

OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS EM PLANTAS DANINHAS

SANTOS, E.A.¹; SILVA, M.C.S.²; FRANÇA, A. C.³; CAMPOS, A.N.R.⁴; FERREIRA, L.R.⁵; SANTOS, J.B.⁶

¹ Universidade Estadual Paulista; tel.: (16)3209-2640; e-mail: edsonsantos@posgrad.fcav.unesp.br ² Universidade Federal de Viçosa; tel.: (31)3899-2967; e-mail: mcassiabio@yahoo.com.br ³ Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; tel.:(38)3532-600 e-mail: cabralfranca@yahoo.com.br ⁴ Instituto Federal de Educação,Ciência e Tecnologia - Sudeste de Minas Gerais; tel.: (32)3571-5700; e-mail: rochacampos@yahoo.com.br ⁵ Universidade Federal de Viçosa; tel.: (31)3899-1119; e-mail: Iroberto@ufv.br ⁶Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; tel.:(38)3532-6000; e-mail: jbarbosa@ufvjm.edu.br

Resumo

Com o objetivo de verificar a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares, analisando também sua morfologia e a ocorrência de fungos endofíticos *dark septate* em plantas daninhas de importância agrícola no Brasil, seguiu-se à coleta de 36 exemplares de espécies pertencentes às seguintes famílias botânicas: Amaranthaceae (12 exemplares), Asteraceae (02), Brassicaceae (01), Commelinaceae (01), Convolvulaceae (01), Euphorbiaceae (03), Gramineae (06), Labiatae (02), Lythraceae (01), Malvaceae (02), Sapindaceae (01), Solanaceae (02), Urticaceae (01) e Verbenaceae (01). Utilizou-se para observação dos fungos, nas raízes, o método de clarificação com KOH e coloração com azul de tripano. Este método também proporcionou a visualização de fungos endofíticos do tipo *dark septate*. Todas as plantas avaliadas apresentaram colonização micorrízica, com destaque para a família Brassicaceae, pelos relatos de não ocorrência registrados na literatura, observando-se hifas intercelulares, vesículas e arbúsculos micorrízicos. Na maioria das espécies ocorrem os dois tipos morfológicos avaliados: arbúsculos e enovelados de hifas no interior das células, sendo este último mais comum entre as gramíneas. Fungos endofíticos do tipo *dark septate* foram visualizados nas raízes das seguintes plantas daninhas: *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Blainvillea rhomboidea*, *Conyza bonariensis*, *Ipomoea grandifolia*, *Lantana camara*, *Leonotis nepetaefolia*, *Leonurus sibiricus*, *Sida rhombifolia*, *Sida santaremensis*, *Solanum americanum* e *Solanum lycocarpum*.

Palavras-Chave: micorrizas, dark septate, *Sinapis arvensis* L.

Abstract

In order to verify the occurrence of mycorrhizal fungi by examining their morphology and occurrence of *dark septate* endophyte fungi in weeds of agricultural importance in Brazil, it was collected 36 species belonging to the following plant families: Amaranthaceae (12 copies), Asteraceae (02), Brassicaceae (01), Commelinaceae (01), Convolvulaceae (01), Euphorbiaceae (03), Gramineae (06), Labiatae (02), Lythraceae (01), Malvaceae (02), Sapindaceae (01), Solanaceae (02), Urticaceae (01) and Verbenaceae (01). To observe fungi in the roots, the method of clarification with KOH and staining with trypan blue was used. This method also provided a visualization of dark septate endophytic fungi. All plants evaluated showed mycorrhizal colonization, especially in the Brassicaceae family, because its reports of no occurrence on literature, by observing intercellular hyphae, mycorrhizal arbuscules and vesicles. In most species occur both morphological types evaluated: arbuscules and curled hyphae inside cells, being this last one more common among the grasses. Dark septate endophytes were seen in the roots of the following weed: *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Blainvillea rhomboidea*, *Conyza bonariensis*, *Ipomoea grandifolia*, *Lantana camara*, *Leonotis nepetaefolia*, *Leonurus sibiricus*, *Sida rhombifolia*, *Sida santaremensis*, *Solanum americanum* and *Solanum lycocarpum*.

