

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 21/02/2022.



RESPOSTAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA TOLERÂNCIA À RESTRIÇÃO HÍDRICA E ESTRESSE LUMINOSO EM ORCHIDACEAE EPÍFITAS

THAIS ARRUDA COSTA JOCA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração Fisiologia e Bioquímica Vegetal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS ENVOLVIDAS NA TOLERÂNCIA
AO DÉFICIT HÍDRICO E ESTRESSE LUMINOSO EM
ORCHIDACEAE EPÍFITAS

THAIS ARRUDA COSTA JOCA

PROF. DR. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA

ORIENTADOR

PROF^a. DR^a. ANA SILVIA FRANCO PINHEIRO MOREIRA

CO - ORIENTADORA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração Fisiologia e Bioquímica Vegetal.

BOTUCATU – SP

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Joca, Thais Arruda Costa.

Respostas fisiológicas envolvidas na tolerância ao déficit hídrico e estresse luminoso em Orchidaceae epífitas / Thais Arruda Costa Joca. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luiz Fernando Rolim de Almeida

Coorientador: Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira

Capes: 20303009

1. Orquídea. 2. Balanço hidrológico. 3. Fotossíntese.
4. Desidratação (Hídrica). 5. Plantas - Efeito da luz.

Palavras-chave: Balanço hídrico; Gomesa fleuxosa; Hábito epifítico; *Oncidium sphacelatum*; Rendimento fotossintético.

À minha avó, Irma Marques Joca (*in memoriam*),
dona do maior orgulho, incentivo
e amor do mundo, dedico.

AGRADECIMENTOS

Embora pareça clichê, agradecer à Deus por me trazer até aqui, de mãos dadas, lado a lado, não é exagero. Gratidão à Ele que não se apresenta como pessoa, mas em tudo o que vejo, toco e acredito haver de melhor no mundo. Pelas lutas silenciosas e desafios travados ao longo da vida e em especial, nestes quatro anos, muito obrigada, meu senhor.

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu e Universidade Estadual Paulista (UNESP) pelas instalações e disponibilização do material necessário para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), pela oportunidade de me vincular à pesquisa na instituição e por todo o apoio nos procedimentos que se fizeram pertinentes nas etapas do doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Fernando Rolim de Almeida, além dos mais sinceros agradecimentos por tanto me ensinar sobre fisiologia vegetal, minha admiração. Admiração pelo tempo dedicado à pesquisa, ensino e administrativo, sem perder o entusiasmo pela ciência e o apoio aos seus orientados. Você me ensinou que é preciso se divertir com os dados e com o processo de doutoramento, muito além do resultado final. Por tudo isso, muito obrigada.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira, pela parceria desde os tempos de mestrado, em que me abriu portas, acolheu e ensinou muito do que sei da pesquisa científica, da paixão e responsabilidade que carregamos ao falar de Orchidaceae. Obrigada pelos conselhos (pessoais e profissionais), e por me apoiar ao longo de toda trajetória.

Aos professores Dr. Vladimir Eliodoro Costa e Dr. Fernando Broetto, por todas as conversas edificantes e por terem aberto as portas do Centro de Isótopos Estáveis e Laboratório de Química e Bioquímica, respectivamente, me auxiliando em análises essenciais para o produto final do trabalho.

Ao Prof. Dr. João Domingos Rodrigues, Dr. Sérgio Akira Adachi e Prof. Dr. João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa, pelas valiosas contribuições na banca de qualificação.

Aos companheiros de caminhada da ecofisiologia, Angélica Lino, Angelo Bertholdi, Danilo Miralha, Felipe Yamashita, Jerônimo Schultz, Livia Leite, Luan Vitto, Luís Paulo, Rafael Guerreiro, Tatiana Tintino, Thayssa Schley e Victor Guimarães - Mariusso, que desde o apoio técnico, intelectual e não menos importante, emocional, me auxiliaram nessa jornada e tornaram os dias mais leves e muito, muito alegres.

Aos amigos de departamento, que permaneceram presentes até aqui ou que passaram por algum período durante estes 4 anos e deixaram grandes marcas, Bruna Helena, Daiane

Maia, Camila Vaz, Janaína Oliveira, Juan Nicolai, July Izquierdo, Marília Caixeta, Natália Fernandes, Luiz Ricardo, Stefany Cristina, Ivanilde Rodrigues, Wand Vargas. Ao Felipe Giroto, obrigada por ter me acompanhado nas inúmeras medidas, metodologias laboratoriais e discussões fisiológicas durante todo o desdobramento do projeto, você me salvou incontáveis vezes.

À turma egressa de 2016, que se tornou minha família de Botucatu, Fernanda Helena, Katiane Reis, Lorena Bueno, Luiza Alves, Marília Quinalha e Tayeme Piva, obrigada pelos momentos de descontração, desabafos e união. Vocês não sabem o peso que têm nessa conquista. Em especial à Diana Pacheco, que dividiu além da amizade de pós-graduação: nosso lar em Botucatu, sendo uma das pessoas com quem mais aprendi e aprendo, todos os dias.

Aos amigos João Custódio e Luisa Gouveia pela ajuda com estatística, discussão de dados e processamento do material de anatomia vegetal, no Laboratório de Anatomia e Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

À equipe “Lunare” em nome da querida Valquiria Gavlak, que me acolheu no primeiro ano em Botucatu enquanto aguardava a bolsa de doutorado, me oferecendo muito além de condições de trabalho para me manter na cidade, mas um laço terno de amizade que com toda certeza perdurará.

Às amigas de longa data, Liliane, Jéssica, Roberta e Ana Luísa, por sempre me aguardarem em cada ida à Uberaba, renovando minhas energias e oferecendo um colo que só vocês poderiam, obrigada.

À minha mãe, Ana Claudia Arruda, honestamente, me faltam palavras. Chegar até aqui é uma conquista a quatro mãos, com toda certeza. Obrigada por sempre me incentivar mesmo quando eu duvidava, e por me apoiar para que nunca me faltasse nada nessa caminhada. Lembro com carinho quando se propôs a trabalhar em três empregos para ajudar a me manter...e as inúmeras vezes que se renunciou para que eu tivesse o mais importante na vida: estudo. Obrigada, Deus queira que eu me torne, um dia, pelo menos como metade do que você é.

