

Associação micorrízica em orquídeas

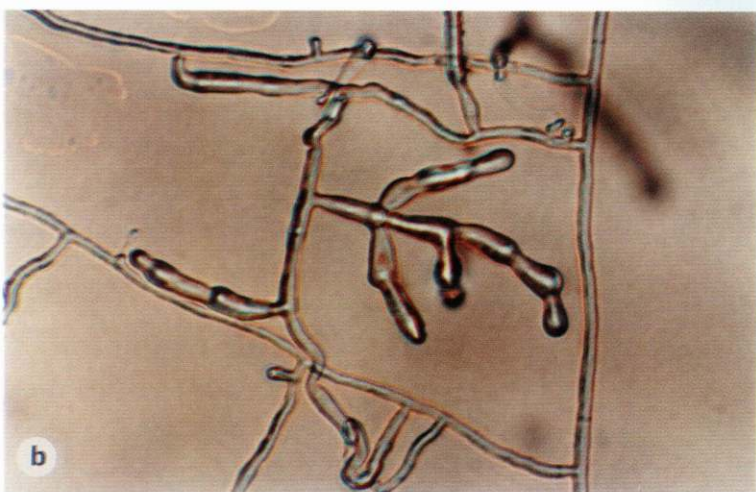
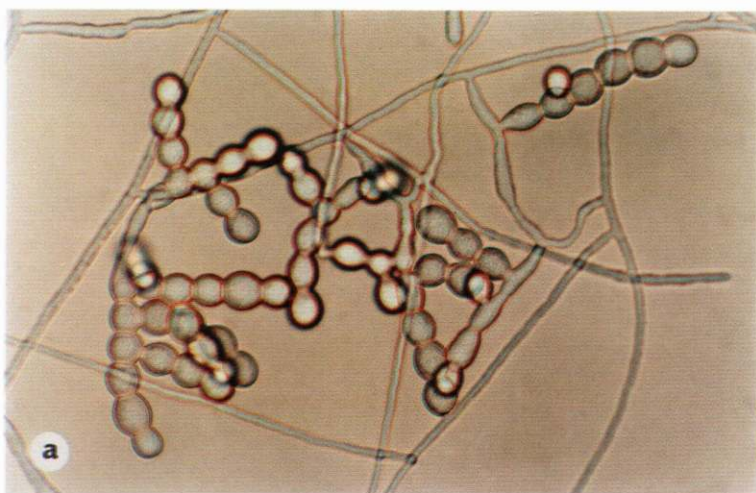
Perspectivas de utilização em programas de propagação simbiótica

Olinto Liparini Pereira, Christtianno de Lima Rollemberg e Maria Catarina Megumi Kasuya*

A família Orchidaceae constitui-se de uma das mais abrangentes famílias do reino vegetal, englobando espécies distribuídas por todos os continentes, ocupando habitats e nichos ecológicos diversos. As orquídeas podem ser terrestres, epífitas ou rupícolas e apresentam diferentes mecanismos de polinização, reprodução e dispersão. Apesar disso, uma característica comum dessas plantas é a necessidade de associarem-se aos fungos micorrízicos para que ocorra a germinação e o estabelecimento da plântula em condições naturais. A associação simbiótica micorrízica na natureza é regra e é relatada em mais de 90% das espécies de plantas conhecidas. Vários são os tipos de associações estudadas, destacando-se as ectomicorrizas, as micorrizas arbusculares, as micorrizas ericóides, as ectendomicorrizas e as micorrizas de orquídeas.

