic activation after moistening the roots, with high photosynthetic electron transport comparable to that found in leaves. Here, it is worth mentioning that *Vanda* orchids naturally grow as epiphytes in nature, and despite the photosynthetic activation when hydrated, their commercial cultivation in pots may expose the roots to different conditions,

including water saturation and rot, which may increase oxidative stress after some days.

4.2. Effects of water saturation on leaves

Despite reports that some plant species show a reduction in water uptake by roots a few hours after flooding conditions (Striker, 2012) due to acidification of the cell cytoplasm and consequent blockade of aquaporins (Toumarie-Roux et al., 2003), this does not seem to be the case for the *Vanda* hybrid plants. The leaves gradually increased their RWC until reaching 120 h of the experiment. This leaf hydration reinforces the role of the pneumathodes, which likely can maintain aerobic balance and delay root acidification. In this context, aquaporin activity does not appear to be impaired, and water flow inside the plants was preserved. The leaves of *Vanda* hybrid increased the accumulation of organic acids at night after 72 h of submersion, but did not change the photochemical yield. The induction of CAM in the leaves may have been triggered before the mesophyll cells reached their maximum turgor, which suggests that a rapid signal is generated by stressed roots (Freschi and Mercier, 2012). Few studies have investigated CAM expression in response to flooding stress. However, this could represent a different scenario if we consider that many metabolic signals (such as increased concentrations of molecules such as NO and H₂O₂) (Freschi and Mercier, 2012) are associated with multiple stress events, including submersion (Ahmad et al., 2012; Zhu, 2016; Sasidharan et al., 2018).

A common response to flooding is the reduction in carbon fixation rates (Jackson and Drew, 1984), usually due to stomatal closure (Mielke et al., 2003). In plants with CAM, the effects of stomatal closure can be minimized because PEPcase activity can lead to internal CO₂ cycling, including the product from cellular respiration. However, other factors are commonly associated with a reduction in photosynthetic rates, such as the reduction in chlorophyll content (observed in our study at 72 h of experiment), the reduction in the activity of carboxylating enzymes and an increase in the oxidative damage of PSII due to the increase in the concentrations of reactive oxygen species (Striker, 2012). Here, the *Vanda* hybrid plants increased their photochemical activity (F_v/F_m, QYmax and R_{fd}) after 24 h of submersion, indicating an activation of photosynthetic activity when the leaves began to rehydrate. The subsequent maintenance of photochemical activity until the end of the experiment reinforces the idea that the pneumathodes may have preserved the aerobic balance for a longer period. However, the continuous water saturation conditions for 120 h led to oxidative stress in the roots of the plants. Studies evaluating substrates for orchid seedlings revealed that the *Vanda* hybrid was more sensitive to water retention by the roots than leaves, which also influenced the development of the aerial part (Meurer et al., 2008). Thus, abiotic factors such as excess water can negatively affect the plant's equilibrium, preventing its growth. Oxygen limitation is a challenge for plant survival and causes root rot and even death.

In conclusion, the pneumathodes allow gas exchange between the plant and the environment, including atmospheric oxygen. Thus, in addition to the connection between the root cortex and the external environment, the air pockets formed by the pneumathode cells, together with the O₂ production from photosynthesis, can reduce or delay the effects of water saturation in the root. Therefore, the continuous submersion of 120 h of the *Vanda* roots leads to oxidative stress, showing that abiotic factors such as excess water can negatively influence the plant equilibrium, preventing its development, growth, and productivity.

Funding

This work was support by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior [grant number 001]; and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [grant number 309044/2021–9].