Ao meu pai Mário César, meus padrinhos Maria Cristina e Claudirce, meus tios Carmen e Milson, meus primos Pedro Henrique, João Vitor e Lucas Henrique, obrigada por me apoiarem sem medidas, e por serem a melhor família que eu poderia ter.

Aos meus avós, Irma Marques Joca (*in memoriam*) e Mário Joca. Ver o orgulho estampado no rosto de vocês sempre me deu muita força para encarar a distância física que nos separava. Perder minha segunda mãe no meio do percurso foi uma tristeza muito grande, uma dor inexplicável...mas a presença que se fez através do meu avô e à memória dela, que nunca poupou esforços para me ver feliz, me fez seguir a diante. Sua neta será doutora vó, e professora, como a senhor falava, com tanto orgulho.

Ao meu namorado, Leandro Rosa, companheiro de 10 anos que me entende e conhece melhor que eu mesma. Tantas vezes mesmo querendo que eu ficasse me disse “vai lá, estou com você”. Você não sabe o quanto seu apoio foi importante para mim, e o quanto tudo o que passamos me (nos) fortaleceu. Obrigada por me permitir voar e voar comigo.

A todos que colaboraram para essa conquista, meu eterno muito obrigada!

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

- A:** taxa de assimilação de CO₂
- A/C_i:** eficiência da enzima de carboxilação
- AHC:** análise hierárquica de cluster
- ATP:** trifosfato de adenosina
- CAM:** metabolismo ácido das crassuláceas
- C_i:** concentração interna de CO₂
- Chl *a*:** clorofila a
- CRA:** conteúdo relativo de água
- DFFFA:** densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos
- DPV:** déficit de pressão de vapor
- E:** taxa de transpiração
- EROs:** espécies reativas de oxigênio
- ETR:** taxa de transporte de elétrons
- EUA:** eficiência no uso da água
- g_s:** condutância estomática
- IVN:** índice de variação normalizada
- MD:** período meio-dia (*midday*)
- MF:** massa fresca
- MLG:** modelos lineares generalizados
- MS:** massa seca
- MT:** massa túrgida
- NADPH:** fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
- NaOH:** hidróxido de sódio
- NPQ:** dissipação não - fotoquímica
- ¹O₂:** oxigênio singlete
- O₂^{•-}:** radicais superóxido
- PCA:** análise de componentes principais
- PD:** período pré-manhã (*predawn*)

PEPC: fosfoenolpiruvato carboxilase

PSII: fotossistema II

Φ PSII: rendimento quântico efetivo do fotossistema II

qP: dissipação fotoquímica

R.Br.: Robert Brown

TBA: ácido tiobarbitúrico

TCA: ácido tricloroacético

UR: umidade relativa

Ψ_w : potencial da água

$\delta^{13}\text{C}$: composição isotópica do carbono

1º EV_{DH}: 1º Evento de Déficit Hídrico

2º EV_{DH}: 2º Evento de Déficit Hídrico

1º EV_{Luz}: primeiro evento de exposição à luz

2º EV_{Luz}: segundo evento de exposição à luz

LISTA DE FIGURAS

(Introdução Geral)

Figura 1. Espécies de Orchidaceae pertencentes à tribo Maxillarieae e subtribo Oncidiinae. (A) *Gomesa flexuosa* Sims e (B) *Oncidium sphacelatum* Lindley, evidenciando a morfologia floral distinta dentre as espécies.....21

(Capítulo 1)

Figura 1. Folhas de *Gomesa flexuosa* e *Oncidium sphacelatum*, duas orquídeas epífitas da subtribo Oncidiinae. (A) Detalhe de folhas delgadas de *G. flexuosa* e (B) *O. sphacelatum*. (C) e (D) Cortes transversais de folhas de *G. flexuosa* (C) e *O. sphacelatum* (D) evidenciando células epidérmicas isodiamétricas, mesofilo homogêneo com poucos espaços intercelulares e com feixes de fibras próximos à face abaxial. EP_{Abaxial} = Epiderme Abaxial; EP_{Adaxial} = Epiderme Adaxial; FF= Feixes de fibras; FV = Feixe vascular; HIP = hipoderme. Barra = 200 µm.....36

Figura 2. Região de transição entre folhas e pseudobulbos de *Gomesa flexuosa* e *Oncidium sphacelatum*, duas orquídeas epífitas da subtribo Oncidiinae. (A) Secção longitudinal de *G. flexuosa* e (B) secção radial de *O. sphacelatum* evidenciando a presença de aerênquimas associados aos feixes vasculares e (C) Detalhe de aerênquima associado a fibras do floema em *G. flexuosa*. (D) Pseudobulbo de *G. flexuosa* evidenciando grande quantidade de aerênquima disperso por todo o órgão. Ae = Aerênquima; F = Floema.....37

Figura 3. Discriminação isotópica foliar ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Folha}}$) e acidez titulável foliar ($\Delta\text{H}^+_{\text{Folha}}$ noite e manhã) de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* após 60 dias de experimento. T1 refere-se a plantas submetidas à suspensão total de irrigação por todo o experimento e alta DFFFA e T2 refere-se ao tratamento com plantas mantidas hidratadas por todo o experimento, sob baixa DFFFA. (*) representa diferença significativa na acidez titulável acumulada no período noite/dia, com $P < 0.001$38

Figura 4. Discriminação isotópica do pseudobulbo ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Pseudobulbo}}$) e acidez titulável ($\Delta\text{H}^+_{\text{Pseudobulbo}}$ noite e manhã) de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* após 60 dias de experimento. T1 refere-se a plantas submetidas à suspensão total de irrigação por todo o experimento e alta DFFFA e T2 refere-se ao tratamento com plantas mantidas hidratadas por todo o experimento, sob baixa DFFFA. (*) representa diferença significativa na acidez titulável acumulada no período noite/dia, com $P < 0.001$39

Figura 5. Acidez titulável para os órgãos vegetativos de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* após 60 dias de experimento e para as diferentes concentrações de ácido málico preparadas. T1 refere-se a plantas submetidas a suspensão total de irrigação por todo o experimento e alta DFFFA. T2 refere-se se ao tratamento com plantas mantidas hidratadas por todo o experimento, sob baixa DFFFA. F: folha. PSE: pseudobulbo.....40

