

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS SEMENTES E DAS PRIMEIRAS FASES DO CICLO DE VIDA DE *Cattleya walkeriana* GARDNER (ORCHIDACEAE)

Cláudia Inês da Silva*, Maria Auxiliadora Milaneze-Gutierrez**

SILVA, C.I.; MILANEZE-GUTIERRE, M.A. Caracterização morfológica das sementes e das primeiras fases do ciclo de vida de *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae). *Arq. Apadec*, 8(2):22-26, 2004.

RESUMO. As sementes e as fases iniciais do ciclo de vida das orquídeas brasileiras são pouco conhecidas, embora envolvam estruturas especializadas que as tornam capazes de explorar ambientes considerados inadequados para muitas outras espécies vegetais, como os ramos e troncos das árvores, na condição de epífitas. Neste estudo foram analisadas morfológicamente as sementes, os protocormos e as plântulas de *Cattleya walkeriana*, espécie de hábito epifítico de grande valor ornamental, típica das regiões de cerrado brasileiro. As sementes com embrião sem órgãos diferenciados contido em um tegumento transparente, assim como os protocormos e plântulas desta espécie, mostram-se altamente especializados e estruturalmente semelhantes aos de demais espécies da família Orchidaceae, especialmente as das Subtribo Laeliinae.

PALAVRAS-CHAVE: orquídeas; *Cattleya*; sementes; plântulas.

SILVA, C.I.; MILANEZE-GUTIERRE, M.A. Morphologic characterization of the seeds and first phases of the life cycle of *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae). *Arq. Apadec*, 8(2):22-26, 2004.

ABSTRACT. The seeds and initial phases of the life cycle of the Brazilian orchids are little known, although they involve specialized structures that make them capable of exploring environments considered inadequate to many other vegetal species, such as tree branches and trunks, in epiphytic condition. In this study the seeds, protocorms and plantules of *Cattleya walkeriana* were analyzed, a species of epiphytic habit of great ornamental value, typical of the Brazilian savanna. The embryonic seeds without differentiated organs contained in a transparent tegument, as well as the protocorms and plantules of this species, are highly specialized and structurally similar to those of other Orchidaceae species, specially to those of Laeliinae subtribe.

KEY WORDS: orchids; *Cattleya*; seeds; plantule.

INTRODUÇÃO

O reconhecimento de diversas espécies de orquídeas, quando adultas, é facilitado pela presença dos pseudobulbos, das folhas muitas vezes coriáceas e suculentas, das raízes esbranquiçadas devido à presença do velame e fortemente aderidas ao substrato e, sem dúvida, também por suas flores vistosas, coloridas e até mesmo bizarras. Entretanto, as primeiras etapas do ciclo de vida destas espécies vegetais são pouco conhecidas, especialmente quanto às espécies brasileiras.

As sementes, ponto de partida no ciclo de vida de um vegetal, mostram-se bastante singulares quando se trata da família Orchidaceae. Produzidas aos milhares em cada fruto, elas estão entre as de menores tamanhos entre as fanerógamas (BENZING, 1981). A germinação de tais sementes, e o posterior desenvolvimento das plântulas, são também notavelmente diferentes das demais fanerógamas

(HARRISON, 1977; LINDÉN, 1980) devido principalmente às particularidades fisiológicas de seus embriões (PRITCHARD, 1985).

Sob condições naturais, as sementes das orquídeas germinam e alcançam a fase de plântula somente após se associarem com um fungo micorrízico (ARDITTI & ERNST, 1984). O fungo transfere nutrientes minerais e carboidratos para o embrião (SMITH et al., 1994) e estimula a mobilização das reservas nele contidas (UETAKE et al., 1992). Desta forma, o embrião desenvolve-se numa estrutura polarizada denominada "protocormo". Em seu polo caulinar formam-se sucessivas folhas, passando então a receber designação de "plântula", fotossintetizante e, portanto, auto-sustentável. Em seguida, na porção oposta ao polo caulinar, desenvolvem-se raízes adventícias, típicas das monocotiledôneas. Somente nesta fase, já com poucos centímetros de altura, as plântulas das orquídeas são notadas no ambiente.