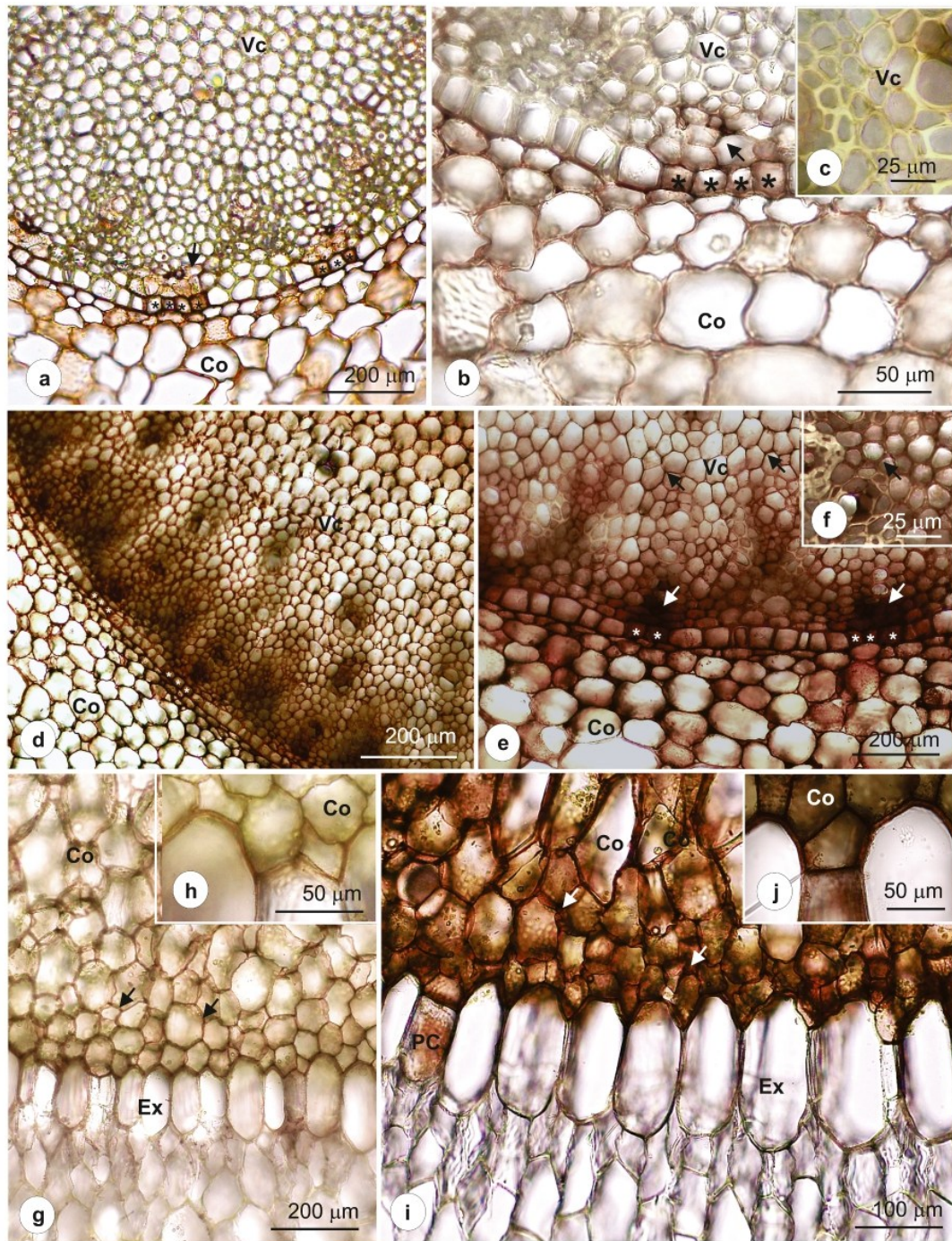


Fig. 5. Hydrogen peroxide labelled in the cell walls (indicated by brown coloration resulting from DAB reaction) in roots of *Vanda* hybrid under control conditions and subjected to water submersion. (A–C) Control roots showing weak hydrogen peroxide labeling (black arrows) in the vascular cylinder, mainly localized in the pericycle cells near the passage cells, and in cortical cells (particularly in the endodermal passage cells – asterisks). (D–F) Roots subject to submersion exhibiting strong reaction to hydrogen peroxide in the cell walls of the vascular cylinder (black arrows). The most prominent staining was observed in cells adjacent to the endodermis (white arrows) and in endodermal passage cells (asterisks). (G, H) Control roots: region adjacent to the velamen with weak reactions to hydrogen peroxide in the walls of the root cortex (arrows). (I, J) Submerged roots: region adjacent to the velamen exhibiting strong reactions to hydrogen peroxide in the walls of the root cortex (arrows). Co: cortex, Vc: vascular cylinder, PC: passage cells, Ex: exodermis.

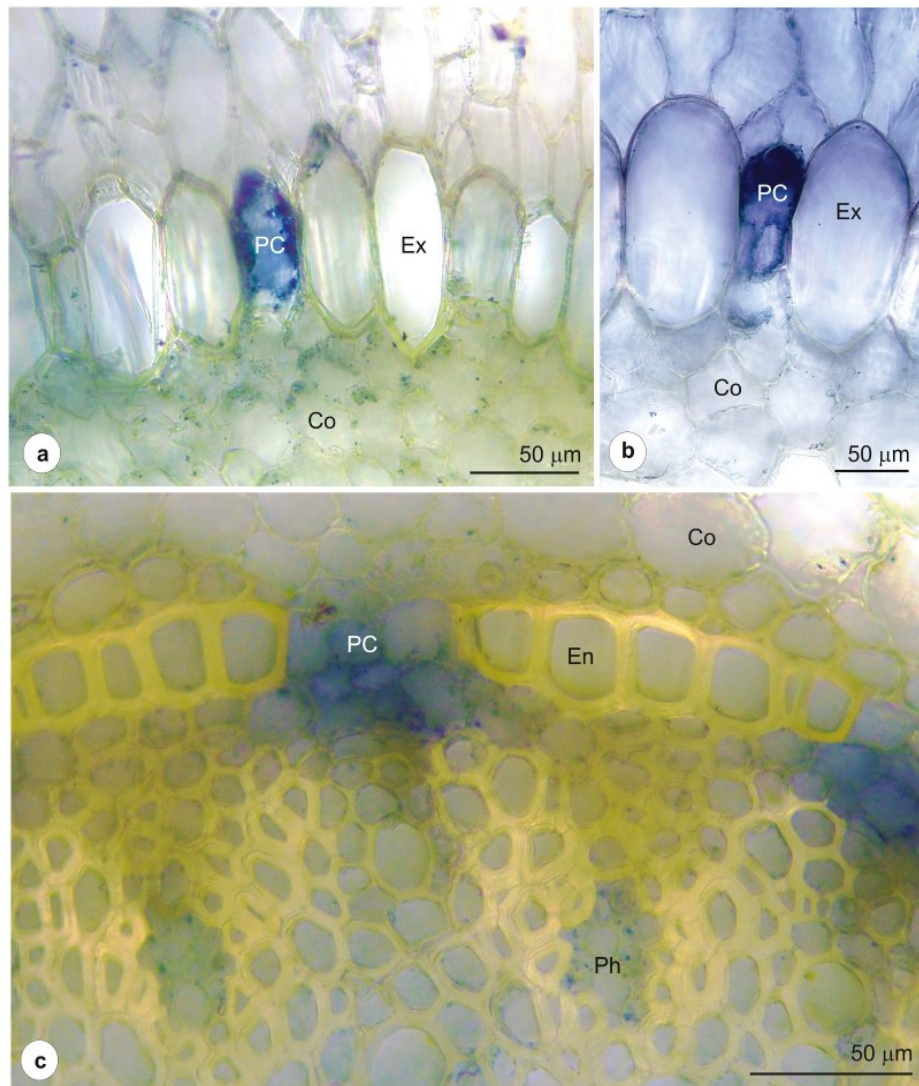


Fig. 6. Superoxide anions detected by blue reaction with NBT in the control *Vanda* hybrid roots and those subjected to water submersion. (A, B) Cross-sections of control (A) and submerged roots (B) showing superoxide anions in the passage cells of the exodermis and less evident in the root cortex. (C) Cross-section of control root showing superoxide anions in the passage cells of the endodermis, and in the pericycle cells near them. Co: cortex, PC: passage cells, En: endodermis, Ex: exodermis, Ph: phloem.