Salvo raríssimas exceções, como no gênero *Vanilla*, as sementes de orquídeas são minúsculas e assemelham-se a um pó, raramente excedendo a dimensão de 1 mm de comprimento cada uma e valores muito menores de largura (em alguns gêneros chegam a atingir um mínimo de aproximadamente 50 micrômetros!), sendo, portanto,

altamente adaptadas à dispersão pelo vento ou pela água de chuva. Devido ao seu tamanho reduzido, as sementes de orquídeas quando maduras, praticamente não possuem reserva de amido como fonte de energia, no entanto, armazenam pequenas quantidades de lipídeos (gordura) durante o processo de maturação da semente. A semente utiliza-se desse lipídeo para germinar. Entretanto, a sua utilização só é possível em presença de uma outra fonte de carbono mais simples,



como a glicose e a sacarose. No cultivo assimbiótico, em laboratório, esse açúcar é adicionado ao meio de cultura para que a semente possa germinar. Na natureza, esse açúcar é fornecido pelo fungo micorrízico.

A associação simbiótica micorrízica em orquídeas é caracterizada pela formação de uma estrutura intracelular que se assemelha a um novelo (lembrando um novelo de lã), comumente chamado de 'peloton'. O 'peloton' é formado logo após a infecção pelo fungo micorrízico e é usualmente observado nas células do córtex de raízes de orquídeas. Após formado, o 'peloton' é digerido pela orquídea e os produtos advindos dessa digestão são utilizados para o crescimento da planta. A esse fenômeno dá-se o nome de micotrofismo. Logo, entre a germinação da semente e o estabelecimento da planta adulta autotrófica (capaz de sintetizar seu próprio alimento), a orquídea passa por uma etapa heterotrófica (incapaz de sintetizar seu próprio alimento, necessitando de uma fonte externa) em que se utiliza da digestão do fungo micorrízico para o seu desenvolvimento, fenômeno conhecido por micoheterotrofismo. Micoheterotrofismo não é um fenômeno exclusivo de membros da família Orchidaceae,

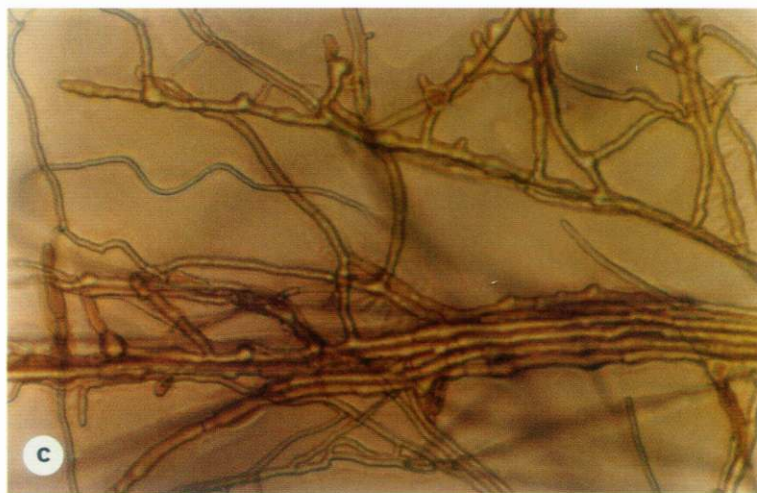


Fig. 1. Morfologia do micélio de gêneros de fungos micorrízicos isolados de orquídeas na Zona da Mata de Minas Gerais.

- (a) *Epulorhiza*, isolada de *Epidendrum rigidum*;**
- (b) *Ceratorhiza* isolada de *Maxillaria marginata* e**
- (c) *Rhizoctonia*, isolada de *Catasetum* sp.**