*Especialista em Análise Ambiental, pós-graduanda em Agronomia, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná; **Professora Adjunta do Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, CEP: 87020-900, Maringá-PR.

Visto que as pequenas sementes de orquídea, ou seus protocormos, são difíceis de serem acompanhados sob condições naturais, especialmente quando se trata de espécies epífitas, ao se instalarem nas frestas das cascas dos troncos e ramos das árvores, os estudos das primeiras fases de seu ciclo de vida são acompanhados *in vitro*. RASMUSSEN & RASMUSSEN (1991) também reconheceram tais dificuldades e propuseram que os ensaios realizados em laboratório possam servir para avaliar os fatores que regulam o estabelecimento destas espécies na natureza.

Como as demais espécies de orquídeas brasileiras, pouco se conhece das fases iniciais do desenvolvimento de *C. walkeriana*, espécie epífita típica dos cerrados brasileiros e que apresenta valor horticultural pela beleza de suas flores e pequenas dimensões das porções vegetativas. Assim, este estudo tem o objetivo de caracterizar morfológicamente suas sementes, protocormos e plântulas.

MATERIAL E MÉTODO

Cattleya walkeriana (Figura 1) pertence à Subfamília Epidendroideae, Subtribo Laeliinae (DRESSLER, 1993), podendo ser encontrada como epífita ou às vezes rupícola em áreas de cerrado nos estados de Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso (PABST & DUNGS, 1975), embora ocorram relatos de sua distribuição também para o norte e noroeste do estado de São Paulo.

As sementes utilizadas neste estudo foram obtidas de frutos provenientes de polinização manual cruzada entre exemplares coletados no município de Ibiraci (MG) e mantidos no Orquidário Municipal de Franca (SP).

Para a análise anatômica, uma alíquota de sementes de *C. walkeriana* foi fixada em FAA 50%, sendo transferida, após uma semana, para álcool 70% e a seguir incluída em parafina, de acordo com JOHANSEN (1940). As secções, obtidas com 10µm de espessura, foram coradas com ácido tânico, orange G e safranina, segundo SHARMAN (1943).

Um segundo lote de sementes foi desinfetado com hipoclorito de sódio 15% (a partir da solução comercial) e a seguir inoculado sobre meio de cultura, de acordo com a metodologia proposta por MILANEZE (1992), utilizando-se como meio básico a formulação "C" proposta por KNUDSON (1946), cujo pH foi ajustado para 5,3, antes do processo de autoclavagem por 15 minutos a 1 atmosfera. Após 60 dias de cultivo sob fotoperíodo de 14 horas (mantido com lâmpadas fluorescentes de 40 watts tipo "luz do dia") e temperatura de 25±2°C, as culturas foram retiradas e fotografadas em fotomicroscópio Diaplan - Leitz.

Outras culturas de *C. walkeriana* foram mantidas

por 24 meses nas condições de iluminação e temperatura citadas, sendo repicadas, a cada seis meses, utilizando-se a mesma formulação nutritiva acima, mas suplementada com polpa de banana nanica (120 g L⁻¹) (ARDITTI et al., 1982), a fim de se obter plântulas em diversas fases de desenvolvimento.