Key Words: mycorrhiza; dark septate; *Sinapis arvensis* L.

Introdução

Estudos sobre ecologia dos organismos envolvidos no processo produtivo são cada vez mais constantes na atual agricultura, uma vez que a sustentabilidade ambiental passou a ser quesito tão prioritário quanto produzir bem e com retorno econômico. Para Kitamura (2003), o futuro da agricultura

brasileira, em direção à sustentabilidade, requer introdução de inovações na agricultura intensiva convencional, tornando-a cada vez mais responsável pelo meio ambiente.

As diversas espécies vegetais cultivadas são afetadas pelas plantas infestantes ao seu redor e, juntas sofrem interferência da presença de outros organismos, principalmente os microrganismos do solo. Plantas daninhas têm comprovadamente grande agressividade (Pitelli, 1987), e a vantagem das mesmas em relação às culturas pode ser em parte, resultante da interação com diversos grupos de microrganismos do solo (Reinhart e Callaway, 2006).

Vários autores relatam a maior capacidade de adaptação e desenvolvimento de plantas em ambientes que permitem a associação com microrganismos edáficos (Siqueira e Franco, 1988; Aquino e Assis, 2005; Ribeiro e Mendonça, 2007), sendo que tal associação se dá basicamente na rizosfera, ambiente onde ocorrem diversas associações mutualísticas, com grande destaque para a simbiose entre raízes e fungos – micorrizas. São destacadas vantagens às plantas como maior absorção de elementos minerais e água, proteção contra patógenos e/ou efeitos tóxicos provocados por íons, bem como o benefício aos fungos na aquisição de carboidratos (Raven, 1996) e a estruturação entre espécies e consequente comunicação por meio de hifas fúngicas. (Wardle, 2002).

O aprofundamento no estudo da relação morfológica entre fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e as plantas a eles associadas, têm distinguido dois tipos morfológicos, Arum e Paris, descritos primeiramente por Gallaud (1905). O primeiro se caracteriza pela distribuição de hifas pelo córtex de maneira extracelular se estendendo ao longo do apoplasto, com formação de arbúsculos, já o tipo Paris se caracteriza pelo desenvolvimento extensivo de micélio intracelular formando assim novelos, intercalado com hifas arbusculares. Existem na literatura hipóteses para presença de determinada morfologia (Smith e Smith, 1997; Cavagnaro, 2001; Yamato e Iwasaki, 2002). Yamato (2004) mostra que o tipo Arum é predominante em plantas daninhas de crescimento rápido e discute a importância de estudos a fim de se definir o principal fator atuante na morfologia uma vez que não se sabe ao certo as diferenças funcionais entre os dois grupos.

Outra associação positiva é a simbiose entre os fungos Endofíticos *Dark Septate* (EDS) e os vegetais. Os EDS já foram relatados para mais de 600 espécies de plantas e ocorrem frequentemente quando em condições de presença também de micorrizas, sugerindo interação semelhante (Lingfei et al., 2005), porém, a função destes fungos nas plantas ainda não está bem esclarecida, havendo necessidade de maiores estudos (Jumpponen e Trappe, 1998). Detmann et al. (2008), relatam a alta frequência de EDS em plantas de cerrado sugerindo um caráter generalista destes fungos como adaptação a condições adversas daquele ambiente. Visando avaliar melhor a função dos EDS em plantas, Jumpponen (2001), considera estes fungos como simbioses a depender de condições ambientais. A metodologia de preparação do material radicular para observação de FMAs permite também a observação de EDS, assim, torna-se apropriado a avaliação da colonização por fungos EDS também neste trabalho.

