

Fungos micorrízicos associados a orquídeas em campos rupestres na região do Quadrilátero Ferrífero, MG, Brasil

Ricardo Eustáquio Nogueira¹, Olinto Liparini Pereira¹, Maria Catarina Megumi Kasuya^{1,4},
Maria Célia da Silva Lanna² e Míriam Pimentel Mendonça³

Recebido em 04/06/2004. Aceito em 29/10/2004

RESUMO – (Fungos Micorrízicos associados a orquídeas em campos rupestres na Região do Quadrilátero Ferrífero, MG, Brasil). Oito isolados de fungos micorrízicos rizoctonióides foram obtidos do sistema radicular de orquídeas neotropicais, a saber: *Bulbophyllum weddelii* (Lindl.) Rchb. f., *Epidendrum dendrobioides* Thunb., *Maxillaria acicularis* Herb. ex Lindl., *Oncidium gracile* Lindl., *Pleurothallis teres* Lindl., *Prosthechea vespa* (Vell.) W.E. Higgins, *Sophronitis milleri* (Blumensch. ex Pabst) C. Berg & M.W. Chase e *Sarcoglottis* sp., que ocorrem em campos rupestres da região do Quadrilátero Ferrífero, no Estado de Minas Gerais, Brasil. Três gêneros anamórficos foram identificados: *Epulorhiza*, isolados do sistema radicular de *E. dendrobioides* e *S. milleri*; *Ceratorhiza*, isolados de *B. weddelii*, *O. gracile*, *P. teres* e *P. vespa* e *Rhizoctonia*, isolados de *M. acicularis* e *Sarcoglottis* sp. O trabalho constituiu-se no primeiro relato taxonômico e de caracterização morfológica de fungos micorrízicos rizoctonióides associados a espécies de orquídeas que ocorrem em campos rupestres no Brasil.

Palavras-chave: diversidade, fungos rizoctonióides, Orchidaceae, simbiose

ABSTRACT – (Mycorrhizal fungi associated to orchids growing in “campos rupestres” in “Quadrilátero Ferrífero” region, Minas Gerais State, Brazil). Eight strains of *Rhizoctonia-like* mycorrhizal fungal were isolated from the root system of neotropical orchids, *Bulbophyllum weddelii* (Lindl.) Rchb. f., *Epidendrum dendrobioides* Thunb., *Maxillaria acicularis* Herb. ex Lindl., *Oncidium gracile* Lindl., *Pleurothallis teres* Lindl., *Prosthechea vespa* (Vell.) W.E. Higgins, *Sophronitis milleri* (Blumensch. ex Pabst) C. Berg & M.W. Chase and *Sarcoglottis* sp., growing in “campos rupestres” in “Quadrilátero Ferrífero” region, Minas Gerais State, Brazil. Three anamorphic genera were identified: *Epulorhiza*, isolated from the root system of *E. dendrobioides* and *S. milleri*; *Ceratorhiza*, isolated from *B. weddelii*, *O. gracile*, *P. teres* and *P. vespa*; *Rhizoctonia*, isolated from *M. acicularis* and *Sarcoglottis* sp. This is the first report of *Rhizoctonia-like* fungi isolated from the root systems of orchids from the “campos rupestres” in Brazil.

Key words: diversity, *Rhizoctonia-like* fungi, Orchidaceae, symbiosis

Introdução

Dentre as vegetações brasileiras, os campos rupestres destacam-se devido à natureza peculiar de suas partes componentes. Eles ocorrem a partir de uma altitude de 900 m acima do nível do mar e estão em grande parte associados à Cadeia do Espinhaço, nos Estados de Minas Gerais, Bahia e em disjunções da mesma cadeia entre os limites latitudinais de 21°10' e 10° S (Giulietti & Pirani 1988).

As porções montanhosas com o seu clima especial, relevo e condições de solo, oferecem as condições para uma flora típica que não é encontrada em outra região do Brasil (Giulietti & Pirani 1988). As plantas crescem

em rochas ou pedras (epilíticas), em solos jovens ou em solos arenosos. As plantas epilíticas têm adaptações para explorar o orvalho, seja por meio da base de folhas velhas, como ocorre em Velloziaceae (Menezes & Giulietti 1986); por meio de tricomas especializados, como em algumas Bromeliaceae, ou por raízes especializadas e pseudobulbos, como em Orchidaceae (Giulietti & Pirani 1988).