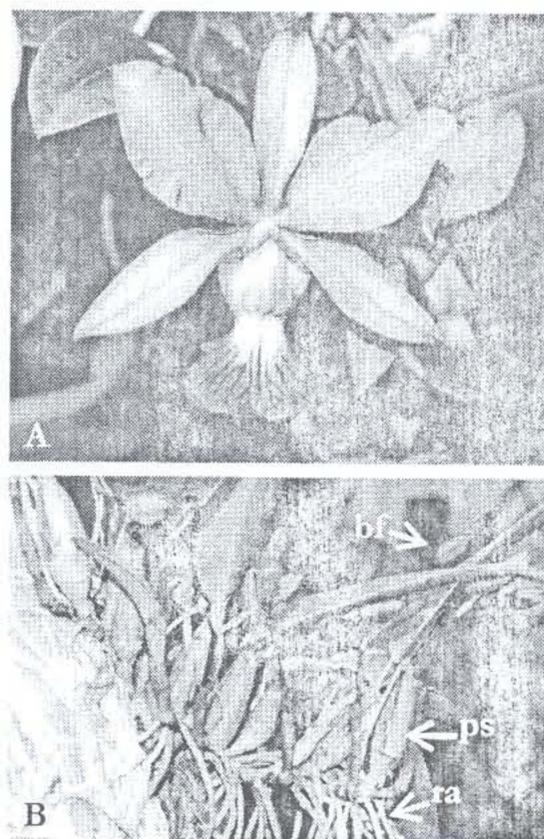


Figura 1. *Cattleya walkeriana*. A. flores; B. espécime em época de floração; bf. botão floral; ps. pseudobulbo; ra. raízes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *C. walkeriana* são formadas aos milhares em cada fruto (Figura 2A), apresentando tegumento transparente, morto e de coloração ocre clara. Estas sementes são de formato fusiforme, com comprimento médio de 380 µm e largura média de 70 µm na porção mediana (Figura 2B). De acordo com STOUTAMIRE (1963), as espécies das Orchidaceae mostram dimensões inferiores a 0,3 mm sendo raras aquelas com mais de 2 mm. Sementes semelhantes às de *C. walkeriana*, inclusive quanto às dimensões, foram observadas por MILANEZE (1997) em *C. forbesii*, *C. guttata* e *C. labiata*, o que contribui para consolidar a afinidade entre os membros deste gênero.

A micrópila das sementes de *C. walkeriana* apresenta abertura simples, através da qual protraem as células que formam o suspensor do embrião. Esse apresenta formato elíptico (Figura 2B) e é único na maioria das sementes, sendo raras as poliembriônicas (com no máximo dois embriões).

A estruturação acima descrita para as sementes de *C. walkeriana* é padrão entre as espécies de Orchidaceae, constituindo uma das características mais consistentes desta família botânica (DRESSLER, 1981; GARAY, 1960).

A análise anatômica revelou que não há órgãos diferenciados nos embriões de *C. walkeriana* (Figura 2C), embora as células da porção apical, bem como seus núcleos, sejam menores e com conteúdo mais denso que as do polo oposto. Esta estrutura anatômica, aparentemente de ocorrência geral entre as espécies de orquídeas, especialmente as da subtribo Laeliinae, como verificado por MILANEZE (1997) para algumas espécies nativas do Brasil, e por HENRICH et al. (1981), HARRISON & ARDITTI (1978), VEYRET (1974) para outras floras.

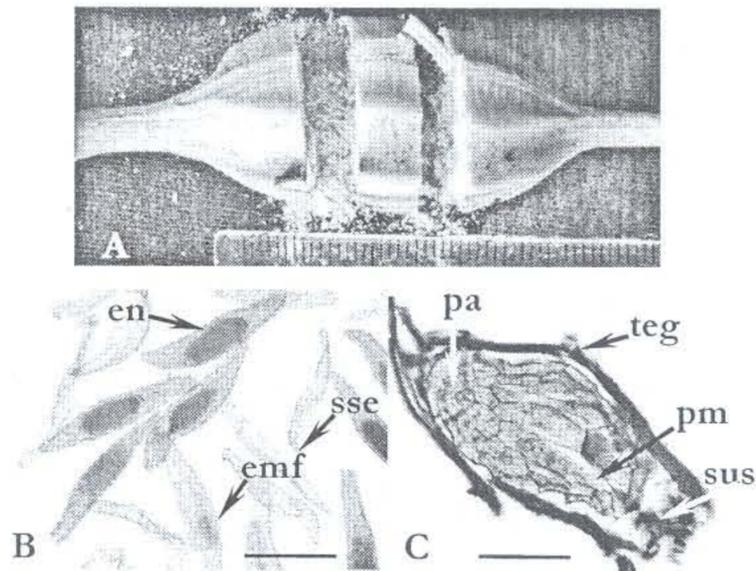


Figura 2. Fruto (A), sementes inteiras (B) e semente em secção longitudinal mediana (C) de *C. walkeriana*. en: embrião normal, emf: embrião mal formado, pa: porção apical, pm: porção micropilar, sse: semente sem embrião, sus: suspensor, teg: tegumento da semente. Barra de B: 200 µm e C: 50µm.

