



Universidade Federal de Ouro Preto  
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas  
Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente  
Laboratório de Anatomia Vegetal



**Raízes de *Prosthechea pachysepala* (Klotzsch) Chiron & V.P.Castro variam de acordo com os hábitos de vida, epífita e rupícola?**

Danielle Aparecida Souto Ferreira

**Ouro Preto, 2023**



Universidade Federal de Ouro Preto  
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas  
Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente  
Laboratório de Anatomia Vegetal  
Laboratório de Anatomia Vegetal



**Raízes de *Prosthechea pachysepala* (Klotzsch) Chiron & V.P.Castro variam de acordo com os hábitos de vida, epífita e rupícola?**

Monografia 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 Bacharel em Ciências Biológicas

Aluna: Danielle Aparecida Souto Ferreira  
Orientador: Hildeberto Caldas de Sousa  
Co-orientadora: Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira  
Colaboradora: Daniela Boaneres de Souza

**Ouro Preto, 2023**



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Danielle Aparecida Souto Ferreira**

**Raízes de *Prosthechea pachysepala* (Klotzsch) Chiron & V.P.Castro variam de acordo com os hábitos de vida, epífita e rupícola?**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas

Aprovada em 15 de junho de 2023

### Membros da banca

Dr. Hildeberto Caldas de Sousa – Presidente da banca - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dra. Maria Cristina Teixeira Braga Messias - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dra. Alessandra Rodrigues Kozovits - Universidade Federal de Ouro Preto

Alessandra Rodrigues Kozovits, coordenadora da disciplina de Seminários de Pesquisa e Monografia II, a pedido do orientador do trabalho, Prof. Hildeberto Caldas de Sousa, que aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 15/06/2023, assina esse documento.



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Rodrigues Kozovits, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 19/06/2023, às 21:00, 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](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0490217** e o código CRC **B619C436**.

## **Agradecimentos:**

À UFOP pelo ensino público, gratuito e de qualidade, e pela oportunidade de me formar Bióloga.

Ao meu grande amigo e Orientador Hildeberto Caldas de Sousa, que está ao meu lado desde o terceiro período me orientando e auxiliando em tantos aspectos da vida. Obrigada pelos dias de trabalho e pelos dias de loucura, pelos cafézinhos na portaria do ICEB, pelas conversas sérias e pelas conversas descontraídas.

Ao laboratório de Anatomia Vegetal da UFOP por todos os ensinamentos em botânica, em especial à minha amiga Ana Cirilo. Obrigada por ser minha parceira de laboratório, de campo, de sala de aula, de empreitadas, de tudo. Você me enxergou antes de mim mesma, sou grata por ter você ao meu lado.

Aos laboratórios de Anatomia Vegetal da UFMG, Anatomia, Desenvolvimento Vegetal e Interações (LADEVI) da UFU e laboratório de Fisiologia Vegetal (LAFIVE) da UFU pela troca de conhecimentos. Agradeço em especial à Jéssica de Lima por acompanhar de perto minha jornada, mesmo distante.

À minha Co-orientadora Ana Sílvia, por me acolher, orientar e ensinar. Você é uma grande professora, em especial para mim. Obrigada por tanto.

Aos meus amigos de curso por me ajudarem durante toda minha formação, em especial Camila Lobo e Isabella Lopes. Obrigada por todas as horas que viajamos nas maravilhas da Biologia.

Aos meus pais que me deram coragem para ir estudar em outra cidade. Obrigada por todo carinho, respeito e amor. Às minhas avós (*in memoriam*), por me darem exemplo e coragem de ser quem eu sou. Ao meu avô Geraldo e às minhas tias e tios. Em especial, tia Gugu, Dininha e tio Chain, que tanto fez por mim. Agradeço a vocês pelos momentos de desabafo e incentivo.

À Atticus, por montar o escritório em qualquer lugar para que pudéssemos trabalhar lado a lado durante os dias corridos.

À Kaos Feminina por me apoiar e me ajudar a meter a cara nos livros. Obrigada pelas conversas, pelos dias de sol no quintal e pelos momentos que passamos juntas.

À Palmares, que é o grande amor da minha vida! Obrigada pelo apoio e irmandade, e por me aguentar, principalmente na reta final.

**Resumo:**

O micotrofismo é obrigatório para germinação das sementes de orquídeas, pois estas não contêm reserva lipídica e proteica suficiente para suprir seu desenvolvimento primário. A endomicorriza infecta a semente e enovela-se em células do parênquima cortical, formando *pelotons*. Essa associação costuma se estender até a vida adulta das plantas e os *pelotons* passam a colonizar suas raízes. O tipo de hábito de vida da planta pode influenciar seu desenvolvimento e pode gerar características anatômicas diversas em resposta às diferentes pressões ambientais. Nesse estudo, buscou-se avaliar a presença e o nível de colonização por micorrizas, bem como caracteres qualitativos e quantitativos das raízes de *Prosthechea pachysepala* epífitas e rupícolas que habitam campos rupestres quartizíticos, e campos rupestre ferruginosos. Raízes completamente desenvolvidas, foram coletadas, fixadas em FAA 50, e seccionadas em cortes transversais à mão livre, e com o auxílio de micrótomo rotativo. Os cortes foram corados com azul de astra e fucsina básica e montados em gelatina glicerinada, ou desidratadas em série etanólica e infiltradas em metacrilato. Foram realizadas análises estruturais anatômicas, histoquímicas e histométricas das raízes. Os parâmetros quantitativos foram submetidos ao Test t de Student e Kruskal Wallis, para os dados não paramétricos. Não houve diferenças estruturais entre as raízes, nem em relação ao fungo micorrízico observado. Através da histoquímica foi possível detectar a natureza química das células e tecidos. De acordo com os testes estatísticos o número de células comuns da endoderme variou entre os indivíduos de *P. pachysepala*, fato que pode estar relacionado à função de retenção de água dentro do cilindro vascular proporcionado pela deposição de suberina nas células do tecido.

**Palavras-chave:** Micotrofismo, Campo rupestre, Anatomia Vegetal, *peloton*.

**Abstract:**

Mycotrophy is mandatory for the germination of orchid seeds, as they do not contain enough lipid and protein reserves to support their primary development. Endomycorrhizae infect the seed and envelop cortical parenchyma cells, forming pelotons. This association usually extends throughout the plant's adult life, and the pelotons begin to colonize its roots. The plant's lifestyle can influence its development and generate diverse anatomical characteristics in response to different environmental pressures. In this study, we sought to evaluate the presence and level of mycorrhizal colonization, as well as qualitative and quantitative root traits of *Prosthechea pachysepala* epiphytes and rupicolous plants inhabiting quartzite and ironstone rocky fields. Fully developed roots were collected, fixed in FAA 50, and hand-sectioned or sectioned with a rotary microtome. The sections were stained with astral blue and basic fuchsin and mounted in glycerinated gelatin or dehydrated in an ethanol series and infiltrated with methacrylate. Structural, histochemical, and histometric analyses of the roots were performed. The quantitative parameters were subjected to Student's t-test and Kruskal Wallis for non-parametric data. There were no structural differences between the roots, nor with respect to the observed mycorrhizal fungus. Histochemistry allowed for the detection of the chemical nature of cells and tissues. According to statistical tests, the number of common endodermis cells varied among individuals of *P. pachysepala*, which may be related to the water retention function within the vascular cylinder provided by suberin deposition in the tissue cells.

Keywords: Mycotrophy, Rocky field, Plant Anatomy, Peloton.

## Sumário

<b>1. Introdução.....</b>	<b>7</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>9</b>
2.1. Área de estudo e delineamento amostral.....	9
2.2. Análises estruturais.....	9
2.3. Análises histoquímicas.....	10
2.4. Análises dos dados.....	11
<b>3. Resultados e discussão.....</b>	<b>11</b>
3.1 Análises estruturais.....	11
3.2 – Análises histoquímicas.....	18
3.3 – Análise dos dados.....	24
<b>4. Conclusão.....</b>	<b>26</b>
<b>5. Referências.....</b>	<b>27</b>

## 1. Introdução

As orquídeas apresentam uma peculiaridade em relação às outras famílias de angiospermas: o micotrofismo, um fenômeno caracterizado pela simbiose com fungos (Nogueira et al., 2005). Suas sementes são diminutas, também chamadas de “dust seeds”, não contêm reserva lipídica e proteica suficiente para suprir seu desenvolvimento primário (Santos, 2012; Nogueira et al., 2005). Desta forma, para germinação e estabelecimento da plântula no ambiente é necessária a utilização de fungos como meio de aquisição de fonte de energia alternativa. A infecção pode ocorrer quando hifas do fungo compatível entram em contato com rizóides ou quando atravessam a testa da semente, pela micrópila ou por fendas no tegumento (Boldrini et al., 2010). Dentro da semente as hifas se descolam por atração ao suspensor e se enovelam, formando *pelotons* dentro das células parenquimáticas. Após a formação do protocormio, as células iniciam o processo de digestão enzimática e os primeiros *pelotons* começam a ser degradados fornecendo a energia necessária para a germinação da semente (Boldrini et al., 2010). A infecção pelas micorrizas na maioria das espécies estende-se até a vida adulta. A presença dos *pelotons* permanece nas raízes, sendo considerado um importante fator de aquisição de nutrientes pelas orquídeas (Valadares, 2009). A simbiose com o fungo depende da interação e da compatibilidade entre a espécie do fungo e da orquídea (Pereira et al., 2011).

O sistema radicular é a primeira estrutura a se formar após a germinação e a partir dele a planta irá se fixar no ambiente (Raven et al., 2014). A maioria das raízes de espécies de Orchidaceae, sobretudo as epífitas, apresentam epiderme radicular multisseriada, estrutura chamada de velame que confere resistência mecânica e favorece a absorção de água (Pridgeon et al., 1983; Pridgeon, 1987; Porembsky & Batholott, 1988). O córtex das raízes é constituído, mais externamente, pela exoderme, seguido do parênquima cortical e da endoderme, que envolve o cilindro central (Pridgeon et al., 1983; Pridgeon, 1987). A endoderme e a exoderme formam barreiras apoplásticas ao fluxo de entrada na raiz e a maior parte do que entra passa pelas células de passagem desses tecidos (Gloria & Hayashi, 2006). As células parenquimáticas corticais, frequentemente, são fotossintetizantes, podem apresentar algum espessamento parietal e conter idioblastos com feixes de ráfides ou drusas, além de outras substâncias armazenadas no vacúolo (Herreiro, 2014). Ainda no córtex, é comum a presença dos *pelotons*, que, a depender do substrato no qual a planta se fixar, podem se tornar



permanentes e aparecer em diferentes taxas de infestação (Nogueira et al., 2005; Valadares, 2009; Lima & Moreira, 2022). A estrutura geral dessas raízes podem apresentar variações dependendo do substrato em que crescem.

Em muitos casos essa simbiose exige certo grau de especificidade (Thompson, 1994; Lee Taylor & Bruns, 1999) que pode ser relacionado a grupos funcionais de fungos, como determinadas famílias, gêneros ou espécies (Hadley & Pegg, 1989). Há também evidências de que fatores externos, como o contato com o substrato, sua composição abiótica, altitude, temperatura e características da população, entre outros, podem afetar a interação da planta com o fungo micorrízico (Thompson, 1994; Rasmussen, 1995; Lima & Moreira, 2022). Interações micorrízicas podem modelar a distribuição de espécies, permitindo o desenvolvimento das hospedeiras sobre substratos pobres em nutrientes (Denison & Kiers, 2022).