Declaration of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process

During the preparation of this work the authors used American Journal Experts (AJE) for English revision. After using this tool/service, the authors reviewed and edited the content as needed and take full responsibility for the content of the publication.

Data availability

Data will be made available on request.

CRediT authorship contribution statement

Gisely de Souza Santos: Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. **Jessica Ferreira de Lima:** Writing – review &

editing, Methodology, Investigation, Data curation. **Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Validation, Supervision, Resources, Project administration, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests:

ANA SILVIA FRANCO PINHEIRO MOREIRA reports financial support was provided by National Council for Scientific and Technological Development. Jessica Ferreira de Lima reports financial support was provided by Coordination of Higher Education Personnel Improvement. If there are other authors, they declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

References

- Ahmad, P., Bhardwaj, R., Tuteja, N., 2012. Plant signaling under abiotic stress environment. In: Ahmad, P., Prasad, M. (Eds.), *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. Springer, New York, pp. 297–323.
- Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.D.M., Sparovek, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22, 711–728.
- Bakeman, R., 2005. Recommended effect size statistics for repeated measures designs. *Behav. Res. Meth.* 37, 379–384.
- Benzing, D.H., Friedman, W.E., Peterson, G., Renfrow, A., 1983. Shootlessness, velamentous roots, and the preeminence of Orchidaceae in the epiphytic biotope. *Am. J. Bot.* 70, 121–133. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1983.tb12440.x>.
- Bienert, G.P., Möller, A.L.B., Kristiansen, K.A., Schulz, A., Möller, I.M., Schjoerring, J.K., Jahn, J.P., 2007. Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *J. Biol. Chem.* 282, 1183–1192. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603761200>.
- Cardoso, J.C., 2005. *Pragas Das Orquídeas, identificação, Controle e Manejo*. Bles Gráfica e Editora, Pompeia.
- Cushman, J.C., 2001. Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiol* 127, 1439–1448. <https://doi.org/10.1104/pp.010818>.
- Cushman, J.C., Borland, A.M., 2002. Induction of crassulacean acid metabolism by water limitation. *Plant Cell Environ.* 25, 295–310. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00760.x>.
- Faria, R.T., Stegani, V., Bertoni, D.J., Alves, G.A.C., Assis, A.M., 2018. Substratos para o cultivo de orquídeas epífitas. *Semin. Ciênc. Agrár.* 39, 2851–2866. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n6p2851>.
- Ferrari, F.B., Rippel, L.V., Furtado, S.G., Somavilla, N.S., Menini-Neto, L., 2024. Do anatomical traits converge on epiphytic plants? *Rodriguésia* 75, e01272023. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202475031>.
- Freschi, L., Mercier, H., 2012. Connecting environmental stimuli and Crassulacean Acid Metabolism expression: phytohormones and other signaling molecules. In: Lüttge, U., Beyschlag, W., Büdel, B., Francis, D. (Eds.), *Progress in Botany, Progress in Botany*, 73. Springer, Berlin, pp. 231–255.
- Gardiner, L.M., Kocyan, A., Motes, M., Roberts, D.L., Emerson, B.C., 2013. Molecular phylogenetics of *Vanda* and related genera (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 173, 549–572. <https://doi.org/10.1111/boj.12102>.
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990, 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9).
- Goh, C.J., Kluge, M., 1989. Gas exchange and water relations in epiphytic orchids. In: Lüttge, U. (Ed.), *Vascular Plants as Epiphytes. Evolution and Ecophysiology*. Springer, Berlin, pp. 139–166.
- Hartsock, T.L., Nobel, P.S., 1976. Watering converts a CAM plant to daytime CO₂ uptake. *Nature* 262, 574–576. <https://doi.org/10.1038/262574b0>.
- Idris, N.A., Aleamotu, M., McCurdy, D.W., Collings, D.A., 2021. The orchid velamen: a model system for studying patterned secondary cell wall development? *Plants* 10, 1358. <https://doi.org/10.3390/plants10071358>.
- Jackson, M.B., Drew, M.C., 1984. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: Kozlowski, E.T. (Ed.), *Flooding and Plant Growth*. Elsevier, Vancouver, pp. 47–128.
- Joca, T.A.C., Oliveira, D.C., Zott, G., Cardoso, J.C.F., Moreira, A.S.F.P., 2020. Chemical composition of cell walls in velamentous roots of epiphytic Orchidaceae. *Protoplasma* 257, 103–118. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01421-y>.
- Kaur, N., Sharma, I., Kirat, K., Pati, P.K., 2016. Detection of reactive oxygen species in *Oryza sativa* L. (rice). *Bio. Protoc.* 6, e2061. <https://doi.org/10.21769/BIOPROT.2061>.
- Keeley, J.E., 1982. Distribution of diurnal acid metabolism in the genus *Isoetes*. *Amer. J. Bot.* 69, 254–257. <https://doi.org/10.2307/2443012>.
- Keeley, J.E., 1983. Crassulacean acid metabolism in the seasonally submerged aquatic *Isoetes howellii*. *Oecologia* 58, 57–62. <https://doi.org/10.1007/BF00384542>.
- Kumagai, T., Kuraji, K., Noguchi, H., Tanaka, Y., Tanaka, K., Suzuki, M., 2001. Vertical profiles of environmental factors within tropical rainforest, Lambir Hills National Park, Sarawak, Malaysia. *J. For. Res.* 6, 257–264. <https://doi.org/10.1007/BF02762466>.
- Kluge, M., Razanoelisoa, B., Brulfert, J., 2001. Implications of genotypic diversity and phenotypic plasticity in the ecophysiological success of CAM plants, examined by studies on the vegetation of Madagascar. *Plant Biol.* 3, 214–222. <https://doi.org/10.1055/s-2001-15197>.
- Lal, M., Kumari, A., Pooja, Sheokand, S., 2019. Reactive oxygen species, reactive nitrogen species and oxidative metabolism under waterlogging stress. In: Hasanuzzaman, M., Fotopoulos, V., Nahar, K., Fujita, M. (Eds.), *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms*. John Wiley & Sons Ltd, New Jersey, pp. 777–812.
- Lichtenthaler, H.K., Miehe, J.A., 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci.* 2, 316–320. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)89954-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)89954-2).