(Capítulo 2)

Fig 1 Desenho esquemático de delineamento experimental. (A) Grupo de plantas de 1º Evento de Déficit Hídrico (1º EV_{DH}) com plantas sempre expostas ao fornecimento hídrico ao longo de 180 dias de experimento (T1), e plantas que passaram por restrição hídrica nos 60 dias finais (T2). (B) Grupo 2º Evento de Déficit Hídrico (2º EV_{DH}), composto por plantas expostas 180 ao fornecimento hídrico (T1), e plantas submetidas aos 60 dias iniciais do experimento à restrição hídrica, com posterior período de recuperação com fornecimento hídrico nos 60 dias seguidos, e submetidas à nova restrição hídrica nos 60 dias finais do experimento (T2). Quadro vermelho indica período em que foram realizadas as coletas das relações hídricas, quantificação dos teores de lipoperóxidos foliar e avaliações de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foliar. 1º EV_{DH} = 1º Evento de Déficit Hídrico; 2º EV_{DH} = 2º Evento de Déficit Hídrico.....53

Fig 2 Dendograma resultante do agrupamento hierárquico cluster (AHC) do 1º Evento de Déficit Hídrico (1º EV_{DH}) e 2º Evento de Déficit Hídrico (2º EV_{DH}), para o controle (T1) e restrição hídrica (T2), em *G. flexuosa*. Utilizamos a medida do coeficiente de correlação de Pearson com coeficiente cofenético (-0.801) para a obtenção da similaridade múltipla.....60

Fig 3 Dendograma resultante do agrupamento hierárquico cluster (AHC) do 1º Evento de Déficit Hídrico (1º EV_{DH}) e 2º Evento de Déficit Hídrico (2º EV_{DH}), para o controle (T1) e restrição hídrica (T2), em *O. sphacelatum*. Utilizamos a medida do coeficiente de correlação de Pearson com coeficiente cofenético (-0.801) para a obtenção da similaridade múltipla.....62

Fig 4 Diagrama biplot de ordenação das variáveis e suas observações nas duas primeiras componentes principais F1 e F2. Análise dos componentes principais (PCA) do 1º Evento de Déficit Hídrico (1º EV_{DH}) e 2º Evento de Déficit Hídrico (2º EV_{DH}), para o controle (T1) e restrição hídrica (T2), em *G. flexuosa*. Os quadrados representam os agrupamentos anteriores obtidos no agrupamento hierárquico cluster (AHC), sendo: quadrado azul: grupo I; quadrado vermelho: grupo II; quadrado verde: grupo III.....64

Fig 5 Diagrama biplot de ordenação das variáveis e suas observações nas duas primeiras componentes principais F1 e F2. Análise dos componentes principais (PCA) do 1º Evento de Déficit Hídrico (1º EV_{DH}) e 2º Evento de Déficit Hídrico (2º EV_{DH}), para o controle (T1) e restrição hídrica (T2), em *O. sphacelatum*. Os quadrados representam os agrupamentos anteriores obtidos no agrupamento hierárquico cluster (AHC), sendo: quadrado azul: grupo I; quadrado verde: grupo II.....65

(Capítulo 3)

Figura 1. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Gomesa flexuosa*, relacionando o tratamento com água e luz comparado ao controle (água e sombra, representado na linha pontilhada horizontal) no primeiro e segundo evento de exposição à alta luminosidade.....85

Figura 2. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Oncidium sphacelatum*, relacionando o tratamento com água e luz comparado ao controle (água e sombra, representado na linha pontilhada horizontal) no primeiro e segundo evento de exposição à alta luminosidade.....86

Figura 3. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Gomesa flexuosa*, relacionando o tratamento com restrição hídrica e luz comparado ao controle (restrição hídrica e sombra, representado na linha pontilhada horizontal) no primeiro e segundo evento de exposição à alta luminosidade.....88

Figura 4. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Oncidium sphacelatum*, relacionando o tratamento com restrição hídrica e luz comparado ao controle (restrição hídrica e sombra, representado na linha pontilhada horizontal) no primeiro e segundo evento de exposição à alta luminosidade.....89

LISTA DE TABELAS

(Capítulo 1)

Tabela 1. Acidez titulável expressa a partir de diferentes concentrações de Ácido Málico.....34

Tabela 2. Condutância estomática em folhas de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* às 9:00h (dia) e as 19:00h (noite) para plantas submetidas a suspensão total de irrigação por todo o experimento e alta DFFFA (T1); e plantas mantidas hidratadas por todo o experimento sob baixa DFFFA (T2).....38

(Capítulo 2)

Tabela 1. Comparação das relações hídricas de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* (*midday*) aos 180 dias nas duas condições experimentais, em plantas que passaram uma única vez pelo déficit hídrico e em plantas que foram submetidas duas vezes ao déficit hídrico.....57

Tabela 2. Comparação das variáveis de florescência da clorofila *a* de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* aos 180 dias nas duas condições experimentais, em plantas que passaram uma única vez pelo déficit hídrico e em plantas que foram submetidas duas vezes ao déficit hídrico.....58

Tabela 3. Comparação das variáveis de Trocas Gasosas de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* aos 180 dias nas duas condições experimentais, em plantas que passaram uma única vez pelo déficit hídrico e em plantas que foram submetidas duas vezes ao déficit hídrico.....59

Tabela 4. Componentes principais F1 e F2. Cont. (%) são as contribuições percentuais das variáveis e R as correlações entre as variáveis nas componentes principais (F1 e F2). Negrito representa as maiores contribuições percentuais dentre as variáveis.....61

Tabela 5. Componentes principais F1 e F2. Cont. (%) são as contribuições percentuais das variáveis e R as correlações entre as variáveis nas componentes principais (F1 e F2). Negrito representa as maiores contribuições percentuais dentre as variáveis.....63

(Capítulo 3)

Tabela 1. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Gomesa flexuosa* no tratamento com disponibilidade hídrica e 800 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ DFFFA comparado ao controle (disponibilidade hídrica e 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$

DFFFA) no primeiro e segundo evento de exposição à alta luminosidade.....85

Tabela 2. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Oncidium sphacelatum* no tratamento com disponibilidade hídrica e 800 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ DFFFA comparado ao controle (disponibilidade hídrica e 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ DFFFA) no primeiro e segundo evento de exposição à alta disponibilidade.....87