Dessa forma, objetivou-se verificar a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em plantas daninhas, classificando-os quanto à sua morfologia, e verificar a ocorrência de fungos dark septate.

Material e Métodos

Fez-se a coleta de 36 plantas consideradas daninhas de importância agrícola no Brasil, pertencentes a 14 famílias botânicas, em uma área de 0,8 ha nas coordenadas 20° 46' S de latitude e 42° 52' W de longitude, com altitude de 650 metros, em Viçosa/MG. Foram coletadas três plantas por espécie quando encontradas isoladamente, em local isento de defensivos nos últimos seis anos.

Utilizando-se pá quadrada, retirou-se a planta juntamente com parte do solo rizosférico, sendo adicionados em baldes com capacidade para 5,0 L. Após isso, estes recipientes foram transportados para o laboratório para identificação botânica das espécies, que foram coletadas em pleno florescimento, considerando estágio de maior micorrização (Smith e Read, 1997).

Após identificação botânica, seguiu-se à separação de raízes e solo, lavando posteriormente as raízes em água corrente. Retirou-se 1,0 g de raízes em pedaços de 1,0 a 2,0 cm e as mesmas foram preservadas em FAA 5:90:5 (formaldeído: etanol: ácido acético) e transportadas para o laboratório de Associações Micorrízicas da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa/MG), onde foram lavadas e clarificadas com KOH a 10%, e submetidas à coloração com azul de tripano, procedendo-se à observação de estruturas fúngicas (Giovannetti & Mosse, 1980). O procedimento permitiu também detectar a presença de fungos endofíticos do tipo dark septate.

Os seguimentos de raízes foram observados previamente em placa de petri utilizando-se uma lupa binocular com aumento de 40 vezes, sendo após seleção, confeccionadas lâminas para observação em microscópio óptico Olympus BX50. As estruturas fúngicas foram fotografadas com câmera digital Qcolor 3 Olympus utilizando-se o programa QCapture Pro 6.0.0.412 para capturar as imagens.

Avaliaram-se a presença ou ausência de micorrizas por meio da observação de suas estruturas como vesículas, esporos e hifas, os dois tipos morfológicos definidos como enovelados de hifas, arbúsculos ou ambos e a ocorrência dos fungos endofíticos dark septate.

Resultados e Discussão

Os 36 exemplares apresentaram em suas raízes FMAs, observação caracterizada pela presença de estruturas como vesículas, hifas, arbúsculos e esporos. Enovelados de hifas intracelulares foram visualizados em maior número de plantas em relação a arbúsculos. Observou-se também a ausência de arbúsculos em gramíneas (Figura 1 e Tabela 1).

Destaca-se neste trabalho a colonização micorrízica do tipo Arum visualizada em raízes de mostarda (*Sinapis arvensis* L.), espécie da família Brassicaceae, com visualização de vesículas, hifas e arbúsculos. Associações micorrízicas ocorrem em mais de 90 % das plantas terrestres (Selosse, et al., 2004), porém, existem famílias botânicas onde esta associação não é observada como em Brassicaceae e Cyperaceae (Souza, et al. 2006). É relatada também a ausência de colonização micorrízica em plantas de Proteaceae (Lamont, 2003), porém, avaliando a colonização micorrízica em solo com elevados teores de níquel e baixo de fósforo, Boulet e Lambers, (2005) relataram a presença de micorrizas em plantas de Proteaceae. Neste mesmo sentido, Regvar et al. (2003) relatam a presença de hifas, vesículas, novelos e arbúsculos em raízes das plantas *T. praecox*, *T. caerulescens* e *T. montanum* do gênero *Thlaspi* (pertencente à família Brassicaceae).