- 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. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
- Loreti, E., Veen, H., Perata, P., 2016. Plant responses to flooding stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 33, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.06.005>.
- Lüttge, U., 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Ann. Bot.* 93, 629–652. <https://doi.org/10.1093/aob/mch087>.
- Lüttge, U., 2010. Ability of crassulacean acid metabolism plants to overcome interacting stresses in tropical environments. *AoB Plants* 2010, plq005.
- Meurer, F.M., Barbosa, C., Zonetti, P.C., Munhoz, R.E.F., 2008. Avaliação do uso de bagaço de cana-de-açúcar como substrato no cultivo de mudas de orquídeas. *SaBios* 3 (2) jul./dez. <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/130>.
- Mielke, M.S., Almeida, A.F., Gomes, F.P., Aguiar, M.A., Mangabeira, P.A., 2003. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. *Environ. Exp. Bot.* 50, 221–231. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(03\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(03)00036-4).
- Moreira, A.S.F.P., Lemos-Filho, J.P., Isaias, R.M.S., 2013. Structural adaptations of two sympatric epiphytic orchids (Orchidaceae) to a cloudy forest environment in rocky outcrops of Southeast Brazil. *Rev. Biol. Trop.* 61, 1053–1065. <https://doi.org/10.15517/rbt.v61i3.11780>.
- Oxborough, K., 2004. Imaging of chlorophyll *a* fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. *J. Exp. Bot.* 55, 1195–1205. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh145>.
- Pan, J., Sharif, R., Xu, X., Chen, X., 2021. Mechanisms of waterlogging tolerance in plants: research progress and prospects. *Front. Plant Sci.* 11, 627331. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.627331>.
- Porembski, S., Barthlott, W., 1988. Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. *Nord. J. Bot.* 8, 117–137. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1988.tb00491.x>.
- Development Core Team, R., 2024. R version 4.3.1. The R Foundat. Statist. Comput. <https://www.R-project.org/>.
- Rossetti, S., Bonatti, P.M., 2001. *In situ* histochemical monitoring of ozone and TMV-induced reactive oxygen species in tobacco leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 39, 433–442. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(01\)01250-5](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(01)01250-5).
- Roth-Nebelsick, A., Thiv, M., Malkowsky, Y., Schott, R., Heyer, A., 2021. Structure and functional anatomy of the gas exchange apparatus of leafless orchids: evidence for a control mechanism? *Bot. J. Linn. Soc.* 20, 1–14. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boab021>.
- Sasidharan, R., Hartman, S., Liu, Z., Martopawiro, S., Sajeev, N., Veen, H., Yeung, E., Voesenek, L.A.C.J., 2018. Signal dynamics and interactions during flooding stress. *Plant Physiol.* 176, 1106–1117. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01232>.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 217037, 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>.
- Silva, I.V., Scatena, V.L., 2011. Anatomia de raízes de nove espécies de bromeliaceae (Poales) da região amazônica do estado de Mato Grosso, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 25, 618–627. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062011000300015>.
- Sma-Air, S., Ritchie, R.J., 2020. Photosynthesis in a *Vanda* sp orchid with photosynthetic roots. *J. Plant Physiol.* 251, 153187. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153187>.
- Striker, G.G., 2012. Flooding stress on plants: anatomical, morphological and physiological responses. In: Mworira, J.K. (Ed.), *Botany*. TechOpen, London, pp. 03–28.
- Tournaire-Roux, C., Sutka, M., Javot, H., Gout, E., Gerbeau, P., Luu, D.T., Blicny, R.R., Maurel, C., 2003. Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature* 425, 393–397. <https://doi.org/10.1038/nature01853>.
- Turner, N.C., 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant Soil* 58, 339–366. <https://doi.org/10.1007/BF02180062>.
- Vendrame, W., Faria, R.T., Sorace, M., Sahyun, S.A., 2014. Orchid cryopreservation. *Ciênc. Agrotec.* 38, 213–229. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000300001>.
- Winter, K., Holtum, J.A.M., 2014. Facultative crassulacean acid metabolism (CAM) plants: powerful tools for unraveling the functional elements of CAM photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 65, 3425–3441. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru063>.
- Winter, K., Medina, E., Garcia, V., Mayoral, M.L., Muniz, R., 1985. Crassulacean acid metabolism in roots of a leafless orchid, *campylocentrum tyrridion garay* Dunsterv. *Plant Physiol.* 118, 73–78. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(85\)80166-8](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(85)80166-8).
- Witkowski, E.T.F., Lamont, B., 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88, 486–493. <https://doi.org/10.1007/BF00317710>.
- Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Huang, W., Hu, H., 2018. Physiological diversity of orchids. *Plant Divers* 40, 196–208. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.06.003>.
- Zhu, J.K., 2016. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell* 167, 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>.
- Zott, G., 2013. The systematic distribution of vascular epiphytes – a critical update. *Bot. J. Linn. Soc.* 171, 453–481. <https://doi.org/10.1111/boj.12010>.
- Zott, G., Hietz, P., 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *J. Exp. Bot.* 52, 2067–2078. <https://doi.org/10.1093/jxbbot/52.364.2067>.
- Zott, G., Winkler, U., 2013. Aerial roots of epiphytic orchids: the velamen radicum and its role in water and nutrient uptake. *Oecologia* 171, 733–741. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2575-6>.
- Zott, G., Schickenberg, N., Albach, D., 2017. The velamen radicum is common among terrestrial monocotyledons. *Ann. Bot.* 120, 625–632. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx097>.

