

Sobre os potenciais morfogênéticos de tecidos de orquídeas cultivados “in vitro”

Gilberto B. Kerbauy*

O desenvolvimento de uma planta ou animal, compreende uma série de estágios, dentre os quais destacam-se o aumento de tamanho (crescimento), a especialização celular (diferenciação) e a formação de órgãos (morfogênese). É sobre este último aspecto que pretendemos focalizar os tecidos das plantas orquídeas. O termo morfogênese, conforme é evidente de sua raiz etimológica, serve para designar a origem da forma nos seres vivos (morfo = forma, gênese = origem, início).

Porém, antes de entrarmos no mérito da questão em pauta, é importante destacar para efeito de melhor compreensão, que no corpo de uma planta existem tecidos cujas células estão em contínuo processo de divisão celular (meristemas) e tecidos que não se dividem, estes constituídos por células maduras ou diferenciadas. Em contrapartida aos tecidos maduros ou adultos, os tecidos meristemáticos são conhecidos também por tecidos embrionários, dos quais portanto originam-se todos os demais tecidos de uma planta. Todavia, não obstante a importância dos meristemas, estes representam apenas uma pequenínissima fração do total de células de um vegetal. Em compensação, a localização destes tecidos nos ápices dos caules e raízes é de fundamental importância para a formação e o funcionamento dos diferentes órgãos. Além destes, as plantas arbóreas, bem como um bom número de herbáceas também

(dicotiledôneas) podem possuir ao longo dos caules e raízes, um outro tipo de meristema que permite o crescimento em espessura destes órgãos. Representantes do grupo das monocotiledôneas, no qual incluem-se as plantas orquídeas, apresentam apenas os meristemas apicais.

Se considerarmos que todas as células que constituem os diferentes órgãos de uma planta, originaram-se de uma única célula (zigoto), e que portanto todas elas possuem os mesmos genes, a questão que se levanta é explicar a origem das diferentes formas e funções destas células em cada órgão. O problema é antigo. A resposta a esta questão, entretanto, tem-se constituído em um dos maiores desafios à ciência até hoje. Como explicar por exemplo, os diferentes potenciais morfogênéticos das células meristemáticas dos ápices de caules e raízes de uma planta, se elas possuem exatamente os mesmos genes, ou seja, as mesmas informações genéticas? Enquanto as primeiras originam normalmente folhas, nós, entrenós, gemas laterais (vegetativas e florais), escamas e pelos, o potencial morfogênético das segundas resume-se basicamente a formação de raízes laterais. Em termos comparativos diríamos que os meristemas caulinares de uma planta apresentam um potencial morfogênético consideravelmente maior do que os respectivos tecidos radiculares. Tais potenciais refletem-se por inteiro quando estes meristemas são isolados e cultivados *in vitro* para fins de micropropagação (“cultura de meristema”).

* Departamento de Botânica Instituto de Biociências Universidade de São Paulo C.P. 11461 05499 São Paulo, SP.

No caso das orquídeas, quando o ápice de um broto em desenvolvimento (comumente chamado de “meristema”) é cultivado *in vitro* sob condições nutricionais, hormonais e ambientais adequadas, suas células podem “voltar” (desdiferenciar) ao estado embrionário, formando estruturas semelhantes aos protocormos oriundos de sementes (embriões verdadeiros). Como os primeiros não se formam de sementes, mas de um pedaço do corpo de uma planta (“meristema”), são comumente designados por estruturas semelhantes a protocormos (do inglês, “protocorm-like bodies”, PLB). Por motivos que não cabe discutir neste momento, entendemos que a melhor denominação para os PLBs seria mesmo protocormóides.