Os FMAs associam-se às raízes das plantas propiciando maior capacidade de competição e perpetuação (Siqueira e Saggin Jr., 1995), assim, a associação de plantas daninhas a FMAs influencia no processo de competição com as culturas de interesse econômico, uma vez que as últimas foram submetidas a processos de domesticação e programas de melhoramento, sendo a contribuição de tal associação, muitas vezes, desconsiderada. Segundo Reinhart e Callaway (2006) a biota do solo influencia de maneira positiva a dominância de uma planta invasora, destacando a necessidade de estudos mais aprofundados e globais. Estes autores ressaltam a correlação indireta entre presença de micorrizas e de patógenos em plantas daninhas.

Os fungos EDS foram observados em plantas das famílias: Asteraceae, Amaranthaceae, Convolvulaceae, Verbenaceae, Labiatae, Malvaceae e Solanaceae (Figura 1 e Tabela 1). Existe um questionamento sobre o papel destes fungos na associação com plantas, destacando-se a necessidade de trabalhos mais aprofundados (Jumpponen e Trappe, 1998) uma vez que estes simbiontes têm sua ocorrência relacionada a fatores abióticos, como baixa umidade no ambiente e comprimento do dia (Barrow e Aaltonen, 2001). Li e Guan (2007) relatam uma íntima relação entre EDS e micorrizas, sugerindo uma competição ou mesmo cooperação entre eles.

A maior dificuldade na apresentação de resultados comprovando a associação entre espécies daninhas e fungos EDS é explicada pela presença de determinados componentes na parede celular destes fungos como sugerido por Barrow e Aaltonen (2001). Portanto, podem-se considerar satisfatórios os resultados observados com positividade para 12 das 36 espécies vegetais avaliadas (Tabela 1).

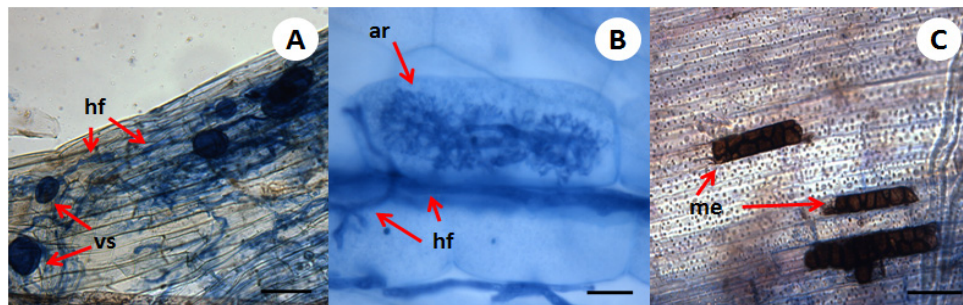


Figura 1 - Fungos endofíticos em raízes de plantas daninhas. A - *Sinapis arvensis*, barra 100 μ m; B - *Amaranthus retroflexus*, barra 10 μ m; C - *Bidens pilosa*, barra 20 μ m. Estruturas: hf - hifas; vs - Vesícula; ar - Arbúsculo; me - Microesclerotia de fungo Endofítico Dark Septate.

Tabela 1 - Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e endofíticos dark septate (EDS) em planta daninhas.