Orchidaceae é a segunda maior família de angiospermas e a maior entre as monocotiledôneas ( Boldrini et al., 2010; Stinca, 2022), com aproximadamente 736 gêneros e 28.000 espécies, totalizando cerca de 8% da biodiversidade de todas as plantas vasculares (Pridgeon et al., 2001). No Brasil ocorrem 251 gêneros e 2678 espécies de Orchidaceae registradas em todos os biomas brasileiros, sendo a maior representatividade na Mata Atlântica (Orchidaceae FFB, 2022; Pabst et al., 1975). Apresentam distribuição cosmopolita, exceto nas áreas de deserto e Antártica (Pridgeon et al., 2001; Antonelli et al., 2020). Sua diversidade também está presente no hábito de vida entre espécies, podendo ser aquáticas, epífitas, hemiepífitas, rupícolas, saprófitas e terrestres. Indivíduos de uma mesma espécie também podem adotar mais de um tipo de hábito de vida (Orchidaceae Flora e Funga do Brasil [FFB], 2022). Alguns gêneros e espécies saprófitas dependem da simbiose com fungos micorrízicos por toda sua vida, como *Pogoniopsis* Rchb.f. (Dias & Smidt, 2023).

*Prosthechea pachysepala* (Klotzsch) Chiron & V.P.Castro é uma orquídea nativa do Brasil, endêmica do Cerrado e da Mata Atlântica (Vieira & van den Berg, 2022), biomas ameaçados pelo desmatamento (Duarte & Leite, 2020). Apresenta indivíduos que crescem como epífitas em campos rupestres ferruginosos e como rupícolas em campo rupestres quartizíticos. Os campos rupestres são fitofisionomias que ocorrem somente no Brasil alto índice de biodiversidade. Devido à distribuição da vegetação entre afloramentos rochosos, ocorrem microhabitats adjacentes, que caracterizam os campos rupestres como mosaicos vegetacionais (Veloso, 1991). A localização dos campos rupestres em áreas montanhosas

com solos rasos os torna vulneráveis à mudanças globais, como alterações climáticas e perdas de habitat (Fernandes et al., 2020).

Sendo assim, este estudo teve como finalidade, conhecer espécies nativas que habitam os campos rupestres, e verificar se estes diferentes habitats podem gerar diferenças anatômicas em raízes de *P. pachysepala*, como visto por Kong et al (2014) para outras espécies de orquídeas. Além disso, em plantas epífitas, é comum que a infecção por fungos seja maior na face aderida ao substrato, no entanto espera-se neste estudo que a própria constituição do substrato vá determinar diferentes taxas de colonização por micorrizas nessas raízes. Nesse caso, espera-se que as plantas epífitas (substrato predominantemente orgânico) apresentem maior taxa de infestação pelas micorrizas com relação às plantas que crescem sobre rochas (substrato com predominância mineral).

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1 Área de estudo e delineamento amostral**

O estudo foi realizado na Área de Proteção Estadual Cachoeira das Andorinhas, nos arredores do Parque Natural Municipal das Andorinhas (PNMA), na cidade de Ouro Preto, estado de Minas Gerais.

A região do PNMA, segundo a classificação de Köppen, é do tipo úmido mesotérmico (Cwb), com inverno seco e verão quente e chuvoso (Ferreira, 2011). A altitude varia entre 920m, às margens do Rio das Velhas e 1490 m, na Serra da Brígida (Guedes, 2008). As fitofisionomias predominantes na área de estudo são as Florestas Estacionais Semidecíduais Altimontanas (FESA), Campos Rupestres (CR) e Regiões Antropizadas (Scalco & Gontijo, 2010). É comum que ocorram formações de campos rupestres ferruginosos entremeados a formações de campos rupestres quartzíticos, que correspondem a afloramentos rochosos comuns do quadrilátero ferrífero (Messias et al., 2012).

Foram selecionadas áreas na Serra da Brígida e no Parque das Ruínas de campos rupestres ferruginosos e quartzíticos (CRF e CRQ), respectivamente. Nessas áreas foram realizadas buscas ativas de indivíduos de *Prostachea pachysepala*. Os indivíduos encontrados foram marcados, coletados e fotografados. As exsiccatas foram depositadas no Herbário Professor José Badini (UFOP) e enviadas a um especialista para confirmação. Posteriormente foram sorteados cinco indivíduos em cada área. Nas áreas de campo rupestre ferruginoso

foram encontrados apenas indivíduos de hábito epifítico, enquanto em campo rupestre quartizítico apenas indivíduos de hábito rupícola.

## **2.2 Análises estruturais**

Para análises anatômicas foram coletadas raízes plenamente desenvolvidas, dos cinco indivíduos (em cada fitofisionomia). As amostras foram fixadas em FAA 50 (formalina, ácido acético, álcool etílico 50% na proporção de 1:1:18 v/v) e, após 48h, levadas a uma bomba de vácuo para retirada do ar para, posteriormente, serem estocadas em etanol a 70% (Johansen, 1940).

Cortes transversais foram realizados, distantes a 2 cm do ápice, à mão livre (com o auxílio de uma lâmina de barbear), clarificados em hipoclorito de sódio 50%, lavados e posteriormente corados com azul de astra 0,5% em ácido tartárico 2% e fucsina básica 0,5% em etanol 50%. Os cortes foram montados entre lâminas e lamínulas utilizando-se gelatina-glicerinada de Kaiser como meio de montagem (Kraus et al., 1998).

Para observação de secções mais finas e obtenção de medições histométricas padronizadas, parte das amostras foram desidratadas em série etanólica e infiltradas em metacrilato de acordo com as instruções do fabricante (Historesin® Leica, Alemanha).

Posteriormente foram realizados cortes com cerca de 10 µm de espessura no plano transversal com o auxílio de um micrótomo rotativo (YD315, ANCAP, Brasil), utilizando-se navalhas de aço inox e navalhas de vidro. As secções foram montadas em lâminas histológicas, coradas com azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato 0,1M, com pH 6,8 (O'Brian et al., 1964) e fotomicrografadas em microscópio acoplado a câmera digital (Leica, DM1000, Alemanha).

Para caracterização histométrica das raízes, foram contados o número de camadas do velame, o número de células comuns e de células de passagem da exoderme e da endoderme, o número de células totais do córtex, o número de células infectadas por micorrizas no córtex e o número de células com presença de estrutura cristalina no córtex. Foram mensurados o diâmetro da raiz e do cilindro vascular, a espessura do córtex e do velame.

Todas as medidas foram realizadas com o auxílio do software ImageJ (versão 1.53, National Institute of Health, EUA).

## **2.3. Análises histoquímicas**

Para caracterização histoquímica das raízes, cortes à mão livre foram submetidos aos reagentes: Sudan III para detecção de compostos lipídicos (Johansen, 1940), solução de lugol (iodo + iodeto de potássio) para detecção de amido (Johansen, 1940), e solução de azul de bromofenol 1% com sequente lavagem em ácido acético 0,5%, seguida da lavagem em água destilada, para verificação de atividade nuclear das células (Durrum, 1950). As lâminas temporárias foram montadas em água destilada, levadas imediatamente ao microscópio e fotografadas em microscópio acoplado a câmera digital (Leica, DM1000, Alemanha).

Para detecção de lignina nas paredes celulares, os cortes à mão livre foram montados em lâminas temporárias e levadas ao microscópio óptico com sistema de fluorescência Leica® DM500 acoplado a câmera HD5000, com emissão de filtro DAPI (espectro de excitação: 385-400 nm) (Chomicki et al., 2014). Também foi utilizado floroglucinol acidificado para confirmação dos resultados (Sass, 1958).

Para determinar a natureza cristalina das estruturas distribuídas pelas raízes, os cortes foram observados com filtro polarizador em microscópio óptico.

#### **2.4. Análises dos dados**

Os dados de histometria das raízes foram comparados entre os tipos de hábito (epífita e rupícola), utilizando-se o software R (i386 4.1.3) e considerado nível de significância de 5%. A normalidade dos dados foi testada de acordo com o teste de Shapiro-Wilk. Foi utilizado o Test t de student para variáveis que atenderam ao padrão de normalidade (diâmetro da raiz, espessura do velame, número de células comuns da exoderme e endoderme, número de células de passagem da exoderme e endoderme, espessura do córtex, número total de células do córtex, número de células com cristais de flavonoides). Dados não paramétricos (diâmetro do cilindro vascular, número de camadas do velame e o número de *pelotons*) foram submetidos ao teste Kruscal Wallis. Todos os caracteres foram avaliados como unidade em relação aos ambientes em que as raízes crescem.

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1 Análises estruturais**

A estrutura radicular dos indivíduos epifíticos e rupícolas são semelhantes. A raiz em corte transversal é circundada pelo velame, seguido por uma exoderme lignificada, exceto pelas células de passagem (Fig.1 – A, B). Delimitado entre a exoderme e a endoderme, está o parênquima cortical exibindo algumas células com espessamento em “phi” (Fig.1 – B). A

endoderme apresenta estágio secundário de desenvolvimento, com espessamento completo das paredes (em “O”), exceto nas células de passagem, que possuem apenas parede primária