O Quadrilátero Ferrífero, área de grande representatividade em campos rupestres, é considerado como de “importância biológica extrema” para a biodiversidade do Estado de Minas Gerais (Costa *et al.* 1998). Dentre as principais razões de tal classificação, foram apontadas a presença de espécies vegetais

¹ Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Microbiologia, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil (liparini@bol.com.br)

² Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, CEP 35400-000, Ouro Preto, MG, Brasil

³ Jardim Botânico de Belo Horizonte, Fundação Zoo-Botânica, CEP 31365-450, Belo Horizonte, MG, Brasil

⁴ Autor para correspondência: mkasuya@ufv.br

ameaçadas e endêmicas. O desmatamento, a expansão urbana, a mineração e o turismo são apontados como as principais pressões antrópicas no Quadrilátero Ferrífero, sendo atualmente recomendado o inventário biológico, a recuperação de áreas degradadas e o monitoramento de espécies ameaçadas, entre outras medidas, para a reabilitação dos campos rupestres da região (Costa *et al.* 1998).

Há registros desde 1889 de que, na natureza, as orquídeas estão associadas com fungos micorrízicos (Clements 1988). As espécies deste grupo apresentam uma característica única entre as angiospermas: uma estrutura parenquimatosa, o protocórmio, que está intercalada entre o estágio de semente e plântula, e que utiliza a digestão enzimática de fungos simbiotes como meio alternativo para a obtenção de energia, fenômeno denominado micotrofismo (Clements 1988; Rasmussen 1995; Peterson *et al.* 1998; Pereira *et al.* 2003b). O micotrofismo pode, em parte, ser responsável pelo sucesso da família Orchidaceae (Smith 1966).

As espécies possuem sementes diminutas, com pouca reserva nutricional e devem ser colonizadas pelo fungo simbiote, como regra, para que ocorra a germinação na natureza (Rasmussen 1995; Peterson *et al.* 1998; Pereira *et al.* 2003b). Após a infecção, ocorre a formação de uma estrutura intracelular denominada pelotão. Os produtos advindos da digestão enzimática desta estrutura são utilizados para o desenvolvimento do protocórmio, a partir do embrião contido na semente madura (Peterson *et al.* 1998; Pereira *et al.* 2003b). Esses eventos caracterizam o micoheterotrofismo nesta família, ou seja, o protocórmio é totalmente dependente de um fungo simbiote para o seu desenvolvimento até tornar-se plântula autotrófica (Pereira *et al.* 2003b).

Os floricultores rotineiramente propagam orquídeas germinando sementes em um meio asséptico, seguindo procedimentos inicialmente desenvolvidos por Lewis Knudson na década de 1920 (Arditti *et al.* 1990). Como resultado, a simbiose micorrízica em Orchidaceae mantém-se pobremente compreendida, quando comparada a outros aspectos fundamentais da biologia de Orchidaceae, a exemplo da sua taxonomia (Rasmussen 1995). Registros que descrevem os fungos endofíticos de orquídeas do Novo Mundo são raros, particularmente para táxons epífitos ou epilíticos (Richardson *et al.* 1993; Richardson & Currah 1995; Pereira *et al.* 2003a; 2003b; 2005).

No contexto da necessidade de preservação desses ambientes e de sua flora e considerando-se a

ausência de registros ou trabalhos envolvendo as interações micorrízicas em orquídeas em campos rupestres, desenvolveu-se este trabalho que teve como objetivo o isolamento, a identificação e a caracterização morfológica de fungos micorrízicos associados a orquídeas em diferentes microhabitats e afloramentos quartzíticos, na região do Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brasil.

Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Geral do Departamento de Ciências Biológicas, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto e no Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Microbiologia, Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agropecuária, Universidade Federal de Viçosa.

Áreas de amostragem – Escolheram-se cinco áreas localizadas em três municípios da Região do Quadrilátero Ferrífero. Em Ouro Preto, foram amostradas áreas no Bairro Morro São Sebastião, no Campus Universitário e na Estrada Real. Em Nova Lima e Belo Vale foram amostradas áreas às margens da Rodovia BR-040. Utilizou-se, como critério para a definição das áreas, a presença de algum empreendimento que estivesse ou pudesse gerar o declínio de populações locais de orquídeas, além, é claro, da obrigatoriedade de serem áreas de campos rupestres, degradados ou não (Tab. 1). Devido à coleta indiscriminada e predatória dessas espécies de orquídeas, para fins hortícolas, não serão fornecidos dados mais precisos sobre a localização dessas populações.

Espécies de orquídeas estudadas – As espécies de orquídeas utilizadas no estudo, assim como os respectivos locais e a caracterização das áreas de coletas, estão apresentados na Tab. 1.