Tabela 3. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Gomesa flexuosa* no tratamento com restrição hídrica e 800 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ DFFFA comparado ao controle (restrição hídrica e 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ DFFFA) no primeiro e segundo evento exposição à alta luminosidade.....88

Tabela 4. Índice de variação normalizada (IVN) das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e relações hídricas para *Oncidium sphacelatum* no tratamento com restrição hídrica e 800 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ DFFFA comparado ao controle (restrição hídrica e 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ DFFFA) no primeiro e segundo evento de exposição à alta luminosidade.....90

Sumário

RESUMO	17
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO GERAL	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
MAPA CONCEITUAL DA TESE	26
CAPÍTULO 1	28
Atividade fotossintética em folhas e pseudobulbos de duas espécies de orquídeas epífitas da subtribo Oncidiinae sob variações de condições hídricas e luminosas	28
RESUMO	28
ABSTRACT	29
INTRODUÇÃO	30
MATERIAL E MÉTODOS	32
<i>Material vegetal e delineamento experimental</i>	32
<i>Análises estruturais</i>	32
<i>Condutância Estomática (mmol/m²s)</i>	33
<i>Discriminação isotópica de carbono ($\delta^{13}C$)</i>	33
<i>Determinação da Variação Diurna dos Ácidos Orgânicos (Acidez Titulável)</i>	33
<i>Análises dos dados</i>	34
RESULTADOS	34
<i>Análises estruturais</i>	34
<i>Condutância estomática (mmol/m²s)</i>	37
<i>Determinação da razão isotópica ($\delta^{13}C$) e da variação diurna dos ácidos orgânicos (ΔH^+)</i>	38
<i>Comparação da titulação das diferentes concentrações de ácido málico com a titulação teciduais das duas espécies</i>	39
DISCUSSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO 2	48
Memória fisiológica em resposta ao estresse hídrico em duas espécies da subtribo Oncidiinae (Orchidaceae)	48
RESUMO	48
ABSTRACT	49
INTRODUÇÃO	50
MATERIAL E MÉTODOS	51
<i>Material vegetal</i>	51
<i>Delineamento experimental</i>	52
<i>Relações hídricas</i>	53
<i>Conteúdo Relativo de Água (CRA)</i>	53

<i>Potencial hídrico (Ψ_w, MPa)</i>	54
<i>Quantificação dos teores de lipoperóxidos</i>	54
<i>Fluorescência da Clorofila a</i>	54
<i>Medição de trocas gasosas</i>	55
<i>Análise de Dados</i>	55
RESULTADOS	56
<i>Relações hídricas</i>	56
<i>Fluorescência da Clorofila a e quantificação dos teores de lipoperóxidos</i>	56
<i>Trocas gasosas</i>	56
<i>Conjunto de características avaliadas por Agrupamento Hierárquico Cluster (AHC) e Análise de componentes principais (PCA)</i>	60
DISCUSSÃO	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
CAPÍTULO 3	77
Desempenho de <i>Gomesa flexuosa</i> Sims e <i>Oncidium sphacelatum</i> Lindley em diferentes regimes luminosos sob influência de fornecimento e restrição hídrica	77
RESUMO	77
ABSTRACT	78
INTRODUÇÃO	79
MATERIAL E MÉTODOS	80
<i>Material vegetal e delineamento experimental</i>	80
<i>Relações hídricas</i>	81
<i>Conteúdo Relativo de Água (CRA)</i>	81
<i>Potencial químico da água (Ψ_w, MPa)</i>	82
<i>Fluorescência da Clorofila a</i>	82
<i>Medição de trocas gasosas</i>	82
<i>Análise de Dados</i>	83
RESULTADOS	84
<i>Influência da luz em tratamentos com disponibilidade hídrica</i>	84
<i>Influência da luz em tratamentos com restrição hídrica</i>	87
DISCUSSÃO	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXOS	99
CAPÍTULO 4	111
“O cultivo de orquídeas e as exigências de luz e água”	111
CONSIDERAÇÕES FINAIS	112

JOCA, T. A. C. **Respostas fisiológicas envolvidas na tolerância a restrição hídrica e estresse luminoso em Orchidaceae epífitas.** 2020. 113p. TESE (DOUTORADO) –INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO

Orquídeas epífitas estão expostas a diferentes microclimas, que são caracterizados pela alta irradiância imposta ao dossel e baixa irradiância em plantas situadas no sub-bosque. Além disso, este grupo de plantas frequentemente lida com a restrição hídrica. Na produção comercial, o estabelecimento de orquídeas é em quase sua totalidade limitada pela distribuição e intensidade destes mesmos fatores disponibilizados em casas de vegetação. *Gomesa flexuosa* Sims e *Oncidium sphacelatum* Lindley pertencem à subtribo Oncidiinae, e quando hibridizadas dão origem a O. ‘Aloha’ (uma orquídea CAM facultativa e importante híbrida comercial). O objetivo deste estudo foi elucidar a performance fotossintética e as estratégias de balanço hídrico de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* sob condições de estresse hídrico e luminoso, focando tanto nas diferenças interespecíficas como nas funções dos diferentes órgãos em um mesmo indivíduo. Para isso, analisamos trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, quantificação de lipoperóxidos, discriminação isotópica, acidez titulável, conteúdo relativo de água e potencial hídrico em tecidos foliares, de pseudobulbos e raízes, em diferentes tratamentos envolvendo restrição hídrica e variação luminosa. Depois de restrição hídrica por 60 dias, *G. flexuosa* apresentou conversão de metabolismo C3 para CAM, o que deu subsídios para uma melhor performance das trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, mecanismo de fotoproteção e relações hídricas. Quando submetida a dois eventos de restrição hídrica, mostrou capacidade de armazenar informações de experiência prévias, apresentando memória fisiológica. Ao avaliar como a restrição hídrica somada ao estresse luminoso influencia nas respostas fisiológicas de ambas as espécies por 180 dias, mais uma vez *G. flexuosa* apresentou melhor performance e possibilidade de rustificação pela luz, enquanto *O. sphacelatum* não se rustificou e não apresentou memória fisiológica. Estes dados podem contribuir para programas de conservação de espécies nativas, além de nortear estratégias de cultivo para fins comerciais.

