



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO – UFOP

Instituto de Ciências Exatas e Biológicas – ICEB

Departamento de Evolução, Biodiversidade e Meio Ambiente – DEBIO

Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais



Hikari Shin Lovestain

*REVISÃO SOBRE AS RELAÇÕES DE REGULAÇÃO ENTRE OS DIFERENTES
TIPOS DE MICORRIZAS E ORQUÍDEAS*

Orientação: Prof. Dr. Hildeberto Caldas

Coorientação: Dr^a. Cristina Machado Borges

OURO PRETO

Agosto - 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO – UFOP

Instituto de Ciências Exatas e Biológicas – ICEB

Departamento de Evolução, Biodiversidade e Meio Ambiente – DEBIO

Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais

Hikari Shin Lovestain

*REVISÃO SOBRE AS RELAÇÕES DE REGULAÇÃO ENTRE OS DIFERENTES
TIPOS DE MICORRIZAS E ORQUÍDEAS*

Dissertação apresentada ao Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente, do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia de Biomas Tropicais.

Orientação: Prof. Dr. Hildeberto Caldas

Coorientação: Dr^a. Cristina Machado Borges

OURO PRETO

Agosto - 2021

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

L898r Lovestain, Hikari Shin.
Revisão sobre as relações de regulação entre os diferentes tipos de micorrizas e orquídeas. [manuscrito] / Hikari Shin Lovestain. - 2021.
34 f.: il.: color., tab..

Orientador: Prof. Dr. Hildeberto Caldas Sousa.
Coorientadora: Dra. Cristina Machado Borges.
Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro Preto. Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais.
Área de Concentração: Evolução e Funcionamento de Ecossistemas.

1. Micorrizas. 2. Micorriza orquidoide. 3. Fungos Micorriza. 4. Orchidaceae. 5. Orquídeas. 6. Infecção por fungos micorrízicos. I. Borges, Cristina Machado. II. Sousa, Hildeberto Caldas. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 574

Bibliotecário(a) Responsável: Luciana De Oliveira - SIAPE: 1.937.800



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE
BIOMAS TROPICAIS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Rafael Ribeiro de Lima (Hikari Shin Lovestain)

Revisão Sobre as Relações de Regulação Entre os Diferentes Tipos de Microrrizas e Orquídeas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia de Biomas Tropicais da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia de Biomas Tropicais

Aprovada em 24 de setembro de 2021

Membros da banca

Dr. Hildeberto Caldas de Sousa - Orientador(a) - Universidade Federal de Ouro Preto

Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias - Universidade Federal de Minas Gerais

Dr. Denis Coelho de Oliveira - Universidade Federal de Uberlândia

Prof.Dr. Hildeberto Caldas de Sousa, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 10/03/2022



Documento assinado eletronicamente por **Hildeberto Caldas de Sousa, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/04/2022, às 16:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0305008** e o código CRC **905BE322**.

*“ Para quem deseja possuir o
mundo e age para isso
Vejo, não o conseguirá
O mundo é um recipiente
Que não se pode manipular
Quem o manipula, destrói
Quem o retém, perde
Pois as coisas
Caminham ou acompanham
Sopram quente ou sopram frio
São rígidas ou flexíveis
Ligam-se ou rompem-se
Por isso, o Homem Sagrado
Elimina o excesso
Elimina a opulência
Elimina a complacência
(Lao-Tzu - Tao Te Ching, Cap. 20)*

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Roseli, que embora tenha vivido inúmeros percalços em sua vida pessoal e para a manutenção dos meus estudos e criação, nunca desistiu e se empenhou ao máximo para que hoje eu estivesse aqui. Essa Guerreira correu, para que hoje eu pudesse caminhar. Por ter sido meu refúgio e meu amparo e nunca ter desistido de mim, de me apoiar e estimular a seguir sempre em frente. Olha onde eu cheguei, Mãe!

Ao meu marido, Dhiordan, que esteve comigo em todos os momentos, sejam eles felizes ou atribulados. Por ser meu porto seguro em todos os momentos e por sempre me estimular a “buscar as coisas do alto”. Por me auxiliar na subida e sempre estender a mão nos momentos em que escorreguei nos caminhos da vida. Pelo auxílio neste trabalho, sem o qual não creio que teria sido possível prosperar. Por compartilhar comigo a estrada da vida em busca da sabedoria e do aperfeiçoamento como humano. Por ser minha estrela-guia, mesmo nas noites mais escuras.

Ao meu orientador Hildeberto Caldas de Sousa pelo aceite à orientação, pelos ensinamentos e confiança. Por ter sempre me acolhido calorosamente em seu laboratório desde a graduação e ter me inspirado na vida acadêmica.

À minha coorientadora Cristina Machado Borges por ter aceitado embarcar nesse projeto, mesmo conhecendo as dificuldades que enfrentaríamos. Por toda ajuda e suporte preciosos na construção deste trabalho e pela amizade e ombro amigo sempre disponíveis nos momentos em que hesitei ou precisei “reclamar da vida”.

À Universidade Federal de Ouro Preto por propiciar ensino gratuito e de qualidade desde a minha graduação até o mestrado.

Ao Biomas pela oportunidade de continuar os meus estudos com pesquisadores e profissionais tão competentes.

À CAPES pela bolsa concedida durante o período de mestrado.

À Alexandra Elbakyan pelo precioso trabalho de romper as barreiras de acesso ao conhecimento, o que viabilizou muito o presente trabalho.

À minha família por terem acreditado em mim e estado comigo mesmo à distância. Particularmente ao meu sobrinho, Kauê, que por vezes me toma como referência, e por isso, me impulsiona sempre a tentar ser uma pessoa melhor. Espero poder nunca desapontá-lo.

A todos os amigos que a UFOP me possibilitou encontrar nessa vida, em especial aos “Absynthers”: Lorrana, Francieli, Gustavo e Flávia. Pelos momentos juntos de grandes conversas, descontração, amizade e apoio mútuos. Por acreditarem em mim e sempre terem partilhado momentos tão preciosos ao meu lado.

Às meninas do Herbário: Viviane e Deborah que no início do trabalho, nos projetos originais, me auxiliaram muito com ideias e ensinamentos. Há coisas que aprendi ali, e levarei para o resto de minha vida.

Às amigas Ana Paula, Régis e Bruna, pela amizade e companheirismo sempre.

Aos membros da Banca de Qualificação, Rosy e Denis, por terem compartilhado comigo ideias e ensinamentos excelentes. Pelas reflexões acerca da ciência e vida acadêmica logo no início do mestrado, me possibilitando sentir mais confiança nos passos que se seguiram.

Aos meus sogros, vô Amadeu e cunhada por sempre terem sido uma segunda família e terem apoiado a mim e ao meu marido em toda essa jornada acadêmica.

A todos os amigos que não foram mencionados, mas que sabem que não foram esquecidos e terão sempre seus lugares em meu coração, por toda amizade e carinho.

À Lei Imutável do Tao por reunir tudo e todos nesta minha breve existência.

Resumo

As orquídeas apresentam uma relação de total dependência com os fungos durante sua fase de germinação. Essa relação tão íntima entre fungo e planta exige uma regulação muito fina, que impacta na fisiologia e anatomia de ambos. As orquídeas possuem associações micorrízicas com fungos que possuem ação patogênica em outras plantas e isso exige delas uma série de adaptações para lidarem com essa patogenicidade e desfrutarem dos benefícios da associação. O presente trabalho visa sistematizar a visão mais recente sobre as relações de regulação entre orquídea e fungo e as implicações dos diferentes estilos de vida.

Palavras-chaves: associação micorrízica de orquídeas, colonização micorrízica, mecanismo de defesa planta/fungo, germinação de orquídeas

Abstract

Orchids are totally dependent on fungi during their germination phase. This close relationship between fungus and plant requires a very fine regulation, which impacts on the physiology and anatomy of both. Orchids have mycorrhizal associations with fungi that have a pathogenic action on other plants and this requires a series of adaptations to deal with this pathogenicity and enjoy the benefits of the association. This work aims to systematize the most recent view on the regulatory relationships between orchid and fungus and the implications of different lifestyles.