Família	Espécie	Nome comum	FMA		EDS
			Arbúsculo	Enovelados de Hifas	
Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i>	Mentrasto	Sim	Sim	N. O.*
	<i>Artemisia verticillata</i>	Losna-brava	Sim	Sim	N. O.
	<i>Bidens pilosa</i>	Picão-preto	Sim	Sim	N. O.
	<i>Blainvillea rhomboidea</i>	Erva-palha	Sim	Sim	Sim
	<i>Conyza bonariensis</i>	Buva	Sim	Sim	Sim
	<i>Emilia fosbergii</i>	Falsa-serralha	Sim	Sim	N. O.
	<i>Eupatorium urticaefolium</i>	Erva-eupatório	Sim	Sim	N. O.
	<i>Galinsoga parviflora</i>	Botão-de-ouro	Sim	Sim	N. O.
	<i>Porophyllum ruderale</i>	Couve-cravinho	Sim	Sim	N. O.
	<i>Siegesbeckia orientalis</i>	Botão-de-ouro	Sim	Sim	N. O.
	<i>Sphagneticola trilobata</i>	Vedélia	Sim	Sim	N. O.
Amaranthaceae	<i>Amaranthus retroflexus</i>	Caruru-gigante	Sim	Sim	Sim
	<i>Amaranthus spinosus</i>	Caruru-de-espinho	Sim	Sim	Sim
Gramineae	<i>Andropogon bicornis</i>	Rabo-de-buro	N. O.	Sim	N. O.
	<i>Cynodon dactylon</i>	Grama-seda	N. O.	Sim	N. O.
	<i>Imperata brasiliensis</i>	Sapé	N. O.	Sim	N. O.
	<i>Panicum maximum</i>	Capim-colonião	N. O.	Sim	N. O.
	<i>Paspalum conspersum</i>	Capim-guaçu	N. O.	Sim	N. O.
	<i>Sorghum arundinaceum</i>	Falso-massambará	N. O.	Sim	N. O.
Euphorbiaceae	<i>Chamaesyce hirta</i>	Erva-de-Santa-Luizia	Sim	Sim	N. O.
	<i>Chamaesyce hyssopifolia</i>	Erva-andorinha	Sim	Sim	N. O.
	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteiro	Sim	Sim	N. O.
Commelinaceae	<i>Commelina benghalensis</i>	Trapoeiraba	Sim	N. O.	N. O.
Lythraceae	<i>Cuphea aperta</i>	Sete-sangrias	N. O.	Sim	N. O.
Convolvulaceae	<i>Ipomoea grandifolia</i>	Corda-de-viola	Sim	Sim	Sim
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i>	Cambará	Sim	Sim	Sim
	Labiatae	<i>Leonotis nepetaefolia</i>	Cordão-de-frade	Sim	N. O.
<i>Leonurus sibiricus</i>		Rubim	Sim	N. O.	Sim
Urticaceae	<i>Pilea microphylla</i>	Brilhantina	Sim	Sim	N. O.
Malvaceae	<i>Sida rhombifolia</i>	Guaxuma	Sim	Sim	Sim
	<i>Sida santaremensis</i>	Guaxuma	Sim	Sim	Sim
Brassicaceae	<i>Sinapis arvensis</i>	Mostarda	Sim	N. O.	N. O.
Solanaceae	<i>Solanum americanum</i>	Maria-pretinha	Sim	Sim	Sim
	<i>Solanum lycocarpum</i>	Fruta-de-lobo	N. O.	Sim	Sim
Sapindaceae	<i>Cardiospermum halicacabum</i>	Balãozinho	N. O.	Sim	N. O.

* N.O.: Não observado

Dessa forma, concluiu-se que todas as espécies avaliadas apresentaram colonização por fungos micorrízicos, sendo que os tipos morfológicos de arbúsculo e enovelados de hifas ocorreram na maioria das espécies, com predominância do segundo. Porém, em gramíneas, não se observou o tipo morfológico de enovelados de hifas. Os fungos endofíticos *dark septate* ocorreram nas famílias: Asteraceae, Amaranthaceae, Convolvulaceae, Verbenaceae, Labiatae e Malvaceae. Apesar do escasso número de trabalhos relacionados na literatura, destaca-se que associações simbióticas entre plantas daninhas e fungos endofíticos sugerem capacidade adaptativa e competitiva por meio da absorção diferencial e acúmulo de minerais e água.

Agradecimentos

Ao CNPq e à Fapemig pelo apoio financeiro à realização desse trabalho.

