

Identificação e Quantificação de Esporos de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) em Solo de Formação Vegetal Psamófila-Reptante de Restinga ⁽¹⁾.

Maryellen de Castro Soares dos Reis⁽²⁾; Ocimar Ferreira de Andrade⁽³⁾; Camila Pinheiro Nobre⁽⁴⁾; Marianne da Silva Nunes⁽⁵⁾; Ricardo Luís Louro Berbara⁽⁶⁾ e Victor Barbosa Saraiva ⁽⁷⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos de fomento e pesquisa científica do Instituto Federal Fluminense ⁽²⁾ Mestranda em Engenharia Ambiental; Instituto Federal Fluminense; Cabo Frio, RJ; marybiol01@gmail.com ⁽³⁾ Professor Mestre; Instituto Federal Fluminense; ⁽⁴⁾ Doutoranda; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁵⁾ Graduanda em Ciências Físicas e Químicas da Natureza; Instituto Federal Fluminense; ⁽⁶⁾ Professor Doutor; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁷⁾ Professor Doutor Instituto Federal Fluminense.

RESUMO: O solo exerce influência direta na diversidade biológica condicionando a existência de seres simbiotes em condições adversas, a exemplo dos Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) associados às raízes de vegetais em solo estressado e pobres em nutrientes. Na Formação vegetal Psamófila-Reptante da Restinga de Massambaba, RJ, constituído por Neossolo Quartzarênico halófilo e distrófico, foram coletadas amostras de solo e rizosfera de *Remirea maritima* em cinco diferentes épocas e em cinco sítios paralelos à linha da maré, na profundidade de 30 cm, para a identificação e avaliação de densidade de glomerosporos. Os gêneros que apresentaram maior representatividade foram *Glomus*, *Acaulospora* e *Scutellospora*, já relatados em estudos de áreas de dunas de restinga, assim como também em áreas contaminadas com poluentes oriundos de atividades antrópicas, como hidrocarbonetos do petróleo e metais pesados.

Termos de indexação: FMAs, Rizadorremediação, Glomeromycota.

INTRODUÇÃO

As restingas, como um dos ecossistemas litorâneos mais degradados, principalmente pela pressão imobiliária (ARAÚJO, 2009; BOHRER et al., 2009), possuem características de alta salinidade e baixa retenção de líquidos dificultando a propagação vegetal, pois o solo exerce influência na diversidade biológica devido às suas características físico-químicas (Embrapa, 2004) condicionando a existência de seres que interagem uns com os outros através de mecanismos que propiciam um aumento das condições de sobrevivência. Esses ambientes litorâneos, constituídos principalmente por Neossolo Quartzarênico, possuem comunidades vegetais de fisionomias herbáceas salinas bem adaptadas às condições distróficas do solo, sendo necessárias pesquisas que venham caracterizar e quantificar a microbiota do solo e suas implicações

ecológicas nesses ambientes ainda pouco estudados.

Na trajetória de crescimento do interesse pela investigação da biodiversidade do solo da restinga estão os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs). Alguns estudos confirmaram a presença de FMAs em solos dunares em associação com plantas de restingas (KOSKE, 1988; ALARCÓN & CUENCA, 2005; CORDAZZO & STURMER, 2007; OLIVEIRA, 2009).

A colonização de vegetais de restinga por FMAs assume papel importante devido às características de biotrofismo obrigatório desses fungos, as quais promovem a melhoria da nutrição vegetal, aumentando a absorção de nutrientes e melhorando a captação hídrica do vegetal (EMBRAPA, 2004; Moreira & Siqueira, 2006;) que, em contrapartida, disponibiliza os fotossintatos necessários à manutenção e reprodução dos fungos (SOUZA et al., 2008). As propriedades agregadoras e estabilizadoras que provavelmente os FMAs promovem em dunas podem estar entre os fatores responsáveis pela fixação das mesmas (SOUZA, 2005; BERBARA et al., 2006; KHAN, 2006).