815	Capítulo 3: Estratégias das raízes de <i>Vanda</i> (Orchidaceae) que ensinam a
816	importância de ser flexível: um relato de experiência acadêmica
817	
818	Gisely de Souza Santos e Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira

**ESTRATÉGIAS DAS RAÍZES DE *Vanda* (ORCHIDACEAE) QUE ENSINAM A
IMPORTÂNCIA DE SER FLEXÍVEL: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA
ACADÊMICA**

¹Gisely de Souza Santos; ²Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira;

¹²Universidade Federal de Uberlândia, ¹gisellysaints@gmail.com

RESUMO

As orquídeas apresentam diversas estratégias que possibilitam sua sobrevivência em diferentes condições ambientais. Espécies epífitas possuem raízes aéreas e, por isso absorvem a água proveniente da atmosfera. Em condição seca, as raízes de *Vanda* exibem coloração branca e quando úmidas, apresentam cor verde, com presença de manchas brancas perceptíveis (pneumatódios), indicativas do sistema de aeração da planta, que permite a passagem de oxigênio para as raízes. Entretanto, no cotidiano, pouco se conhece a respeito dessas estruturas e de sua função. Dessa forma, neste capítulo, são apresentados resultados desta tese em formato de quadrinhos, que foram disponibilizados durante uma mostra extensionista, bem como um relato de experiência que está em vias de ser publicado no The Conversation Brasil. A elaboração do material gráfico seguiu as seguintes fases: planejamento de atividades, escolha do tema e do contexto para abordagem, seleção de *template* e fotos, conversão de imagens em desenhos, estruturação dos quadrinhos e divulgação impressa. Por meio de uma tirinha em forma de narrativa, a personagem fala sobre sua pesquisa, trazendo informações e conceitos sobre as orquídeas para contextualizar o leitor. São também apresentadas observações e inferências sobre a alteração da coloração das raízes, bem como conceito e função do velame e pneumatódios na raiz, numa perspectiva microscópica. Em seguida, é apresentada a trajetória acadêmica da autora até o momento, expressando o sentimento pessoal da realização de cursar um doutorado vindo de um contexto interiorano.

Palavras-chave: Botânica, Ensino, HQ, Interpretação Ambiental, Orquídeas

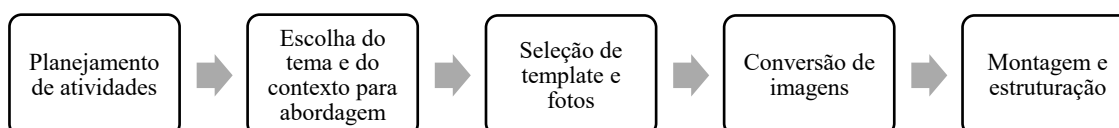
846 INTRODUÇÃO

847 Aqui, apresento os resultados desta tese em formato de quadrinhos, que foram
848 disponibilizados durante uma mostra extensionista. Além disso, há um relato de
849 experiência publicado no The Conversation Brasil. Esta história busca não apenas traduzir
850 o conhecimento científico em uma linguagem acessível, mas também valorizar a trajetória
851 humana que permeia o doutorado. O processo de formação vai além dos dados obtidos,
852 do texto escrito ou dos artigos publicados: ele é marcado pela história de vida do estudante
853 que muitas vezes deixa sua cidade para investir em sua qualificação, pelo apoio de sua
854 família e pelo vínculo com a comunidade de origem. Assim, cada habilidade adquirida
855 no percurso acadêmico integra-se à construção de um profissional que não apenas retorna
856 com conhecimento científico, mas também com sensibilidade social e capacidade de
857 transformar o meio em que vive.

858 Entende-se que o relato de experiência difere de um relato de pesquisa
859 principalmente porque, nesta última, o pesquisador intencionalmente conduz suas ações
860 de acordo com o fenômeno que deseja investigar; ao passo que o relato de experiência
861 busca compartilhar vivências, reflexões e aprendizados a partir de experiências reais e
862 concretas (Teixeira; Megid Neto, 2017). Neste contexto, ressalta-se a importância de
863 compreender a educação científica como uma interrelação entre ensino escolar e outras
864 vivências culturais para além dos espaços físicos da escola (Marandino et al, 2017).

865 Além disso, destaca-se aqui que o ensino de botânica pode se tornar ainda mais
866 prazeroso quando há a utilização de recursos metodológicos que forneçam ao estudante
867 conhecimentos teórico-práticos lhes permitam assimilar melhor o conteúdo, podendo
868 contextualizá-lo em seu cotidiano.

869 A elaboração do material seguiu as seguintes fases: planejamento de atividades,
870 escolha do tema e do contexto para abordagem, seleção de *template* e fotos, conversão de
871 imagens em desenhos, estruturação dos quadrinhos e divulgação impressa.



872

873

874 A iniciativa de utilizar história em quadrinhos para abordagem de adaptações
875 estruturais em raízes de orquídeas epífitas surgiu como uma necessidade de representar
876 de forma lúdica o nosso sistema de estudo, inspirar alunos enquanto futuros
877 pesquisadores, bem como ressaltar a viabilidade do uso de HQ^s como recurso pedagógico
878 para popularização da ciência, sobretudo para o ensino de botânica. Em uma pequena
879 tirinha, trazemos a narrativa da minha saída da Bahia para estudar em Minas Gerais.
880 Representamos a personagem, o objeto de estudo e um pouco dos resultados por meio da
881 conversão de fotos originais em imagens estilo Ghibli, estruturadas na ferramenta gráfica
882 do *Canva*, como mostrado a seguir:
883

PEQUENOS POROS... GRANDES MISTÉRIOS!



Olá pessoal!
Meu nome é Gísely e
moro em São
Desidério.

Fui para Minas Gerais fazer doutorado; uma continuação da faculdade para que cientistas se formem. Agora vou contar para vocês o que investiguei enquanto estive por lá.

Vocês conhecem as orquídeas, certo? Algumas dessas lindas plantas crescem sobre outras, de forma que suas raízes não alcançam o solo. Nesse caso, são chamadas de epífitas e só absorvem a água que vem do ar.



Esta é a *Vanda*, a orquídea com a qual trabalhei. Tem raízes aéreas incríveis!

Percebi que quando secas, as raízes ficavam brancas. Quando se molhavam, eu as via verdes!

Raiz de *Vanda* seca.. e depois de molhada.



As raízes ficam verdes porque o velame se enche de água e torna-se transparente, mostrando as clorofílas que estão por dentro da raiz.

O velame é a epiderme das raízes de muitas orquídeas. Ele geralmente tem várias camadas de células.