Keywords: mycorrhizal association of orchids, mycorrhizal colonization, plant/fungus defense mechanism, orchid germination

Lista de Figuras:

Figura 1: Exemplos dos tipos das micorrizas e suas características, sendo elas ectomicorriza, ectoendomicorriza, micorriza monotrópica, micorriza ericoide, micorriza de orquídea, micorriza arbuscular.....13

Figura 2: Esquema das hifas colonizando as raízes corticais e formando um peloton.....19

Figura 3: Coloração fúngica evidenciando as hifas fúngicas penetrando a semente da espécie *Dendrobium officinale* pela extremidade suspensora do embrião.....20

Figura 4: Pelotons na raiz da *Schoenorchis nivea*, evidenciando um peloton intacto e em espiral (hc), um peloton degenerado com restos de hifas (dp) e mc = células moniliformes21

Tabela:

Quadro 1: Termos utilizados para a localização de artigos para a revisão sistemática.....12

SUMÁRIO

Introdução	10
Critérios para a seleção de artigos	12
Bases de Dados	12
Limite de tempo e Critérios de Inclusão e Exclusão	12
As micorrizas	13
Características das micorrizas	15
A relação micorrízica e a germinação das orquídeas	17
Colonização das micorrizas	18
Diferenças entre orquídeas epífitas e terrestres	22
Os problemas na infecção das micorrizas	24
Perspectivas	28
Referências bibliográficas	29

Introdução

As orquídeas constituem uma das maiores famílias de angiospermas, com aproximadamente 880 gêneros e 27.800 espécies. Compreendem cerca de 8% de todas as plantas vasculares, com distribuição cosmopolita, exceto nas áreas de deserto e Antártica (Pridgeon, 1999; THE PLANT LIST, 2019). Atribui-se esta ampla distribuição a rápida especiação e diversificação a qual a família foi submetida. (Smith & Read, 1997).

Uma característica marcante das orquídeas são suas pequenas sementes, semelhantes a um pó e sem reservas nutricionais, o que torna necessária uma associação a um fungo micorrízico para poderem germinar (Peterson *et al.*, 2004). Esta dependência ocorre nos estágios antes do embrião se tornar fotossintético, embora orquídeas clorofiladas possam manter essa associação com os fungos por toda vida.

A revisão elaborada por Rasmussen & Rasmussen (2014) aponta para um outro impacto da relação de dependência entre as orquídeas e os fungos micorrízicos: o pólen agregado. Os autores apontam que a dependência aos fungos levou as sementes a serem extremamente pequenas, essa ausência de reservas permite uma produção de grande quantidade de sementes por cápsula de sementes. Essa grande quantidade de sementes necessita de uma grande quantidade de pólen em um único evento de fertilização, Isso explicaria o surgimento, na família *Orchidaceae*, das políneas e de outras especializações da coluna da flor para controlar o polinizador.

As orquídeas dependem dos fungos especialmente para obter minerais, além de carbono e outros nutrientes, e até mesmo hormônios vegetais. Estas trocas são reguladas por uma oferta e demanda da planta e do fungo (Rasmussen & Rasmussen, 2009; Simard, 2012). Uma característica única entre as orquídeas é sua preferência por nitrogênio na forma orgânica em detrimento da forma inorgânica (nitrato e amônio) comum em outras plantas. Em orquídeas o nitrogênio inorgânico pode ter efeitos inibitórios e até mesmo tóxicos (Figura, 2020).

O quão uma orquídea se dispersa na natureza é um fator influenciado pela diversidade de fungos ao qual ela pode se associar (Valadares, 2009; Pereira & Valadares, 2012). Orquídeas que se associam a mais de uma espécie de fungo

possuem maiores chances de colonizar distintos substratos, enquanto que se associam com uma única espécie de fungo ficam restritas aos locais de ocorrência do mesmo (Valadares, 2009; Pereira & Valadares, 2012).

Ao se produzir mudas com o intuito de reintrodução na natureza, aquelas produzidas com a presença de fungos possuem maior resistência às condições variadas do ambiente, mas para isso é necessário a utilização de fungos adequados, por isso é tão importante o conhecimento das espécies de fungos associados as orquídeas (Pereira & Valadares, 2012). Isto se faz especialmente necessário para ambientes muito ameaçados por atividades humanas, como aqueles próximos a grandes centros urbanos.

Devido a alta diversidade de morfologia floral e cores, nas últimas décadas, as orquídeas têm conquistado um significativo espaço no meio comercial e atraído a atenção de floricultores profissionais e amadores, além dos cientistas (Joly, 2002). Atualmente as orquídeas figuram entre as plantas mais apreciadas e de maiores valores comerciais. São produzidas em larga escala para a manutenção da indústria de floricultura, que tem se expandido exponencialmente nos últimos anos, tendo registrado cerca de 60 mil novos híbridos envolvendo dois ou mais gêneros (Raven *et al.* 2007).

O aumento do apreço ornamental adquirido pelas orquídeas, desde as grandes navegações, tem feito com que as plantas desta família venham sofrendo cada vez mais com a extração predatória de indivíduos de seus ambientes naturais. Tal extração tem ameaçado profundamente a diversidade de espécies endêmicas que, desde cedo, são retiradas às touceiras de seu habitat (Ramalho & Pimenta 2010).

Além da conscientização da população acerca dos danos e impactos sobre a diversidade provocados pela extração de maneira predatória, faz-se necessário o entendimento da fisiologia e adaptações das orquídeas/micorrizas para projetos de conservação e reintrodução de espécies ameaçadas em seus ambientes de origem (Santos, 2014).

O presente trabalho visa compilar o conhecimento sobre como se estabelece a relação planta e fungo nas orquídeas. Estas plantas passam por um processo de total dependência fúngica, ao menos na fase inicial de sua vida. Assim elas precisam estabelecer formas muito eficientes de controle em relação às espécies

fúngicas com as quais irão se associar, onde em seus tecidos as hifas vão penetrar e como essa relação com o fungo irá se manter ao longo de seu desenvolvimento. Essa regulação é ainda mais importante tendo em vista que as orquídeas costumam estabelecer relações micorrízicas com fungos patogênicos em outras plantas.

Critérios para a seleção de artigos

Bases de Dados

As buscas foram realizadas em duas bases de dados bibliográficas — Scielo e Google Scholar -- Tanto em língua portuguesa, quanto inglesa. Ao finalizar as pesquisas em cada base, as referências duplicadas foram excluídas.

Limite de tempo e Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram selecionados artigos publicados entre 2000 e 2021 (incluindo aqueles disponíveis online em 2021 que poderiam ser publicados em 2022). Foram incluídos todos os artigos originais indexados no período entre primeiro de janeiro de 2000 e 31 de Julho de 2021, cuja indexação correspondia às palavras-chaves pesquisadas (Quadro 1). Além disso, artigos cujo estudo contemplava somente uma das partes, fungo ou orquídeas, foram excluídos desta revisão. Isso se deve ao fato de que, nesta revisão, buscamos explorar a relação fungo-plantas e suas implicações.

Quadro 1 - Termos utilizados para a localização de artigos para a revisão sistemática

Termos em português:

Associação micorrízica de orquídeas; Micorriza orquidoide; Micorriza de orquídeas epífitas; Micorriza de orquídeas terrestres; Infecção micorrízica de orquídeas; Controle de infecção micorrízica de orquídeas.

Termos em Inglês:

Orchid mycorrhizal association; Orchid mycorrhiza; Mycorrhiza of epiphytic orchids; Mycorrhiza of terrestrial orchids; Mycorrhizal infection of orchids; Control of mycorrhizal infection of orchids.

