

ESTRUTURAS CELULARES E ASSOCIAÇÕES DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM RAÍZES DE ESPÉCIE FITORREMEIADORA⁽¹⁾

Carla Karoline Gomes Dutra Borges⁽¹⁾; Josias Coriolano de Freitas⁽²⁾; Lucilene da Silva Paes⁽²⁾; Jean Dalmo de Oliveira Marques⁽²⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do IFAM e FAPEAM

⁽¹⁾ Discente do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas - IFAM - Bolsista da Iniciação Científica FAPEAM

⁽²⁾ Professor do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Amazonas/IFAM; Manaus, AM; jeanmarques@ifam.edu.br;

RESUMO: A contaminação do solo com metais tóxicos geralmente é resultado das atividades humanas, especialmente aquelas relacionadas à mineração, emissões industriais, descarte ou vazamento de resíduos industriais. Em razão do potencial tóxico e alta persistência dos metais, solos poluídos com estes elementos constituem um problema ambiental que requer uma solução eficaz que pode ser realizada pela fitoextração no qual o processo de extração depende da capacidade que algumas plantas tem de crescer e acumular metais sob condições específicas de clima. Diante do exposto avaliou-se *Alocasia macrorrhiza* coletadas em dois ambientes borda de mata e margens de igarapé com relação aos aspectos estruturais suas interações fúngicas endofíticas. As raízes foram seccionadas sendo avaliadas as estruturas anatômicas e também foi realizado o isolamento fungico endofítico. Os resultados encontrados demonstraram que as raízes de *Alocasia macrorrhiza* possuem tecidos apropriados para acumulação de substâncias e que os fungos endofíticos, são bem mais frequentes em solos alterados.

Termos de indexação: fitorremediação, anatomia vegetal e fungos endofíticos

INTRODUÇÃO

Alocasia macrorrhiza é uma espécie de planta conhecida popularmente como orelha-de-elefante-gigante a qual pode ser utilizada com fitorremediadora trata-se de uma planta fitorremediadora a qual normalmente é capaz de tolerar grandes quantidades de metais pesados em tecidos, além de ser tolerantes a múltiplos metais. Na região amazônica é bastante encontrada em áreas contaminadas e em bordas de matas e geralmente presentes em ambientes alterados. Freitas, (2012) cita seu potencial em absorver todos os metais da mesma forma independentemente do local (impactado e não impactado).

Nesta perspectiva a fitorremediação surge como técnica de uso de plantas para remover, imobilizar ou tornar inofensivas contaminações

orgânicas e inorgânicas contidas no solo e na água. Pode ser classificada em sub áreas como: a fitoextração que são uso de plantas para a retirada de metais do solo através das raízes, a fitoestabilização que é o uso de plantas para diminuir a ação de metais em solos contaminados também através da concentração de raízes e por fim a fitovolatilização que é a capacidade das plantas de volatilizar metais do solo (Dias, 2010).

Estima-se que no Brasil há mais de 200 milhões de hectares de solo degradado sendo a causa minerações, construção de estradas, métodos agropecuários impróprios construções de represas e áreas industriais que diretamente impactam a fertilidade do solo. A poluição do solo com metais pesados, devido as atividades industriais, agrícolas e pela urbanização, é um problema crescente e é responsável por sérios impactos ao meio ambiente (Sengupta,1993).

De acordo com Elizabeth (2005) a fitorremediação, o uso das plantas e seus micróbios associados, para limpeza ambiental ganhou aceitação nos últimos 10 anos como uma alternativa econômica, não invasivo ou tecnologia complementar para os métodos baseados em engenharia de remediação. As plantas podem ser utilizadas para a estabilização dos poluentes, a extração, a degradação ou volatilização.