Quando inoculadas sobre meio de cultura, as sementes de *C. walkeriana* germinam em aproximadamente 10 dias, e os embriões desenvolvem-se em protocormos clorofilados (Figura 3). A germinação das sementes de orquídeas não pode ser definida como nas demais espécies, com a emergência da radícula e plúmula através do tegumento da semente. Seus embriões indiferenciados, quando dispõem de uma fonte de carboidratos solúveis – a sacarose do meio de cultura (KNUDSON, 1946) – e de uma fonte de íons amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^+) – provenientes do nitrato de cálcio e sulfato de amônio, respectivamente – como comprovado por HARRISON & ARDITTI (1978), iniciam seu desenvolvimento através de intensa atividade mitótica no meristema localizado no polo caulinar, como verificaram VEYRET (1974), AREKAL & KARANTH (1980) e MILANEZE (1992) para outras espécies de orquídeas, o que confere ao protocormo o formato piriforme invertido, também observado em *C. walkeriana* (Figura 3A). De acordo com DRESSLER (1981) a estrutura dos protocormos das orquídeas é única entre as fanerógamas e BARABÉ et al. (1993) os consideraram como uma extensão do estágio embrionário que, ao

contrário das demais espécies vegetais, ocorre fora das sementes.

Em adição, VEYRET (1974) sugeriu que, mesmo havendo exceções, a morfologia dos protocormos pode caracterizar certos grupamentos taxonômicos. Entretanto, MILANEZE (1997) demonstrou que podem ocorrer alterações na morfologia dos protocormos de acordo com a composição do meio de cultura e as condições de iluminação sob as quais se desenvolvem.

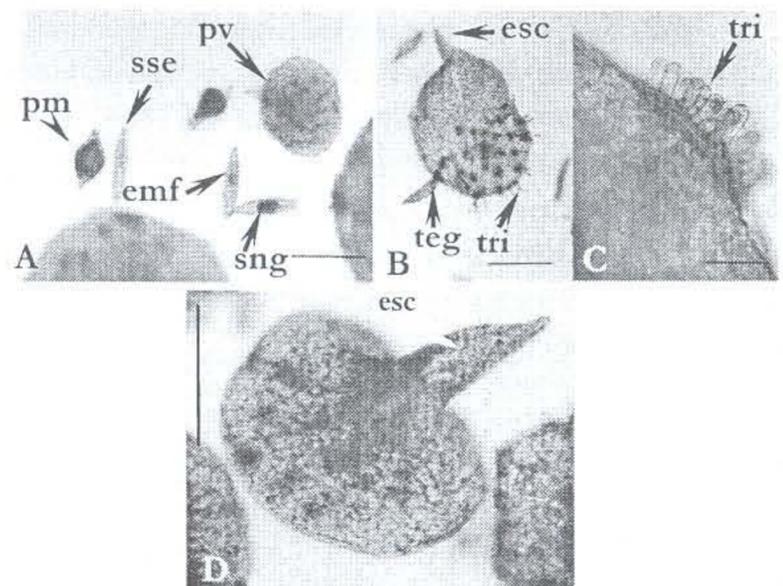


Figura 3. Primeiras fases do desenvolvimento de *C. walkeriana*, aos 60 dias de cultivo *in vitro*. A: semente não germinada (sng), protocormos mortos (pm) e vivos (pv), B e D: protocormos com escama embrionária (esc) e tricomas (tri) no polo oposto, C: detalhes dos tricomas. emf: embrião mal formado e teg: tegumento. Barra de A: 400 µm, B e D: 1mm e C: 100 µm.

Os tufos de tricomas unicelulares, na porção mais basal dos protocormos de *C. walkeriana* (Figuras 3B e 3C), são semelhantes aos descritos por ALVAREZ & KING (1969) nas plântulas de uma espécie de *Vanda*, embora tais pesquisadores os tenham denominado rizóides, devido à semelhança com os pêlos da raízes de demais fanerógamas. A função exata destes tricomas permanece obscura, tendo HENRICH et al. (1981) sugerido que servissem como portas de entrada para o fundo micorrízico e ARDITTI & ERNST (1984) relatem que possam liberar enzima hidrolizadoras de açúcares. Nas culturas *in vitro* de *C. walkeriana* evidencia-se a função de fixação dos protocormos, exercida por estes tricomas, tanto uns aos outros, tanto às paredes dos frascos de cultura, o que poderia alcançar dimensões relevantes na fixação do protocormo ao seu substrato natural.