Isolamento – Amostras das raízes de orquídeas (Tab. 1) foram lavadas em água de torneira corrente por 10 min, cortadas em fragmentos de 2-3 cm e desinfestadas superficialmente, por imersão em etanol 70% durante 1 min, e 5 min em solução de hipoclorito de sódio 2%, seguindo-se de cinco lavagens sucessivas em água destilada esterilizada. O velame foi retirado com bisturi estéril e as raízes foram maceradas em almofariz de porcelana, previamente autoclavado. O macerado foi espalhado superficialmente em placa de Petri contendo 10 mL de meio batata-dextrose-ágar

(BDA). As placas foram incubadas a 28 °C e observadas diariamente sob microscópio óptico invertido para o isolamento direto do micélio crescido a partir do pelotão (Pereira *et al.* 2003a), efetuando-se a transferência para outra placa contendo meio Melin-Norkran's modificado (MNM) (Marx 1969). Culturas estoques foram mantidas em BDA e discos de 9 mm diâm., contendo micélio, foram armazenados em água destilada esterilizada e estocados a 4 °C.

Caracterização morfológica – As características de crescimento da colônia em BDA foram avaliadas quanto às colorações (branca, creme ou castanho), o aspecto da colônia (grumoso, aveludado ou liso), a abundância de micélio aéreo (abundante ou escasso). Foram feitas medições dos diâmetros das hifas vegetativas (Currah 1986; Currah *et al.* 1987; 1989; 1997; Currah & Zelmer 1992; Pereira *et al.* 2003a; 2005; Zelmer & Currah 1995).

Para estimar-se a taxa diária de crescimento das colônias em meio fubá ágar (FA) (Pereira *et al.* 2003a) e BDA, discos de micélio de 9 mm diâm. retirados das bordas das colônias dos isolados crescidos nos respectivos meios de cultura, foram transferidos para o centro da placa contendo 20 mL destes meios e incubados a 28 °C. Para cada espécie foi medido diariamente o diâmetro da colônia nos dois diferentes meios, sendo que, para cada meio foram feitas quatro repetições.

Coloração de núcleos – Para a coloração de núcleos, fragmentos do micélio dos isolados, crescidos por 10 dias a 28 °C, foram montados entre lâmina e lamínula com 50 µL de uma solução corante contendo 1 µL/mL SYBR® Green em KH₂PO₄ 10 mM e glicerol a 18% (Meinhardt *et al.* 2001). Após cinco minutos, em câmara escura, as lâminas foram observadas em microscópio óptico Nikon E 600 acoplado de epifluorescência Y-FL operando na faixa de comprimento de onda de 450-520 nm de excitação.

Identificação dos isolados – Para a identificação dos isolados seguiu-se a proposição de Moore (1987) e de Currah & Zelmer (1992), a qual se baseia nas características morfológicas, adotando-se a chave e notas para fungos micorrízicos em orquídeas.

Resultados e discussão

Os isolamentos preliminares apresentaram melhores resultados quando se utilizaram plantas jovens ou “seedlings”. Em plantas adultas ou com raízes muito

envolvidas por matéria orgânica, o número de isolados de fungos endofíticos não rizoctonióides foi alto. Dentre estes destacaram-se os pertencentes ao grupo *Mycelium radialis atrovirens* (Melin 1922), atualmente denominados de “Dark Septate Endophytes (DSE)” (Jumpponen & Trape 1998). Por outro lado, o fato de muitas plantas que ocorrem em campos rupestres crescerem diretamente sobre a superfície rochosa (canga ou quartzito) pode ter favorecido o isolamento, pois suas raízes encontravam-se livres de matéria orgânica em decomposição.

O sucesso no isolamento foi obtido para as oito espécies de orquídeas, sendo que quatro ocorriam sobre canga e quatro sobre quartzito (Tab. 1). Os gêneros *Rhizoctonia*, *Epulorhiza* e *Ceratorhiza* foram descritos em associação a orquídeas em campos rupestres do Brasil, sendo que todos ocorreram tanto em canga quanto em quartzito (Tab. 1). O gênero *Rhizoctonia* está representado por dois isolados OM 19 e OM 21, sendo que o primeiro foi isolado de planta que crescia sobre canga, e o segundo, sobre quartzito. O gênero *Epulorhiza* está representado pelos isolados de orquídeas OM 18 e OM 20 que ocorrem sobre quartzito e canga, respectivamente. O gênero *Ceratorhiza* está representado pelos isolados OM 11, OM 13, OM 14 e OM 15, os dois primeiros associados a orquídeas sobre quartzito e os outros dois sobre canga.