A possibilidade de conversão de meristemas apicais de raízes em gemas, tem se constituído em um desafio à gerações de botânicos há quase um século. Em *Neottia nidus-avis*, uma orquídea terrestre do hemisfério norte, a formação de protocormóides pode ocorrer

diretamente nos ápices das raízes mais velhas mesmo sob condições naturais (Champagnat, 1971). Respostas morfogênicas praticamente idênticas têm sido verificadas neste laboratório com raízes de *Catasetum* cultivadas *in vitro* (Kerbaux, 1984a, Fig. 1), bem como também em plantas de todos os gêneros afins. Não obstante a extensão das alterações envolvidas neste tipo dramático de conversão celular, as alterações nos tecidos da ponta das raízes podem ser detectadas a, apenas, 24-48 horas do isolamento, e os primórdios de protocormóides já podem ser observados após cerca de 12-14 dias, dependendo da espécie considerada. Espécies e híbridos obtidos em nosso laboratório a partir de ápices de raízes, têm apresentado uma estabilidade genética perfeitamente compatível com as finalidades esperadas para técnica de micropropagação (Fig. 2). Ao nível de pesquisa básica, a conversão direta de um meristema radicular em um embrião somático (o protocormóide), abre amplas perspectivas para estudos dos eventos

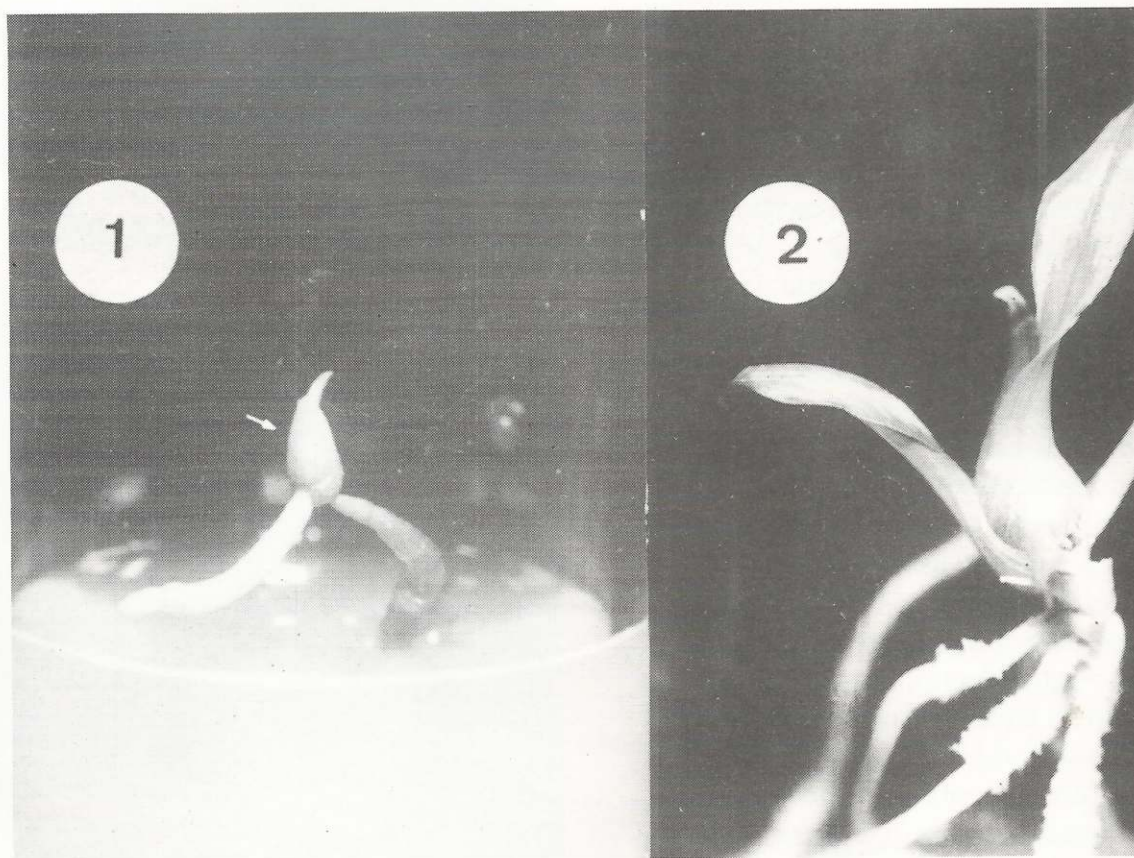


Fig. 1 — Planta jovem (seta) formada de um protocormóide no ápice de uma raiz de *Catasetum* sp.

Fig. 2 — A mesma planta da figura anterior após cerca de 50 dias.

bioquímicos, genéticos e fisiológicos envolvidos neste tipo particular de regeneração em plantas.