O objetivo deste trabalho foi verificar a diversidade de FMAs autóctones em uma formação vegetal psamófila-reptante (*Remirea maritima*) da Restinga de Massambaba no município de Arraial do Cabo, RJ.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A Restinga de Massambaba (22°54'-22°59' S; 42°02'-42°24' W) demonstrada na **figura 1** é composta por uma área estreita e extensa de areia seprando o Oceano Atlântico da Lagoa de Araruama no litoral norte fluminense, compreendendo os municípios de Cabo Frio, Arraial do Cabo, Araruama e Saquarema (BIDEGAIN & BIZERRIL, 2002; ARAÚJO et al., 2009). e perfaz uma área de 11.000 ha compreendendo a APA de Massamababa que foi criado pelo Decreto 9.529 de

15/12/1986 .



Figura 1- Localização da Área de estudo na Restinga de Massambaba- RJ. Fontes: CPRM- Serviço Geológico do Brasil (2012) e IF Fluminense-Macaé, RJ - adaptadas. Latitude: 22° 56' S; Longitude: 42° 11' O.

Coleta das amostras de solo e identificação de esporos

As coletas foram realizadas em cinco campanhas entre os meses de outubro e maio e as amostras de rizosfera de *R. maritima* e solo de cinco sítios demarcado paralelamente à linha da maré na formação vegetal psamófila-reptante foram coletadas a uma profundidade de 30 cm. As amostras compostas de cada sítio foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em geladeira para a manutenção da umidade. Após homogeneização e quarteamento, parte de cada amostra foi retirada para a extração de esporos pelo método do peneiramento úmido descrito por GERDERMANN & NICOLSON (1963) em peneiras de 0.53mm e 0.45mm, seguido-se a centrifugação em água destilada e posteriormente em sacarose a 50% (JENKINS, 1964). Após a centrifugação, procedeu-se a separação e contagem dos glomerosporos avaliando-se a diversidade dos FMAs.

Para identificação dos esporos foram comparadas chaves taxonômicas amplamente difundida por órgãos especializados e publicações de pesquisadores especialistas em taxonomia de FMAs, como SCHÜBLER & WALKER (2001, 2010) e no *website* da INVAM (International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi)

Identificação de estruturas arbusculares de FMA em *R. maritima*

As raízes foram lavadas em água corrente e acondicionadas em vidros contendo álcool 50% e clarificadas com solução de KOH a 10% após foram coradas com azul de tripano a 0,05% em lactoglicerol (Phillips & Hayman, 1970) para a visualização e quantificação de micorrizas associadas às raízes de *R. maritima*.

A presença de estruturas fúngicas de FMAs nas raízes avaliadas do solo rizosférico das psamófilas

foi observada em microscópio de epifluorescência Olympus BX51 acoplado a uma câmera fotográfica Olympus DP72 no Laboratório de Microscopia do Grupo de Biologia do Instituto de Estudos do Mar Alte. Paulo Moreira (IEAPM), Arraiial do Cabo – RJ

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação de glomerosporos das coletas realizadas nos sítios da área de estudo está apresentada na **tabela1**.

Tabela 1 – Quantificação de glomerosporos na formação vegetal psamófila-reptante na Restinga de Massambaba, Arraiial do Cabo- RJ.

	P1	P2	P7	P8	P10	P11
média	17± 4,0	22±12,2	47±23,3	31±17,1	12 ±4,2	8± 2,1
total	52	43	142	94	37	23

*As médias foram obtidas por contagem em triplicata (50 ml) de cada ponto de coleta. As datas em que as coletas foram realizadas foram: 03/10/11(P1 e P2); 30/01/12 (P7,P8); 19/03/12 (P10 e P11). A análise estatística pelo teste de Tukey ($p<0,05$) apresentou diferença significativa apenas nas amostras entre P7 e P11.

Os glomerosporos foram extraídos, separados por cor e tamanho e montados em lâmina permanentes com Polivinil Lacto-Glicerol (PVLG) e PVLG + Reagente de Melzer (NOBRE, 2010; BARAL, 2009; LEONARD, 2006) para posterior identificação (SCHENKS & PERES, 1990). Obteve-se uma média de 22 esporos em 80g (aproximadamente 28 esporos.100 g⁻¹) de solo. Foram separados, no total, 395 glomerosporos dos quais foram montadas as lâminas para identificação (**figura 2**).