As micorrizas

Segundo Amballa & Bhumi, 2016 as relações micorrízicas podem ser definidas como uma interface de troca de nutrientes e outras substâncias entre planta e fungo. E existem diferentes tipos de interações micorrízicas, que podem ser divididas em ectomicorriza, endomicorriza e ectoendomicorriza. Os autores elencam setes tipos de micorrizas (Figura 1): a ectomicorriza, ectoendomicorriza, micorriza monotrópide, micorriza ericoide, micorriza de orquídea, micorriza arbuscular, arbuscular vesicular (Amballa & Bhumi, 2016).

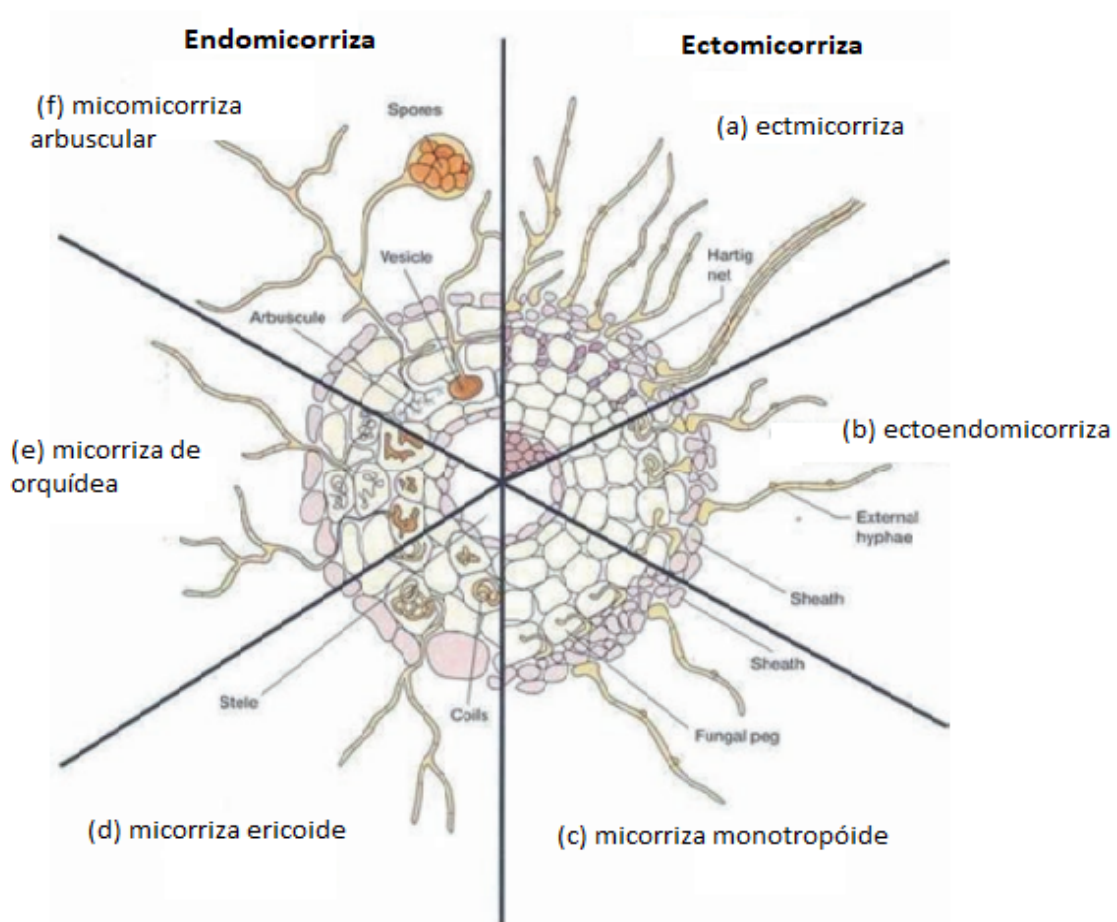


Figura 1: Exemplos dos tipos das micorrizas e suas características, sendo elas ectomicorriza (a), ectoendomicorriza (b), micorriza monotrópide (c), micorriza ericoide (d), micorriza de orquídea (e), micorriza arbuscular (f). (Adaptado de Amballa & Bhumi, 2016)

As associações micorrízicas são tão importantes para as orquídeas que a única característica compartilhada por todas as orquídeas é sua micoheterotrofia na

fase inicial de suas vidas (Suetsugu & Matsubayashi, 2021; Rasmussen & Rasmussen, 2014).

Suetsugu & Matsubayashi (2021) trazem uma proposta interessante de que essa relação inicial teria se desenvolvido como uma forma de trapaça das orquídeas. As vantagens que o fungo irá receber por auxiliar o crescimento da planta só virão depois, mas o fungo não tem como saber qual seria o parceiro que ele realmente deveria investir. Os autores chegaram a esta proposta investigando a espécie *Apostasia nipponica*, uma orquídea de características basais da família Orchidaceae.

Os fungos aos quais as orquídeas comumente se associam pertencem a três clados principais de fungos: Ceratobasidiaceae, Tulasnellaceae e Sebacinales. Estes fungos podem viver de forma totalmente independente das orquídeas (Martos *et. al* 2012). Essa independência dos fungos das orquídeas tornam necessárias estratégias para atrair os mesmos e estabelecer uma relação que a princípio não irá trazer nenhuma vantagem para o fungo. Os estágios iniciais da germinação são aclorofilados e não parecem ter nada a oferecer ao seu parceiro fúngico que poderia caracterizar uma relação mutualística (Rasmussen & Rasmussen, 2009).

Rasmussen & Rasmussen (2009) propõe ainda uma diferença entre as plantas que são simbiotes com seus parceiros fúngicos e as orquídeas. Apontando que durante a fase necrotrófica, as orquídeas apresentam uma resposta que mata o invasor, que apresenta características levemente patogênicas.

A presença nas orquídeas de uma fase necrotrófica, em que as hifas serão degradadas é claramente unilateral, e ao menos uma parte das hifas o serão (Rasmussen & Rasmussen, 2009). Enquanto que na transferência biotrófica, mais comum em outras associações micorrízicas, as trocas podem ocorrer de maneira mútua. O autor chega a ponderar se a relação das orquídeas com os fungos não seria melhor descrita como parasitária, por meio de sua ação de micofagia, ao menos na fase inicial da colonização do embrião.

Justamente pela importância na fase inicial das sementes, o uso de fungos micorrízicos para promover a germinação em programas de conservação de orquídeas tem ganhado destaque, sendo considerada uma ferramenta eficaz na reintrodução de espécies (Meng *et al.* 2019). Genótipos diferentes nas plantas

permitem uma maior diversidade de associações fúngicas, o que pode melhorar o sucesso do estabelecimento da muda (Wu *et al.*, 2020).

Características das micorrizas

Podemos definir as micorrizas como sendo relações de dependência entre fungos e plantas, nas quais as orquídeas são as dependentes dos fungos. Os fungos que são micorrízicos colonizam as raízes das plantas, trazendo benefícios, especialmente na forma de fonte de carbono (Albornoz *et al.* 2021).

Em sua revisão sobre os dogmas estabelecidos sobre as micorrizas no decorrer dos anos, Albornoz *et al.* (2021) sintetiza as abordagens sobre as micorrizas em quatro tipos:

- 1) A maioria das espécies de plantas vasculares são micorrízicas.
- 2) Ser micorrízico ou não é uma característica taxonômica: famílias de plantas são tipicamente micorrízicas ou não.
- 3) A colonização micorrízica implica benefícios para a planta em termos de maior absorção de fósforo (P).
- 4) A ecologia e distribuição dos fungos micorrízicos depende do subgrupo micorrízico ao qual pertencem.