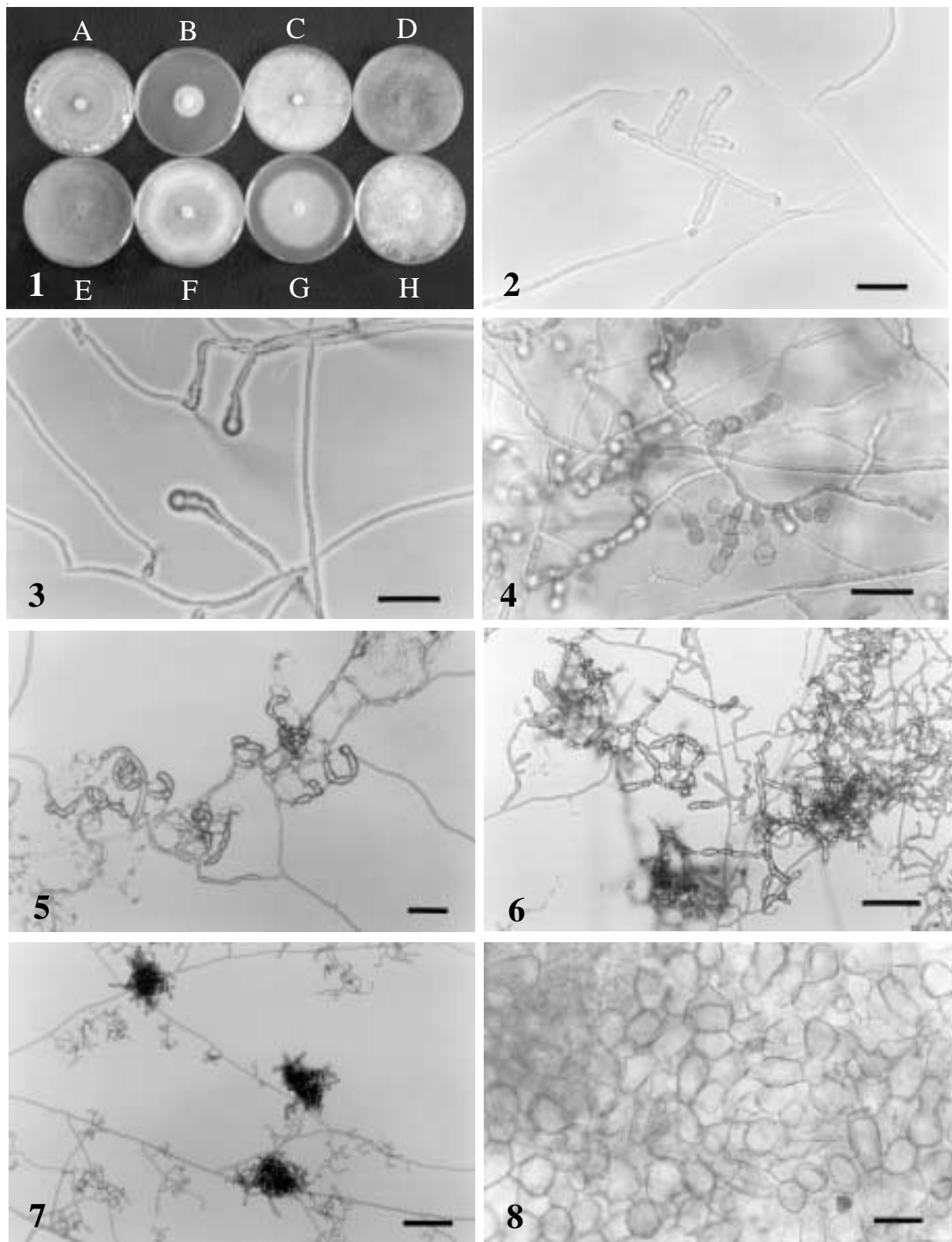
A caracterização dos isolados (Tab. 2) demonstrou diferenças marcantes entre os isolados do gênero *Epulorhiza* em relação aos gêneros *Rhizoctonia* e *Ceratorhiza*, principalmente no que diz respeito ao aspecto da colônia (Fig. 1), taxa diária de crescimento (Tab. 2), morfologia das células monilióides (Fig. 2 a b) e formação de pseudoescleródios (Fig. 7 e 8). A medição do diâmetro das hifas também mostrou-se de grande importância nesta diferenciação (Tab. 2). As diferenças visuais entre os isolados de *Rhizoctonia* e *Ceratorhiza* não foram muito marcantes. No entanto, com a análise da condição nuclear foi possível fazer a distinção entre os gêneros (Tab. 2).