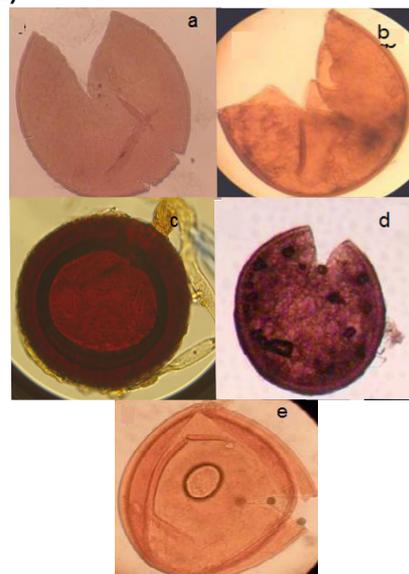


Figura 2 – Esporos extraídos do solo da formação vegetal psamófila-reptante na restinga de Massambaba, A. do Cabo - RJ. *Acaulospora* sp (a); *Glomus* sp (b, c, d) ; *Gigaspora* sp (e). Fotos: Bruna Pozzebon.

Na área de estudo, foi possível confirmar, por características morfológicas, a presença dos gêneros *Acaulospora* sp; *Gigaspora* sp, *Glomus* sp; já relatados como presentes em experimentos de biorremediação ou em áreas degradadas e em dunas litorâneas.

Na comunidade florística da área de estudo observou-se uma propagação expressiva de *R. maritima* na zona móvel das dunas frontais (aprox. 50 metros da praia), onde o vento promove o movimento constante de areia, marcando assim a delimitação entre a vegetal e a zona de marés.

Ao expor as raízes de *Remirea* constatou-se que sua rizosfera era abundante, apresentando agregação de solo o que sugere maior presença de fatores de agregação importantes, como exsudados do vegetal e micélio de fungos além de outros micro-organismos.

A ocorrência de FMAs na rizosfera de vegetal da formação psamófila-reptante pode ser constatada por meio da observação de micélio extrarradicular e estruturas intrarradicular das amostras de *R. maritima* (figura3.).

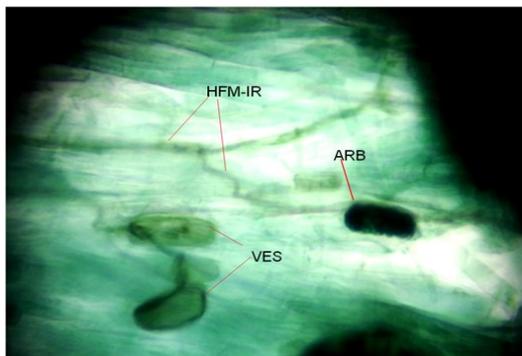


Figura 3- Estruturas fúngicas radiculares em raízes de *Remirea maritima*

CONCLUSÕES

Neste trabalho foram identificados glomerosporos de *Acaulospora* sp, *Glomus* sp, *Gigaspora* sp na área de estudo, constatando a presença de Fungos Micorrízicos Arbusculares na formação vegetal Psamófila-Reptante da Restinga de Massambaba, em Arraial do Cabo-RJ. Foram identificadas estruturas micorrízicas arbusculares (esporos, hifas extra e intrarradulares, vesículas, e arbúsculos) em raízes de *Remirea maritima* (família Cyperaceae) coletadas na área de estudo. Até o momento ainda não foi descrita a colonização de *Remirea maritima* por FMAs, então de acordo com os resultados do presente estudo pode-se indicar a identificação da colonização desse vegetal por micorrizas (FMAs).

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos colaboradores que nos auxiliam com recursos financeiros, técnicos e humanos.