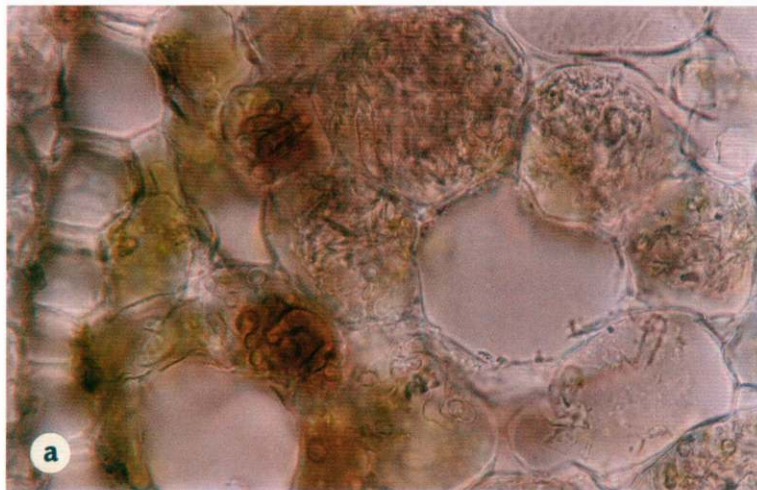
é também relatado nas famílias: Pyrolaceae, Polygalaceae, Monotropaceae, Gentianaceae, Geosiridaceae, Petrosaviaceae, Triuridaceae, Burmanniaceae e Corsiaceae, além de algumas curiosas briófitas aclorofiladas subterrâneas como a *Cryptothallus mirabilis*.

Podemos, então, concluir que na natureza, a associação simbiótica micorrízica em orquídeas é essencial para que a planta possa completar o seu ciclo de vida. Devido a essa essencialidade, o isolamento e a inoculação de fungos micorrízicos de orquídeas, principalmente em espécies ameaçadas de extinção e aquelas de difícil propagação e crescimento em condições artificiais, têm ganhado maior atenção. Destacam-se nesse caso, principalmente grupos de pesquisa do Canadá, dos Estados Unidos, da Austrália e do Japão. Através do 'peloton' ainda não digerido, o fungo micorrízico é isolado em cultura pura e utilizado para induzir a germinação de sementes da espécie de orquídea do qual foi isolado ou, até mesmo, de outras espécies ou gêneros diferentes. Vários fungos são relatados como micorrízicos em orquídeas, mas os mais comuns são os fungos rizoctonióides, pertencentes aos gêneros: *Ceratorhiza*, *Epulorhiza* e *Rhizoctonia*. No Brasil, alguns autores consideram o cultivo simbiótico como de baixa eficiência, mas o processo comumente relatado é bastante rústico, resumindo-se na maceração de raízes da planta-mãe (que pode não estar colonizada pelo fungo micorrízico) com suco de tomate e água destilada, misturado às sementes e espalhado sobre a superfície de xaxim ou estopa. Essa

metodologia favorece mais o desenvolvimento de fungos saprofíticos, ou até mesmo fitopatogênicos, do que propriamente o fungo micorrízico. A eficiência desse método é baixa, comparada a processos de cultivo simbiótico onde se utiliza a cultura pura do fungo.

Várias metodologias de cultivo simbiótico, utilizando-se principalmente isolados fúngicos dos gêneros *Ceratorhiza*, *Epulorhiza* e *Rhizoctonia*, são relatadas na literatura. Na América do Norte, orquídeas terrestres ameaçadas de extinção já vêm sendo reintroduzidas em seus ambientes naturais, através do cultivo simbiótico de sementes, utilizando-se isolados obtidos de plantas selvagens da própria espécie coletada na natureza. Alguns exemplos são: *Platanthera ciliaris*, *P. clavellata*, *P. cristata*, *P. integrilabia*, *Spiranthes bevilabris*, *S. cernua*, *S. magnicamporum*, *S. lacera* e *S. odorata*.

Recentemente, pesquisadores em Illinois/EUA, trabalhando na reintrodução das orquídeas semi-aquáticas: *Habenaria repens*, *H. quinquiseta* e *H. macroceratilis*, em terras alagadas no Estado da Flórida, obtiveram um rápido e avançado desenvolvimento de



plantas dessas espécies (principalmente *H. repens*) utilizando dois isolados de *Epulorhiza* originalmente obtidos de raízes de *S. brevilabris* e *Epidendrum conopseum*. Curiosamente, um isolado de *Ceratorhiza* utilizado, originalmente obtido de *H. quinquiseta*, apesar de ter induzido a germinação das sementes, não promoveu o desenvolvimento dos protocórmios das três espécies de *Habenaria* estudadas.

