

Ocorrência de fungos endofíticos “dark septate” associados a FMAs em raízes de *Remirea maritima* em formação vegetal Psamófila-Reptante de restinga. ⁽¹⁾.

Alan Mendonça Costa ⁽²⁾; Janaína Silvano Marinho Teixeira ⁽³⁾; Marianne da Silva Nunes ⁽⁴⁾; Maryéllen de Castro Soares dos Reis ⁽⁵⁾; Ocimar Ferreira de Andrade ⁽⁶⁾; Victor Barbosa Saraiva ⁽⁷⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Instituto Federal Fluminense ⁽²⁾ Graduando em Ciências da Natureza pelo Instituto Federal Fluminense- Campus Cabo Frio, RJ, alancostamc@gmail.com ⁽³⁾ Graduanda em Ciências da Natureza pelo Instituto Federal Fluminense- Campus Cabo Frio, RJ ⁽⁴⁾ Graduanda em Ciências da Natureza pelo Instituto Federal Fluminense- Campus Cabo Frio; RJ ⁽⁵⁾ Mestranda em Engenharia Ambiental pelo Instituto Federal Fluminense ⁽⁶⁾ Professor colaborador - Instituto Federal Fluminense- Campus Cabo Frio; ⁽⁷⁾ Professor orientador - Instituto Federal Fluminense.

RESUMO: Fungos septados melanosos, geralmente, presentes em simbiose com vegetais de ambientes estressados, como as matas secas e restingas, são conhecidos como “dark septates endophytes fungi” ou “DSEF”, os quais geralmente apresentam associação micorrízica similar a dos FMAs, estes já relatados com potencial para biorremediação de solos impactados por hidrocarbonetos do petróleo e por metais pesados. Com o objetivo de avaliar a ocorrência de DSEF em raízes de *Remirea maritima* foram coletadas amostras desse vegetal na Restinga de Massambaba, Arraial do Cabo, RJ, na formação vegetal psamófila-reptante. As raízes de *R. maritima* foram tratadas para observação de micélio e microesclerócio de DSEF e propágulos de FMAs. Nas raízes de *R. maritima*, foi observada a presença de micélio melanizado de fungos septados do tipo “dark septate”, assim como microesclerócios intracelulares. Essas estruturas estavam associadas a estruturas arbusculares e micelial de FMAs.

Termos de indexação: DSE, *Remirea maritima*, FMAs.

INTRODUÇÃO

Dark Septated Endophyte Fungi (DSEF) são espécies de fungos capazes de estabelecer associações mutualísticas com espécies vegetais e promover seu crescimento, atuando como facilitadores da absorção de fósforo e nitrogênio (CHEN, X.M et al. 2010). Também é comum a sua coexistência com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e a produção de substâncias capazes de promover o crescimento destes, aumentando o potencial de germinação e crescimento de ramificação das hifas, beneficiando a planta hospedeira indiretamente (CHEN, X.M et all. 2010) .

O ambiente de restinga, caracterizado por “solos arenosos, pobres em argilas e matéria orgânica, além de baixa capacidade de reter água e nutriente” (ARAUJO, 2005; BRAGA, 2008), torna-se propício ao desenvolvimento de micro-organismos

identificados na literatura científica como rizorremediadores (SILVA, 2010; Alarcón e Cuenca, 2010)

A *Remirea maritima* (**figura 1**) é uma planta endêmica de restinga da família das Cyperaceae, cuja classificação é a seguinte: Reino: Plantae; Subreino: Tracheophyta; Superdivisão: Spermatophyta; Divisão: Magnoliophyta; Classe: Liliopsida; Subclasse: Commelinidae; Ordem Cyperales; Família: Cyperaceae; Gênero: *Remirea* Aubl.-Beachstar; Espécie: *Remirea maritima* Aubl.-Beachstar (ZECCA, 2008; USDA, NRCS, 2012). 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 formação vegetal e a zona de marés.

Este estudo teve como objetivo: identificar estruturas infectivas de endomicorrizas (DSE) na rizosfera da formação vegetal psamófila-reptante na restinga de Massambaba, Arraial do Cabo- RJ e estruturas arbusculares em raízes de *Remirea maritima*, vegetal endêmico de restinga abundante na área de estudo.



Figura 1: *Remirea maritima*

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizando metodologia de coloração de raízes e visualização de colonização micorrízica (UFLA,

2010; SOUZA; GUERRA, 1998), as raízes armazenadas em álcool 50% desde a coleta, foi pesado 1g por amostra em triplicata, e submetidas a banho-maria a 90°C em becker com solução de KOH 10% por 60 minutos. As raízes de *R. maritima* são bastantes escuras, porém bem finas. Por isso, alguns testes de acidificação foram realizados. Bons resultados foram obtidos imergindo-as em solução de ácido clorídrico 1% por 3 minutos e não submetendo as raízes mais finas à acidificação. As raízes que continuavam escuras foram submetidas ainda a uma solução de peróxido de hidrogênio alcalino (0.5% NH₄OH e 0.5% v/v de H₂O₂ em água). As raízes claras, depois de lavadas, foram colocadas em becker de 0,05 L com solução de azul de trypan 0,05% durante 60 minutos a 90°C em banho Maria. A presença de estruturas fúngicas de DSEFs nas raízes avaliadas 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), Arraial do Cabo – RJ, equipamentos utilizados para obtenção das imagens.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ocorrência de DSEF pôde ser constatada por meio da observação de micélio extrarradicular e estruturas intrarradiculares das amostras de *R. maritima* (figura 2). A figura 3 apresenta hifa septada melanizada colonizando raízes de *R. maritima*, podendo ser comparadas às “Dark Septate Endophytes Fungi”. (Garcia; Mendoza; Pomar, 2012; Knapp; Pintye; Kovács, 2012).