A condição multinucleada dos isolados, aqui considerados como *Rhizoctonia*, poderiam ser classificados como pertencentes ao gênero *Moniliopsis* (Moore 1985). Moore (1987) propõe o gênero *Moniliopsis* para acomodar anamorfos com teleomorfos em *Thanatephorus* e *Waitea*, ambos com células multinucleadas. Entretanto, apesar da proposta estar de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, a denominação *Rhizoctonia* foi mantida (*Nomina Conservanda*) em razão da

Tabela 1. Dados de coleta de Orchidaceae e fungos micorrízicos isolados de campos rupestres da região do Quadrilátero Ferrífero, MG, Brasil e situação atual das populações.

Hospedeiro	Isolado micorrízico	Código do isolado	Voucher*	Localidade	Substrato	Pressão antrópica	Situação atual
<i>Bulbophyllum weddellii</i> (Lindl.) Rchb. f.	<i>Ceratohiza</i> sp.	OM13	R.E. Nogueira 171	Nova Lima, MG	Canga	Mineração	Empreendimento em processo de licenciamento
<i>Epidendrum dendrobioides</i> Thunb.	<i>Epulorhiza</i> sp.	OM 18	R.E. Nogueira 250	Estrada Real, Ouro Preto, MG	Quartzito	Estrada	Obra terminada
<i>Maxillaria acicularis</i> Herb. ex Lindl.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	OM 21	R.E. Nogueira 177	Morro São Sebastião, Ouro Preto, MG	Quartzito	Mineração	Empreendimento embargado
<i>Oncidium gracile</i> Lindl.	<i>Ceratohiza</i> sp.	OM 14	R.E. Nogueira 247	Nova Lima, MG	Canga	Mineração	Empreendimento em processo de licenciamento
<i>Pleurothallis Teres</i> Lindl.	<i>Ceratohiza</i> sp.	OM 15	R.E. Nogueira 50	Campus UFOP, Ouro Preto, MG	Canga	Mineração	Atividade abandonada
<i>Prosthechea vespa</i> (Vell.) W.E. Higgins	<i>Ceratohiza</i> sp.	OM 11	R.E. Nogueira 213	Morro São Sebastião, Ouro Preto, MG	Quartzito	Mineração	Empreendimento embargado
<i>Sophranitis milleri</i> (Blumensch. ex Pabst) C. Berg & M.W. Chase	<i>Epulorhiza</i> sp.	OM 20	R.E. Nogueira 249	Belo Vale, MG	Canga	Mineração	Previsão de exploração
<i>Sarcoglottis</i> sp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	OM 19	R.E. Nogueira 245	Nova Lima, MG	Canga	Mineração	Empreendimento em processo de licenciamento

* Plantas hospedeiras depositadas no Herbário OUPR



Figuras 1-7. 1. Culturas puras dos fungos: (A) OM13; (B) OM18; (C) OM2; (D) OM14; (E) OM15; (F) OM11; (G) OM20 e (H) OM19. 2. OM13, hifas em fase de formação de células monilióides, verifica-se ângulo de 90° entre as ramificações (barra = $50\ \mu\text{m}$). 3. OM20, início da formação de células monilióides (barra = $40\ \mu\text{m}$). 4. OM20, cadeia de células monilióides (barra = $40\ \mu\text{m}$). 5. OM11, células monilióides (barra = $50\ \mu\text{m}$). 6. OM14, células monilióides (barra = $50\ \mu\text{m}$). 7. OM15, início da formação de pseudoescleródio (barra = $100\ \mu\text{m}$). 8. OM15, corte de pseudoescleródio bem desenvolvido (barra = $25\ \mu\text{m}$).

Tabela 2. Características morfológicas e de coloração usadas para a diferenciação e identificação dos isolados de fungos micorrízicos em Orchidaceae de campos rupestres na região do Quadrilátero Ferrífero, MG, Brasil. BDA = batata-dextrose-ágar; FA = fubá-ágar.