Diante do exposto caracterizou-se as estruturas celulares internas das raízes da espécie *Alocasia macrorrhiza* e realizou-se a identificação da ocorrência de associações com fungos endofíticos como forma de subsidiar informações de plantas com potencial fitorremediador para reabilitar ambientes ciliares degradados.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta da espécie estudada foi efetuada em dois ambientes as margens de um igarapé,

localizado no bairro Cidade Nova 2, núcleo 15. Posteriormente, foram realizadas coletas de espécie para análise micológica nas bordas das florestas do Mini Campus da Universidade Federal do Amazonas-UFAM. Para o isolamento dos fungos internos houve a desinfecção superficial das amostras, o material vegetal passou por assepsia para retirar da superfície externa da raiz organismos epifíticos. Para o processo de assepsia foram cortados com lâminas de barbear fragmentos de raiz de 5 cm e depois parafinados em suas extremidades, para que durante o processo de desinfecção superficial não penetrassem agentes químicos utilizados nesse processo para não alterar os dados da estrutura. A esterilização superficial foi feita através de lavagens por imersão. Primeiramente, duas vezes em água destilada esterilizada durante 30 segundos, seguida de solução de álcool etílico a 70 % em um minuto, de solução de hipoclorito de sódio a 3% por quatro minutos, novamente em solução de álcool etílico a 70% durante 30 segundos e, posteriormente enxaguadas três vezes em água destilada esterilizada por um minuto (Pimentel, 2001). Como controle negativo foi coletado 50µL da última água utilizada na assepsia das amostras, sendo essa também plaqueada; as que apresentaram crescimento de colônias foram descartadas, por evidenciarem falhas no processo de assepsia superficial das amostras (Magalhães, et al., 2008). Os fragmentos contendo partes vegetativa de toda a raiz foram desinfetados novamente seccionados em pedaços de 1cm e inoculados em fragmentos por técnica de spread plate em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA (infuso de 200 g de batata; dextrose 20 g; ágar 15 g; solução de cloranfenicol, 250 mg/L; água destilada q.s.p., 1000 mL) e incubados à temperatura de 28±2 °C, durante 7 dias. Passados 7 dias os fungos foram isolados pela transferência dos micélios ou conídios para tubos de ensaio com meio BDA inclinado (Pimentel, 2001). Para a identificação dos fungos utilizamos uma técnica chamada microcultivo, que consiste em semear pequenas porções de colônias fúngicas num pequeno bloco de meio BDA dentro das placas de Petri contendo duas lâminas em forma de X, lâminula e algodão estéril. Em seguida, as placas foram incubadas à temperatura ambiente até a observação do crescimento da cultura (Silva e Oliveira, 2004). A identificação dos fungos foi feita a

partir da análise proposta por Barnett e Hunter (1972).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na região amazônica *Alocasia macrorrhiza* destaca-se pela ocorrência com grande frequência nas áreas estudadas (Figuras 1 e 2).

A avaliação das estruturas internas das raízes demonstrou que a raiz possui um córtex bem desenvolvido com células parenquimáticas com um padrão similar em tamanho e os cortes em branco do tecido, sem corante demonstraram uma sequência de células acumuladoras de substâncias nas células parenquimáticas (Figura 2), indicando que há uma função de acumulação nestas células que pode estar relacionada com o papel fitorremediador da planta. Appezzato-da-Glória & Carmello-Guerreiro (2006) caracterizam a estrutura de uma raiz primária de monocotiledôneas como uma estrutura axial relativamente simples quando comparada ao caule sendo as raízes órgãos especializados em fixação, absorção, reserva e condução.

Plantas de ambientes alterados pela ação antrópica demonstraram ter tecidos mais colonizados por endofíticos diferente dos ambientes de borda de mata que apresentaram uma variedade menos expressiva como observados Tabela 1 e nas Figuras 3 e 4.

Os fungos do gênero *Penicillium* e *Aspergillus* apresentaram maior destaque. Esses são geralmente encontrados em diferentes habitats e caracterizados pela formação abundante de esporos e tem como característica produção de metabólitos secundários, como o ácido micofenólico ativo contra bactérias gram-positivas produzidos por várias espécies deste gênero sendo, portanto, considerados marcadores em algumas espécies (Takahashi & Lucas, 2008).

O gênero *Fusarium* e *Trichoderma* sp. foram identificados com menos representatividade em ambientes alterados (Igarapé) e nas bordas de mata. De acordo com Brady & Clardy (2000) o *Fusarium* destaca-se por produzir micotoxinas da classe dos trichotecenos macrocíclicos (JARVIS, et al., 1991). Silva (2006) afirma que fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* caracterizam-se como indivíduos de rápido crescimento, com



capacidade de utilização de diversos substratos e resistência para produtos químicos nocivos

De acordo Saikonen et al. (1998) os fungos endofíticos são microorganismos que vivem assintomaticamente no interior dos tecidos de suas plantas hospedeiras. As raízes das plantas podem estimular a microbiota do solo, a qual pode contribuir para o aumento da eficiência do processo de remediação. Assim, avaliar a magnitude dos efeitos das raízes sobre a microbiota do solo é de grande interesse e de relevância prática e ecológica (NAKATANI, et al, 2008).