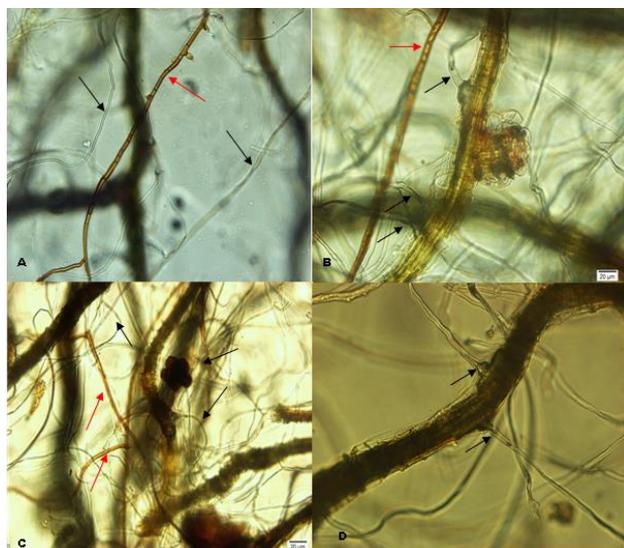


Figura 2: A-C: Hifas de DSEF (setas vermelhas) associadas a micélio extrarradicular de FMA (setas escuras) em raízes de *R. maritima*. D: Infecção inicial de raízes de *R. maritima* por FMA (apressórios – setas). Imagens: Ocimar Ferreira de Andrade

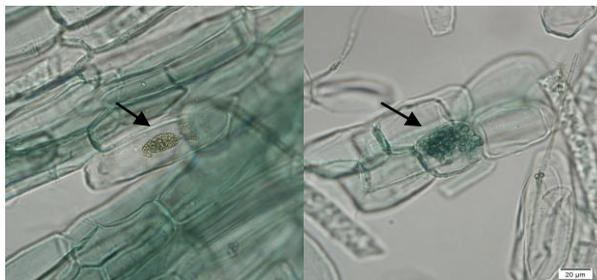


Figura 3: - Microesclerócios (setas) em células de raízes de *R. maritima*. Imagens: Ocimar Ferreira de Andrade.

CONCLUSÕES

Na avaliação da colonização fúngica de raízes de *R. maritima* foi observada a presença de hifas septadas melanosas, podendo ser comparadas aos “dark septate endophytes fungi”, característicos de ambientes estressados, o que pode confirmar a hipótese de que tais grupos fúngicos compartilham ambientes semiáridos em uma escala global, sugerindo a importância de estudos sobre DSEF na co-colonização em raízes de plantas hospedeiras de FMAs nas restingas.

AGRADECIMENTOS

Grupo de Biologia do Instituto de Estudos do Mar Alte. Paulo Moreira (IEAPM), ao Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e ao Instituto Federal Fluminense (IF Fluminense).

REFERÊNCIAS

- ALARCÓN, C. ; CUENCA, G. Arbuscular mycorrhizas in coastal sand dunes of the Paraganá Peninsula, Venezuela. *Mycorrhiza*: 16:1– 9, 2005. Disponível em < <http://www.springerlink.com/content/m5kp73181-7086636/> > Acesso em 14 de out de 2010.
- 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.
- BRAGA, T. V. S. Associações com fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio em *Allagoptera arenaria* (Gomes) O. Kuntze na restinga de Marambaia, R.J. 2008. 33 f. Monografia, programa de graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.



CHEN, X.M.; DONG, H.L.; HU, K.X.; SUN, Z.R.; CHEN, J.A.; GUO, S.X. Diversity and antimicrobial and plant growth promoting activities of endophytic fungi in *Dendrobium loddigesii* Rolfe. *Journal of Plant Growth Regulation*, v.29, p.328-337, 2010.

DETMANN, Kelly da Silva Coutinho et al. Comparação de métodos para a observação de fungos micorrízicos arbusculares e endofíticos do tipo dark septate em espécies nativas de Cerrado. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* [online]. 2008, vol.32, n.5, pp. 1883-1890. ISSN 0100-0683.

GARCÍA, I.; MENDOZA, R.; POMAR, M. C. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes under contrasting grazing modes in the Magellanic steppe of Tierra del Fuego. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 155. 2012. p. 194– 201.

KNAPP, D.G., PINTYE, A., KOVÁCS, G. M.. The Dark Side Is Not Fastidious – Dark Septate Endophytic Fungi of Native and Invasive Plants of Semiarid Sandy Areas. *PLoS ONE*. February 2012 . Volume 7 , Issue 2 , e32570.

SILVA, D. K. A. *et al.* Atividade de fungos micorrízicos arbusculares em dunas litorâneas impactadas por mineração. XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas (Centro de Convenções do SESC , 2010 , Guarapari – ES, Brasil).

SOUZA, F. A. de; GUERRA, J.G.M. Emprego de Técnicas do Número mais Provável (NMP) no Estudo de populações de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs). *Seropédica: Embrapa. Agrobiologia* – 1998. 34p. (EmbrapaCNPAB.Circular Técnica nº 2 – ISSN 1516-0653).

UFLA. Coleção de Fungos Micorrízicos da Faculdade Federal de Lavras. Disponível em < http://www.dcs.ufla.br/micorriza/fungos_micorrizicosarbusculares.html > Acesso em: 05 jun. 2010.

USDA, NRCS. 2012. The PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>, 10 June 2012). National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA.

ZECCA, A. G. D. Material de Apoio para as Aulas Teóricas da Disciplina de Botânica Agrícola. Universidade Federal de Santa Maria Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul - Departamento de Agronomia. Frederico Westphalen, RS, Brasil. Agosto de 2008.