Albornoz *et al.* 2021 trazem a problemática de que os estudos de associações micorrízicas devem se voltar a compreender melhor como a presença de micorrizas pode afetar ecologicamente a planta e não apenas focar-se em atividades descritivas e correlativas, tais como sequenciamento. Segundo os autores, somente assim poderemos compreender como as micorrizas podem influenciar a diversificação e persistência das plantas nos habitats.

Podemos dividir as micorrizas em duas grandes categorias, as ectomicorrizas, que se caracterizam por fungos colonizando os espaços entre as células e as endomicorrizas, onde os fungos se desenvolvem no interior das células (Favre-Godal, *et al.* 2020).

As orquídeas fotossintéticas geralmente formam micorrizas com fungos da família *Tulasnellaceae*, *Ceratobasidiaceae* e *Serendipitaceae*, porém elas também podem fazer associações micorrízicas com fungos das famílias *Thelephoraceae*, *Sebacinaceae*, *Inocybaceae* e *Tuberaceae* que são fungos micorrízicos de árvores

(Xing *et al.*, 2020). Estes últimos autores propõem que as orquídeas podem se associar a uma grande diversidade de fungos, e as espécies de grande distribuição podem formar parcerias com diversos parceiros fúngicos.

Uma espécie de orquídea pode ser generalista em suas associações, com diversos parceiros de diferentes espécies fúngicas ou então especialista, com poucos parceiros. Essa parceria irá afetar diretamente a área geográfica de ocorrência da orquídea, resultando em uma ocorrência mais ampla, nas generalistas ou estreita, nas especialistas (Xing *et al.*, 2020).

Existem aproximadamente 235 espécies de orquídeas que não possuem clorofila e são totalmente dependentes de seu parceiro micorrízico para sobreviverem, e elas recebem o nome de mico-heterotróficas obrigatória (Eskov *et al.* 2020). Os tipos de associações de orquídeas com fungos micorrízicos entram em três tipos de categorias:

- As do tipo Saprotróficos que não formam redes micorrízicas com árvores hospedeiras;
- As que formam redes micorrízicas com fungos ectomicorrízicos com as árvores da floresta, recebendo carbono indiretamente das árvores ao redor;
- As que formam parcerias com fungos saprotróficos de decomposição de madeira ou serapilheira e não tem nenhum contato com árvores vivas (Eskov *et al.* 2020).

As diferenças nas composições de comunidades micorrízicas podem se dar por diversos fatores extrínsecos como a variação de pH do solo, teor de umidade do solo, tipo de habitat, local geográfico e características do solo, esses são os fatores extrínsecos (Xing *et al.*, 2020). Já os fatores intrínsecos, como a diferenciação genética e a filogenia da orquídea hospedeira também exercerão influência em como as comunidades micorrízicas vão se estruturar.

Em seu estudo com as espécies *Gymnadenia conopsea* e *Epipactis helleborine*, Xing *et al.* 2020 demonstram que, as relações nas comunidades micorrízicas de orquídeas, elas diferem muito em grandes áreas geográficas, pois ambas as espécies ocorrem tanto na Ásia quanto na Europa. Os autores encontraram que a distribuição dessas orquídeas não é necessariamente restrita pela distribuição de fungos micorrízicos de orquídeas.

Na espécie *E. helleborina* o fungo micorrízico pode fornecer de 20% a 100% de seu carbono para a planta, dependendo da época da estação de crescimento. Enquanto *G. conopsea* é considerada autotrófica, ainda que possua uma pequena quantidade de carbono oriunda do fungo. Embora não seja claro o porquê, mas segundo os resultados dos autores a *E. helleborine* é mais oportunista em associações de fungos do que *G. conopsea*.

A relação micorrízica e a germinação das orquídeas

Como as orquídeas possuem sementes muito pequenas e sem reservas que permitam o crescimento do embrião, logo foi sugerido que durante a fase de germinação, as sementes requerem uma associação fúngica específica, para sustentar o embrião (Favre-Godal *et al.* 2020). O embrião das orquídeas tem poucas células, e a taxa de divisão celular é lenta, se comparado à de outras plantas com flores (Yeung, 2017). Além disso, após o início da germinação o próximo estágio é o protocórmio, antes de se formar uma plântula, e é nesse estágio que a associação fúngica se estabelecerá.

As orquídeas utilizarão diferentes parceiros fúngicos em estágios de vida diferentes (Meng *et al.* 2019). Estes autores investigaram os efeitos de fungos micorrízicos de plantas adultas da espécie *Dendrobium exile* na germinação de sementes, formação de protocórmios e desenvolvimento de mudas e encontraram que o fungo isolado de mudas é mais eficiente em suportar o crescimento das sementes, do que o fungo isolado de raízes de plantas adultas.

Podemos destacar que a diversidade de espécies fúngicas dependem das espécies de orquídeas, da etapa de vida do indivíduo, da diversidade gênica de fungos no ambiente e se existem outros parceiros e em qual a densidade esses fungos ocorrem, para que essa parceria se estabelecer (FAVRE-GODAL, *et al.* 2020).

Qual estratégia micorrízica a planta irá utilizar dependerá de sua espécie. Após o estágio do protocórmio não fotossintético ela pode se tornar uma orquídea de associações micorrízicas obrigatórias, facultativa, parcial ou mesmo micoheterotrófica (Favre-godal, *et al.* 2020; Selosse & Roy 2009; Rasmussen & Rasmussen 2009).

McCormick *et al* 2006 pesquisaram a colonização dos protocórmios da *Goodyera pubescens*, e constataram que nesta fase o protocórmio se associou somente a um tipo de fungo, mesmo estando na presença de dois fungos. No trabalho é proposto que tanto os fungos podem possuir barreiras físicas ou químicas que previnam a colonização por outro fungo. Como também o próprio protocórmio possui mecanismos de evitar a colonização simultânea por mais de um tipo de fungo nesta etapa do desenvolvimento.

As plantas adultas conseguem realizar essa troca sem problemas. Uma possível vantagem ao protocórmio apontada pelos autores é evitar a disputa que poderia ocorrer entre os dois tipos diferentes de fungos, enquanto o protocórmio está tão dependente da troca fúngica (McCormick *et al* 2006).

O tipo de relação que se estabelece entre os fungos e a micorriza pode envolver até mesmo parceiros fúngicos que são patogênicos em outras espécies de plantas, o que pode indicar que as orquídeas apresentam algum mecanismo de neutralizar a virulência dos fungos patogênicos (Sathiyadash *et al.*, 2020). E nessa relação simbiótica entre orquídea e fungo, a orquídea é sempre o parceiro dominante (Sathiyadash *et al.*, 2020).

Micorrizas não específicas também podem ser capazes de estimular a germinação, contudo essas micorrizas não são capazes de suportar todo o crescimento das mudas (FAVRE-GODAL, *et al.* 2020). Favre-Godal, *et al.*, (2020) em sua revisão trazem diversos exemplos, como o caso da *Arundina graminifolia*, em que das seis espécies fúngicas isoladas de raízes adultas e plântulas avançadas, somente 4 espécies suportaram a germinação do embrião.

Outro exemplo é o caso dos *Dendrobium*, em que fungos isolados de raízes adultas não sustentaram a germinação de sementes até a fase de plântulas, sugerindo que os fungos das plântulas e das plantas adultas ocupam papéis diferentes, com diferentes benefícios em cada etapa da vida da planta (FAVRE-GODAL, *et al.* 2020).

Colonização das micorrizas

As hifas fúngicas são encerradas na forma de pelotons (Figura 2) nas células vegetais por meio de uma rede de membranas vegetais extensas (Rasmussen &

Rasmussen, 2009). As hifas fúngicas ao colonizarem as células corticais formarão uma estrutura em que as hifas ficam enroladas e circundadas por uma membrana plasmática muito invaginada (Evert & Eichhorn, 2014). Então irão ocorrer trocas nas membranas celulares, pela via transcelular por meio dos tonoplastos, a membrana lipoprotéica que limita os vacúolos vegetais (Rasmussen & Rasmussen, 2009). Nesta rede as hifas serão absorvidas e parte do micélio irá morrer (Figura 4).

