

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS EM *Epidendrum nocturnum* Jacq. (ORCHIDACEAE)

Kellen Cristhina Inácio SOUSA; Amanda Abdallah CHAIBUB; Aline Pereira LUZINI; Jacqueline Campos Borba CARVALHO; Rejane Araújo GUIMARÃES; Leila Garcês de ARAÚJO

Instituto de Ciências Biológicas – ICB, Universidade Federal de Goiás – UFG
bio_kcis@hotmail.com.br

Palavras-chave: Orquídeas, Micorrizas, Cerrado

Introdução

A família Orchidaceae compreende aproximadamente 800 gêneros e 40 mil espécies naturais, sendo que a maioria se concentra em países de clima tropical (Stewart & Zettler, 2002). De acordo com Dressler (1993) a subfamília Epidendroideae abrange 50% dos gêneros de orquídeas e é composta principalmente por plantas epífitas, embora possua exemplares terrestres e rupícolas. As orquídeas possuem um grande apelo comercial por suas belas flores, o que impulsiona o cultivo. Dados da *American Orchid Society* (2006) apontam que no setor de comercialização de plantas envasadas no Brasil arrecadou-se no ano de 2005 cerca de 35 milhões de dólares, enquanto que nos EUA a arrecadação ultrapassou 140 milhões.

As orquídeas, por possuírem sementes muito pequenas, associam-se a fungos micorrízicos. Esta associação, seja durante a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas, seja na fase adulta, visa aumentar a absorção de água e nutrientes (Rasmussen & Rasmussen, 2009). Os fungos micorrízicos de orquídeas pertencem ao gênero *Rhizoctonia* sp. e são denominados rizoctonióides. Apresentam características que os diferenciam como, por exemplo, a presença de células monilióides, hifas septadas com contrações em ângulo de 90°, hifas enoveladas (*pelotons*) e septo dolipórico. Os gêneros com maior ocorrência são *Ceratorhiza* sp., *Epulorhiza* sp., *Rhizoctonia* sp., *Tulasnella* sp., *Sebacina* sp. e *Ceratobasidium* sp. (Currah & Zelmer, 1992).

O gênero *Epidendrum* L., com aproximadamente mil espécies, ocorre desde o estado da Flórida nos Estados Unidos até o estado do Paraná – Brasil (Zettler et al., 2007). A espécie *Epidendrum nocturnum* Jacquin, pode se apresentar em hábito rupícola, epífita e terrestre (Bonates, 2007). No Brasil têm-se notificações de plantas terrestres na Mata Atlântica, epífitas na região amazônica e rupícolas no Cerrado (Batista & Bianchetti, 2003).

Os objetivos deste trabalho foram isolar e identificar fungos de raízes de *E. nocturnum* Jacq., e também localizar as estruturas fúngicas nas células do córtex.

Material e Métodos

As raízes foram coletadas de três plantas adultas de *E. nocturnum* Jacq. estabelecidas em rochas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, localizada no Parque da Serra Dourada, município de Mossâmedes – GO. As amostras das raízes após serem extraídas das orquídeas foram armazenadas por 48 horas em câmara fria (4°C) no Laboratório de Genética de Microrganismos da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Para o isolamento dos fungos, uma amostra de 18 raízes foi desinfestada por meio de lavagens em água corrente, imersão em solução de álcool a 70%, em solução de hipoclorito comercial a 2% e em água destilada autoclavada. Cada raiz foi seccionada em fragmentos de três centímetros, sendo que para a metade dos fragmentos foi retirado o velame. Os fragmentos foram macerados em almofariz de porcelana autoclavado e o macerado espalhado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. As placas foram incubadas a 28° C com luminosidade controlada em Sala de Crescimento.

Os fungos isolados, quando pertencentes aos gêneros micorrízicos, foram identificados conforme Currah & Zelmer (1992). Para os demais isolados, não micorrízicos, foi empregada a metodologia de Barnett & Hunter (2003).

Na localização de estruturas fúngicas, dentro das células do córtex parenquimático, usou-se fragmentos de raízes saudáveis desinfestadas superficialmente e fixadas em FAA_{50%} por 48 horas. Após a fixação, os fragmentos

basal, medial e apical foram transferidos para álcool 70%. Para a visualização, em microscópio óptico, das hifas enoveladas (*pelotons*) foram realizados cortes transversais e longitudinais. Os cortes clarificados e corados com safranina 1% (cora as partes mais lignificadas do tecido vegetal) e azul de Astra 0,3% (corando as células do córtex) foram fixados em lâminas estéreis com glicerina a 70%.

Resultados e Discussão

Dos 18 fragmentos de raízes incubados em BDA foram isolados 28 fungos, sendo que a maioria originou-se das raízes sem velame. Segundo Bonates (2007) o velame de *E. nocturnum* é altamente lignificado, constitui-se de três a cinco camadas de células mortas e, portanto, não são colonizadas por fungos.