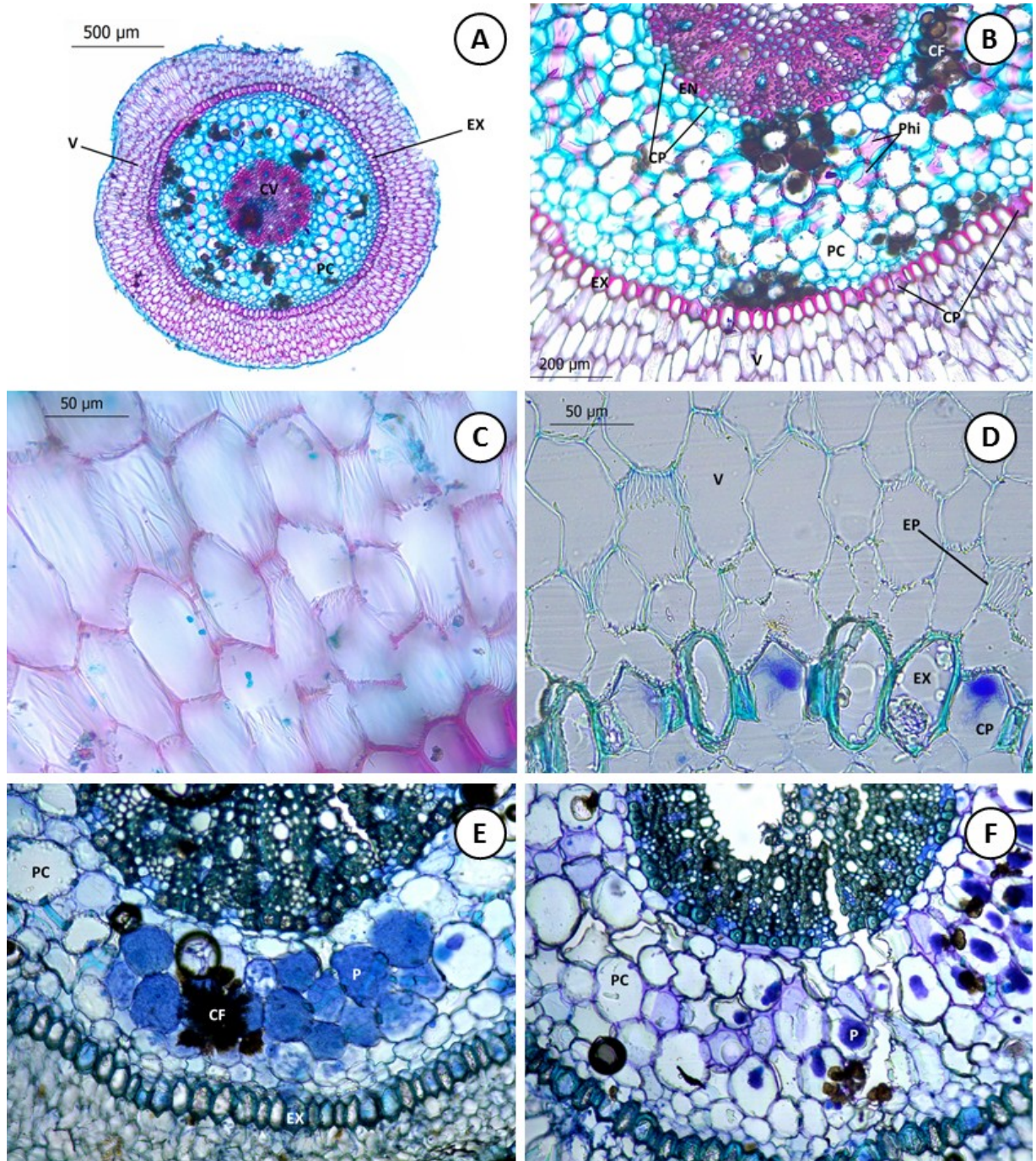
De modo geral, o velame é associado ao hábito epifítico em diversos grupos de plantas, mas tem-se mostrado um caráter compartilhado por indivíduos de hábito rupícola e terrestre (dos Santos et al., 2021). As raízes de indivíduos de *P. pachysepala* de hábito rupícola e epifítico, apresentam velame com 4-7 camadas de células mortas na maturidade e espessamento da parede do tipo parietal helicoidal (Fig.1 – C, D), assim como observado em outras espécies de orquídeas (Kedrovski, 2019). Esta estrutura, juntamente com uma impregnação por substâncias de caráter hidrofóbico, como lignina e suberina, confere à planta uma maior absorção de água por facilitar o fluxo apoplástico em direção à exoderme (Porembski & Barthlott, 1988; Joca, 2017). Além de facilitador do transporte apoplástico, os espessamentos parietais do velame proporcionam uma proteção mecânica e conferem grande resistência à desidratação e interferências físicas (Joca, 2017).

A exoderme é a camada mais externa do córtex. Em Orchidaceae, geralmente, é unisseriada e desenvolve parede secundária lignificada e/ou suberificada. As substâncias presentes na parede deste tecido constroem uma barreira apoplástica ao fluxo de entrada de água e compostos químicos, físicos e biológicos na raiz (Gloria & Hayashi, 2006).

A entrada de água, íons e, até mesmo outros organismos, ocorre pelas células de passagem, que se conservam com uma parede primária e permitem a entrada via simplasto. As raízes analisadas apresentam exoderme unisseriada, composta de células octogonais ovaladas em corte transversal, com pouco ou nenhum conteúdo citoplasmático aparente, e com paredes espessadas em “O”, exceto nas células de passagem (Fig.1 - D). Estas são, em sua maioria, hexagonais e com conteúdo citoplasmático evidente e denso, apresentando núcleo aparente (Fig.1 - D). A atividade metabólica evidenciada nas células de passagem pode ser relacionada à sua função de seletividade (Lana et al., 2021).

Internamente à exoderme, encontra-se o parênquima cortical, composto de células isodiamétricas poligonais ovaladas, com poucos ou sem cloroplastos e, com o vacúolo ocupando a maior parte da célula (Fig.1 – E, F). Os espaços intercelulares diminuem de diâmetro na periferia do córtex, sendo as células da camada mais externa menores (Fig. 1 – B). Diversas células apresentam espessamento em “phi” (Fig. 1 – B), um tipo de espessamento já registrado em espécies de Orchidaceae (Pires et al., 2003) e que contribuem para a sustentação da raiz. Foi notada também a presença de idioblastos com feixes de ráfides (Fig. 3 – A).

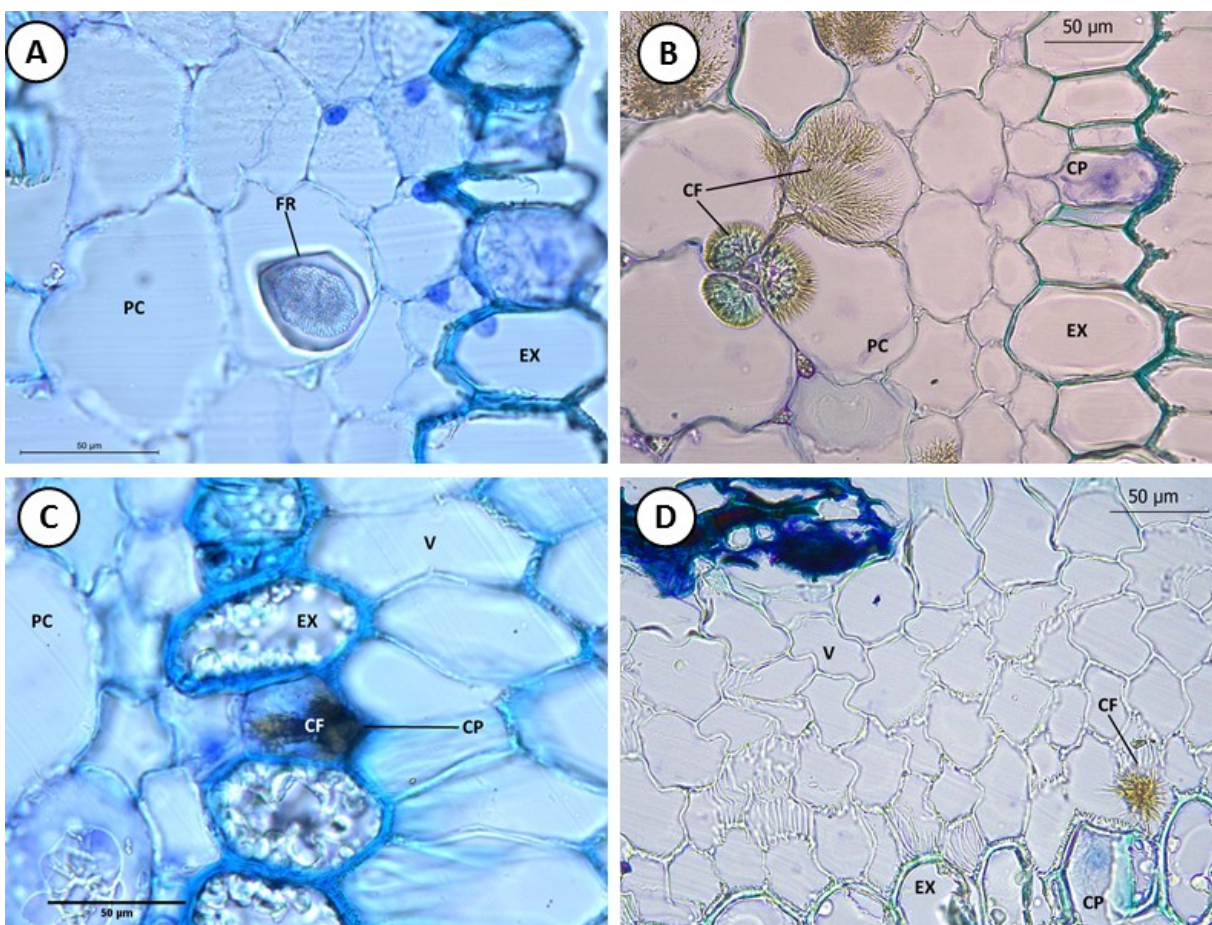
Ráfides são comuns em diferentes órgãos de orquídeas, bem como em outras monocotiledôneas (Metcalf, 1963), como resultado do armazenamento ou isolamento do ácido oxálico no vacúolo em forma de cristais de oxalato de cálcio insolúveis (Costa, 1975). Em casos de deficiência de cálcio, a planta pode remobilizar o oxalato e utilizá-lo, logo, a presença de cristais de oxalato de cálcio está relacionada ao balanço iônico e osmoregulação da planta (Pabst & Dungs, 1975; Menezes et al., 2004).



**Figura 1.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG.

Legenda – **A:** visão geral da raiz. **B:** porção do córtex e velame. **C:** detalhe do espessamento das células do velame. **D:** detalhe da exoderme. **E:** córtex com *pelotons*. **F:** Córtex com *pelotons* em digestão enzimática. **Síglas:** CF – cristais de flavonoides; CP: células de passagem; CV – cilindro vascular; EN – endoderme; EP – espessamento parietal helicoidal; EX – exoderme; P – *peloton*; PC – parênquima cortical; Phi – espessamento da célula cortical; V – velame.

Ainda, no parênquima cortical encontram-se os *pelotons* (Fig.1 – E, F). As hifas do fungo adentram o velame e passam pelas células de passagem da exoderme, chegando ao córtex, onde essas estruturas se formam (Santos, 2012). Nos indivíduos analisados foi possível perceber a presença de *pelotons* em diferentes estágios de colonização e digestão enzimática. Foram observadas hifas fúngicas no velame em indivíduos já com *pelotons* e em indivíduos sem a presença de *pelotons* instalados (Fig.2 – A, B). Notou-se também que as hifas migram exatamente da extremidade da raiz em contato com o substrato (Fig. 2 –B).



**Figura 2.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG.

Legenda – **A:** velame com infecção micorrízica. **B:** detalhe do resquício de substrato em contato com o velame. **C:** detalhe do cilindro vascular. **D:** detalhe do velame e exoderme. **Síglas:** CIRCULADO – substrato; CF – cristais de flavonoides; CP: células de passagem; CV – cilindro vascular; EN – endoderme; EP – espessamento parietal helicoidal; EX – exoderme; F- floema; M – medula; P – *peloton*; PC – parênquima cortical; Phi – espessamento da célula cortical; SETAS – hifas fúngicas; X – xilema; V – velame.