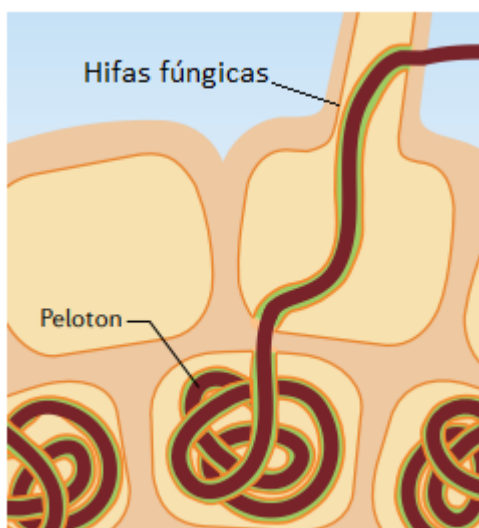


Figura 2: Esquema das hifas colonizando as raízes corticais e formando um peloton. (Modificado de Genre *et al.* 2020)

A membrana que circunda os pelotons é de origem da orquídea. O próprio citoesqueleto da planta sofre modificações em seus microtúbulos e os filamentos de actina vão se tornar mais associados aos pelotons em desenvolvimento (Peterson & Massicotte, 2004). E nessa região de matriz interfacial é onde ocorrem as trocas de nutrientes, assim como a degradação dos pelotons. Em seguida essas células com as hifas degradadas podem ser recolonizadas e reiniciar o ciclo.

Durante a germinação, as hifas fúngicas irão se associar durante a fase do protocórmio (Yeung, 2017). Durante a germinação simbiótica, a colonização fúngica ficará restrita à extremidade suspensora do protocórmio (Figura 3) (LI *et. al.*, 2018). Isso é um fator muito importante, pois o local por onde as hifas entrarão irá ditar se a associação será bem sucedida ou não.

Na fase inicial da germinação, as hifas fúngicas compatíveis entram pelo protocórmio, enquanto as incompatíveis não (Figura 3). Comumente as hifas irão

penetrar por meio de rizóides ou outras células epidérmicas e os tricomas podem ser uma forma de facilitar essa colonização (Yeung, 2017).



Figura 3: Coloração fúngica evidenciando as hifas fúngicas penetrando a semente da espécie *Dendrobium officinale* pela extremidade suspensora do embrião (Modificado de Zhang *et. al.*, 2020).

Li *et. al*, 2018 investigaram o papel das proteínas estruturais, no caso as glicoproteínas ricas em hidroxiprolina (HRGPs), na germinação simbiótica de *Dendrobium officinale*. Os autores buscaram avaliar o efeito das HRGPs devido a conhecida ação destas proteínas nas interações simbióticas e defesa da planta. Quatro genes foram encontrados a regular positivamente os protocórmios germinados simbioticamente.

Os autores descrevem que as hifas penetraram pelas células do parênquima basal via o suspensor (Figura 3). E sugerem que a colonização micorrízica poderia induzir a *síntese* de HRGPs em células basais dos protocormios de *Dendrobium*, se preparando para o processo de colonização (LI *et. al*, 2018).

As HRGPs teriam a função de limitar a propagação das hifas dentro das células basais dos protocormios, uma vez que essas proteínas têm a função de reforçar a parede celular. A presença das HRGPs pode agir protegendo o meristema da raiz de infecções em outras plantas, como no caso do milho. Mas no caso das orquídeas ainda são necessários mais estudos investigando a função das HRGPs no meristema (Li *et al*, 2018).

Segundo Rasmussen & Rasmussen (2009), os fungos possuem um tipo de célula que promove o armazenamento e a concentração de compostos, as células monilióides (Figura 4). Os fungos rizoctonioide ao estabelecerem a associação micorrízica ficam dentro dos pelotons e acumulam proteínas e glicogênio nessas células que irão formar os escleródios. Esse acúmulo de proteínas e glicogênio nas hifas, aumenta o valor nutricional do fungo para a orquídea. O autor ainda propõe que talvez as orquídeas possuam meios de favorecer a formação dessas células monilióides por meio de um meio intracelular propício (Figura 4).

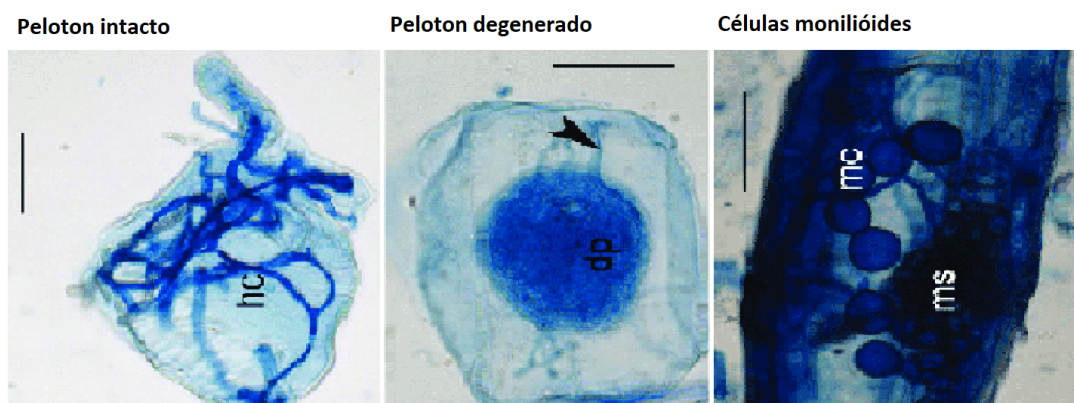


Figura 4: Pelotons na raiz da *Schoenorchis nivea*, evidenciando um peloton intacto e em espiral (hc), um peloton degenerado com restos de hifas (dp) e mc = células moniliformes (Modificado de Balachandar *et al.* 2019).

Schnitzler *et. al.*, (2020) compararam os micélios micorrizicos de orquídea e os micélios de vida livre. Os autores, por meio de análises de metabolômica, investigaram in vitro a associação micorrízica entre a orquídea mediterrânea *Serapias vomeracea* e o basidiomiceto *Tulasnella calospora*. Foi encontrado um aumento na produção de constituintes lipídicos estruturais das membranas celulares e seus precursores metabólicos nos micélios em associação micorrízica.

Dos lipídios encontrados acima, os mais amostrados nos micélios micorrizicos foram os glicerofosfolípidos e em particular a fosfatidilserina, que atua no funcionamento de várias proteínas de ação de sinalização intracelular (SCHNITZLER *et. al.*, 2020). Os autores ressaltam a importância de alguns lipídios

de membrana nas interações patogênicas e mutualísticas, como por exemplo os lisofosfolídeos, que também regulam o crescimento.

Vale ressaltar que no embrião maduro das orquídeas os grânulos de amido são raros, enquanto existem abundantes depósitos de proteínas e lipídios. Ainda não é bem compreendido como esses depósitos afetam a germinação das orquídeas (Yeung, 2017).

Schnitzler *et. al* 2020 em sua discussão ficaram intrigados com a quantidade aumentada de lipídios de membrana estrutural nas hifas externas, particularmente das moléculas de sinalização. E apontam que isso poderia ser um reflexo de uma necessidade de biogênese da membrana após a simbiose com a orquídea ocorrer.

Diferenças entre orquídeas epífitas e terrestres

Uma orquídea terrestre é colonizada por fungos de maneira diferente das epífitas e litofíticas (Sathiyadash *et al.*, 2020). Primeiramente o fungo irá penetrar na raiz pelos pêlos radiculares, até chegar às células epidérmicas. Nas plantas de hábito epífita a raiz em contato direto com o substrato irá ser colonizada pelas micorrizas, enquanto aquelas livres, não serão colonizadas (Sathiyadash *et al.*, 2020). Mas caso essa raiz aérea entre no substrato também será colonizada (Muthukumar & Kowsalya, 2017).