PALAVRAS CHAVE: *Gomesa flexuosa*, *Oncidium sphacelatum*, balanço hídrico, hábito epifítico, rendimento fotossintético

Physiological responses involved in water restriction tolerance and light stress in epiphytes Orchidaceae

ABSTRACT

Epiphyte orchids are exposed to different microclimates, which are characterized by high irradiance imposed on the canopy and low irradiance in plants located on the understory. In addition, this group of plants frequently deals with water restriction. In commercial production, the distribution and intensity of these same factors inside the greenhouses also limit the orchids establishment. *Gomesa flexuosa* Sims and *Oncidium sphacelatum* Lindley are Oncidiinae species and when hybridized, it gave origin to *O.* ‘Aloha’ (a facultative CAM orchid and an important commercial hybrid). The aim of this study was to elucidate the photosynthetic performance and the water balance strategies of *G. flexuosa* and *O. sphacelatum* under water and light stress conditions, focusing on interspecific differences as well as on different organ functions in the same individual. For that, we analyzed the gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, lipoperoxides quantification, isotopic discrimination, titratable acidity, water relative content and water potential of leaf, pseudobulb and root tissues in different treatments involving water restriction and light variation. After 60 days of water restriction, *G. flexuosa* converted the photosynthetic metabolism from C3 to CAM, which provided a better performance on gas exchanges, chlorophyll *a* fluorescence, photoprotection mechanism and water relations. When *G. flexuosa* was submitted to two events of water restriction, it showed a capacity to store information from previous stress experiences, demonstrating physiological memory. When evaluating how water restriction added to light stress influences the physiological responses of both species for 180 days, *G. flexuosa* again showed better performance and light rusting possibility, while *O. sphacelatum* did not rust and did not show physiological memory. Our results can contribute to conservation programs of native orchids species as well to guide cultivation strategies for commercial purposes.

KEYWORDS: *Gomesa flexuosa*, *Oncidium sphacelatum*, water balance, epiphytic habit, photosynthetic yield

INTRODUÇÃO GERAL

A grande diversidade existente dentre aproximadamente 25.000 epífitas nos trópicos, se dá principalmente pelos diferentes tipos de vegetação em que se estabelecem, ocorrendo desde o sub-bosque até a periferia das copas das árvores (BENZING, 1990; ZOTZ & HIETZ, 2001). Essencialmente, a maior desvantagem associada ao hábito epifítico é a aquisição de água e o baixo suprimento de nutrientes, que advém quase em sua totalidade de fontes pluviais (WENT, 1940; ZOTZ & HIETZ, 2001). Apesar disso, o acesso à luz e a competição por esse recurso, além da maior exposição de flores aos polinizadores, prevenção de herbívoros terrestres e melhor dispersão de sementes estão entre as vantagens do estabelecimento epífita (DRESSLER, 1981; GOWLAND et al. 2013).

Dentre as plantas vasculares epifíticas, podemos citar representantes das famílias Araceae, Bromeliaceae, Cactaceae, Piperaceae, Orchidaceae, entre outros, com destaque especial para as orquídeas. Este grupo de plantas é muito bem-sucedido e altamente diversificado, sendo que dentre as mais de 23.000 espécies em todo o mundo, cerca de 70% são epífitas (ZOTZ, 2013). Isso se deve principalmente aos mecanismos estruturais e fisiológicos necessários para superar flutuações na disponibilidade de recursos que permitem ajustes aos ambientes contrastantes ao longo do processo evolutivo, incluindo o epifítico (BLACK, 1973; CRONQUIST, 1981; NADKARNI, 1986; DRESSLER, 1993; ZOTZ & HIETZ, 2001; MOREIRA et al., 2013; JOCA et al., 2017).

Estudos sugerem que a distribuição vertical de epífitas é influenciada por três fatores principais: microclima, interações bióticas e tipo de substrato (BENZING, 1990; ZOTZ & VOLLRATH, 2003; KRÖMER et al., 2007; RUIZ-CÓRDOVA et al. 2014). Dentre esses fatores, muitas espécies de orquídeas são altamente vulneráveis a mudanças na qualidade do habitat (microclima), causada, muitas vezes, pelo desmatamento e fragmentação da floresta (KÖSTER et al., 2009). Isso influencia a interação entre as necessidades de luz e água, bem como dos nutrientes (SANFORD, 1969; ZOTZ, 2016). Por outro lado, a atividade econômica oriunda da exploração comercial de orquídeas, amplamente difundidas em todos os continentes e almeçadas por orquidófilos e colecionadores (FARIA & COLOMBO, 2015) é em quase sua totalidade, limitada pelos mesmos fatores (FAN & NEUMANN, 2004). O crescimento e a produtividade das plantas dependem do manejo do regime hídrico e luminoso em ambiente natural ou disponibilizado em casas de vegetação. O estabelecimento e sobrevivência estão relacionados com o interesse comercial e paisagístico, os quais observam as características botânicas tais como folhas, pseudobulbos, brotação e florescimento.

Apesar da disponibilidade hídrica estar entre os fatores mais limitantes, a intensidade do estresse induzido pela seca e suas causas subjacentes podem depender da sobreposição de outras variações ambientais (CHAVES, 1991), tais como a alta irradiância imposta ao dossel ou baixa irradiância em plantas situadas ao sub-bosque.

Em geral, onde há incidência luminosa controlada e recursos hídricos limitados, há menos impacto no desempenho da planta (CANHAM et al., 1996; CAVATTE et al., 2012). Neste caso, algumas espécies podem apresentar ajustes aos eventos de seca, uma vez que a limitação luminosa pode ser compensada com menores déficits de pressão de vapor e consequente manutenção do estado hídrico foliar (HOLMGREN, 2000). Entretanto, a seca pode se tornar mais prejudicial em algumas espécies com pouca disponibilidade luminosa, principalmente quando levado em consideração os “trade-offs” entre da alocação da biomassa em resposta às limitações de recursos. Em um outro cenário, sob intensa irradiação combinada à escassez de água, as plantas podem apresentar decréscimos mais fortes na fotossíntese líquida e podem estar mais propensas à fotoinibição devido aos danos na etapa fotoquímica (HOLMGREN, 2000).