Bibliografia Consultada

Andersen, T. F. & Rasmussen, H. N. 1996. The mycorrhizal species of *Rhizoctonia*. In: *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology, and disease control (eds. Sneha, B.; Jabaji-Hare, S.; Neate, S.; Dijst, G.), pp. 379-390. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Batt, A. L.; Dixon, K. W.; Brundrett, M.; Sivasithamparan, K. 2001. Long-term storage of mycorrhizal fungi and seed as a tool for the conservation of endangered Western Australian terrestrial orchids. *Australian Journal of Botany* 49: 619-628.

Currah, R. S.; Sigler, L.; Hambleton, S. 1987. New records and new taxa of fungi from the mycorrhiza of terrestrial orchids of Alberta. *Canadian Journal of Botany* 65: 2473-2482.

Moore, R. T. 1987. The genera of *Rhizoctonia*-like fungi: *Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza* gen. nov., *Epulorhiza* gen. nov., *Moniliopsis*, and *Rhizoctonia*. *Mycotaxon* 29: 91-99.

Pereira, O. L. 2001. Caracterização morfológica e molecular de fungos micorrízicos de sete espécies de orquídeas neotropicais. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

Pereira, O. L.; Rollemberg, C. L.; Peixoto, H. T. M.; Araújo, E. F.; Borges, A. C.; Kasuya, M. C. M. 2001. *Epulorhiza repens*: a orchid mycorrhizal fungus of *Oceoclades maculata*. XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia. Foz do Iguaçu, Paraná.

Peterson, R. L.; Uetake, Y.; Zelmer, C. 1998. Fungal symbioses with orchid protocorms. *Symbiosis* 25: 29-55.



Fig. 2.
(a) 'Pelotons' de *Rhizoctonia*
nas células do córtex de raiz
de *Gomesa crispá*;
(b) germinação de sementes
de *O. flexuosum* induzida
por isolado de *Ceratorhiza*;
(c) radícula de *O. flexuosum*
sendo colonizada pelo isolado de
***Ceratorhiza* (corado com Trypan Blue)**

Em outro trabalho, o mesmo grupo de pesquisadores obteve 99,6% de germinação de sementes de *Encyclia tampensis* (espécie epífita comercialmente explorada) em 21 dias, através do cultivo simbiótico, utilizando um isolado de *Epulorhiza* também originalmente obtido de raízes de *E. conopseum* (espécie epífita não explorada comercialmente), demonstrando a aplicação desse processo não só para fins de reintrodução em mata, como também para a horticultura comercial.

No Brasil, a caracterização morfológica e molecular de isolados de *Ceratorhiza* obtidas do sistema radicular das orquídeas *Isochillus lineares* e *Maxillaria marginata* e de isolados de *Epulorhiza* obtidas do sistema radicular de *Polystachia concreta* e *Epidendrum rigidum*, coletadas na Zona da Mata de Minas Gerais, têm também demonstrado baixa especificidade hospedeira. Entretanto, um possível caso de especificidade hospedeira entre as espécies *Oncidium flexuosum* e *O. varicosum* foi também observado.

A especificidade da associação micorrízica em orquídeas é ainda fonte de controvérsia entre os principais grupos de pesquisa, enquanto alguns trabalhos demonstram a existência de especificidade entre o fungo e a planta, outros demonstram uma baixa ou até mesmo a inexistência dessa especificidade. Entretanto, há um consenso quanto à necessidade e a importância de se isolar e armazenar um maior número possível desses fungos, para futuros programas de reintrodução de espécies de orquídeas em seus ambientes naturais.

É possível, ainda, obter matrizes de plantas e sementes de espécies de orquídeas brasileiras ameaçadas

Read, D. J.; Duckett, J. G.; Francis, R.; Ligrone; Russell, A. 2000. Symbiotic fungal associations in 'lower' land plants. Philosophical Transactions of the Royal Society B. 355: 815-831.