Nos estudos de Yuan & Yang (2008), os autores investigaram como os fungos colonizavam a orquídea *Dendrobium Nobile*, uma espécie epífita, em ambiente natural. Apesar dos autores não conseguirem concluir se os fungos colonizaram intercelularmente ou intracelularmente nas folhas e raízes, encontraram outros dados interessantes. Cento e setenta e duas culturas de fungos foram isoladas de 288 amostras saudáveis de tecidos de *D. nobile* e as folhas foram mais colonizadas do que raízes e caule. E o caule, apesar de possuir menor taxa de infecção, apresentou maior diversidade de espécies de fungos se comparado às folhas e raízes.

Os autores ainda apontam que alguns fungos, como o *Guignardia mangiferae* não seriam fungos que prefeririam o hospedeiro, mas sim o tecido, estando presente majoritariamente nas folhas. Já os *Xylariaceae* não apresentaram preferência por tecidos e foram encontrados em todos os tecidos. Os efeitos desses

fungos micorrízicos nas folhas ainda não são bem compreendidos, mas é apontado que eles possam interferir na taxa de infecção dos fungos radiculares em gramíneas (Omacini *et al.* 2006).

Uma outra diferença notável entre as orquídeas epífitas e terrestres é o seu tempo de germinação e crescimento. As orquídeas terrestres têm um tempo de desenvolvimento mais longo, no qual irão depender totalmente do fungo, enquanto as orquídeas epífitas germinam na luz e logo conseguem realizar a fotossíntese (Leake & Cameron 2012). Essa diferença de tipos de ambientes em que crescem seria mais uma razão a explicar os tipos diferentes de associações micorrízicas que ocorrem entre as plantas epífitas e terrestres (Leake & Cameron, 2012).

Eskov *et. al.* (2020) avaliou se orquídeas epífitas adultas crescendo em árvores vivas conseguiriam estabelecer redes micorrízicas que penetrassem no floema dos galhos das árvores, interceptando substâncias orgânicas. Os autores concluíram que estas orquídeas não estabeleciam uma relação caracterizada como micoheterotrofia epiparasitária. Mesmo nas espécies que viviam em sombra profunda, que em teoria necessitariam de uma fonte de carbono via fungo, visto que a falta de luz seria um fator limitante à autotrofia das orquídeas.

Além disso, os autores confirmaram uma baixa colonização das raízes de orquídeas epífitas pelos fungos e que essa colonização estava limitada a poucas seções da raiz. Essa baixa colonização estaria relacionada ao fato de que no ambiente epífita, com a secagem das raízes e também do substrato, seria quase impossível a rede micorrízica se estabelecer tal como acontece com as redes do solo (Eskov *et. al.* 2020). Foi constatado também que a espécie da árvore afeta com quais espécies de fungos as orquídeas irão fazer parcerias micorrízicas.

Sathiyadash *et. al.*, 2012 obteve um resultado diferente em sua comparação entre a colonização por hifas em orquídeas terrestres e epífitas nativas do sul da Índia. Os autores amostraram 31 espécies, destas 22 eram epífitas, 8 terrestres e 1 de hábito epífita e terrestre. As epífitas apresentaram níveis moderados de colonização, em média 56,83%, enquanto que nas terrestres o nível de colonização foi de 72,12%.

A análise filogenética desenvolvida por Martos *et. al* 2012 aponta para a hipótese de que as orquídeas epífitas, por viverem em um ambiente mais hostil,

com menor disponibilidade de recursos, mais estresse hídrico e menos nutrientes, teria favorecido a cooperação com parceiros fúngicos.

Neste sentido os fungos que facilitam a obtenção de água e nutrientes sofreriam forte pressão seletiva para uma maior associação com as orquídeas epífitas, com o benefício de que receberiam mais produtos fotossintéticos, uma vez que as orquídeas teriam maior acesso a luz que do que as que ficam na sombra da floresta.

Os problemas na infecção das micorrizas

Um dos problemas que as orquídeas precisam lidar é a maneira como elas vão estabelecer sua relação com seus fungos micorrízicos, visto que alguns são patogênicos em outras plantas. Um exemplo é o caso do *Rhizoctonia solani* que ataca sementes vivas e tecidos de outras plantas, como a soja e a batata, e que pode levar a necrose dos tecidos. Porém nas orquídeas o fungo permite a germinação das sementes (Rasmussen & Rasmussen, 2014).

Rasmussen & Rasmussen (2014) aponta que para que essa relação ocorra alguns ajustes são necessários. Um deles é que a orquídea apresente uma reação de defesa fraca frente a invasão fúngica e também que elas tenham controle sobre o crescimento das hifas intracelularmente. Um exemplo deste controle pode vir pelo hormônio vegetal estrigolactonas, produzido nos pelos das raízes.

A colonização dos tecidos das orquídeas pelo fungo começa pelas hifas que penetram as paredes celulares, comumente onde a cutícula é mais fraca ou ausente (Rasmussen & Rasmussen, 2009). Inclusive alguns fungos saprófitos e ectomicorrízicos secretam enzimas degradativas de componentes das paredes celulares das plantas (Rasmussen, 1995). Porém alguns tecidos, ou órgãos acima do substrato muitas vezes não são invadidos, o que sugere que existem defesas estruturais e fisiológicas na planta para resistir a invasão fúngica (Rasmussen & Rasmussen, 2009).

As orquídeas produzem enzimas antifúngicas, como a fitoalexina, produzida em resposta a ferimentos ou infecção fúngica, e também podem produzir lucianthrin e crisina. O lucianthrin age mantendo a infecção sob controle dentro dos tecidos

micófagos e a crisina agiria na prevenção da infecção dos tecidos fotossintéticos (Rasmussen & Rasmussen, 2009).

Shimura *et. al.* (2007) encontrou um grande aumento no nível de lucianthrin logo após a infecção do fungo simbiótico, que estaria envolvido na regulação da germinação, agindo como uma forma de controle neste momento crítico da germinação. Enquanto o composto crisina, também antifúngico, embora não detectado no momento da germinação, estaria auxiliando na proteção das plantas adultas, conforme propõe os autores.

Outra forma de se proteger é por meio da “resposta de defesa rápida”, iniciada após a detecção de elicitores patogênicos provenientes dos fungos. Essa resposta irá provocar uma efluxo de Cl^- e então K^+ seguido então por um influxo de Ca^{2+} e H^+ no citoplasma (Umata *et. al.*, 2021).

O Ca^{2+} está envolvido na síntese de superóxido e peróxido de hidrogênio, e ambos são tóxicos para fungos patogênicos por serem espécies reativas de oxigênio (ROS). Apesar disso, no estudo de Schnitzler *et. al.* 2020 os genes reguladores de fosfolipases A2 independentes de Ca^{2+} foram os mais expressos no fungo *Tulasnella calospora*. Isso se explica, pois as fosfolipases A2 independentes de Ca^{2+} atuam na homeostase da membrana, transdução de sinal e virulência do fungo (Valentín-Berrios *et al.*, 2009).

Umata *et. al.* (2021) descobriram que a adição de K^+ , Ca^{2+} e H_2O_2 aumenta a taxa de germinação da orquídea *Cyrtosia septentrionalis*, em condições assimbióticas. Os autores apontam que o principal papel desses compostos é o de afrouxar a parede celular, deste modo enfraquecendo o tegumento da semente facilitando ao embrião o romper. Esse mecanismo estaria provavelmente na chave da evolução da germinação micoheterotrófica das orquídeas.

