



Projeto de iniciação Científica

Germinação e desenvolvimento de protocormos de *Campylocentrum grisebachii* Cogn.

Autores: Vinícius Saragiotto Pereira¹, Lais Soêmis Sisti, Juliana Lischka Sampaio Mayer

Palavras chave: Anatomia vegetal, Orquídeas, micorriza.

Introdução ao trabalho

As orquídeas possuem uma imagem comum associada à sua forma característica, contendo pseudobulbos, folhas e flores grandes e vistosas. Algumas espécies, como o *Campylocentrum grisebachii* presente nesse trabalho, fogem desse padrão de diversas maneiras.

Esse *Campylocentrum* não possui folhas, apenas escamas de proteção e o caule é extremamente reduzido, sendo sua parte vegetativa composta por raízes que envolvem a planta. A porção caulinar só é visível durante a floração, onde as diminutas flores ficam aglomeradas no eixo da inflorescência (Figura 01). Essa espécie tem hábito epífita ocorrendo em zonas úmidas do sudeste e sul do Brasil dentro das regiões de cerrado e mata atlântica.





Figura 01: Indivíduo adulto e portando flores da espécie *Campylocentrum grisebachii* Cogn. Legenda: ex = eixo central com caule reduzido; fl = flores; ra = raízes.

O desenvolvimento de plantas desse tipo é pouco explorado, as orquídeas possuem uma fase micoheterotrófica de germinação, ou seja, precisam da interação de um fungo micorrízico para obtenção dos nutrientes necessários. As sementes diminutas, sem reservas, se desenvolvem em protocormos após germinarem, uma estrutura única, uma fase intermediária na qual ocorre a instalação de meristemas com uma massa inicial de células que se dividem rapidamente após romperem o tegumento da semente.

Objetivos e metodologia resumidos

O plano traçado nesse trabalho foi de entender como ocorre o desenvolvimento dos protocormos dessa orquídea, como os meristemas se estabelecem, verificar a formação de folhas e raízes na fase de plântula e investigar a comunidade de fungos presentes nas plantas adultas.

Para isso, o uso da germinação assimbiótica (sem os fungos micorrízicos) proporcionou amostras dos protocormos que foram analisados sobre microscopia de luz e eletrônica de varredura. A cultura dos fungos foi realizada a partir das raízes das plantas adultas e experimentos de germinação simbiótica (com o fungo) foram executados após a identificação dos isolados e montagem de lâminas.

Resultados e discussão

Morfologia dos protocormos

As sementes germinam no meio de cultura, o embrião ganha volume estoura a testa da semente e forma o protocormo, o qual após em uma semana já se torna clorofilado. A porção apical é ovalada, com células pequenas de citoplasma denso e a basal é afilada, com células grandes contendo grânulos de amido. Na



região mediana se formam primórdios de pelos que, conforme o protocormo se desenvolve, se tornam pelos absorventes.

A região apical, principalmente, passa por intensa divisão e aumento de volume das células e o meristema apical caulinar se instala com conseqüente formação dos primórdios foliares. Até esse estágio foram cerca de 5 meses em cultura, os primórdios foliares continuam crescendo em forma de espiral recobrando o meristema. Nessa região apical existem estômatos, tricomas secretores e idioblastos com ráfides.

A maioria dos protocormos cresceu de maneira ramificada, com quatro extremidades, formando um protocormo em formato de X. Cada uma das ramificações se alonga em diferentes velocidades e possuem um meristema apical caulinar com folhas próprios. Entretanto, na natureza é difícil encontrar plantas adultas com mais de um ápice caulinar, o que indica que essa conexão se perde conforme a planta cresce.

Quando os protocormos atingem um tamanho próximo de 5 mm, as raízes começam a surgir da região próxima ao ápice caulinar e dos primórdios foliares. Elas vão crescendo, se projetando lateralmente em espiral, o que se mantém para a planta adulta.

Investigando a comunidade de fungos do *Campylocentrum grisebachii*.

Como naturalmente as sementes das orquídeas germinam com a interação de um fungo micorrízico e algumas delas mantêm essa relação simbiótica com seus fungos quando adultas, investigamos a comunidade de fungos presentes dentro das raízes de plantas adultas dessa orquídea e o papel deles na germinação das sementes.

Dos 30 isolados iniciais dos fungos, 25 foram identificados até o nível de família ou abaixo disso. A grande maioria deles pertence



ao filo dos ascomicetos, em especial da família Xylariaceae. 5 deles pertencem ao gênero *Ceratobasidium*, do filo Basidiomycota.

O papel dos ascomicetos nas relações micorrizicas é pouco conhecido, mas são muito abundantes na comunidade das raízes. Já os basidiomicetos são os que caracteristicamente formam micorrizas nas orquídeas e por esse motivo a germinação com esses fungos foi testada.

Mesmo tomando todos os cuidados de desinfestação dos frutos e das sementes, as repetições feitas do experimento de germinação para essa espécie mostrava dois novos fungos, morfologicamente distintos em cultura, crescendo no ponto em que as sementes eram colocadas para germinar, dificultando a inserção do isolado vindo da planta adulta.

Entretanto, um experimento de germinação simbiótica para comparação foi realizado com uma orquídea do mesmo gênero, *Campylocentrum* sp. mas com folhas desenvolvidas, e algumas das sementes germinaram e os protocormos estouraram a testa da semente quando em contato com o fungo PA03, um *Ceratobasidium*, vindo dos isolados de *Campylocentrum grisebachii* que não possui folhas desenvolvidas.

Conclusões

O desenvolvimento inicial da orquídea *Campylocentrum grisebachii*, acompanha o esperado para a família. Após a germinação da semente, o protocormo formado passa pelas fases de aumento de tamanho, instalação de um meristema apical caulinar, alongamento, formação de vários primórdios foliares e somente após 5 meses de cultivo in vitro o início da formação das raízes. Portanto, mesmo que a planta adulta tenha as porções de caule e folhas reduzida, seu desenvolvimento inicial possui as mesmas etapas que as espécies com folhas e caules bem desenvolvidos.



O que se diferencia do esperado é a ramificação que os protocormos passam, iniciando cedo no desenvolvimento, quando o protocormo atinge um tamanho próximo de 500um. Poucos protocormos seguem o desenvolvimento sem a formação de meristemas caulinares extras. A ramificação é geralmente em quatro, gerando um protocormo em formato de X, em que cada extremidade possui o seu meristema caulinar, e próximo a ele são formadas as raízes, desenvolvendo a porção vegetativa total e originando um novo indivíduo.

A comunidade de fungos das raízes se mostrou majoritariamente composta por ascomicetos, lembrando que existe uma dificuldade de fungos micorrizicos se estabelecerem em cultura. Os principais basidiomicetos encontrados foram do gênero *Ceratobasidium* e é interessante ver que a outra espécie de *Campylocentrum sp.* pode germinar utilizando um fungo extraído de *C. grisebachii*, o que significa que as espécies compartilham o potencial micorrizicos desse fungo.