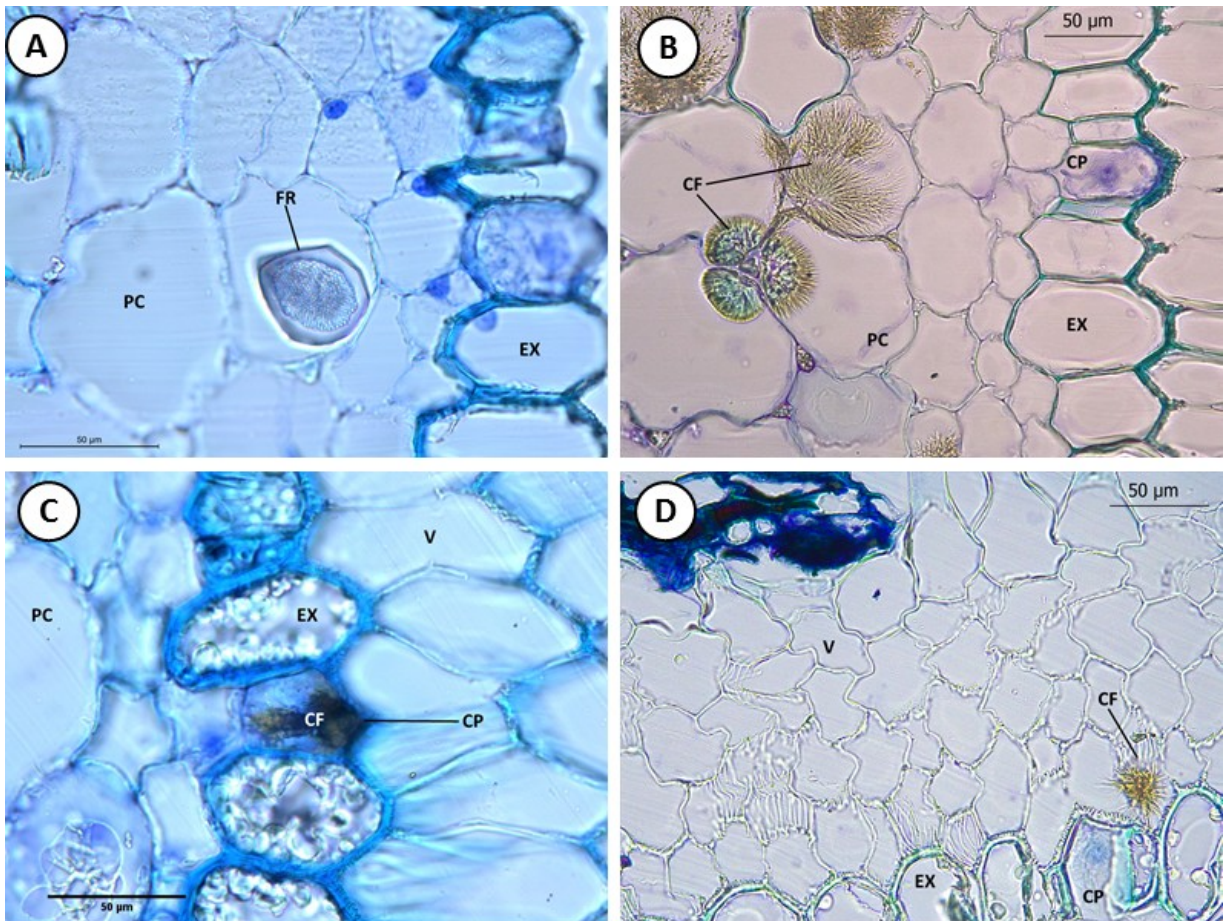
A germinação das sementes de orquídeas é dependente da simbiose com o fungo micorrízico adequado e ocorre em condições favoráveis, quando a semente e o fungo se encontram no ambiente (Kersten, 2010). É comum que essa relação se mantenha na planta adulta, desde que o fungo simbiote esteja presente no substrato (Valadares, 2009). Ademais, em ambientes estressantes com sazonalidade bem marcada e substratos pobres em nutrientes, como é o caso dos campos rupestres, essa relação tende a se manter (Santos, 2012). Além do fornecimento de nutrientes para a planta através da digestão enzimática, o fungo também pode auxiliar na transferência de água e nutrientes, como fósforo, do substrato para a planta, como visto por de Aguiar Lima (2020). Os micélios fúngicos podem crescer até cem vezes mais que pelos radiculares, fornecendo uma extensão no sistema de forrageamento, auxiliando também na captação do nitrogênio e uma gama de micronutrientes (Denison & Kiers, 2011). Como esperado, foram encontrados simbioses micorrízicos em *P. Pachysepala*. Provavelmente eles aumentam o *fitness* dos indivíduos que habitam os campos rupestres da região, local considerado estressante.

Os fungos geralmente envolvidos em simbiose micorrízica são do gênero-forma *Rhizoctonia*, chamados também de rizoctonióides, um grupo polifilético de patógenos, endofíticos saprófitos e micorrízicos (Valadares, 2009). Mesmo alguns fungos que são patogênicos para algumas plantas podem realizar simbiose micorrízica com orquídeas, devido ao controle que elas exercem sobre a infecção. Quando o fungo forma *pelotons*, ocorre um rearranjo dos microtúbulos e filamentos de actina do citoesqueleto das células parenquimáticas os envolvendo. Simultaneamente, forma-se uma membrana perifúngica (modificação da membrana plasmática) a fim de separar o fungo da célula. Nesse processo, mitocôndrias e retículo endoplasmático se agregam aos *pelotons* para a fase de digestão enzimática, juntamente com a produção de fitoalexinas e fosfatases (Valadares, 2009). Nessa relação apenas parte do fungo é degradada, possibilitando a recolonização das células que já digeriram *pelotons*. O micotrofismo em orquídeas autotróficas é um fenômeno que garante uma via alternativa de obtenção de energia para a planta e carbono para o fungo (Nogueira et al.,



2005). No entanto, o fungo também recebe carbono e outros nutrientes de outros fungos saprófitos comuns no substrato, o que pode tornar o entendimento da conexão entre a rede de plantas autotróficas extremamente complexa (Högberg et al., 1999; Martos et al., 2009; Borges, 2020).

Os cristais de flavonoides presentes nas raízes de *P. pachysepala* aparecem em todos os tecidos radiculares, sobretudo no córtex (Fig. 3 – B, C, D). A ocorrência desses cristais pode estar relacionada ao estresse hídrico, pois, flavonoides tendem a se associar a radicais livres e formar cristais insolúveis, muito frequentes em plantas que vivem sob algum tipo de estresse (Yamasaki et al., 1997; Ramakrishna & Ravishankar, 2011). Contudo, Harborne (1997) aponta que o principal fator contribuinte é o excesso de luminosidade e absorção UV, o que poderia estar associado à ocorrência dessas plantas em altitudes superiores a 1400 m, como é o local de estudo desse trabalho. Contudo, a presença desses cristais demonstrou-se ser um caractere de valor taxonômico e foi utilizada em 1981 por Pabst et al., para separar o gênero *Anacheilium* de *Encyclia*, posteriormente *Prosthechea* foi considerado um congênera de *Encyclia* (Dressler, 1993). Em estudos mais recentes, a presença de cristais de flavonoides em todas as espécies de *Prosthechea* e ausência deles em *Encyclia*, deu suporte para a segregação do gênero *Prosthechea* (Pires et al., 2003).



**Figura 3.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG.

Legenda – **A:** idioblasto com feixe de ráfides. **B:** córtex com cristais de flavonoides. **C:** exoderme com cristais de flavonoides. **D:** velame com cristais de flavonoides. **Síglas:** CF – cristais de flavonoides; CP: células de passagem; EX – exoderme; FR – feixe de ráfides; PC – parênquima cortical; V – velame.

A endoderme, camada mais interna do córtex (Fig. 2 – C), é unisseriada e composta de células compactas retangulares. As paredes são fortemente espessadas por suberina e/ou lignina e circundam toda a célula, exceto nas células de passagem que possuem apenas parede primária e estrias de Caspary (Fig. 2 – C). As células de passagem intercalam com as células comuns da endoderme, sendo encontradas solitárias ou em conjunto de 2 a 5. Este tecido, mais interno que a exoderme, forma uma segunda barreira apoplástica que faz com que a água, íons e demais solutos sejam guiados via simplasto pelas células de passagem (Valadares, 2009). Essas barreiras evitam que os fungos, demais organismos e minerais que possam ter penetrado na raiz, alcancem o cilindro central. As células de passagem são menores que as células comuns da endoderme (provavelmente pela ausência de parede secundária) e frequentemente demonstram núcleo aparente. A endoderme, juntamente com a exoderme, formam uma dupla barreira apoplástica nas raízes de orquídeas. As variações em relação ao espessamento das células comuns desses tecidos e sua composição química, em geral, são respostas da plasticidade fenotípica das espécies aos fatores de estresse (Gomes et al., 2011).

O cilindro vascular é composto de polos de protoxilema e polos de protofloema intercalados, sendo o protoxilema e o protofloema exarcos, ou seja, com protoxilema e protofloema mais externos ao metaxilema e ao metafloema (Fig. 2 – C). No centro do cilindro vascular encontra-se uma medula, constituída por células que possuem apenas parede primária (Fig. 2 – C).

Em relação aos indivíduos de hábito epifítico e de hábito rupícola, não houve grande diferença entre as raízes, nem nos caracteres anatômicos, nem com relação à infecção pelo fungo micorrízico observado.

### 3.2 – Análises histoquímicas

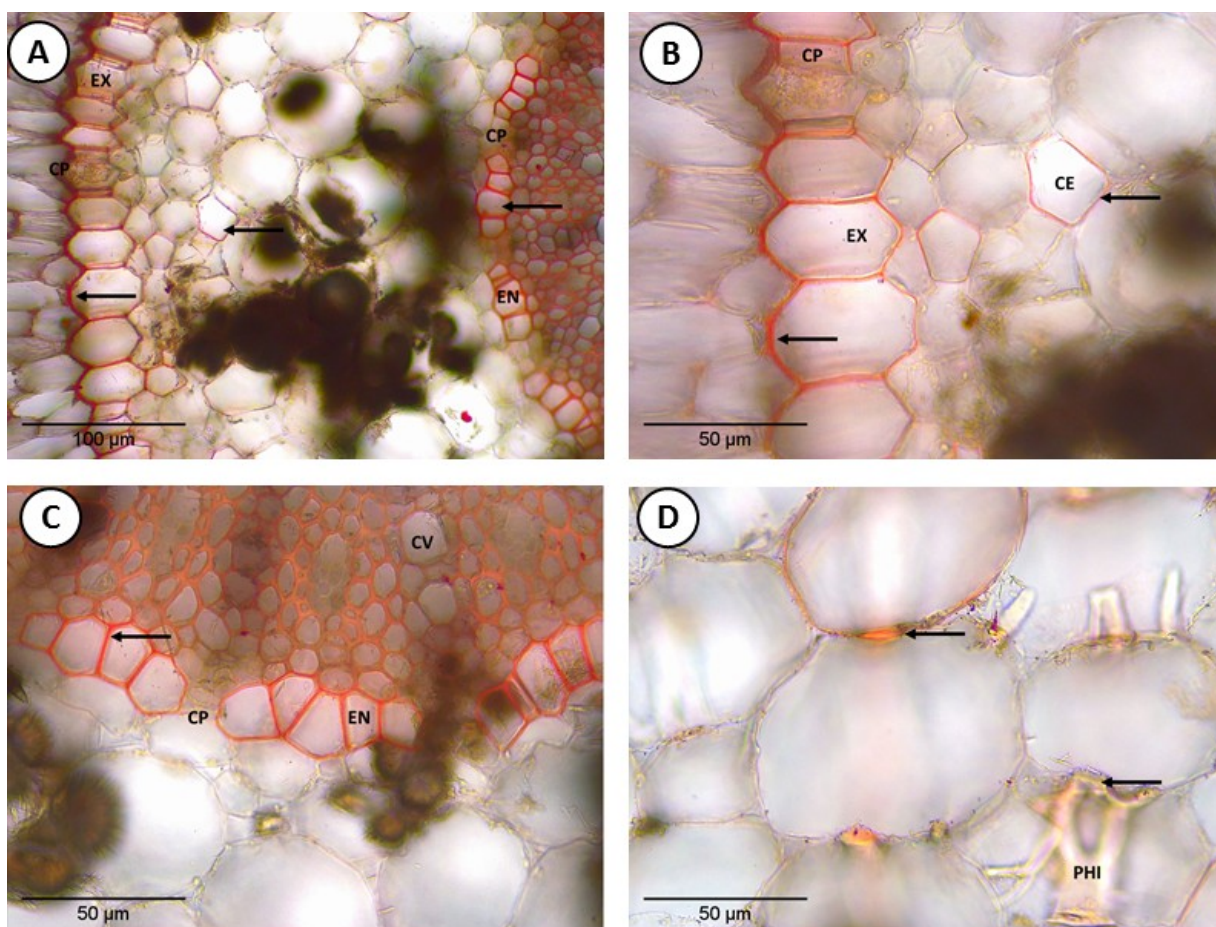
Para a caracterização da composição química dos tecidos da raiz de *P. pachysepala* foram realizados testes histoquímicos de presença e ausência de determinados grupos e compostos químicos (Quadro 1).