Shimura & Koda (2005), em seu estudo com a espécie *Cypripedium macranthos* var. *rebunense*, aponta que a deficiência nutricional prolongada dos protocórmios em cultura e altas temperaturas, contribuem para uma perda da associação fúngica, levando os protocórmios a apodrecerem. Os autores sugerem que esse estresse térmico, aliado a deficiência nutricional reduzem a produção de compostos antifúngicos por parte dos protocórmios, o que não os permite controlar o quanto o fungo irá invadir seus tecidos (Shimura *et al.*, 2007).

Na espécie *Dendrobium catenatum*, Wu *et al.*, (2020) observaram uma produção de compostos de ação antifúngica, como a naringenina em resposta a infecção do fungo *Leptosphaeria microscopica*. Destacam em seu texto a necessidade de estudos para compreender melhor o efeito da naringenina na associação orquídea-fungo.

Espécies de fungos *Leptosphaeria* são conhecidas por serem patogênicas em plantas, e o *L. microscopica* é conhecido por ser encontrado em lesões foliares causadas por outros fungos (Wu *et al.*, 2020). Os autores também encontraram um aumento no conteúdo total de fenol e flavonóides nas folhas que foram infectadas pelo fungo *Guignardia sp* (Wu *et al.*, 2020).

Os pesquisadores concluíram que as variações nas concentrações de metabólitos nas plântulas em resposta a diferentes fungos seria em decorrência de diferentes genótipos. O genótipo da planta a tornaria mais ou menos suscetível a invasão fúngica e este mecanismo estaria por trás da regulação da resposta da planta ao fungo (Wu *et al.*, 2020).

Como as hifas precisam entrar no protocórmio pela região suspensora do embrião, essa diferença de concentração de metabólitos nas plântulas, pode afetar o sucesso ou fracasso da relação micorrízica (Figura 3). Yeung (2017), aponta que a produção de material fenólico pode guiar as hifas em direção ao embrião.

Em seus resultados Wu *et al.* (2020), constataram que diferentes genótipos de plantas da mesma espécie mostram diferentes reações ao serem infectadas pela mesma espécie de fungo. O melhor entendimento desta interação ainda é limitado, visto que as relações dos fungos *Tulasnella* com o acúmulo de componentes metabólicos, especialmente os de efeito positivo para a planta, ainda é escasso (Wu *et al.*, 2020). Ainda é destacado pelos autores que o melhor entendimento dessa relação pode permitir a seleção de cultivares de *Dendrobium catenatum* em um programa de melhoramento. A espécie é medicinal, e selecionar espécies que produzam mais compostos fenólicos é de grande valor farmacêutico.

Outro aspecto relevante na associação com fungos é como lidar com os fungos patogênicos. Downing *et al* (2020) comparou duas espécies de orquídeas invasoras, *Cyrtopodium flavum* e *Eulophia graminea* no sul da Flórida, com suas respectivas congêneres, *C. punctatum* e *E. alta*. Os autores investigaram os graus de especificidade micorrízica, bem como as associações com fungos patogênicos.

Seus resultados mostraram que as orquídeas nativas fazem mais associações com fungos patogênicos (Ascomycetes), sendo 52% das associações, e eles não dão suporte a germinação de sementes. Enquanto as duas espécies introduzidas fazem mais associações com fungos micorrízicos de orquídeas benéficos, representando 75% de suas associações e eles suportam o crescimento de sementes.

Os autores ainda encontraram que o número de relação com os ascomycetos foi semelhante em ambas as espécies nativas. Mesmo com as diferenças de crescimento vegetativo, uma epífita e a outra terrestre. Isso aponta para a importância da co-evolução dos fungos patogênicos com essas espécies nativas de orquídeas.

As orquídeas invasoras possuem a vantagem de poder se associar majoritariamente a fungos benéficos, o que permite melhorar sua fecundidade, uma vez que não precisam alocar recursos para lidar com a patogenicidade dos fungos (Downing *et al.*, 2020). Além disso, a não colonização por fungos patogênicos permite maior espaço para colonização por fungos micorrízicos de orquídeas nas células corticais da raiz. Se orquídeas invasoras são liberadas de patógenos em um novo local, isso pode aumentar a fecundidade geral por meio da realocação de recursos da defesa para o crescimento e a reprodução.

Podemos resumir as regulações entre planta e fungo naquelas de natureza estrutural e química. A estrutural é o modo de desenvolvimento e estabelecimento dos pelotons, que por sua anatomia podem restringir e limitar a infecção fúngica. As de natureza química envolvem a ação dos fitohormônios, como a estrigolactonas, e as enzimas antifúngicas, lucianthrin e crisina.

Além desses mecanismos as orquídeas também podem usar os compostos secundários tanto como forma de atrair os fungos, como também inibir seu crescimento. Outra forma de controlar a infecção fúngica é por meio da “resposta de defesa rápida”, mediada pelo efluxo de Cl⁻ e K⁺ seguido pelo influxo de Ca²⁺ e H⁺.

Perspectivas

A relação de como as orquídeas controlam as infecções fúngicas e os tipos de reguladores envolvidos ainda é bastante recente e existe uma área muito promissora de estudos. A diferença entre as orquídeas epífitas e terrestres também pode trazer novos insights sobre a relação ecológica fungo/planta. As orquídeas epífitas são particularmente pouco compreendidas, tendo em vista que a grande maioria dos estudos são feitos com orquídeas terrestres e de regiões temperadas.

As florestas tropicais americanas e suas dinâmicas ecológicas orquídea/fungo ainda são pouquíssimo exploradas. Os estudos comparativos mais recentes foram feitos com espécies do leste asiático. E as particularidades dos biomas sul americanos podem expandir a compreensão das relações dentro da família Orchidaceae.

A grande diversidade da flora Orchidaceae das Américas, especialmente a brasileira, pode também revelar o conhecimento de novos compostos, como a naringenina recém descrita e sobre a qual ainda se sabe muito pouco.

A compreensão de como os compostos fenólicos regulam a relação planta/fungo pode não só beneficiar o entendimento da relação em si, como também o entendimento da fisiologia de orquídeas potencialmente medicinais. Novamente estudos nessa direção têm sido feitos no leste asiático, mas na flora americana, particularmente a brasileira, os estudos ainda são exíguos, sendo poucos os estudos desenvolvidos neste sentido até o momento.

O maior entendimento das espécies de fungos mais propícias a atuar beneficentemente na germinação de sementes de espécies de orquídeas ameaçadas no Brasil poderá otimizar a produção de mudas. Um programa eficiente de produção de mudas permitirá uma maior eficácia dos programas de reintrodução e conservação das espécies.

Referências bibliográficas

Albornoz, F., Dixon, K., & Lambers, H. (2021). Revisiting mycorrhizal dogmas: Are mycorrhizas really functioning as they are widely believed to do?. *Soil Ecology Letters*, 3(1), 73-82. <https://doi.org/10.1007/s42832-020-0070-2>

Amballa, H., & Bhumi, N. (2016). Significance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizosphere Microflora in Plant Growth and Nutrition. *Plant-Microbe Interaction: An Approach To Sustainable Agriculture*, 417-452. https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0_19

Balachandar, M., Ravi, R., Nagaraj, K., & Muthukumar, T. (2019). Vegetative anatomy and mycorrhizal morphology of *Schoenorchis nivea* (Lindl.) Schltr., (Orchidaceae) and their adaptive significance. *Acta Biologica Szegediensis*, 63(1), 1-13. <https://doi.org/10.14232/abs.2019.1.1-13>

Downing, J., Liu, H., McCormick, M., Arce, J., Alonso, D., & Lopez-Perez, J. (2020). Generalized mycorrhizal interactions and fungal enemy release drive range expansion of orchids in southern Florida. *Ecosphere*, 11(8). <https://doi.org/10.1002/ecs2.3228>

Eskov, A., Voronina, E., Tedersoo, L., Tiunov, A., Manh, V., & Prilepsky, N. *et al.* (2020). Orchid epiphytes do not receive organic substances from living trees through fungi. *Mycorrhiza*, 30(6), 697-704. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00980-w>

Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2014). *Raven: Biologia Vegetal*. Editora Guanabara Koogan LTDA.