Cód.**	Taxa de crescimento		Cor	Micélio aéreo	Aspecto	Condição nuclear	Diâmetro das hifas
	BDA	FA					
OM13	0,60 *	0,65	branco	abundante	floculado	binucleado	> 4 µm
OM 18	0,06	0,12	branco	escasso	mucoso	binucleado	< 4 µm
OM 21	0,95	1,07	branco	abundante	liso	multinucleado	> 4 µm
OM 14	1,75	1,28	marrom	abundante	grumoso	binucleado	> 4 µm
OM 15	1,45	1,32	marrom	abundante	grumoso	binucleado	> 4 µm
OM 11	0,67	0,74	branco	abundante	aveludado	binucleado	> 4 µm
OM 20	0,31	0,43	branco	escasso	mucoso	binucleado	< 4 µm
OM 19	1,49	1,02	branco	abundante	aveludado	multinucleado	> 4 µm

* cm/dia;** Código de identificação do isolado conforme Tab. 1.

importância econômica desse táxon e do número de trabalhos já publicados utilizando-se esta terminologia (Stalpers *et al.* 1998).

Quanto à análise dos microhabitats dentro das áreas de ocorrência das populações de orquídeas, houve uma amostragem considerável, pois foram contempladas no estudo: plantas rupícolas (*P. vespa*, *M. acicularis*, *O. gracile*, *P. teres*, *B. weddelii* e *S. milleri*), uma planta aquática (*E. dendrobioides*) e uma terrestre (*Sarcoglottis* sp.). Isto demonstra que a versatilidade da família Orchidaceae na exploração de nichos bastante distintos pode estar relacionada à presença dos fungos simbiotes nos diferentes habitats, como já relatado para orquídeas de regiões temperadas ou subtropicais (Rasmussen & Whigham 1998).

O fato das espécies de orquídeas estudadas não pertencerem ao mesmo gênero dificulta o entendimento das relações de especificidade fungo-planta. No entanto, demonstra-se mais uma ocorrência de *Epulorhiza* em plantas do gênero *Epidendrum*, como já relatado para *E. conopseum* e *E. rigidum* (Zettler *et al.* 1998; Pereira *et al.* 2003a). Além disso, a espécie *E. dendrobioides* possui habitat aquático, diferente daqueles das espécies até então estudadas, sugerindo que a ocorrência de *Epulorhiza* em *Epidendrum* pode estar influenciada mais pela especificidade fungo-hospedeiro do que pelo habitat da planta.

Áreas degradadas por atividades de mineração têm a composição microbiológica do solo alterada, como já demonstrado em estudos com outros tipos de fungos micorrízicos (Silva *et al.* 2001). A ocorrência de *Pleurothallis teres* em uma área onde já funcionou uma mina de bauxita e que ainda sofre pressões antrópicas, além de estar de acordo com a hipótese de

que esta espécie participa do processo de sucessão primária em áreas de afloramentos rochosos (Alves *et al.* 2000), sugere a possibilidade de utilização do fungo micorrízico isolado de seu sistema radicular para o manejo de orquídeas ameaçadas ou extintas localmente.

Dentre os isolados, o OM 20 (*Epulorhiza* sp.) tem grande importância, pois sua planta hospedeira (*Sophranitis milleri*) teve seu habitat totalmente destruído por mineradoras e suas populações dizimadas por mateiros e orquidófilos, isto devido ao grande atrativo de suas flores vermelhas. Estratégias que visem a recuperação das populações de orquídeas ameaçadas devem utilizar o uso da germinação simbiótica (Zettler & Hofer 1998; Zettler *et al.* 2001), pois os ciclos de vida das espécies de orquídeas estão determinados, na natureza, pela presença de um fungo micorrízico simbiote.

Os isolados do gênero *Rhizoctonia* (OM 19 e OM 21) ocorrem associados a uma espécie terrestre do gênero *Sarcoglottis* e à espécie *Maxillaria acicularis* (Tab. 1). Estas têm, em seus microhabitats, substrato rico em matéria orgânica. *Sarcoglottis* sp. habita fendas preenchidas por material proveniente da degradação da canga e da biodegradação da flora rupestre. *Maxillaria acicularis*, apesar de crescer sobre grandes placas de quartzito, possui propagação vegetativa considerável e retém a matéria orgânica em seus rizomas. Logo, assim como em outros trabalhos (Masuhara & Katsuya 1994) os fungos micorrízicos do gênero *Rhizoctonia* são comumente encontrados em microhabitats terrestres ou ricos em matéria orgânica.

Os isolados do gênero *Ceratorhiza* (OM 11, OM 13 e OM 14) estão associados a espécies que crescem

diretamente sobre a rocha: *Prosthechea vespa*, *Bulbophyllum weddellii* e *Oncidium gracile* (Tab. 1). Sabe-se que nestes ambientes há variação muito grande nas condições de temperatura e umidade (Giulietti & Pirani 1988). Ao contrário dos isolados OM 19 e OM 21, os isolados OM 11, OM 13 e OM 14 estão associados a microhábitats com baixíssima quantidade de matéria orgânica em decomposição. Estas observações indicam que pode ocorrer uma diferença na composição taxonômica de fungos micorrízicos orquídeas, em diferentes microhábitats, dentro de áreas de campos rupestres.