Ventre-Lespiaucq e colaboradores (2017) estudaram os padrões de interceptação de luz na orquídea *Rodriguezia granadensis* e encontraram resposta consistente independente da posição dentro do forófito. Neste estudo, evidenciou-se que o gradiente vertical da disponibilidade de luz no dossel da floresta pode não representar um fator limitante para epífitas tropicais. Entretanto, os estudos ecofisiológicos em orquídeas epífitas se concentra muitas vezes em espécies cultivadas em locais mais expostos e supostamente estressantes (LÜTTGE, 1997; BENZING, 2000; ZOTZ & ANDRADE, 2001), apresentando respostas de curto prazo ao estresse e em nível de órgãos individuais, principalmente folhas (ZOTZ & HIETZ, 2001). Dessa forma, o efeito desse gradiente vertical levando em consideração níveis de luz e disponibilidade hídrica, ainda precisa ser estudado em outras espécies de orquídeas epífitas.

Apesar da fixação de CO₂ em orquídeas ter sido amplamente estudada e comumente utilizada nos estudos de ecofisiologia com plantas de hábito epifítico, pouca atenção é direcionada às rotas fotossintéticas que ocorrem em outros tecidos e órgãos (e.g. pseudobulbos e raízes), verificando qual sua possível relação com o desempenho fotossintético da planta como um todo (RODRIGUES et al., 2013). Na orquídea *Laelia anceps* (que apresenta metabolismo CAM) por exemplo, a fotossíntese na folha é amplamente influenciada pela exposição do pseudobulbo à luz (ANDO & OGAWA, 1987). Essa condição é necessária para que as folhas realizem as trocas gasosas de maneira mais eficiente. Além disso, o conhecimento das variações de condições moduladas de disponibilidade hídrica e luminosa com posterior período de reidratação, permitem gerar uma afirmação global da eficiência deste processo. Isso por que,

sob estresse hídrico, o transporte de água nas plantas e sua manutenção nos tecidos é alterado (KUDOYAROVA et al., 2013), sendo acionados ajustes no processo de perda e absorção de água, a fim de manter o equilíbrio hídrico. Sendo assim, a duração, severidade e número de exposições à restrição hídrica interferem nas respostas fisiológicas das plantas (CHAVES et al., 2003), e permitem entender como os principais processos metabólicos e bioquímicos são afetados.

Com base nessas informações, o presente trabalho visa integrar o conhecimento relacionado ao rendimento fotossintético e às estratégias de balanço hídrico de Orchidaceae, tanto do ponto de vista interespecífico, quanto de funções relacionadas aos diferentes órgãos em um mesmo indivíduo. As espécies *Gomesa flexuosa* Sims (**Figura 1-A**) e *Oncidium sphacelatum* Lindley (**Figura 1-B**), orquídeas de interesse ornamental e medicinal, nativas de vegetações tropicais e semidecíduas da América Latina foram utilizadas como modelo. Ambas pertencem à subtribo Oncidiinae, que compreende cerca de 55 gêneros e 1700 espécies dentro da tribo Maxillarieae (CHASE et al., 2005), diferindo entre si não apenas na morfologia floral e vegetativa, mas também quanto ao tipo de via metabólica utilizada para fixação do carbono (SILVERA et al., 2010). *Oncidium sphacelatum* é uma epífita nativa do México, encontrada em fragmentos remanescentes de florestas tropicais e semidecíduas, que floresce de setembro a março, dependendo das condições climáticas e altitude (DAMON & CRUZ-LÓPEZ, 2006). *Gomesa flexuosa*, por sua vez, é uma epífita comum em fragmentos remanescentes de Mata Atlântica em alguns estados do Brasil, Paraguai e Argentina (GASPI et al., 2011).

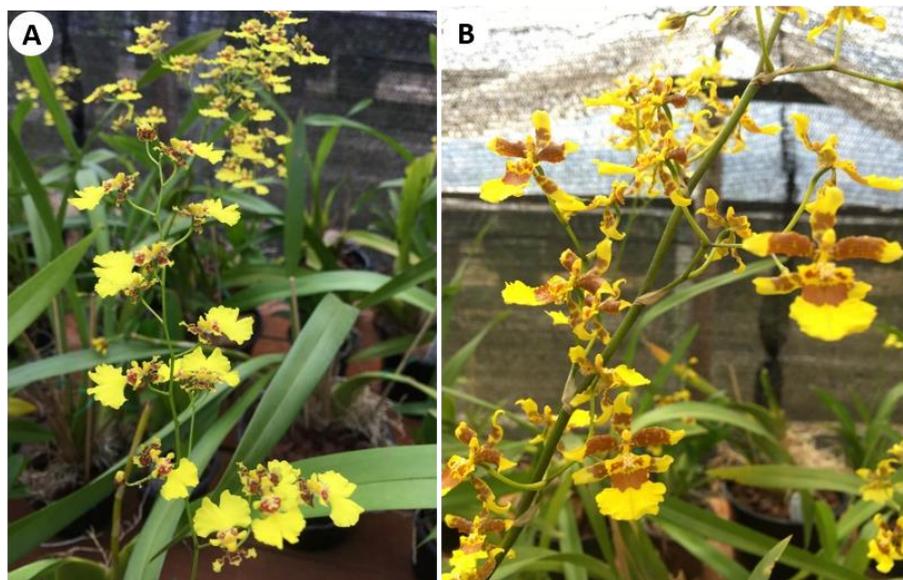


Figura 1. Espécies de Orchidaceae pertencentes à tribo Maxillarieae e subtribo Oncidiinae. (A) *Gomesa flexuosa* Sims e (B) *Oncidium sphacelatum* Lindley, evidenciando a morfologia floral distinta dentre as espécies.