Favre-Godal, Q., Gourguillon, L., Lordel-Madeleine, S., Gindro, K., & Choisy, P. (2020). Orchids and their mycorrhizal fungi: an insufficiently explored relationship. *Mycorrhiza*, 30(1), 5-22. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00934-2>

Figura, T., Weiser, M., & Ponert, J. (2020). Orchid seed sensitivity to nitrate reflects habitat preferences and soil nitrate content. *Plant Biology*, 22(1), 21-29. <https://doi.org/10.1111/plb.13044>.

Genre, A., Lanfranco, L., Perotto, S., & Bonfante, P. (2020). Unique and common traits in mycorrhizal symbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 649-660. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0402-3>.

Joly A. B. (2002) Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional.

Leake, J., & Cameron, D. (2012). Untangling above- and belowground mycorrhizal fungal networks in tropical orchids. *Molecular Ecology*, 21(20), 4921-4924. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2012.05718.x>

Li, Y., Chen, X., Zhang, Y., Cho, Y., Wang, A., & Yeung, E. et al. (2018). Immunolocalization and Changes of Hydroxyproline-Rich Glycoproteins During Symbiotic Germination of *Dendrobium officinale*. *Frontiers In Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00552>

Martos, F., Munoz, F., Pailler, T., Kottke, I., Gonneau, C., & Selosse, M. (2012). The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids. *Molecular Ecology*, 21(20), 5098-5109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2012.05692.x>.

McCormick, M., Whigham, D., Sloan, D., O'Malley, K., & Hodkinson, B. (2006). Orchid–fungus fidelity: a marriage meant to last?. *Ecology*, 87(4), 903-911. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[903:ofammt\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[903:ofammt]2.0.co;2)

Meng, Y., Shao, S., Liu, S., & Gao, J. (2019). Do the fungi associated with roots of adult plants support seed germination? A case study on *Dendrobium exile* (Orchidaceae). *Global Ecology And Conservation*, 17, e00582. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00582>

Muthukumar T., Kowsalya A. (2017). Comparative anatomy of aerial and substrate roots of *Acampe praemorsa* (Rox.) Blatt. & McCann. *Flora*, 226, 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.11.001>

Omacini, M., Eggers, T., Bonkowski, M., Gange, A., & Jones, T. (2006). Leaf endophytes affect mycorrhizal status and growth of co-infected and neighbouring plants. *Functional Ecology*, 20(2), 226-232. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01099.x>

Pereira, M. C. & Valadares, R. B. (2012) Diversidade e aplicação dos fungos micorrízicos de orquídeas brasileiras. *Biodiversidade Em Foco*, p. 69.

Peterson, R. L., Massicotte, H. B., Melville, L. H. (2004) *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. NRC Research Press.

Peterson, R., & Massicotte, H. (2004). Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal Of Botany*, 82(8), 1074-1088. <https://doi.org/10.1139/b04-071>

Pridgeon, A. M. (Ed.). (1999). *Genera orchidacearum* (Vol. 2). Oxford University Press on Demand.

Ramalho, A., & Pimenta, H. (2010). Valoração econômica do dano ambiental ocasionado pela extração ilegal da orquídea *cattleya granulosa* no parque natural dom nivaldo monte, natal/rn. *HOLOS*, 1, 62. <https://doi.org/10.15628/holos.2010.333>

Rasmussen, H. N (1995). *Terrestrial orchids. From seed to mycotrophic plant*. Cambridge Univ. Press.

Rasmussen, H., & Rasmussen, F. (2009). Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. *Oikos*, 118(3), 334-345. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.17116.x>

Rasmussen, H., & Rasmussen, F. (2014). Seedling mycorrhiza: a discussion of origin and evolution in Orchidaceae. *Botanical Journal Of The Linnean Society*, 175(3), 313-327. <https://doi.org/10.1111/boj.12170>

Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2007). *Biologia Vegetal*. Ed. Rio de Janeiro, Guanabara.

Santos, A., Bittencourt, A., & Nogueira, A. (2005). Aspectos econômicos da cadeia produtiva das bromélias na região metropolitana de Curitiba e litoral paranaense. *floresta*, 35(3). <https://doi.org/10.5380/rf.v35i3.5193>

Sathiyadash, K., Muthukumar, T., Karthikeyan, V., & Rajendran, K. (2020). Orchid Mycorrhizal Fungi: Structure, Function, and Diversity. *Orchid Biology: Recent Trends & Challenges*, 239-280. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1_13

Sathiyadash, K., Muthukumar, T., Uma, E., & Pandey, R. (2012). Mycorrhizal association and morphology in orchids. *Journal Of Plant Interactions*, 7(3), 238-247. <https://doi.org/10.1080/17429145.2012.699105>

Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press

THE PLANT LIST (2019). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 21st Jun)

Selosse, M., & Roy, M. (2009). Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends In Plant Science*, 14(2), 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.11.004>

Shimura, H., & Koda, Y. (2005). Enhanced symbiotic seed germination of *Cypripedium macranthos* var. *rebutense* following inoculation after cold treatment. *Physiologia Plantarum*, 123(3), 281-287. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00462.x>

Shimura, H., Matsuura, M., Takada, N., & Koda, Y. (2007). An antifungal compound involved in symbiotic germination of *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* (Orchidaceae). *Phytochemistry*, 68(10), 1442-1447. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.03.006>

Suetsugu, K., & Matsubayashi, J. (2021). Evidence for mycorrhizal cheating in *Apostasia nipponica*, an early-diverging member of the Orchidaceae. *New Phytologist*, 229(4), 2302-2310. <https://doi.org/10.1111/nph.17049>

Umata, H., Gale, S., & Yamada, M. (2021). Do compounds involved in plant resistance to fungal attack facilitate germination in the fully mycoheterotrophic orchid *Cyrtosia septentrionalis*?. *Symbiosis*. <https://doi.org/10.1007/s13199-021-00788-y>

Valadares, R. B. da S. (2009) Diversidade micorrízica em *Coppensia doniana* (Orchidaceae) e filogenia de fungos micorrízicos associados à subtribo Oncidiinae. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Valentín-Berríos, S., González-Velázquez, W., Pérez-Sánchez, L., González-Méndez, R., & Rodríguez-del Valle, N. (2009). Cytosolic phospholipase A2: a member of the signalling pathway of a new G protein α subunit in *Sporothrix schenckii*. *BMC Microbiology*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-100>

Wu, L., Dong, W., Si, J., Liu, J., & Zhu, Y. (2020). Endophytic fungi, host genotype, and their interaction influence the growth and production of key chemical components of *Dendrobium catenatum*. *Fungal Biology*, 124(10), 864-876. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.07.002>

Xing, X., Gao, Y., Zhao, Z., Waud, M., Duffy, K., & Selosse, M. et al. (2020). Similarity in mycorrhizal communities associating with two widespread terrestrial orchids decays with distance. *Journal Of Biogeography*, 47(2), 421-433. <https://doi.org/10.1111/jbi.13728>

Yeung, E. (2017). A perspective on orchid seed and protocorm development. *Botanical Studies*, 58(1). <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0188-4>

Yuan, Z., Chen, Y., & Yang, Y. (2008). Diverse non-mycorrhizal fungal endophytes inhabiting an epiphytic, medicinal orchid (*Dendrobium nobile*): estimation and characterization. *World Journal Of Microbiology And Biotechnology*, 25(2), 295-303. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9893-1>

Zhang, Y., Li, Y., Chen, X., Guo, S., & Lee, Y. (2020). Effect of different mycobionts on symbiotic germination and seedling growth of *Dendrobium officinale*, an important medicinal orchid. *Botanical Studies*, 61(1). <https://doi.org/10.1186/s40529-019-0278-6>