Além deste tipo de regeneração direta encontrado em *Catasetum* e gêneros afins, uma outra rota de regeneração de protocormóides a partir de raízes, foi constatada em *Oncidium* e *Cattleya* (Kerbaudy 1984b, 1991). Nestes materiais, porém, a formação de protocormóides (regeneração, não é do tipo direto conforme assinalado acima, mas do tipo indireto, ou seja, a regeneração não ocorre diretamente sobre as raízes, mas sobre massas de células que se formam dos ápices inoculados, os chamados calos (Fig. 3). Tanto em *Cattleya* quanto em *Oncidium*, a formação dos protocormóides ocorre apenas após períodos prolongados de cultura. O processo pode demorar até um ano. A indução dos calos nestes materiais demanda a presença nos meios de cultura de concentrações relativamente elevadas e balanceadas de auxinas e citocininas, dois importantes grupos de reguladores de crescimento vegetal. Contrária a frequência relativamente baixa de regeneração de protocormóides (Fig. 4), os calos apresentam durante o extenso período de cultura uma alta taxa de formação de raízes (Fig. 4). Isto parece indicar que os calos retenham ainda durante este período, os potenciais morfogenéticos característicos das células meristemáticas que os originou, ou seja, a formação precípua de raízes.

Todavia, conforme ocorre geralmente com os protocormóides da grande maioria das orquídeas multiplicadas *in vitro* (clonadas), os protocormóides oriundos de raízes apresentam também uma elevada taxa de multiplicação (Fig. 5), e formação de plantas (Fig. 6).

Tecidos maduros de orquídeas, quaisquer que sejam estas, não se prestam ao estabelecimento de culturas *in vitro*, pela simples razão de suas células não se dividirem sob esta condição. Não se conhece até o momento nenhuma estratégia capaz de induzir divisões celulares nestes tecidos e assim estabelecer uma cultura. Tal fato explica por

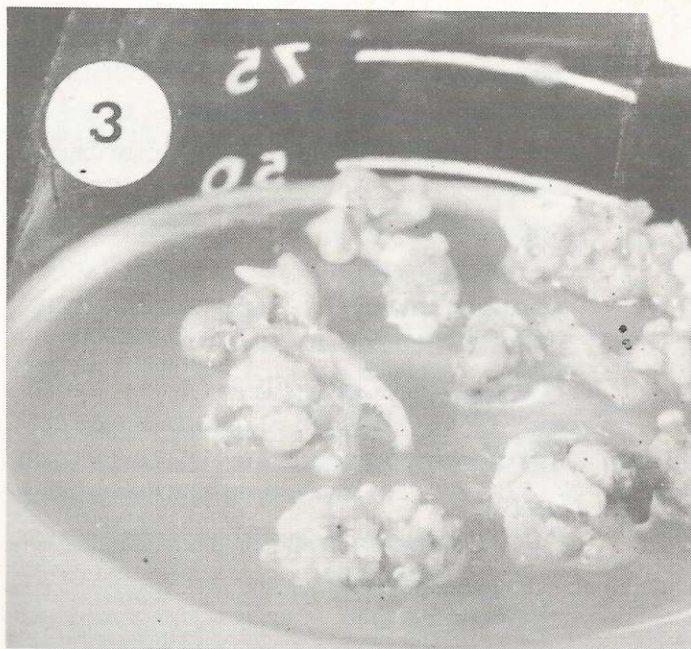


Fig. 3 — Calos formados a partir de ápices radiculares de *Oncidium varicosum* após 90 dias de cultura. Note-se a elevada frequência de raízes formadas e a ausência completa de protocormóides ou plantas.



Fig. 4 — Calos de *Oncidium varicosum* após 270 dias de cultura, sobre os quais podem ser observadas massas de protocormóides ainda pequenos (seta) e plantas já estabelecidas.