Clorofílas? Tudo bem, as raízes fazem fotossíntese. Mas e essas manchas brancas, o que são?



São os pneumatódios. Quando a raiz se encharca, eles continuam preenchidos de ar e ajudam as raízes a continuar respirando!

Na lâmina que fotografei no microscópio ao lado, conseguimos ver as células do pneumatódio com as bolhas de ar (manchas escuras no microscópio).

Elas têm lipídios que não deixam a água passar e, por isso, fazem uma conexão entre a atmosfera e o interior da raiz.

Pois é, pessoal! Essa é minha história, onde os pneumatódios foram protagonistas por 4 anos. Levo do doutorado o que aprendi com eles, pois as raízes me ensinaram que adaptações são necessárias para que haja crescimento!

Gísely de Souza Santos, 24 de abril de 2025

@lafive_ufr

O que pode significar um doutorado para o interior do Brasil: relato de uma experiência acadêmica

Meu nome é Gisely de Souza Santos, sou a sexta filha de um casal de lavradores, das comunidades tradicionais geraizeiras de Palmeiral e Julião, áreas rurais do município de São Desidério, Oeste da Bahia. Com muita dificuldade e poucas oportunidades, meus pais sobreviviam de diárias de trabalho braçal, da venda de mel de abelha e prestavam serviços como meeiros em propriedades de amigos e conhecidos. Anos depois, se mudaram para o distrito de Sítio do Rio Grande, para que tivéssemos mais acesso à escola.

Apesar do pouco estudo de meus pais (pela falta de acesso), sempre nos incentivaram a buscar conhecimento e por isso não mediram esforços para termos acesso à informação. Foram eles que me apresentaram o Cerrado com um olhar de amor e cuidado com a natureza, numa vida de simplicidade. Meu pai costumava trazer algum jornal para casa e nos presenteava com gibis, revistas de curiosidades e atualidades. Me marcou certa vez quando ele nos comprou um dicionário da língua portuguesa e um atlas de geografia e disse: “- Isso aqui é para você estudar e consultar. Aprender a usar as palavras. Mesmo que você não viaje nunca, é bom saber onde ficam as regiões do Brasil e as capitais dos estados e dos países.” Imediatamente fomos procurar a nossa região no mapa e pela primeira vez tive noção da dimensão que o mundo tem.

Trajetória até o doutorado

Cursei todo o ensino básico no Distrito de Sítio do Rio Grande. Para auxiliar a família, durante o dia trabalhava em um açougue, o que também me permitiu custear meu primeiro curso de Informática Básica. Também trabalhei na pequena agência de Correios da localidade. Ao finalizar o Ensino Médio, com bom desempenho nas disciplinas, me inscrevi e fui a única estudante da localidade contemplada no processo seletivo para o curso preparatório para o vestibular, ofertado pela Secretaria do Estado da Bahia (UNEB).

Aprovada no processo seletivo, fui cursar biologia na UFOB e, no mesmo período, fui também aprovada no concurso público para o cargo de Agente Comunitário de Saúde em São Desidério, onde trabalho até os dias de hoje. Para chegar à universidade, o trajeto de Sítio até São Desidério era feito em van, de carona ou carros pequenos que circulavam em diferentes turnos. Chegando em São Desidério, quando não conseguia alcançar o transporte escolar, seguia para Barreiras em outra van ou ônibus e no centro da cidade aguardava mais um transporte coletivo até o campus. Na mesma toada, ingressei no curso de mestrado, porém então amparada por uma bolsa de estudos.

Decidi tentar a seleção para o doutorado em Ecologia, Conservação e Biodiversidade na Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, dentro das políticas afirmativas para pretos e pardos. Com boa pontuação em todas as etapas do processo seletivo, fui selecionada e novamente contemplada com uma bolsa ofertada pela CAPES. Sem conhecer a cidade, me desloquei para realizar os estudos e cumprir os créditos necessários. Durante o curso, participei de oficinas em escolas públicas, realizei o Curso de campo no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (PESCAN) e o estágio em docência. Minha pesquisa busca entender a relação entre as plantas e o ambiente, como podem ver na HQ.



Esta é a foto original do primeiro quadrinho da HQ, criado em IA (via ChaptGPT - GPT 4). Eu, Gisely, no Sítio do Rio Grande em São Desidério. Ao fundo, vemos o paredão de pedras (Paredão Deus me livre!) às margens do Rio Grande, importante atrativo turístico e símbolo da região.

O que levo de bagagem

Realizar um doutorado é mais que criar e abraçar uma oportunidade que nos desafia. De modo geral, o curso despertou ainda mais meu senso crítico para questões ambientais e sociais, me ajudou a enxergar um mundo maior que meu município, a partir de outras óticas, realidades e possibilidades. Além do conhecimento teórico e das boas práticas de laboratório, o curso me oportunizou executar protocolos, desenvolver habilidades para resolução de problemas, melhor manuseio em ferramentas básicas, bem como compreensão e interpretação de dados. Para muitos no meio acadêmico isso parece básico, mas é de grande valor para gerar oportunidades de onde venho.

As raízes me ensinaram que adaptações são necessárias para que haja crescimento. Refleti ainda mais sobre meu papel na sociedade como mulher, negra, de origem humilde, como profissional de saúde, educadora, me tornando uma das muitas que rompe um ciclo histórico, sendo a primeira da família a ingressar num curso superior e a primeira a seguir na pós-graduação. Retorno com mais bagagem e habilidades que poderão ser usadas no meu atual trabalho ou em novas portas que possam se abrir no futuro. Espero poder partilhar esse conhecimento que vem sendo construído e motivar outros jovens a seguir seus objetivos com dedicação, honestidade e amor pelo que faz.

Gisely de Souza Santos

O primeiro quadrinho traz uma breve apresentação da personagem. O segundo detalha as orquídeas de modo geral, apresentando informações e conceitos para contextualizar o leitor. O terceiro aponta as observações e inferências sobre a alteração da coloração das raízes, conceito e função do velame. O quarto traz um complemento das informações anteriores, chamando atenção por meio de um questionamento sobre as manchas brancas evidenciadas a olho nu nas raízes. No quinto, a pergunta é respondida por meio do conceito dos pneumatódios e sua função na raiz. As células dos pneumatódios são representadas numa perspectiva microscópica. Por fim, é apresentada trajetória acadêmica da estudante e as contribuições do curso de doutorado e da pesquisa para seu percurso formativo.