Dentre os 28 fungos isolados apenas cinco são micorrízicos, sendo três s pertencentes ao gênero *Epulorhiza* sp. e três *Rhizoctonia* sp (Figura 1). Os 23 fungos que não são micorrízicos pertencem aos seguintes gêneros: *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp., *Halodes* sp., *Nigrospora* sp., *Phoma* sp. e *Pyrenochaeta* sp.



Figura 1 – Isolados de *Epulorhiza* sp. (parte superior) e de *Rhizoctonia* sp. (parte inferior).

Os *pelotons* são estruturas ricas em nutrientes, os quais são favoráveis à planta, mas para que possa absorver é preciso degradar as hifas. Quando os *pelotons* estão se desenvolvendo em boa parte da célula estão intactos, quando se encontram em tamanho bastante reduzido, estão digeridos ou degradados (Nogueira et al., 2005). Nos cortes histológicos observou-se a predominância de *pelotons* de-

gradados e intactos, o que indica que a associação micorrízica está acontecendo na planta ainda na fase adulta.

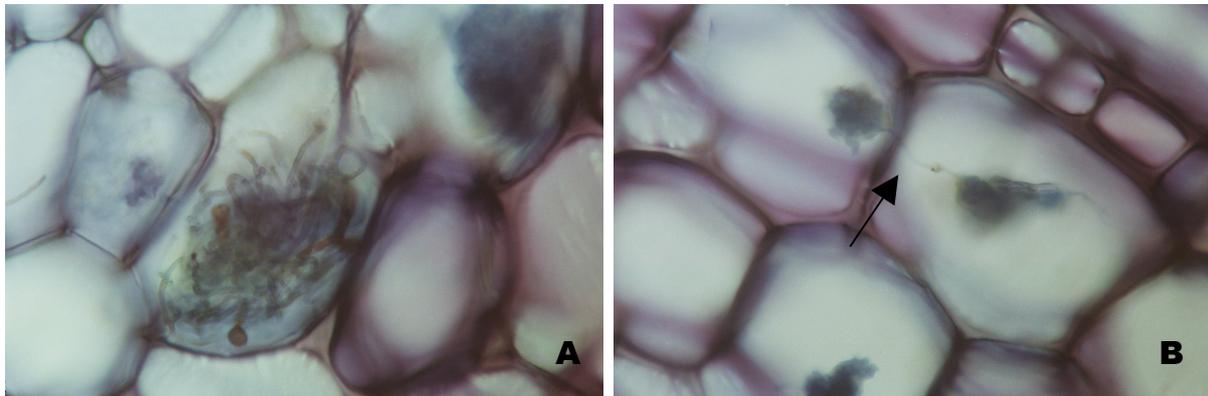


Figura 2 – Pelotons intactos (A) e em degradação (B) apresentando hifas conectivas intercelulares (seta).

Conclusões

Os fungos micorrízicos isolados de *E. nocturnum* pertencem ao grupo dos rizoctonióides. Os cortes histológicos revelaram que ainda na fase adulta esta orquídea mantém associação com fungos micorrízicos.

Estudos posteriores poderão testar a eficiência dos fungos micorrízicos obtidos nas raízes de *E. nocturnum* em germinar suas sementes *in vitro*.

Referências Bibliográficas

AMERICAN ORCHID SOCIETY. Orchid popularity still growing. **Orchids**, Delray Beach, v. 75, n. 2, p. 563, 2006.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of Imperfect fungi**. 4. ed. Saint Paul: The Phytopathological Society, USA, 2003. 218p.

BATISTA, J. A. N.; BIANCHETTI, L. B. Lista atualizada das Orchidaceae do Distrito Federal, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 183-201, 2003.

BONATES, L. C. M. **Anatomia ecológica da folha e da raiz e aspectos ecofisiológicos de Orchidaceae epífitas de uma campina da Amazônia Central.** 2007. 130f. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical Recursos Naturais). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2007.

CURRAH, R. S.; ZELMER, C. D. A key and notes for the genera of fungi with orchids and a new species in the genus *Epulorhiza*. **Reports Tottori Mycol. Inst.**, v. 30, p. 43-59, 1992.

DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family.** Cambridge: Cambridge University Press, 1993. 314p.

NOGUEIRA, R. E.; PEREIRA, O. L.; KASUYA, M. C. M; LANNA, M. C. S.; MENDONÇA, M. P. Fungos micorrízicos associados a orquídeas em campos rupestres na região do quadrilátero ferrífero, MG, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 3, n. 19, p. 417-424, 2005

RASMUSSEN, H. N.; RASMUSSEN, F. N. Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. **Oikos**, v. 118, p. 334-345, 2009.

STEWART, S. L.; ZETTLER, L. W. Symbiotic germination of three semi-aquatic rein orchids (*Habenaria repens*, *H. quinquiseta*, *H. macroceratitis*) from Florida. **Aquatic Botany** v. 72, p. 25-35, 2002.

ZETTLER, L.W., POULTER, S.B., McDONALD, K. I., STEWART S. L. Conservation-driven propagation of an epiphytic orchid (*Epidendrum nocturnum*) with a mycorrhizal fungus. **Hortscience**, v. 42, n. 1, p. 135-139, 2007.

Órgãos Financiadores:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)