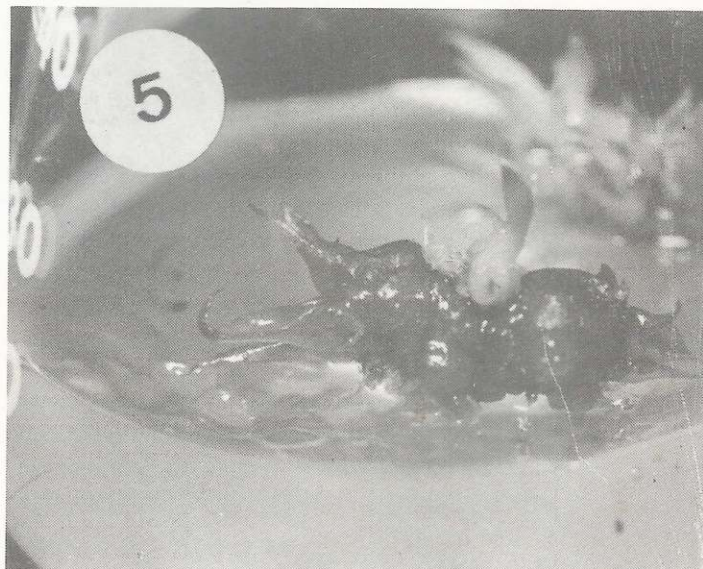


Fig. 5 — Protocormóides de *Oncidium varicosum* originados de raízes em processo de multiplicação.

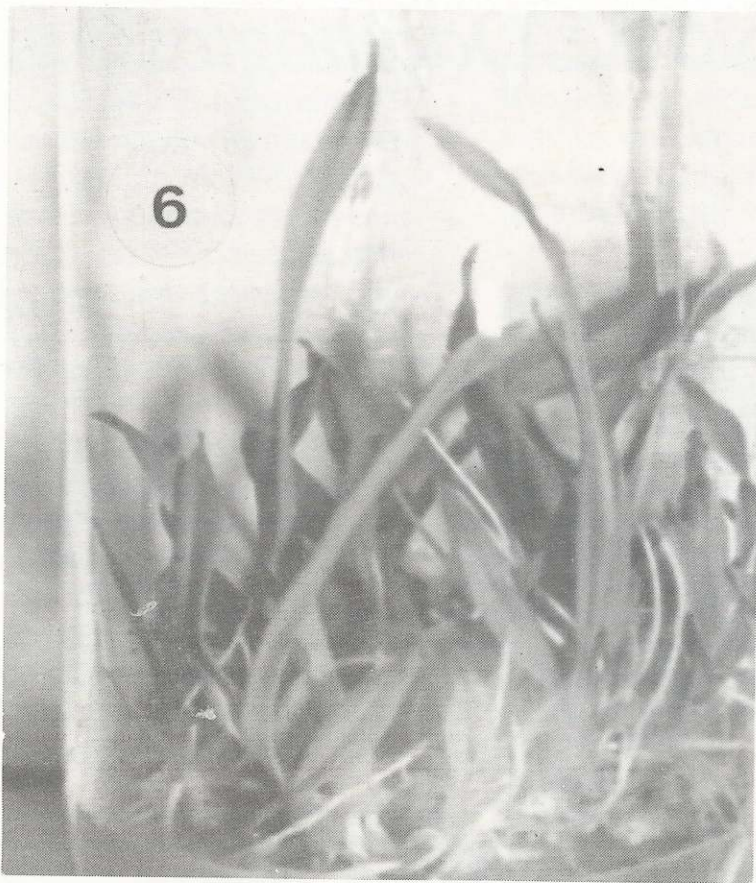


Fig. 6 — Plantas de *Oncidium varicosum* prontas para a transferência em vasos coletivos.

exemplo, as infrutíferas tentativas de enxerto realizadas em plantas orquídeas. Como as células da região do corte não se dividem, não ocorre também a formação de tecido de cicatrização, este imprescindível ao sucesso de enxertia em plantas.

BIBLIOGRAFIA

- Champagnat, M. (1971). Recherches sur la multiplication vegetative de *Neottia nidus-avis* Rich. Annls. Sci. Nat. Bot. 12: 209-248.
- Kerbaudy, G.B. (1984a). Regeneration of protocorm-like bodies through *in vitro* culture of root tips of *Catasetum* (Orchidaceae). Z. Pflanzenphysiol. 113: 287-291.
- Kerbaudy, G.B. (1984b). Plant regeneration of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) by means of root tip culture. Pl. Cell Rep. 3: 27-29.
- Kerbaudy, G.B. (1991). *In vitro* conversion of *Cattleya* root tip cells into protocorm-like bodies. J. Pl. Physiol. (in press).