A indução da restrição hídrica por um longo período foi delineada de forma a averiguar se as espécies apresentam o modelo de compartimentalização fotossintética e conversão de metabolismo C3 para CAM (Capítulo 1); a performance das trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, mecanismo de fotoproteção e relações hídricas foram utilizadas para caracterizar memória fisiológica em grupos submetidos à longos períodos de restrição hídrica, comparando plantas que passaram por um único evento de restrição com aquelas que foram submetidas a dois eventos de restrição hídrica (Capítulo 2); e, por fim, foi avaliado como a restrição hídrica somada ao estresse luminoso influenciam nas respostas fisiológicas de *G. flexuosa* e *O. sphacelatum* em um período de 180 dias (Capítulo 3). Os dados gerados então, poderão contribuir para programas de conservação de espécies nativas, além de gerar estratégias de cultivo de espécies híbridas, amplamente demandadas na sociedade orquidófila para fins comerciais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDO, T.; OGAWA, M. Photosynthesis of leaf blades of *Laelia anceps* Lindl. is influenced by irradiation of pseudobulb. **Photosynthetica**, v. 21, p. 588-590, 1987.
- BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence a probe of photosynthesis. In Vivo Review of Plant Biology, **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BENZING, D. H. **Vascular epiphytes**. General biology and related biota. Cambridge: Cambridge University Press, 1990.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae - profile of an adaptive radiation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- BLACK, P. M. **Orquídeas**. Rio de Janeiro: Ed. Ao Livro Técnico S/A, 1973.
- BUTLER, W. L. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 29, p. 345-378, 1978.
- CANHAM, C. D. et al. Biomass allocation and multiple resource limitation in tree seedlings. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 26, p. 1521-1530, 1996.
- CHASE M. W.; HANSON, L.; ALBERT, V. A.; WHITTEN, W. M.; WILLIAMS, N. H. Life history evolution and genome size in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 95, p. 191-199, 2005.
- CAVATTE, P.C. et al. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, v. 144, p. 111-122, 2012.
- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, p. 116, 1991.

- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, p. 116, 1991.
- CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239-264, 2003.
- CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. New York: Columbia University Press, 1981.
- DAMON, A. A.; CRUZ-LÓPEZ, L. Fragrance in Relation to Pollination of *Oncidium sphacelatum* and *Trichocentrum oerstedii* (Orchidaceae) in the Soconusco Region of Chiapas, Mexico. **Selbyana**, v. 27, n. 2, p. 186-194, 2006.
- DRESSLER, R. L. **The Orchids: natural History and Classification**. Harvard University Press, Cambridge, 1981.
- DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Portland: Dioscorides Press, p. 312, 1993.
- FAN, L.; NEUMANN, P. M. The spatially variable inhibition by water deficit of maize root growth correlates with altered profiles of proton flux and cell wall pH. **Plant Physiology**, v. 135, p. 2291-2300, 2004.
- FARIA, R. T.; COLOMBO, R. C. *Oncidium*: a orquídea em expansão no cenário florícola. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 533, 2015.
- FERRAREZI, E.; VIEIRA, A. O. S.; FARIA, R. T. **Orquídeas: o gênero *Oncidium* no Paraná**. Londrina: Editora da Universidade Estadual de Londrina, p. 120, 2007.
- GASPI, F. O. D. G. DE et al. Effects of the topical application of hydroalcoholic leaf extract of *Oncidium flexuosum* Sims. (Orchidaceae) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.
- GOWLAND, K. M.; VAN DER MERWE, M. M.; LINDE, C. C.; CLEMENTS, M. A.; NICOTRA, A. B. The host bias of three epiphytic Aeridinae orchid species is reflected, but not explained, by mycorrhizal fungal associations. **American Journal of Botany**, v. 100, p. 764-77, 2013.
- HOLMGREN, M. Combined effects of shade and drought on tulip poplar seedlings: trade-off in tolerance or facilitation? **Oikos**, v. 90, p. 67-78, 2000.
- JOCA, T.A.C. et al. The velamen of epiphytic orchids: variation in structure and correlations with nutrient absorption. **Flora**, v. 230, p. 66-74, 2017.
- KÖSTER, N.; FRIEDRICH, K.; NIEDER, N.; BARTHLOTT, W. Conservation of epiphyte diversity in an Andean landscape transformed by human land use. **Conservation Biology**, v. 23, n. 4, p. 911-919, 2009.

- KRÖMER, T.; KESSLER, M.; GRADSTEIN, S. R. Vertical stratification of vascular epiphytes in submontane and montane forest of the Bolivian Andes: the importance of the understory. **Plant Ecology**, v. 189, p. 261-278, 2007.
- KUDOYAROVA, G. R.; KHOLODOVA, V. P.; VESELOV, D. S. Current state of the problem of water relations in plants under water deficit. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 60, n. 2, p. 165-175, 2013.
- LÜTTGE, U. *Physiological ecology of tropical plants*. Berlin: Springer Verlag, 1997.
- MOREIRA, A. S. F. P.; LEMOS FILHO, J. P.; ISAIAS, R. M. S. Structural adaptations of two sympatric epiphytic orchids (Orchidaceae). **Revista de Biologia Tropical**, v. 61, p. 1053-1065, 2013.
- NADKARNI, N. M. The nutritional effects of epiphytes on host trees with special references to alteration of precipitation chemistry. **Selbyana**, v. 9, p. 44-55, 1986.
- RODRIGUES, M. A. et al. Spatial patterns of photosynthesis in thin- and thick leaved epiphytic orchids: unravelling C3-CAM plasticity in an organ-compartmented way. **Annals of Botany**, v. 112, p. 17-29, 2013.
- RUIZ-CÓRDOVA, J. P.; TOLEDO-HERNÁNDEZ, V. H.; FLORES-PALACIOS, A. The effect of substrate abundance in the vertical stratification of bromeliad epiphytes in a tropical dry forest (Mexico). **Flora**, v. 209, n.8, p. 375-384, 2014.
- SANFORD, W. W. The distribution of epiphytic orchids in Nigeria in relation to each other and geographic location, climate, type of vegetation and tree species. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 1, p. 247-285, 1969.
- SILVERA, K., L. S.; SANTIAGO, J. C.; CUSHMAN, K.; WINTER, K. The incidence of crassulacean acid metabolism in Orchidaceae derived from carbon isotope ratios: a checklist of the flora of Panama and Costa Rica. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 163, p. 194-222, 2010.
- VENTRE-LESPIAUCQ, A. B.; DELGADO, J. A.; OSPINA-CALDERÓN, N. H.; OTERO, J. T.; ESCUDERO, A.; SÁNCHEZ, M.; BALAGUER, L.; FLANAGAN, N. S. A tropical epiphytic orchid uses a low-light interception strategy in a spatially heterogeneous light environment. **Biotropica**, v. 49, n. 3, p. 318-327, 2017.
- WENT, E. W. Soziologie der Epiphyten eines tropischen Urwaldes. **Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg**, v. 50, p. 1-98, 1940.
- ZOTZ, G. The systematic distribution of vascular epiphytes – a critical update. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, p. 453-481, 2013.
- ZOTZ, G. **Plants on Plants- the Biology of Vascular Epiphytes**. Springer, Heidelberg, Berlin, 2016.