Teste	Deteção	Resultado	Descrição
Sudam III	Lipídeos	+	Presente na exoderme e endoderme (exceto nas células de passagem); cilindro vascular e células espessadas do parênquima cortical (espessamentos em "phi" e células esclerificadas).
Lugol	Amido	+	Presente no córtex e medula: células do parênquima cortical e parênquima medular.
Bromofenol	Atividade nuclear	+	Presente nas células do parênquima cortical, células de passagem da exoderme e ápice de pelos radiculares.
Filtro DAPI + Floglucina	Lignina	+	Presente na exoderme e endoderme (exceto nas células de passagem); cilindro vascular e células espessadas do parênquima cortical (espessamentos em "phi").

Quadro 1.

Quadro descritivo de detecção de compostos químicos nos tecidos radiculares de *P. pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG.(Enstone et al., 2003).

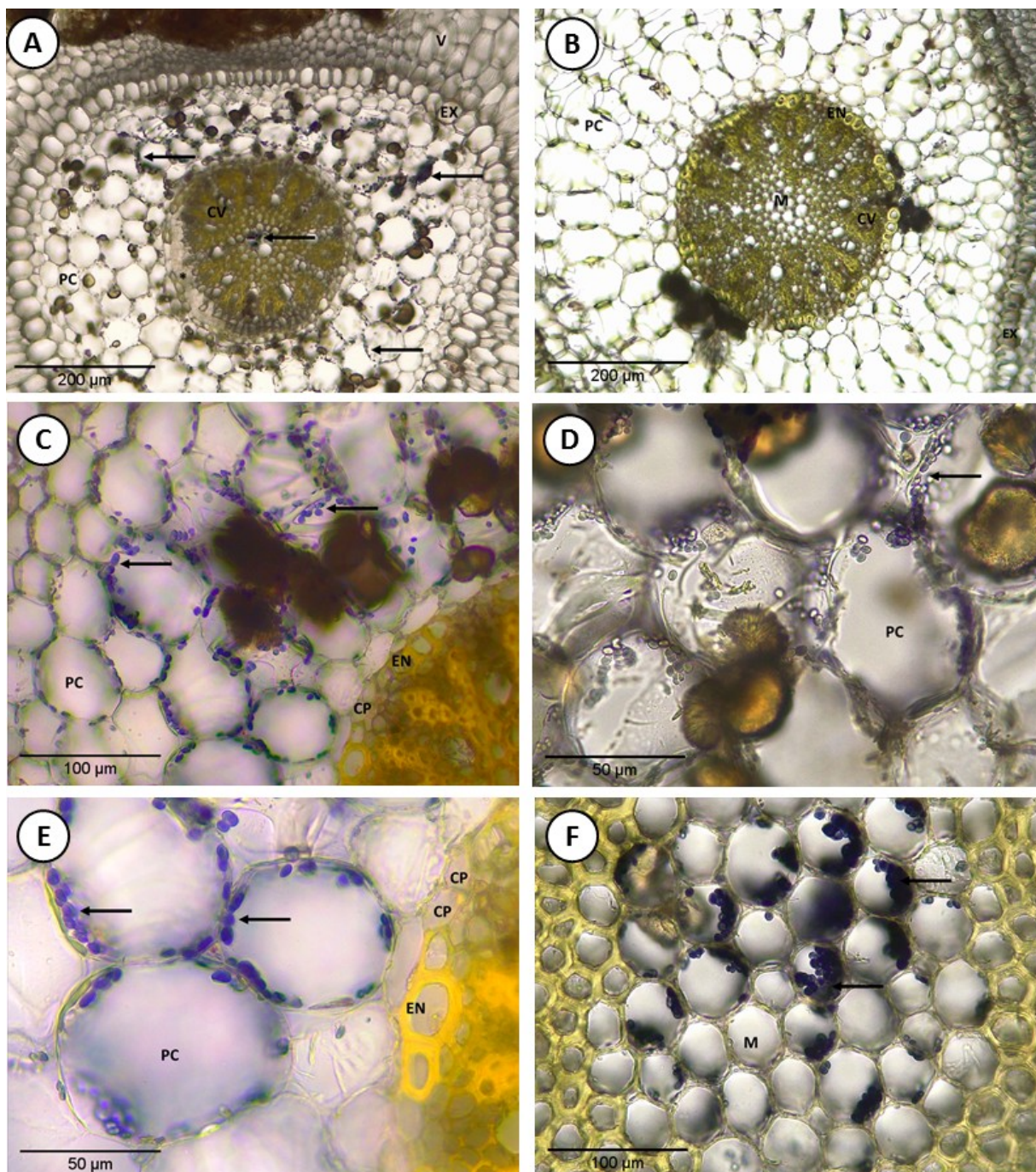
Foram detectadas substâncias de natureza lipídica na exoderme e endoderme, com exceção das células de passagem (Fig. 4 – A, B, C). A substância lipídica mais comum presente nas paredes celulares nesses tecidos é a suberina (Hose et al., 2001). Ela atua impermeabilizando as paredes dessas células, favorecendo o fluxo via simplasto pelas células de passagem que não possuem a camada lipídica impregnada em suas paredes (Joca et al., 2020). Os lipídeos presentes nesses tecidos formam uma dupla barreira apoplástica em direção ao cilindro central. Aparece uma fraca impregnação de lipídeos no velame, em células esclerificadas e células com espessamento em “phi” do parênquima cortical (Fig. 4 – B, D).



**Figura 4.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG; marcação para lipídeos (sudam III).

Legenda – **A:** visão geral. **B:** exoderme. **C:** endoderme. **D:** parênquima cortical. **Siglas:** CE – células esclerificadas; CP: células de passagem; CV – cilindro vascular; EN – endoderme; EX – exoderme; Phi – espessamento da célula cortical; SETAS – detecção de lipídeos.

O acúmulo de grãos de amido no córtex e na medula de raízes de Orchidaceae parece ser um padrão na família e servem como reserva de nutrientes em tempos escassos (Zotz, 1999). *P. pachysepala* apresentou grãos de amido nas células do parênquima cortical e do parênquima medular (Fig. 5).



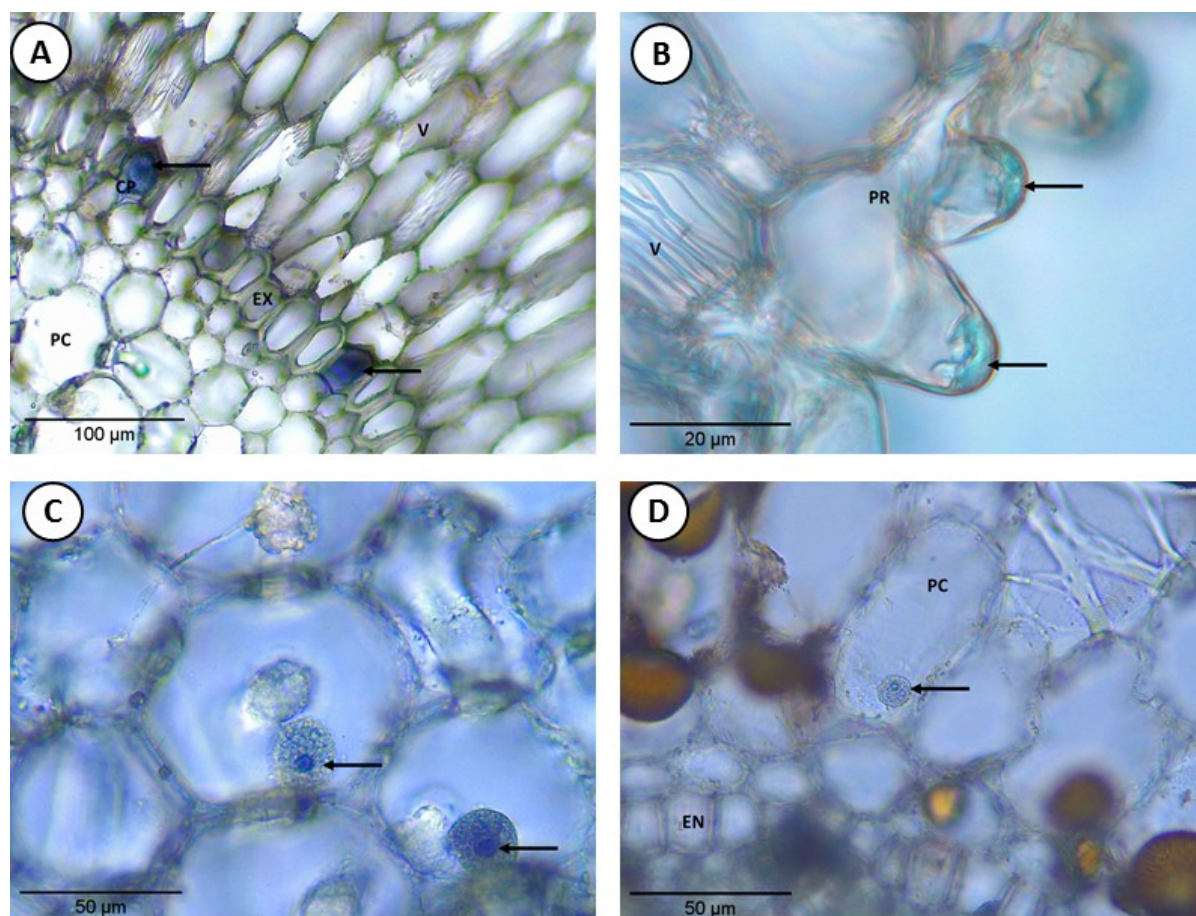
**Figura 5.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG; marcação para amido (lugol).

Legenda – **A – B:** visão geral. **C – E :** parênquima cortical. **F:** medula. **Siglas:** CV – cilindro vascular; CP: células de passagem; EN – endoderme; EX – exoderme; M – medula. PC – parênquima cortical. SETAS – detecção de amido.

Para que haja controle metabólico em uma célula, é necessário que haja atividade nuclear. Os parênquimas tem funções metabólicas diversas, incluindo realizar fotossíntese. São

tecidos elaboradores e/ou de reserva, constituídos de células vivas na maturidade (Moreira, 2015). Foi verificado no parênquima cortical de *P. pachysepala* atividade nuclear (Fig. 6 – C, D).

As células de passagem da exoderme e da endoderme têm função de seletividade e se mantêm vivas (Lana & Moreira, 2020). Foi possível detectar atividade nuclear nessas células, principalmente nas da exoderme (Fig. 6 – A). Ademais, foi observada atividade nuclear nos pelos radiculares (Fig. 6 – B).