A morte de protocormos, especialmente nas primeiras fases de desenvolvimento, foi observada com frequência nas culturas *in vitro* de *C. walkeriana* (Figura 3A). Esta é uma fase crítica no cultivo assimbiótico das orquídeas (MILANEZE, 1997; KUMARIA & TANDOR, 1991), podendo representar condições

inadequadas de iluminação, temperatura ou componentes do meio de cultura sob os quais os protocormos permaneceram.

Na seqüência de seu desenvolvimento, os protocormos de *C. walkeriana* apresentam o primeiro órgão foliáceo, a "escama embrionária" (Figuras 3Be 3D) formada ao redor do meristema apical caulinar, sendo indicativo da formação da primeira folha verdadeira. Tal estrutura também foi observada por NISHIMURA (1981) nos protocormos de *C. aurantiaca*, tendo denominado-a de "primeiro órgão semelhante à folha". A função exata da escama embrionária ainda encontra-se em estudo, embora a presença de numerosos idioblástos contendo ráfides, especialmente em sua porção apical, possa indicar que tal escama protege as primeiras folhas do ataque de herbívoros.

Quando as primeiras folhas verdadeiras são formadas, o protocormo passa a ser considerado uma plântula. Em seguida, raízes adventícias se formam endogenamente, atravessando os tecidos do protocormo e alcançando o meio externo. As plântulas de *C. walkeriana* (Figura 4) mostram-se com longas raízes e folhas relativamente pequenas, de formato lanceolado e consistência coriácea-suculenta, estruturando-se como nos exemplares adultos e a eles semelhantes. Ao término do segundo ano de cultivo *in vitro*, pequenos pseudobulbos podem ser observados na base de cada folha.

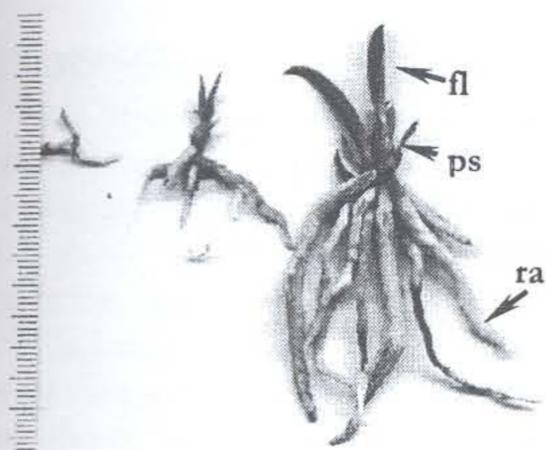


Figura 4. Plântulas de *Cattleya walkeriana* em três estágios de desenvolvimento, após dois anos de cultivo *in vitro*. fl: folha, ps: pseudobulbo, ra: raiz.

CONCLUSÕES

As estruturas presentes nas sementes, protocormos e plântulas de *C. walkeriana* mostram-se altamente especializadas e com características comuns às demais espécies de orquídeas, especialmente as da subtribo Laeliinae, embora permaneçam singulares quando comparadas com os demais fanerógamas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, M.R.; KING, D.O. Peroxidase localization,

activity, and isozyme patterns on the developing seedling of *Vanda* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.*, 56(2):180-186, 1969.

ARDITTI, J.; ERNST, R. Physiology of germinating orchid seeds. In ARDITTI, J. (ed.) *Orchid biology: reviews and perspectives III*. New York: Cornell University Press, 1984. p.178-222.

ARDITTI, J. et al. Orchid seed germination and seedling culture - a manual. In: ARDITTI, J. (ed.) *Orchid biology: reviews and perspectives II*. New York: Cornell University Press, 1982. p.243-270.

AREKAL, G.D.; KARANTH, A. *In vitro* seed germination and developmental morphology of seedling in *Dendrobium lanianum*. *Phytomorphology*, 30(1):78-84, 1980.