Rolleberg, C. L.; Pereira, O. L.; Ferreira, E. M.; Araújo, E. F.; Borges, A. C.; Kasuya, M. C. M. 2001. *Ceratorhiza* spp., peloton-forming Basidiomycetes associated with epiphytic Brazilian orchids. XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia. Foz do Iguaçu, Paraná.

Stewart, S. L. & Zettler, L. W. 2002. Symbiotic germination of three semi-aquatic rein orchids (*Habenaria repens*, *H. quinquefolia*, *H. macroceratilis*) from Florida. Aquatic Botany 72: 25-35.

Zettler, L. W. & Hofer, C. J. 1998. Propagation of the little club-spur orchid (*Platanthera clavellata*) by symbiotic seed

germination and its ecological implications. Environmental and Experimental Botany 39: 189-195.

Zettler, L. W.; Burkhead, J. C.; Marshall, J. A. 1999. Use of a mycorrhizal fungus from *Epidendrum conopseum* to germinate seed of *Encyclia tampensis* in vitro. Lindleyana 14(2): 102-105.

Zettler, L. W.; Stewart, S. L.; Bowles, M. L.; Jacobs, K. A. 2001. Mycorrhizal fungi and cold-assisted symbiotic germination of the federally threatened Eastern prairie fringed orchid, *Platanthera leucophaea* (Nuttall) Lindley. The American Midland Naturalist 145: 168-175.

Zettler, L. W.; Sunley, J. A.; Delaney, T. W. 2000. Symbiotic seed germination of an orchid in decline (*Platanthera integra*) from the Green Swamp, North Carolina. Castanea 65(3): 207-212.

de extinção em orquidários e coleções nacionais. Entretanto, somente em fragmentos ainda preservados é possível o isolamento de fungos micorrízicos associados a seus hospedeiros na natureza. E, infelizmente, para algumas espécies brasileiras, como a *Cattleya schilleriana*, a procura por plantas selvagens, ainda remanescentes em fragmentos de mata, seria um árduo e talvez frustrante desafio.

O cultivo assimbiótico, introduzido pelo Professor Lewis Knudson, em 1922, foi um importantíssimo passo para o cultivo de numerosas espécies raras de orquídeas e para a obtenção de híbridos, sendo bastante popular até os dias de hoje. Práticas de cultivo assimbiótico, para germinação de sementes em meios de cultivo ou para a cultura meristemática de tecidos são, sem dúvida nenhuma, de extrema importância na horticultura visando a comercialização de espécies e híbridos de orquídeas. Entretanto, em termos de conservação, considerando-se a essencialidade da associação

micorrízica para que a planta complete o seu ciclo de vida na natureza, fica aqui a seguinte questão: seria a manutenção de coleções de orquídeas, obtidas através de cultivos assimbióticos, uma boa prática conservacionista?

O conhecimento das estratégias reprodutivas utilizadas pelas orquídeas incluindo a participação de fungos micorrízicos, que durante milhares de anos co-evoluíram com seus hospedeiros na natureza, pode auxiliar não só programas de conservação e reintrodução de espécies de orquídeas ameaçadas de extinção, mas também de produção comercial de orquídeas através da propagação simbiótica.

***Olinto Liparini Pereira** (e-mail: liparini@bol.com.br),
Christtiano de Lima Rollemberg
e Maria Catarina Megumi Kasuya

Laboratório de Associações Micorrízicas,
Núcleo de Biotecnologia Aplicada a Agropecuária,
Departamento de Microbiologia, Universidade
Federal de Viçosa, Viçosa/MG



Orquidário Quinta do Lago

*Cultivando Beleza.
Conservando Espécies Brasileiras.*

- Espécies e híbridos de qualidade
- Vendemos por atacado e no varejo
- Atendemos em todo Brasil e no exterior
- Solicite nossa lista de preços

Venha visitar-nos
www.qlagorquideas.com

Rua Domingos José Martins, 195 - Bonsucesso, Petrópolis / RJ
Tel / fax (24) 2221.2554