Literatura citada

- AQUINO, A.M.; ASSIS, R.L. **Processos biológicos do sistema solo-planta**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.181-200, 2005.
- BARROW, J.R.; AALTONEN, R.E. Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. **Mycorrhiza**, v.11. p.199-205, 2001.
- BOULET, F.M.; LAMBERS, H. Characterisation of arbuscular mycorrhizal fungi colonisation in cluster roots of *Hakea verrucosa* F. Muell (Proteaceae), and its effect on growth and nutrient acquisition in ultramafic soil. **Plant Soil**. v.269, p.357-367, 2005.
- CAVAGNARO, T.R. et al. Quantitative development of Paris-type arbuscular mycorrhizas formed between *Asphodelus fistulosus* and *Glomus coronatum*. **New Phytologist**, v. 149, p. 105–113, 2001.
- DETMANN, K. et al., Comparação de métodos para a observação de fungos micorrízicos arbusculares e endofíticos do tipo dark septate em espécies de Cerrado. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v.32, n.5, 2008.
- GALLAUD, I. Études sur les mycorrhizes endotrophes. **Revue Général. de Bot.** v. 17, p 5-500. 1905.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p.489 – 500, 1980.
- JUMPPONEN, A.; TRAPPE, J. M. Dark Septate Endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. **New Phytologist**. v.140, p.295-310, 1998.
- JUMPPONEN, A. Dark septate endophytes ó are they mycorrhizal? **Mycorrhiza** v.11: p. 207-211. 2001.
- KITAMURA, P.C. Agricultura Sustentável no Brasil. Avanços e Perspectivas. **Ciênc. Amb.** p. 7-28. 2003.
- LAMONT, B.B. Structure, ecology and physiology of root clusters. **Plant Soil**, v.248, p1-19. 2003.
- LI, A.R.; GUAN, K.Y. Mycorrhizal and dark septate endophytic fungi of *Pedicularis* species from Northwest of Yunnan Province, China. **Mycorrhiza**, v.17. p.103-109, 2007.
- LINGFEI, L.; ANNA, Y.; ZHIWEI, Z. Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China. **FEMS Microbiol Ecology**.v.54, p.367-373, 2005.
- PITELLI, R.A. Competição e controle de plantas daninhas em áreas agrícolas. **IPEF**,v.4, p.25-35, 1987.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. 1996. 728p. **Biologia vegetal**. 5.ed. RJ., Koogan S.A.
- REGVAR, M. et al. Colonization of pennycresses (*Thlaspi* spp.) of the Brassicaceae by arbuscular mycorrhizal fungi. **Journal of Plant Physiology**. v.160, p.615-626. 2003.
- REINHART, K.O.; CALLAWAY. R.M. Soil biota and invasive plants. **New Phytologist**. v.170, n.3, p.445–457, 2006.
- RIBEIRO, I.; MENDONÇA, E. S. Matéria Orgânica do Solo. In. NOVAIS et al. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG. Editora: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. UFV. 1017 p., 2007.
- SELOSSE, M.A.; BAUDOIN, E.; VANDENKOORNHUYSE, P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. **Comptes Rendus Biologies**, v.327, n.7 p.639-648. 2004.
- SIQUEIRA J.O.; FRANCO A.A. **Biotecnologia do solo** – Fundamentos e perspectivas. Brasília: MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS, 1988, 236 p.
- SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN JR., O.J. The importance of mycorrhizae association in natural low-fertility soils. In: **International symposium on environmental stress**, 1., 1992, Belo Horizonte. Maize in perspective: proceedings. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS/México : CIMMYT/ UNDP, p.239-280, 1995.
- SMITH F.A.; SMITH S.E. Tansley Review No. 96. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. **New Phytologist** v. 137, p.373–388, 1997.
- SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. London. 605 p.,1997.
- SOUZA, V.C. et al. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, n.3, 2006.
- WARDLE, D.A. Communities and Ecosystems: **Linking Aboveground and Belowground Components**. Princeton: Princeton University Press, 2002.
- YAMATO, M.; IWASAKI, M. Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of forest floor plants. **Mycorrhiza**, v.12, p.291–296, 2002.

YAMATO, M. Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of weeds on vacant land.
Mycorrhiza. n.14, p.127-131, 2004.