Em conclusão, orquídeas em campos rupestres ocorrem associadas a fungos rizoctonióides micorrízicos dos gêneros *Epulorhiza*, *Ceratorhiza* e *Rhizoctonia*. Entretanto, ainda não foi possível determinar padrões que expliquem a distribuição destes fungos ou as suas relações de especificidade com os hospedeiros. O fato de alguns isolados ocorrerem em áreas muito impactadas, aponta para a possibilidade de uso dos mesmos na recomposição destas e de outras áreas degradadas por mineradoras no Quadrilátero Ferrífero, estratégia já utilizada em regiões temperadas para a reintrodução de espécies ameaçadas (Zettler & Mcinnis 1992).

As técnicas tradicionalmente usadas para a propagação comercial de orquídeas não preservam os microrganismos e, muitas vezes, fazem o uso de plantas clonadas. Estudos sobre germinação simbiótica usando espécies nativas com potencial de exploração comercial são necessários, pois esta técnica possibilitará maior conservação da diversidade desses fungos micorrízicos (Pereira *et al.* 2003b).

Pereira *et al.* (2003a) relataram o primeiro fungo micorrízico rizoctonióide isolado de orquídeas epífitas no Brasil. Este trabalho vem contribuir no conhecimento de fungos micorrízicos de orquídeas no Brasil, além de contribuir como parte da micoteca do Laboratório de Associações Micorrízicas DMB/UFVB. Novos trabalhos devem ser direcionados à germinação simbiótica, ao estudo da especificidade fungo-hospedeiro e à distribuição dos fungos nos hábitats. Espera-se que a continuidade destes trabalhos possibilite o desenvolvimento de tecnologia de manejo e exploração sustentável da nossa flora.

Referências bibliográficas

Alves, R.J. & Kolbek, J. 2000. Primary succession on quartzite cliffs in Minas Gerais, Brasil. **Biologia Bratislava** 55(1): 69-83.

- Arditti, J.; Ernst, R.; Yam, T.W. & Glabe, C. 1990. The contributions of orchid mycorrhizae fungi to seed germination: a speculative review. **Lindleyana** 5(4): 249-255.
- Clements, M.A. 1988. Orchid micorrhizal associations. **Lindleyana** 3(2): 73-86.
- Costa, C.M.R.; Herrmann, G.; Martins, C.S.; Lins, L.V. & Lamas, I.R. 1998. **Biodiversidade em Minas Gerais - Um atlas para sua conservação**. Belo Horizonte, Fundação Biodiversitas.
- Currah, R.S. 1986. *Thanatephorus pennatus* sp. nov. isolated from mycorrhizal roots of *Calypto bulbosa* (Orchidaceae) from Alberta. **Canadian Journal of Botany** 65: 1957-1960.
- Currah, R.S.; Sigler, L. & Hambleton, S. 1987. New records and new taxa of fungi from the micorrhizae of terrestrial orchids of Alberta. **Canadian Journal of Botany** 65: 2473-2481.
- Currah, R.S.; Smereciu, E.A. & Hambleton, S. 1989. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of boreal species of *Platanthera* and *Coeloglossum* (Orchidaceae). **Canadian Journal of Botany** 68: 1171-1181.
- Currah, R.S. & Zelmer, C.D. 1992. A key and notes for the genera of fungi mycorrhizal with orchids and a new species in the genus *Epulorhiza*. **Reports of the Tottori Mycological Institute** 30: 43-59.
- Currah, R.S.; Zettler, L.W. & McInnis, T.M. 1997. *Epulorhiza inquilina* sp. nov. from *Platanthera* (Orchidaceae) and a Key to *Epulorhiza* species. **Mycotaxon** 61: 338-342.
- Giulietti, A.M. & Pirani, J.R. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. Pp. 39-69. In: W. R. Heyer & P. E. Vanzolini (eds.). **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências.
- Jumpponen, A. & Trappe, J.M. 1998. Dark Septate Endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. **New Phytologist** 140: 295-310.
- Marx, D.H. 1969. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic and soil bacteria. **Phytopathology** 59: 153-163.
- Masuhara, G. & Katsuya, K. 1994. *In situ* and *in vitro* specificity between *Rhizoctonia* spp. and *Spiranthes sinensis* (Persoon) Ames. var. *amoena* (M. Bieberstein) Hara (Orchidaceae). **New Phytologist** 127: 711-718.
- Meinhardt, L.W.; Bellato, C.M. & Tsai, S.M. 2001. SYBR[®] Green I used to evaluate nuclei number of fungal mycelia. **Biotechniques** 31: 42-46.
- Melin, E. 1922. On the mycorrhizas of *Pinus silvestris* L. and *Picea abies* Karst. **Journal of Ecology** 9: 254-257.
- Menezes, N.L. & Giulietti, A.M. 1986. Serra do Cipó, Paraíso dos botânicos. **Ciência Hoje** 4: 38-44.
- Moore, R.T. 1985. The challenge of the dolipore/parenthosome septum. Pp. 175-212. In: D. Moore; L.A. Casselton; D.A. Wood & J. Frankland (eds.). **Developmental Biology of Higher Fungi**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Moore, R.T. 1987. The genera of *Rhizoctonia*-like fungi: *Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza* gen. nov., *Epulorhiza* gen. nov., *Moniliopsis* and *Rhizoctonia*. **Mycotaxon** 29: 91-99.