- ZOTZ, G.; ANDRADE, J. L. **Ecología de epífitas y hemiepífitas**. In: Guariguata M, Kattan G, eds. *Ecología de Bosques lluviosos Neotropicales*. San José, Costa Rica: IICA (in press), 2001.
- ZOTZ, G.; HIETZ, P. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p.2067-2078, 2001.
- ZOTZ, G.; VOLLRATH, B. The epiphyte vegetation of the palm *Socratea exorrhiza* – correlations with tree size, tree age and bryophyte cover. **Journal of Tropical Ecology**, v. 19, p. 81-90, 2003.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta Tese foram analisados diversos aspectos metabólicos de Orchidaceae relacionados ao rendimento fotossintético e às estratégias de balanço hídrico, que permitiram gerar importantes conclusões a respeito da aclimação das espécies *Gomesa flexuosa* e *Oncidium sphacelatum*.

No capítulo 1, objetivando avaliar qual das espécies teria maior contribuição no metabolismo fotossintético de *Oncidium* 'aloha', verificou-se que *G. flexuosa*, quando induzida à seca, apresentou modelo de compartimentalização fotossintética. Houve expressão da via CAM nos pseudobulbos e C₃ das folhas delgadas, cujos aerênquimas associados aos feixes vasculares conectando os dois órgãos, poderiam conduzir o CO₂ descarboxilado após a produção de ácidos orgânicos, originada pela respiração noturna das células do mesófilo foliar. Os dados sugerem que o cultivo e a produção de plantas devem levar em consideração a capacidade de conversão metabólica de *G. flexuosa* sob restrição hídrica e alta irradiação, uma vez que pode trazer uma implicação direta no melhor uso e aproveitamento da água, além de indicar melhores requisitos para proteção fotoquímica em condições extremas.

O capítulo 2 foi dedicado a aprofundar os conhecimentos acerca dos ajustes metabólicos observados nas duas espécies em questão, agora frente a vertente de memória fisiológica. Desse modo, foi feito o delineamento experimental para entender como informações previamente armazenadas após um evento de estresse podem auxiliar frente a um novo desafio às plantas, otimizando as respostas no evento estressante seguinte. Esse esforço se fez para gerar a melhor compreensão dos fatores que influenciam o crescimento das epífitas, relacionando o agrupamento de variáveis resposta que permitam avaliar padrões nestas plantas, cuja área ainda enfrenta muitas limitações. Para a espécie *G. flexuosa*, no segundo evento de estresse hídrico, há respostas que indicam o reconhecimento da adversidade hídrica enfrentada, cujos padrões metabólicos se ajustam em melhor *trade off* para a planta, trazendo implicações práticas para seu cultivo. *Oncidium sphacelatum* por sua vez, desde o primeiro evento de estresse enfrenta maior dificuldade em se manter de forma eficiente com as possíveis alterações ambientais, de forma que períodos de baixa pluviosidade prolongada afetam significativamente seu desempenho, e pode gerar problemas em seu cultivo e estabelecimento, com redução no rendimento fotossintético e maior suscetibilidade à fotoinibição.

O terceiro capítulo partiu da problematização relacionada à influência da alta irradiância somada à restrição hídrica, que ocorre comumente quando as árvores hospedeiras de Orchidaceae epífitas perdem parte de suas folhas durante a estação seca, ou se uma clareira é aberta em meio à floresta. Enquanto *G. flexuosa* apresentou um elevado desempenho quando

rustificada na luz, desde que haja fornecimento hídrico, *O. sphacelatum* não se rustifica e não apresenta memória fisiológica frente às diferentes formas de cultivo, revelando a necessidade de um olhar mais atento às condições de cultivo em orquidários.

Por fim, o capítulo 4 que traz a cartilha educativa, surge de um desejo profundo em colocar em prática a popularização da ciência, tão almejada na pós-graduação e tão necessária para estimular o contato cada vez mais íntimo com a sociedade. O objetivo principal é, sem dúvidas, fazer uma difusão do conhecimento científico para públicos não especializados, mas que contribuem para que os programas e as pesquisas científicas se mantenham ativos nas universidades públicas, buscando a emancipação intelectual e força do pensamento crítico operante do país.

Não menos importante, no decorrer da execução deste trabalho deparamo-nos com diversas situações interessantes e que por vezes, mudaram o direcionamento do projeto inicial, como a quantidade de material vegetal que se mostrou insuficiente para análises enzimáticas; dificuldade na padronização do protocolo para enzima málica, que apesar de todos os esforços aplicados, inviabilizou sua realização metodológica; o tempo necessário para as avaliações de trocas gasosas e relações hídricas que nos permitiram avaliar apenas um pequeno número amostral dentro do prazo de padronização, para não haver interferência na interpretação dos resultados. Por outro lado, questões importantes foram abordadas de forma sólida através de discussões profundas de fisiologia vegetal, visando principalmente difundir informações de cunho científico para aplicações de cultivo (que mais tarde podem contribuir com a obtenção de ganhos consideráveis em termos de estratégias de manejo e otimização de recursos, principalmente hídrico).

Novos estudos podem ser direcionados a partir dos dados gerados nesta tese, em meio à gama de informações levantadas das representantes da subtribo Oncidiinae, *G. flexuosa* e *O. sphacelatum*, orquídeas de interesse ornamental e medicinal, nativas de vegetações tropicais e semidecíduas da América Latina, até o momento com raros estudos de embasamento fisiológico. Os dados gerados então, poderão contribuir para programas de conservação de espécies nativas, além de gerar cada vez mais estratégias de cultivo, contribuindo com a sociedade orquidófila e ampliando as melhorias na exploração de recursos de forma consciente para fins comerciais.