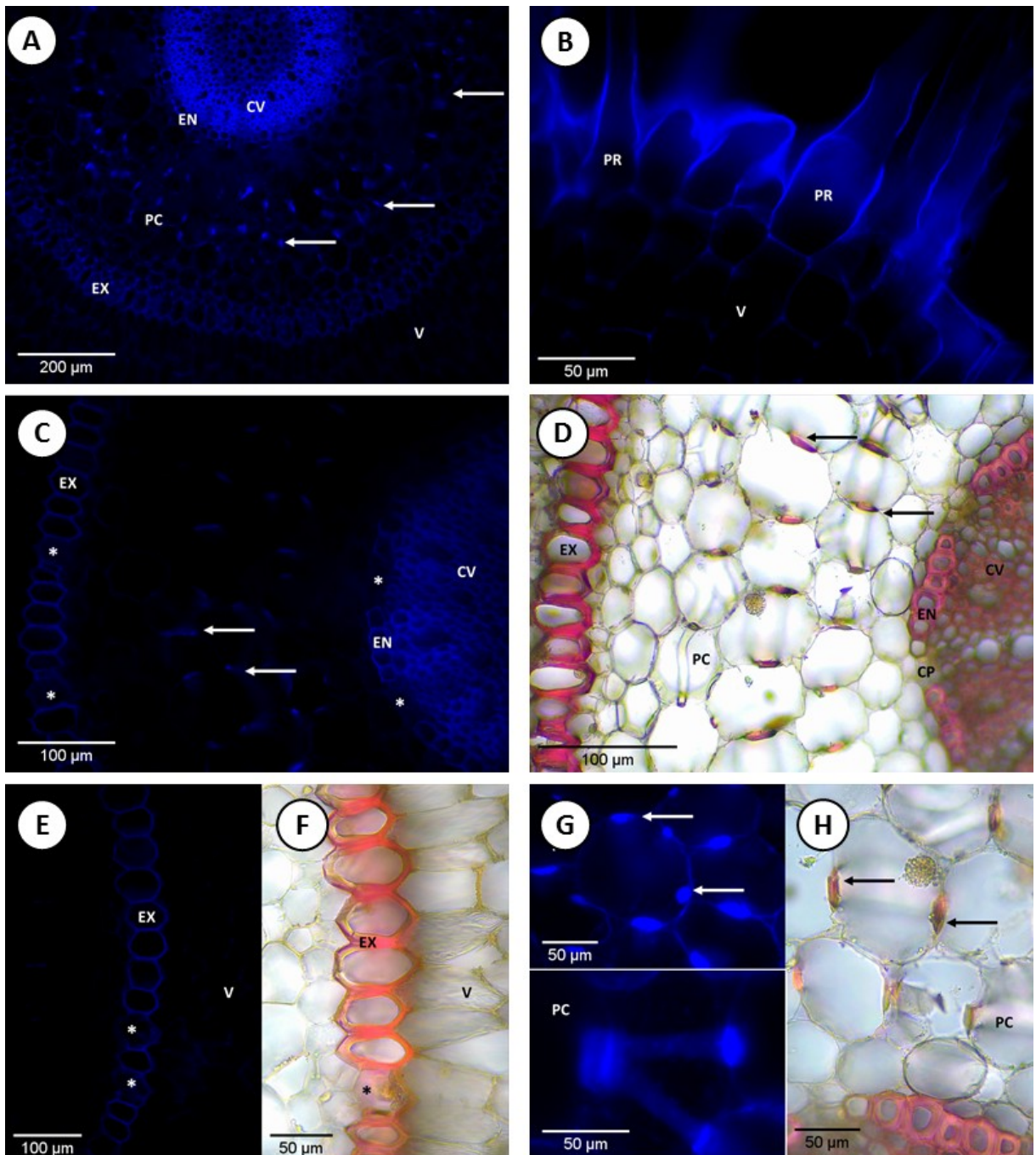


**Figura 6.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG; marcação para atividade nuclear (bromofenol).

Legenda – **A – B:** velame. **C – D:** parênquima cortical. **Símbolos:** CP: células de passagem; EX – exoderme; PC – parênquima cortical. PR – pelo radicular; SETAS – detecção de atividade nuclear; V – velame.

As análises com floroglucina e visualização da fluorescência com filtro DAPI no microscópio óptico indicaram a presença de lignina na junção das células do velame e nos pelos radiculares (Fig. 7 – A, B).

Com o auxílio do filtro DAPI, foi possível ver uma fraca impregnação de lignina nas células de passagem da exoderme (Fig. 7 – E), provavelmente efeito das células pareadas ao velame. Tal fato foi reforçado por não ter sido possível detectar essa impregnação com a floroglucina (Fig. 7 – F). As células comuns da exoderme e endoderme apresentam parede secundária lignificada (Fig. 7 – C, D, E, F). Também foi possível observar impregnação de lignina no xilema do cilindro vascular (Fig. 7 – A) e nos espessamentos em “phi” das células corticais (Fig. 7 – G, H).

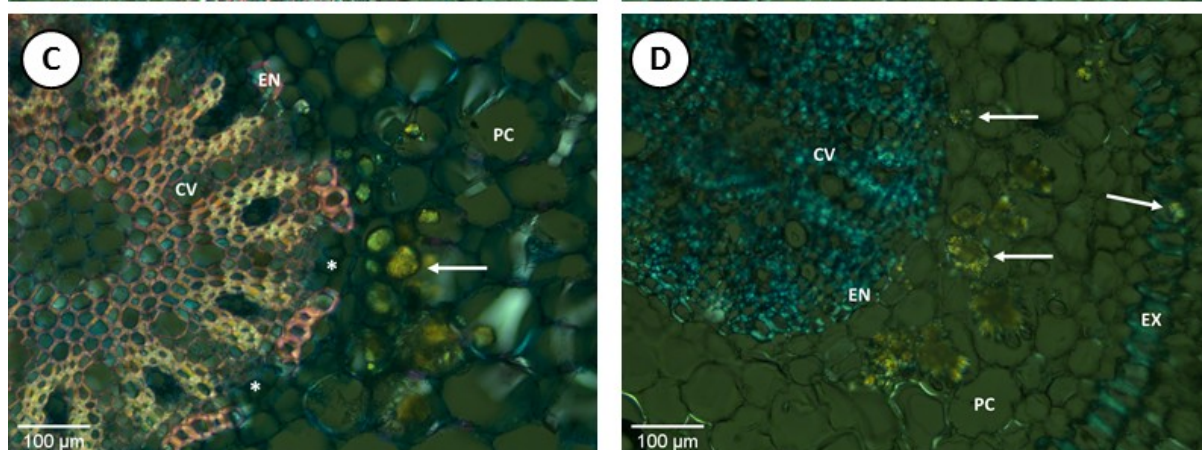
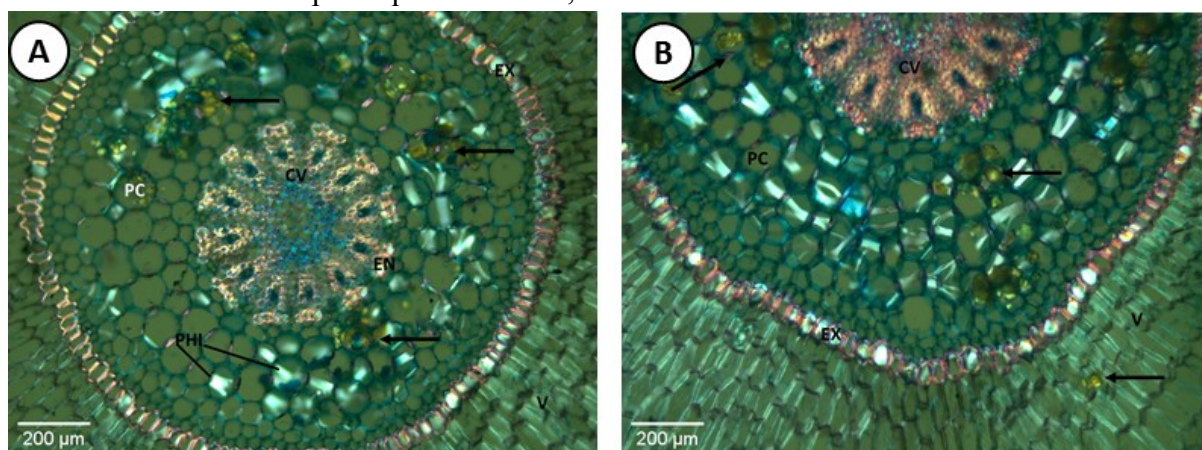


**Figura 7.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG; marcação lignina (filtro DAPI; floglucina).

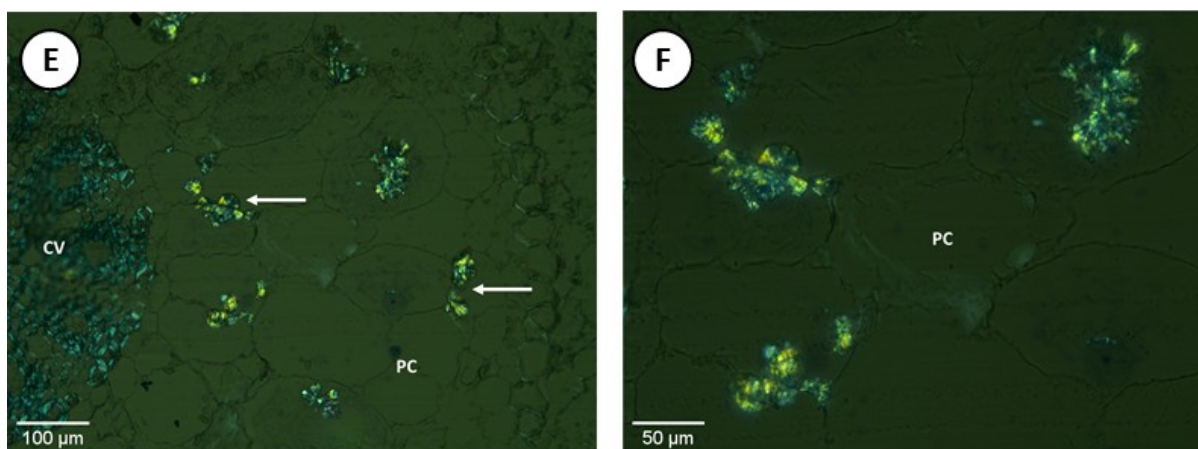
Legenda – **A, C, D:** visão geral. **B:** velame. **E – F:** exoderme. **G – H:** parênquima cortical. **Síglas:** CP: células de passagem; CV – cilindro vascular de passagem; EX – exoderme; PC – parênquima cortical; PR – pelo radicular. SETAS – detecção de lignina; V – velame; \* – células de passagem.

A lignina exerce papel de suporte mecânico em situações de desidratação, evitando o colapso da célula, pois, é uma macromolécula que confere dureza e resistência às paredes celulares, e, conseqüentemente, ao tecido (Noel, 1974). Também é uma defesa importante à infecção de microrganismos fitopatógenos (Davis & Hahlbrock, 1987), à herbivoria (Cooley, 1988) e protege as plantas contra fatores bióticos e abióticos advindos do substrato (Meschede et al., 2012). A presença da lignina nos espessamentos em “phi” configuram permeabilidade auxiliando na condução apoplástica pelo parênquima cortical (Peterson et al., 1981; Melo, 2011).

A natureza cristalina dos cristais de flavonoides foi confirmada através da visualização no microscópio com filtro de luz polarizada (Fig. 8). É possível também observar nas paredes celulares, a organização das moléculas de celulose, que se unem paralelamente, e reflete o brilho no filtro de luz polarizada (Menezes et al., 2004) (Fig. 8). *Prosthechea* apresenta como característica do gênero a presença de cristais de flavonoides (Pires et al., 2003). Portanto, conclui-se que os cristais presentes em todos os tecidos das raízes, exceto as ráfides encontradas no parênquima cortical, são cristais de flavonoides.