REFERÊNCIAS

a. Periódicos:

- ARAUJO, D. S. D. *et al.* Área De Proteção Ambiental De Massambaba, Rio De Janeiro: Caracterização Fitofisionômica e Florística - **Rodriguésia** 60 (1): 067-096. 2009.
- BOHRER, C. B. A. *et al.* Mapeamento Da Vegetação E Do Uso Do Solo No Centro De Diversidade Vegetal De Cabo Frio, Rio De Janeiro, Brasil. **Rodriguésia** 60 (1): 001-023. 2009.
- CORDAZZO, C. V.; STÜRMER, S. L. . Ocorrência De Fungos Micorrízicos Arbusculares Em Panicum Racemosum (P. Beauv.) Spreng (Poaceae) Em Dunas Costeiras Do Extremo Sul Do Brasil. *Atlântica* (Rio Grande), Vol. 29, No 1. 2007
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society** , v.46, p. 235-244, 1963.
- JANOS, D.P. Vesicular arbuscular mycorrhizae affect lowland rainforest plant growth. **Ecology**, v. 61, p.151-162, 1980.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v.48, p.692, 1964.
- KHAN, Abdul G., Mycorrhizoremediation—an enhanced form of phytoremediation - **Journal of Zhejiang University Science B** V.7, N.7, p.503-514, 2006.
- KOSKE, R. E. - Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae of Some Hawaiian Dune Plants. **Pacific Science**, vol. 42, nos. 3-4. University of Hawaii Press. 1988.
- NOBRE, C.P.; FERRAZ JUNIOR, A.S.L. ; GOTO, B.T. ; BERBARA, R. L. L.; NOGUEIRA, m. D. C. Fungos micorrízicos arbusculares em sistema de aléias no Estado do Maranhão, Brasil. *Acta Amazonica*. V. 40 (4): 641 – 646, 2010.
- OLIVEIRA, J. R. G. de. O papel da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) autóctones no desenvolvimento de espécies vegetais nativas em área de dunas de restinga revegetadas no litoral do Estado da Paraíba. **Revista Brasil. Bot.**, V.32, n.4, p.663-670, out.-dez. 2009.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of British Mycological Society**, v.55, p.158-162, 1970.

SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, Márcio R.; STÜRMER, Sidney L. - Fungos Micorrízicos Arbusculares- **Rev. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento** - nº 25 p. 18-21. março/abril 2002

SOARES, S.A.G. *et al.* Efeito de bactérias na germinação de fungos Micorrízicos arbusculares e co-inoculação em mudas de abacaxizeiro. **Caatinga (Mossoró, Brasil)**, v.22, n.2, p.31-38, abril/junho de 2009.

SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycol. Res.** 105 (12) : 1413±1421. December 2001.

b. Livro:

BIDEGAIN, P.; BIZERRIL, C. **Perfil ambiental do maior ecossistema lagunar hipersalino do mundo**. Rio de Janeiro: Semads, 2002. 160p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: **Embrapa Produção da Informação**; Rio de Janeiro: Embrapa Cerrados, 2004. 412p

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 2006. 729p.

SCHENK, N.C.; Pérez, Y. Manual for the identification of VA-mycorrhizal fungi. 3.ed. Gainesville: Synergistics - Publications, 1990. 250 p.

c. Capítulo de livro

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos Arbusculares: Muito Além da Nutrição. In **Nutrição Mineral das Plantas**. SBCS, Viçosa, 2006: 53 -85, (ed. FERNANDES, M.S.). 432p

SOUZA, F.A.; SILVA, I.C.L.; BERBARA, R.L.L. Fungos Micorrízicos Arbusculares: Muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**, ed. UFLA, Lavras, 2008.

d. Internet:

ALARCÓN, C. ; CUENCA, G. Arbuscular mycorrhizas in coastal sand dunes of the Paraguayan Peninsula, Venezuela. *Mycorrhiza*: 16:1– 9, 2005. Disponível em < <http://www.springerlink.com/content/m5kp73181-7086636/> > Acesso em 14 de out de 2011.

INVAM. **International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi**. Disponível em < <http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/classification.htm> > Acessado em: 14 out 2012.

SOUZA, D. M. G. de; LOBATO, E. Areia quartzosa/Neossolo quartzarênico. Agência de Informação Embrapa – Bioma Cerrado. 2005. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG>

01/arvore/AG01_2_10112005101955.html > Acesso em 31 de ago 2012.

SCHÜßLER, A.; WALKER C. **The Glomeromycota – a species list with new families and new genera**. *in* libraries at The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. 2010. Disponível em <http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/Schuessler&Walker2010_Glomeromycota.pdf > Acesso em jul de 2012.