O material foi parcialmente apresentado e disponibilizado na V Mostra Extensionista do Instituto de Biologia (INBIO) da Universidade Federal de Uberlândia, realizada no Parque Gávea, para públicos de diferentes faixas etárias. Por meio de uma tirinha em forma de narrativa, a personagem fala sobre sua pesquisa, trazendo informações e conceitos sobre as orquídeas para contextualizar o leitor. Em seguida, são também apresentadas observações e inferências sobre a alteração da coloração das raízes, bem como conceito e função do velame e pneumatódios na raiz, numa perspectiva microscópica. O objetivo foi mostrar que nesses ambientes é possível alcançar diferentes públicos, linguagem acessível, lúdica, a fim de que mais pessoas possam ter a oportunidade de aprender mais sobre estas estruturas.

A realização desta atividade, da confecção do material ao uso do mesmo como proposta didática levou a diversas reflexões sobre aplicações teórico-práticas e formação docente. Tendo em vista que o material despertou curiosidade, motivação e interesse nos visitantes que prestigiaram o estande, conclui-se que o uso de HQs como ferramenta para popularização da ciência, sobretudo para o ensino de botânica é favorável, pois se trata de um recurso metodológico objetivo que permite assimilação e contextualização do tema abordado.



Apresentação da HQ na V Mostra Extensionista do Instituto de Biologia (INBIO) da Universidade Federal de Uberlândia, realizada no Parque Gávea, para públicos de diferentes faixas etárias.

THE CONVERSATION

Rigor acadêmico, estilo jornalístico



'Realizar um doutorado me fez refletir ainda mais sobre meu papel na sociedade como mulher, negra, de origem humilde. Como profissional de saúde e educadora, tornando-me uma das muitas que rompe um ciclo histórico, sendo a primeira da família a ingressar num curso superior e a primeira a seguir na pós-graduação', reflete a Doutora em Ecologia, Conservação e Biodiversidade da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) em seu depoimento. Foto: Arquivo pessoal, Author provided (no reuse)

Depoimento especial: o relato de como o acesso a um doutorado muda realidades no interior do Brasil

Publicado: 10 outubro 2025 09:26 -03

Gisely de Souza Santos

Doutora em Ecologia, Conservação e Biodiversidade, Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

DOI

<https://doi.org/10.64628/ADE.pmk6gqsay>

<https://theconversation.com/depoimento-especial-o-relato-de-como-o-acesso-a-um-doutorado-muda-realidades-no-interior-do-brasil-264010>

Sou a sexta filha de um casal de lavradores das comunidades tradicionais geraizeiras de Palmeiral e Julião, áreas rurais do município de São Desidério, Oeste da Bahia. Com muita dificuldade e pouca oportunidade de trabalho, meus pais sobreviviam de diárias de trabalho braçal, da venda de mel de abelha e prestavam serviços como meeiros em propriedades de amigos e conhecidos. Anos depois se mudaram para o distrito Sítio do Rio Grande, para que tivéssemos acesso à escola.

Apesar de meus pais terem estudado pouco (pela falta de acesso), sempre nos incentivaram a buscar conhecimento e, por isso, não mediram esforços para termos acesso à informação. Foram eles que me apresentaram o Cerrado com um olhar de amor e cuidado com a natureza, numa vida de simplicidade.

Meu pai costumava trazer algum jornal para casa e nos presenteava com gibis, revistas de curiosidades e atualidades. Me marcou certa vez no Ensino Fundamental quando ele nos comprou um dicionário da língua portuguesa e um atlas de geografia e disse: “Isso aqui é para você estudar e consultar. Aprender a usar as palavras. Mesmo que você não viaje nunca, é bom saber onde ficam as regiões do Brasil e as capitais dos estados e dos países.” Imediatamente fomos procurar a nossa região no mapa e pela primeira vez tive noção da dimensão que o mundo tem.

Trajetória até o doutorado

Cursei todo o ensino básico no Distrito Sítio do Rio Grande. Fui alfabetizada na Escola Municipal Dep. Luiz Braga e fiz o Ensino Fundamental 2 e o Ensino Médio na Escola Municipal Manoel Rodrigues de Carvalho. Sempre dedicava tempo para ler contos, poemas e amava revistas como “Ciência Hoje - das Crianças”, disponibilizadas na escola. Cada nova descoberta fazia meus olhos brilharem e, motivada por meus professores, especialmente os de Português, Ciências e Biologia, decidi seguir a carreira científica.

Para auxiliar financeiramente a família, durante o dia trabalhava em um açougue, o que também me permitiu custear meu primeiro curso de Informática Básica. Ao finalizar o Ensino Médio com bom desempenho, me inscrevi e fui a única estudante da localidade contemplada no processo seletivo para o curso pré-vestibular, ofertado pela Secretaria do Estado da Bahia por meio do Programa Universidade Para Todos. Durante o dia, prestei serviços a Agência Comunitária de Correios (ACC) da minha localidade e à noite ia para as aulas do pré-vestibular.

Fui aprovada na primeira chamada do vestibular da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), tanto para Licenciatura em Ciências Biológicas quanto para Letras Vernáculas, me matriculando na primeira opção. Iniciei o curso e conseguia conciliar as aulas da faculdade ao curso de inglês e ao trabalho provisório.

Posteriormente, em busca de novos caminhos para minha formação acadêmica fiz novo processo seletivo e fui aprovada para cursar Ciências Biológicas na Universidade Federal da Bahia (UFBA) (atual Universidade Federal do Oeste da Bahia – UFOB), também em Barreiras. No mesmo período, fui também aprovada no concurso público para o cargo de Agente Comunitário de Saúde em São Desidério, onde trabalho até os dias de hoje.