**Figura 8.** Secções transversais de raiz: *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG. Legenda – A – F: microscópio óptico com filtro polarizador. Siglas: CV – cilindro vascular; EX – exoderme; PC – parênquima cortical; SETAS – objeto de estrutura cristalina; V – velame.

### 3.3 – Análise dos dados

Os dados histométricos foram comparados como unidade entre os diferentes tipos de hábito, epífita e rupícola (Tabela 1). O único caractere que apresentou diferença significativa foi o número de células comuns da endoderme, uma vez que os indivíduos de hábito epífítico apresentaram valores superiores.

**Tabela 1.** Características estruturais das raízes de *Prosthechea pachysepala* coletadas na Área de Proteção Ambiental Cachoeira das Andorinhas, Ouro Preto – MG. Dados submetidos ao Test t, com exceção dos dados não paramétricos, submetidos ao teste Kruscal Wallis.

Parâmetros	Espécimes		t	p
	Epífitas	Rupícolas		
Diâmetro $\mu\text{m}$	2187.84 $\pm$ 515.99	2114.86 $\pm$ 358.09	0,4500	> 0.05
Diâmetro CV $\mu\text{m}$	612.85 $\pm$ 195.74	508.39 $\pm$ 82.57	1,3974	> 0.05
Velame (n° camadas)	5.2 $\pm$ 0.7746	5.6 $\pm$ 0.9102	2,0038	> 0.05
Velame (espessura) $\mu\text{m}$	359.05 $\pm$ 86.55	377.79 $\pm$ 98.21	0,5545	> 0.05
Exoderme n° cels comuns	114.67 $\pm$ 28.61	118.87 $\pm$ 18.40	0,4781	> 0.05
Exoderme n° cels de passagem	15.67 $\pm$ 6.70	12.47 $\pm$ 3.70	1,6183	> 0.05
Endoderme n° cels comuns	64.27 $\pm$ 22.53a	45.07 $\pm$ 10.09b	3,0126	< 0.01*
Endoderme n° cels de passagem	29.33 $\pm$ 11.36	26.53 $\pm$ 8.01	0,5974	> 0.05
Córtex n° total de cels	496.87 $\pm$ 164.04	436.60 $\pm$ 77.57	1,2863	> 0.05
Córtex (espessura) $\mu\text{m}$	389.53 $\pm$ 72.39	372.64 $\pm$ 57.91	0,7056	> 0.05
n° de Pelotons	10.8 $\pm$ 17.74	4.2 $\pm$ 8.64	0,8821	> 0.05
n° de cels com estrutura cristalina	62.47 $\pm$ 50.59	45.53 $\pm$ 29.23	1,1224	> 0.05

Plantas que realizam transporte de água, íons e outras partículas ou substâncias do córtex para o cilindro vascular, via simplasto, têm uma taxa de transpiração menor em comparação às que utilizam mais da via apoplástica (Chavarría & Santos, 2012). Ademais, em casos de estresse hídrico excessivo, os tecidos mais externos da raiz podem se degradar, tornando a endoderme o tecido vivo mais externo da raiz (Enstone et al., 2002). O colapso da raiz é evitado devido à capacidade de retenção de água dentro dos tecidos que a deposição de suberina proporciona (Enstone et al., 2002). Outro fato constatado pelo estudo de Lima et al., (2022), é que espécies epífitas e rupícolas da região (mesmo local escolhido para o presente estudo) absorvem água atmosférica da neblina pelas folhas em resposta ao estresse hídrico, mas em diferentes taxas. O estudo mostra que plantas rupícolas absorvem mais água atmosférica pelas folhas que plantas epífitas, sendo a espécie *Prosthechea pachysepala* inclusa neste estudo (Lima et al., 2022). Sendo assim, esses fatores podem indicar que o valor superior de células comuns da endoderme, encontrado nos indivíduos epifíticos, seja para reter maior quantidade de água dentro do cilindro vascular em situações de estresse hídrico, já que a absorção de água pela neblina parece ser menos eficiente em epífitas.

#### 4. Conclusão

O estudo realizado fornece dados iniciais para elaboração da resposta para a pergunta que intitula o trabalho: “Raízes de *Prosthechea pachysepala* (Klotzsch) Chiron & V.P.Castro variam de acordo com os hábitos de vida, epífita e rupícola?”. Foi possível realizar uma caracterização anatômica estrutural e histoquímica através da análise de lâminas histológicas e dos testes histoquímicos realizados. Segundo a análise dessas amostras, as raízes não parecem responder de formas anatômicas e histoquímicas diferentes, mesmo estando em diferentes altitudes e em composições químicas e físicas distintas de substrato. Entretanto, ao andar pela região é perceptível que espécimes epífitas são mais numerosas que espécimes rupícolas.

A presente pesquisa possibilita perspectivas futuras de investigações mais profundas, pois, ao longo do desenvolvimento das análises estatísticas, a incidência de cristais de flavonoides pareceu ser maior em plantas epífitas, mas, para tal conclusão, seria necessário um maior número amostral para realização de novos testes estatísticos.

Também, outras dúvidas surgiram sobre a biologia da espécie. Dentre elas podemos destacar: a contribuição do fungo micorrízico para a planta adulta; a aparição de cristais de flavonoides em todos os tecidos radiculares; entre outras.

## 5. Referências

- Antonelli, A., Smith, R. J., Fry, C., Simmonds, M. S., Kersey, P. J., Pritchard, H. W., ... & Qi, Y. D. (2020). *State of the World's Plants and Fungi*. [Research Report]. Royal Botanic Gardens (Kew); Sfumato Foundation. 2020. [hal-02957519](#)
- Boldrini, R. F., Santos, W. O., Cruz, Z. M., & Ramos, A. C. (2010). Bases da associação micorrízica orquidóide. *Natureza on line*, 8(3), 140-145. [http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/08\\_boldrinirfetal\\_140145.pdf](http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/08_boldrinirfetal_140145.pdf)
- Borges, D. N. A. F. (2020) *Estrutura anatômica e obtenção de nutrientes das orquídeas terrestres Pogoniopsis schenckii e Warrea warreana*. [Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas]. Repositório da Produção Científica e Intelectual da Unicamp. <https://www.repositorio.unicamp.br/Resultado/Listar?guid=1673980803235>
- Chavarría G. & Santos H.P. (2012). Plant water relations: absorption, transport and control mechanisms. *In: Advances in selected plant physiology aspects (eds. by Montanaro G & Dichio, B)*. pp. 105-132. Rijeka: Intech.
- Coley, P. D. (1988). Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defense. *Oecologia*, 74(4), 531-536. <https://doi.org/10.1007/BF00380050>
- Chomicki, G., Bidel, L. P., & Jay-Allemand, C. (2014). Exodermis structure controls fungal invasion in the leafless epiphytic orchid *Dendrophylax lindenii* (Lindl.) Benth. ex Rolfe. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209 (2), 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.01.001>
- Davis, K. R., & Hahlbrock, K. (1987). Induction of defense responses in cultured parsley cells by plant cell wall fragments. *Plant physiology*, 84(4), 1286-1290. <https://doi.org/10.1104/pp.84.4.1286>
- de Aguiar Lima, R. L. F. (2020). Micorrizas arbusculares e absorção de fósforo em função da capacidade de fixação de fósforo do solo e da competição com a microbiota. *Revista Brasileira de Geografia Física*, 13(03), 1062-1079.
- Denison, R.F. & Kiers, E.T. (2011). Life histories of symbiotic Rhizobia and mycorrhizal fungi. *Current Biology* 21: 775–785.
- Dias, M.C.; Smidt, E.C. *Pogoniopsis in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de

Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12063>>. Acesso em: 19 jan. 2023

- dos Santos, I. S., Alonso, A. A., & da Silva, M. J. (2021). Anatomia comparada dos órgãos do sistema vegetativo de três espécies de *Encyclia* (Orchidaceae: Epidendroideae). *Iheringia, Série Botânica*, 76. <https://doi.org/10.21826/2446-82312021v76e2021003>
- Dressler, R. L. (1993). *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge University Press.
- Duarte, T. E. P. N., & Leite, L. B. (2020). Cidades médias no Cerrado Brasileiro: desafios para a conservação da biodiversidade. *Terr@ Plural*, 14, 1-7. DOI: 10.5212/TerraPlural.v.14.2013420.006
- Durrum, E. L. (1950). A Microelectrophoretic and Microionophoretic Technique1. *Journal of the American Chemical Society*, 72 (7), 2943-2948. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja01163a037>
- Enstone, D. E., Peterson, C. A., & Ma, F. (2002). Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21(4), 335-351. <https://doi.org/10.1007/s00344-003-0002-2>
- Fernandes, G. W., Arantes-Garcia, L., Barbosa, M., Barbosa, N. P., Batista, E. K., Beiroz, W., ... & Silveira, F. A. (2020). Biodiversity and ecosystem services in the Campo Rupestre: A road map for the sustainability of the hottest Brazilian biodiversity hotspot. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 18(4), 213-222. DOI:[10.1016/j.pecon.2020.10.004](https://doi.org/10.1016/j.pecon.2020.10.004)
- Ferreira, M. T. M. (2011). *Composição florística e distribuição vertical de epífitas vasculares sobre indivíduos de Guapira opposita (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae) em um fragmento florestal na Serra da Brígida, Ouro Preto, MG*. [Dissertação de Mestrado em Ecologia de Biomas Tropicais da Universidade Federal de Ouro Preto]. Repositório Institucional da UFOP. <http://www.repositorio.ufop.br/jspui/handle/123456789/3062>
- Glória, B. A., & Haiashi, A. H. (2006). Raiz. In Glória, B. A. & Guerreiro, S. M. C. (Editoras). *Anatomia Vegetal*. (2° ed, 439). Editora UFV.
- Gomes, M. P., Marques, T. C. L. L. D. S., Nogueira, M. D. O. G., Silva, G. H., Castro, E. M. D., & Soares, Â. M. (2011). Efeitos dos rejeitos da indústria de zinco na anatomia e crescimento de plantas jovens de *Salix humboldtiana* Willd:(salgueiro). *Hoehnea*, 38