BARABÉ, D.; SAINT-ARNAUD, M.; LAUZER, D. Sur la nature des protocormes d'orchidées (Orchidaceae). *C. R. Acad. Sci. Paris*, 316(série III):139-144, 1993.

BENZING, D.H. Why is Orchidaceae so large, its seeds so small, and its seedling mycotrophic? *Selbyana*, 5(3-4):241-242, 1981.

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

DRESSLER, R.L. *The orchids and classification*. Harvard: Harvard University Press, 1981. 332p.

GARAY, L.A. On the origin of the Orchidaceae. *Bot. Mus. Leaflet. Harvard Univ.*, 19:57-96, 1960.

HARRISON, C.R. Ultrastructural and histochemical changes during the germination of *Cattleya aurantiaca* (Orchidaceae). *Bot. Gaz.*, 138(1):41-45, 1977.

HARRISON, C.R., ARDITTI, J. Physiological changes during the germination of *Cattleya aurantiaca* (Orchidaceae). *Bot. Gaz.*, 139(2):180-189, 1978.

HENRICH, J.E.; STIMART, D.P.; ASCHER, P.D. Terrestrial orchid seed germination *in vitro* on a defined medium. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 196(2):193-196, 1981.

JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw Hill, 1940. 523p.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for germination of orchid seeds. *Amer. Orchid. Soc. Bull.*, 15:214-217, 1946.

KUMARIA, S.; TANDOR, P. Asymbiotic germination of *Dendrobium fimbriatum* var. *oculatum* H.K.F. seeds on different media. *Proc. Indian Natur. Sci. Acad.*, 57(3-4):277-279, 1991.

LINDÉN, B. Aseptic germination of seeds of northern terrestrial orchids. *Ann. Bot. Fennici*, 17:174-182, 1980.

MILANEZE, M.A. *Influência da intensidade luminosa e do fotoperíodo no desenvolvimento inicial de Pseudolaelia velozicolla* (Hoehne) Pôrto & Brade, a partir de sementes selecionadas por densidade. 1992. 223f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1992.

MILANEZE, M.A. *Estudos em orquídeas nativas do Brasil: Morfologia de sementes e cultivo assimbiótico*. 1997. 234f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1997.

NISHIMURA, G. Comparative morphology of *Cattleya* and *Phalaenopsis* (Orchidaceae) seedling. *Bot. Gaz.*, 142(3):360-365, 1981.

PABST, G.F.J.; DUNGS, F. *Orchidaceae Brasiliensis*. Hildesheim:Brucke-Verlag, 1975. v.I, 406p.

PRITCHARD, H.W. Determination of orchid seed viability using fluorescein diacetate. *Plant Cell Env.*, 8:727-730, 1985.

RASMUSSEN, H.N.; RASMUSSEN, F.N. Climatic and seasonal regulation of seed plant establishment in *Dactylorhiza*

- majalis* inferred from symbiotic experiments *in vitro*. *Lindleyana*, 6:221-227, 1991.
- SHARMAN, B.C. Tannic acid and iron alum with safranin and orange G in studies of the shoot apex. *Stain Tec.*, 18(3):105-111, 1943.
- SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; KOIDE, R.; CAIRNEY, J.W.G. Nutrient transport in mycorrhizas: structure, physiology and consequences for efficiency of the symbiosis. *Plant Soil*, 159:103-113, 1994.
- STOUTAMIRE, W.P. Terrestrial orchid seedling. *Austr. Plants*, 2:19-22, 1963.
- UETAKE, Y.; KOBAYASHI, K.; OGOSHI, A. Ultrastructural changes during the symbiotic development of *Spiranthes sinensis* (Orchidaceae) protocorms associated with binucleate *Rhizoctonia* anastomosis group C. *Mycol. Res.*, 96(3):199-209, 1992.
- VEYRET, I. Development of the embryo and the young seedling stages of orchids. In: WITHNER, C.L. (ed.) *The orchids: a scientific studies*. New York: Wiley-Interscience, 1974. p.224-265.

Recebido em: 17.07.03

Accito em: 10.11.03

ISSN 1414-7149

Revista indexada no *Periodica*, índice de revistas Latino
Americanas em Ciências

<http://www.dgbiblio.unam.mx>