- Pereira, O.L.; Kasuya, M.C.M.; Borges, A.C. & Araújo, E.F. 2005. Morphological and molecular characterization of mycorrhizal fungi isolated from neotropical orchids in Brazil. **Canadian Journal of Botany** **83**: 54-65.
- Pereira, O.L.; Rollemberg, C.L.; Borges, A.C.; Matsuoka, K. & Kasuya, M.C.M. 2003a. *Epulorhiza epiphytica* sp. nov. isolated from mycorrhizal roots of epiphytic orchids in Brazil. **Mycoscience** **44**:153-155.
- Pereira, O.L.; Rollemberg, C.L. & Kasuya, M.C.M. 2003b. Association des mycorhizies dans les orchidees - perspectives d'utilisation dans les programmes de propagation symbiotique. **Orchidees** **55**: 24-27.
- Peterson, R.L.; Uetake, Y. & Zelmer, C. 1998. Fungal symbioses with orchid protocorms. **Symbiosis** **25**: 29-55.
- Rasmussen, H.N. 1995. **Terrestrial Orchids: From Seed to Mycotrophic Plant**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Rasmussen, H.N. & Whigham, D.F. 1998. Importance of woody debris in seed germination of *Tipularia discolor* (Orchidaceae). **American Journal of Botany** **85**: 829-834.
- Richardson, K.A. & Currah, R.S. 1995. The fungal community associated with the roots of some rainforest epiphytes of Costa Rica. **Selbyana** **16**: 49-73.
- Richardson, K.A.; Currah, R.S. & Hambleton, S. 1993. Basidiomycetes endophytes from the roots of neotropical epiphytic orchidaceae. **Lindleyana** **8**: 127-137.
- Silva, G.A. 2001. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **24**: 135-143.
- Smith, S.E. 1966. Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. **New Phytologist** **65**: 488-499.
- Stalpers, J.A.; Andersen, T.F. & Gams, W. 1998. Two proposals to conserve the names *Rhizoctonia* and *R. solani* (Hyphomycetes). **Taxon** **47**: 725-726.
- Zelmer, C.D. & Currah, R.S. 1995. *Ceratorhiza pernacatena* and *Epulorhiza calendulina* spp. nov.: mycorrhizal fungi of terrestrial orchids. **Canadian Journal of Botany** **73**: 1981-1985.
- Zettler, L.W.; Delaney, T.W. & Sunley, J.A. 1998. Seed propagation of the epiphytic green-fly orchid, *Epidendrum conopseum* R. Brown, using its endophytic fungus. **Selbyana** **19**: 249-253.
- Zettler, L.W. & Hofer, C.J. 1998. Propagation of the little club-spur orchid (*Platanthera clavelata*) by symbiotic seed germination and its ecological implications. **Environmental and Experimental Botany** **39**: 189-195.
- Zettler, L.W. & Mcinnis, T.M. 1992. Propagation of *Platanthera integrilabia* (Correll) Luer, an endangered terrestrial orchid, through symbiotic seed germination. **Lindleyana** **7**: 154-161.
- Zettler, L.W.; Stewart, S.L.; Bowles, M.L. & Jacobs, K.A. 2001. Mycorrhizae fungi and cold-assisted symbiotic germination of the federally threatened eastern prairie fringed orchid, *Platanthera leucophala* (Nuttall) Lindley. **American Midland Naturalist** **145**: 168-175.