Para chegar à universidade, o trajeto de Sítio do Rio Grande até São Desidério era feito em van, de carona ou em carros pequenos que circulavam numa linha em diferentes turnos. Chegando em São Desidério, quando não conseguia alcançar o transporte escolar, seguia para Barreiras em outra van ou ônibus e no centro da cidade aguardava mais um transporte coletivo que faz rota até o campus.

Apesar da rotina exaustiva, segui cursando poucos componentes por semestre e tranquei por um período. Por meio da política de Assistência estudantil, do Programa de Apoio Financeiro ao Estudante (PAFE), nos anos finais da graduação recebi apoio financeiro para alimentação e custear o deslocamento.

Durante o curso, além das disciplinas, me dediquei a outras atividades ofertadas pela UFOB. Finalizei a graduação com o TCC na área de Taxonomia Vegetal, com o levantamento de espécies de leguminosas do entorno da Cachoeira do Acaba Vida, localizada em uma Unidade de Conservação da cidade de Barreiras.

No mesmo ano de conclusão, fui incentivada a tentar a seleção para o mestrado em Ciências Ambientais na mesma instituição. Fui aprovada e contemplada com uma bolsa ofertada pela CAPES. Durante o curso, aprendi técnicas de campo e laboratório, fiz estágio em docência e participei de grupos de estudos e discussões sobre os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável – ODS.

Participei de eventos científicos nacionais e regionais e atuei como representante discente junto ao Colegiado do Programa. Me dediquei à pesquisa voltada para interação inseto-planta, com caracterização de morfotipos de galhas entomógenas em três espécies de Copaifera, finalizando a mesma no contexto de pandemia. O mestrado foi um período de muito aprendizado, onde a bolsa me permitiu vivenciar melhor a universidade e compreender mais sobre seus pilares (ensino, pesquisa, extensão e gestão).

Decidi tentar a seleção para o doutorado em Ecologia, Conservação e Biodiversidade da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais e me inscrevi dentro das políticas afirmativas para pretos e pardos. Com boa pontuação em todas as etapas do processo seletivo, fui selecionada e novamente contemplada com uma bolsa ofertada pela CAPES.

Sem conhecer a cidade, me desloquei para realizar os estudos e cumprir os créditos necessários. Durante o curso, participei de oficinas em escolas públicas, realizei um Curso de campo no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (PESCAN) e estágios de docência para graduação.



As orquídeas apresentam diversas estratégias que possibilitam sua sobrevivência em diferentes condições ambientais. Imagem disponibilizada pela autora

Minha pesquisa busca entender a relação entre as plantas e o ambiente, por meio de estratégias que possibilitam sua sobrevivência em diferentes condições, tendo como modelo de estudo a orquídea Vanda e estruturas de sua raiz. Irei defender a tese (em outubro próximo) e obter o título de doutora.

O que trago de bagagem

Realizar um doutorado é mais que criar e depois abraçar uma oportunidade que nos desafia, por isso o curso me trouxe muitas contribuições que levarei para a vida e que serão aplicadas no campo profissional. De modo geral, o curso despertou ainda mais meu senso crítico para diversas questões tanto ambientais, quanto sociais, me ajudou a enxergar um mundo maior que meu município, a partir de outras óticas, realidades e possibilidades.

Além do conhecimento teórico e das boas práticas de laboratório, o curso me oportunizou executar protocolos, desenvolver habilidades para resolução de problemas, melhor manuseio em ferramentas básicas, bem como compreensão e interpretação de dados. Para muitos no meio acadêmico isso parece básico, mas é de grande valor para gerar oportunidades de onde venho.

As raízes estudadas na pesquisa têm me ensinado que adaptações são necessárias para que haja crescimento. Refleti ainda mais sobre meu papel na sociedade como mulher, negra, de origem humilde, como profissional de saúde, educadora, me tornando uma das muitas que rompe um ciclo histórico, sendo a primeira da família a ingressar num curso superior e a primeira a seguir na pós-graduação. Aprendi muito e sigo aprendendo que, por mais difícil que seja uma caminhada e por mais prazeroso que seja alcançar um destino, o melhor de tudo será sempre o que vivenciamos no percurso.

Graças a diversas técnicas aprendidas e a experiência vivenciada, retorno com mais bagagem e habilidades que poderão ser usadas diretamente no meu atual trabalho ou em novas portas que possam se abrir no futuro. Espero poder partilhar esse conhecimento que vem sendo construído e motivar outros jovens a seguir seus objetivos com dedicação, honestidade e amor pelo que faz. É disso que a ciência precisa!

Conclusão geral

A análise das características estruturais e químicas do velame em raízes de *Vanda* híbrida evidencia uma relação entre função e composição química das paredes celulares, que não é homogênea ao longo do tecido. Desse modo, essas diferenças estruturais e químicas corroboram para a hipótese de que a funcionalidade das unidades de aeração depende diretamente da composição de suas paredes celulares e das camadas adjacentes, permitindo ajustes dinâmicos na abertura e fechamento dos canais de aeração em resposta a variações ambientais. Além disso, a análise do efeito da saturação hídrica da raiz evidencia que os pneumatódios permitem a troca gasosa entre a planta e o ambiente, de modo que, além da conexão entre o córtex radicular e o ambiente externo, as bolsas de ar formadas pelas células pneumatódias, juntamente com a produção de O₂ pela fotossíntese, podem reduzir ou retardar os efeitos da saturação hídrica na raiz. Portanto, a submersão contínua de 120 h das raízes da *Vanda* leva ao estresse oxidativo, mostrando que fatores abióticos, como o excesso de água, podem influenciar negativamente o equilíbrio da planta, impedindo seu desenvolvimento, crescimento e produtividade. Dessa forma, sugere-se a continuidade de estudos com este enfoque. A realização de divulgação científica mostra a viabilidade do uso de HQ^s como recurso pedagógico para popularização da ciência, sobretudo para o ensino de botânica. Estudar e compreender mais sobre as estratégias adaptativas em raízes e a realização de um doutorado traz uma gama de experiências pessoais e profissionais, que abrem espaço para novas aprendizagens e abordagens desta importante temática.