- (1), 135-142. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062011000100012>
- Guedes, I. M. R. (2008). *Geoambientes, estoques de carbono e termodegradação da matéria orgânica de solos da área de proteção ambiental estadual cachoeira das andorinhas, Ouro Preto, Minas Gerais*. [Tese de Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa]. Locus Repositório Institucional da UFV. <https://locus.ufv.br/handle/123456789/1591>
- Hadley, G., & Pegg, G. F. (1989). Host-fungus relationships in orchids mycorrhizal systems. In Pritchard, H. W. (Coordenador). *Modern methods in orchid conservation: The role of physiology, ecology and management*. p.57-71. Cambridge University Press.
- Harborne, J. B. (1977). Flavonoids and the evolution of the angiosperms. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5(1), 7-22. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(77\)90013-8](https://doi.org/10.1016/0305-1978(77)90013-8)
- Herreiro, S. C. (2014). *Anatomia comparativa das raízes de nove epífitas nativas do estado do Paraná* [Dissertação de Mestrado em Biologia Comparada da Universidade Estadual de Maringá]. Repositório Institucional da Universidade Estadual de Maringá (RI-UEM). <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/464>
- Högberg, P., Plamboeck, A. H., Taylor, A. F., & Fransson, P. M. (1999). Natural <sup>13</sup>C abundance reveals trophic status of fungi and host-origin of carbon in mycorrhizal fungi in mixed forests. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(15), 8534-8539. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.15.8534>
- Hose, E., Clarkson, D. T., Steudle, E., Schreiber, L., & Hartung, W. (2001). The exodermis: a variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany*, 52(365), 2245-2264. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.365.2245>
- Joca, T. A. C., de Oliveira, D. C., Zotz, G., Winkler, U., & Moreira, A. S. F. P. (2017). The velamen of epiphytic orchids: variation in structure and correlations with nutrient absorption. *Flora*, 230, 66-74. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.03.009>
- Joca, T. A. C., de Oliveira, D. C., Zotz, G., Cardoso, J. C. F., & Moreira, A. S. F. P. (2020). Chemical composition of cell walls in velamentous roots of epiphytic Orchidaceae. *Protoplasma*, 257(1), 103-118. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01421-y>
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. London, McGraw-Hill Publishing Company, Ltd.
- Kedrovski, H. R. (2019). *Revisão da anatomia radicular e ontogenia de tilossomos em espécies de Pleurothallidinae (Orchidaceae)*. [Tese de Doutorado em Ciências

- Biológicas: Biologia Vegetal da Universidade Estadual Paulista]. Repositório Institucional UNESP. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/191100>
- Kersten, R. D. A. (2010). Epífitas vasculares: histórico, participação taxonômica e aspectos relevantes, com ênfase na Mata Atlântica. *Hoehnea*, 37, 09-38. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062010000100001>
- Kong, D., Ma, C., Zhang, Q., Li, L., Chen, X., Zeng, H., & Guo, D. (2014). Leading dimensions in absorptive root trait variation across 96 subtropical forest species. *New Phytologist*, 203(3), 863-872. <https://doi.org/10.1111/nph.12842>
- Kraus, J. E., de Sousa, H. C., Rezende, M. H., Castro, N. M., Vecchi, C., & Luque, R. (1998). Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. *Biotechnic & histochemistry*, 73 (5), 235-243. <https://doi.org/10.3109/10520299809141117>
- Lima, J. F. & Moreira. A. S. F. P. (2022). Structural plasticity in roots of the hemiepiphyte *Vanilla phaeantha* Rchb.f. (Orchidaceae): a relationship between environment and function. *The Science of Nature*, 109: 46.
- Lima, J. F., Boaneres, D., Costa, V. E., & Moreira, A. S. F. P. (2022). Do photosynthetic metabolism and habitat influence foliar water uptake in orchids?. *Plant Biology*. [doi:10.1111/plb.13499](https://doi.org/10.1111/plb.13499)
- Lana, L. G., Silva, A. F. D. M., Buss, A., Oliveira, D. C. D., & Moreira, A. S. F. P. (2021). Early development of epiphytic roots: perspectives based on the composition of the velamen cell wall. *Acta Botanica Brasilica*, 34, 633-644. <https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0140>
- Lee Taylor, D., & Bruns, T. D. (1999). Population, habitat and genetic correlates of mycorrhizal specialization in the ‘cheating’ orchids *Corallorhiza maculata* and *C. mertensiana*. *Molecular Ecology*, 8 (10), 1719-1732. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00760.x>
- Lima, J. F. & Moreira. A. S. F. P. (2022). Structural plasticity in roots of the hemiepiphyte *Vanilla phaeantha* Rchb.f. (Orchidaceae): a relationship between environment and function. *The Science of Nature*, 109: 46.
- Martos, F., Dulormne, M., Pailler, T., Bonfante, P., Faccio, A., Fournel, J., ... & Selosse, M. A. (2009). Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids. *New Phytologist*, 184(3), 668-681.

- <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02987.x>
- Melo, H. C. D. (2011). Phi thickening of cell wall. *Hoehnea*, 38, 01-07. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062011000100001>
- Menezes, N. L., Pirani, J. P., Giulietti, A. M., Monteiro, W. R., Venturelli, M., Estelita, M. E. M., Kraus, J. E., Angyalossy, V., Arduin, M., Ceccantini, G. C. T., & Pinna, G. F. De M. (2004). Anatomia e morfologia de plantas vasculares. *Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo*.
- Meschede, D. K., Velini, E. D., Carbonari, C. A., & Moraes, C. P. (2012). Teores de lignina e celulose em plantas de cana-de-açúcar em função da aplicação de maturadores. *Planta Daninha*, 30, 121-127. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582012000100014>
- Messias, M. C. T. B., Leite, M. G. P., Meira-Neto, J. A. A., & Kozovits, A. R. (2012). Fitossociologia de campos rupestres quartzíticos e ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. *Acta Botanica Brasilica*, 26 (1), 230-242. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000100022>
- Metcalf, C. R. (1963). Comparative anatomy as a modern botanical discipline: With special reference to recent advances in the systematic anatomy of monocotyledons. *Advances in botanical research*, 1, 101-147. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)60180-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60180-9)
- Moreira, C. (2015). Tecidos das Angiospérmicas. *Revista de Ciência Elementar*, 3(4). <http://doi.org/10.24927/rce2015.208>
- Noel, A. R. A. (1974). Aspects of Cell Wall Structure and the Development of the Velamen in *Ansellia gigantea* Reichb. f. *Annals of Botany*, 38(2), 495-505. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084835>
- Nogueira, R. E., Pereira, O. L., Kasuya, M. C. M., Lanna, M. C. D. S., & Mendonça, M. P. (2005). Fungos micorrízicos associados a orquídeas em campos rupestres na região do Quadrilátero Ferrífero, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 19 (3), 417-424. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062005000300001>
- O'Brien, T., Feder, N., & McCully, M. E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *O. Protoplasma*, 59 (2), 368-373. <https://www.researchgate.net/search.Search.html?query=Polychromatic+staining+of+plant+cell+walls+by+toluidine+blue&type=publication>



- Orchidaceae In *Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB179>>. Acesso em: 23 nov. 2022
- Pabst, G. F., Dungs, F., & Brade, A. C. (1975). *Orchidaceae brasilienses*. Brücke-Verlag Schmersow.
- Pabst, G. F. J., & Dungs, F. (1975). *Orchidaceae brasilienses*, v. 2. Kurt Schmersow, Hildesheim,
- Pabst, G. F. J., Moutinho, J. L., & Pinto, A. V. (1981). An attempt to establish the correct statement for genus *Anacheilium* Hoffmgg. and revision of the genus *Hormidium* Lindl. ex Heynh. *Bradea*, 3(23), 173-186.
- Pereira, M. C., Torres, D. P., Guimarães, F. A. R., Pereira, O. L., & Kasuya, M. C. M. (2011). Germinação de sementes e desenvolvimento de protocormos de *Epidendrum secundum* Jacq. (Orchidaceae) em associação com fungos micorrízicos do gênero *Epulorhiza*. *Acta Botanica Brasilica*, 25 (3), 534-541. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062011000300004>
- Peterson, C. A., Emanuel, M. E., & Humphreys, G. B. (1981). Pathway of movement of apoplastic fluorescent dye tracers through the endodermis at the site of secondary root formation in corn (*Zea mays*) and broad bean (*Vicia faba*). *Canadian Journal of Botany*, 59(5), 618-625. <https://doi.org/10.1139/b81-087>
- Pires, M. D. F. D. O., Semir, J., Pinna, G. F. D. A. M. D., & Felix, L. P. (2003). Taxonomic separation of the genera *Prosthechea* and *Encyclia* (Laeliinae: Orchidaceae) using leaf and root anatomical features. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143(3), 293-303. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.00195.x>
- Porembski S., & Barthlott, W. (1988). Velamen radicum micromorphology and classification 521 of Orchidaceae. *Nord J Bot* 8, 117–137.
- Pridgeon, A. M., Cribb, P. J., Chase, M. W., & Rasmussen, F. (Editores). (2001). *Genera Orchidacearum: Volume 2. Orchidoideae*. Oxford University Press on Demand.
- Pridgeon, A. M., Stern, W. L., & Benzing, D. H. (1983). Tilosomes in roots of Orchidaceae: morphology and systematic occurrence. *American Journal of Botany*, 70 (9), 1365-1377. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1983.tb07926.x>
- Pridgeon, A. M. (1987). The velamen and exodermis of orchid roots. *Orchid biology: reviews and perspectives*, 4, 141-192.
- Ramakrishna, A., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on

- secondary metabolites in plants. *Plant Signal Behav* 6: 1720–1731.
- Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2014). *Raven Biologia Vegetal* (8. ed. Evert, Ray F.). Guanabara Koogan LTDA.
- Santos, W. O. D. (2012). *Interações ecológicas entre fungos orquídeas e espécies de orquídeas (Cattleya guttata e Brassavola tuberculata) em fragmento de Mata Atlântica do Espírito Santo* [Dissertação de Mestrado em Ecologia de Sistemas da Universidade Vila Velha]. COLLAB Repositório. <https://repositorio.uvv.br/handle/123456789/720>
- Sass, J. E. (1958). Botanical microtechnique. *Botanical microtechnique.*, (3rd ed). The Iowa State College Press.
- Scalco, R. F., & Gontijo, B. M. (2009). Mosaico de unidades de conservação: da teoria à prática. O caso do mosaico de unidades de conservação da APA Cachoeira das Andorinhas–Ouro Preto/MG. *Revista Geografias*, 5 (2), 75-92.  
<https://doi.org/10.35699/2237-549X..13272>
- Siqueira, V. M., Oliveira, H. M. B., Santos, C., Paterson, R. R. M., Gusmão, N. B., & Lima, N. (2013). Biofilms from a Brazilian water distribution system include filamentous fungi. *Canadian journal of microbiology*, 59(3), 183-188. <https://doi.org/10.1139/cjm-2012-0529>
- Stinca, A. (2022). Biodiversity and Conservation of Vascular Flora: A Challenge for the Survival of Humans on Earth. *Diversity*, 14 (9), 720.  
<https://doi.org/10.3390/d14090720>
- Thompson, J. N. (1994). *The coevolutionary process*. University of Chicago press.
- Valadares, R. B. D. S. (2009). *Diversidade micorrízica em Coppensia doniana (Orchidaceae) e filogenia de fungos micorrízicos associados à subtribo Oncidiinae* [Dissertação de Mestrado em Ciências: Microbiologia Agrícola, da Universidade de São Paulo].  
[https://www.researchgate.net/publication/260748782\\_Diversidade\\_micorrizica\\_em\\_Coppensia\\_doniana\\_Orchidaceae\\_e\\_filogenia\\_de\\_fungos\\_micorrizicos\\_associados\\_a\\_subtribo\\_Oncidiinae/stats](https://www.researchgate.net/publication/260748782_Diversidade_micorrizica_em_Coppensia_doniana_Orchidaceae_e_filogenia_de_fungos_micorrizicos_associados_a_subtribo_Oncidiinae/stats)
- Vieira, T.L., & van den Berg, C. Prosthechea In *Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12118>>. Acesso em: 29 nov. 2022

- Yamasaki, H., Sakihama, Y., & Ikehara, N. (1997). Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Plant Physiology*, *115*(4), 1405-1412. <https://doi.org/10.1104/pp.115.4.1405>
- Zotz, G. (1999). What are backshoots good for? Seasonal changes in mineral, carbohydrate and water content of different organs of the epiphytic orchid, *Dimerandra emarginata*. *Annals of Botany*, *84*(6), 791-798. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0983>