CONCLUSÕES

A espécie estudada apresenta aspectos estruturais indicadores que suas células são aptas à captação e reserva de substâncias e, além disto, os fungos endofíticos associados a estes tecidos produzem como metabolitos secundários substâncias que promovem a otimização dos metabolitos das plantas. Assim sendo, os resultados contribuem para elucidar os processos de fitorremediação que esta planta realiza.

AGRADECIMENTO

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e tecnologia do Amazonas e a Fundação de Amparo a Pesquisa (FAPEAM).

REFERÊNCIAS

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 438p.

BRADY SF. Clardy. J. (2000) Long-chain N- acyl amino acid antibiotics isolated from soil heterologously expressed environmental DNA. J. Am hem Soc. 122: 12903 – 12904.

BARNETT; H.L: HUNTER, B.B Illustrated genera of imperfect fungi. Ninnesota: Burgess Publishing Company, 1972 . 241p.

COSTA, M.C.M.; Diversidade de fungos endofíticos em candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.)

MacLeish. Cerne, Lavras, v. 14, n. 3, p. 267-273, jul./set. 2008.

DIAS, Carlos, Fitorremediação- uso de plantas para descontaminação ambiental.,2010, disponível em: [HTTP://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programacao/2010/fitorremediacao-o-uso-de-plantas-para-descontaminacao-ambiental](http://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programacao/2010/fitorremediacao-o-uso-de-plantas-para-descontaminacao-ambiental) acesso em 05/06/2012.

ELIZABETH, P.S. 2005, Anual Review of plant biology 2005, vol. 56, Pg. 15 – 39

FREITAS, J.C. 2012, Planta amazônica consegue absorver metais pesados, 2012, disponível em: [HTTP://www.fapeam.am.gov.br/noticia.php?not=6098](http://www.fapeam.am.gov.br/noticia.php?not=6098).

JARVIS, B. B.; REJALI, N. M.; SCHENKEL, E. P.; BARROS, C. S.; MATZENBACHER, N. I. Trichothecene mycotoxins from Brazilian Bacchais species. Phytochemistry, v. 30, n. 3, p. 789-797, 1991.

NAKATANI, A.S et al. Comunidades microbianas atividades enzimática e fungos micorrízicos em solo rizosférico de “Landfarming” de resíduos petroquímicos. R. Bras.Ci. solo, v. 32, p.1501 – 1512, 2008.

PIMENTEL, I.C. Fungos endofíticos do milho (*Zea mays* L.) e da soja (*Glycine max* (L.) Merril e seu potencial valor biotecnológico no controle de pragas agrícolas. Tese, (Doutorado) Universidade Federal do Paraná, 2001.

SAIKKONEN, K., Faeth, S.R., Helander, M. & Sullivan, T.J. Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. Annual Review of Ecology and Systematics 29: 319 – 343. 1998.

SENGUPTA, M. (1993). Environmental impacts of mining: monitoring, restoration, and control. Boca Raton, Lewis. 194p.

SILVA, M.E. Comunidades fúngicas endofítica, epifítica e rizosférica em diferentes ecossistemas. Tese (Doutorado em Botânica), Universidade



Federal do Rio Grande do Sul Instituto de Biociências, 2006.

SOHI, S., MAHIEU, N., ARAH, J. R. M., POWLSON, D. S. P., MADARI, B., GAUNT, J. L., 2001. Procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 65, 1121-1128.

SOHI, S., MAHIEU, N., ARAH, J. R. M., POWLSON, D. S. P., MADARI, B., GAUNT, J. L., 2001. Procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 65, 1121-1128

SWIFT, R.S. Sequestration of carbon by soil. *Soil Sci.*, 166: 835-858, 2001.

TAKAHASHI, J.A.; LUCAS, E.M.F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. *Química Nova*, vol. 31, nº. 7, 1807-1813, 2008.

WATSON, R.T., NOBLE, I.R., BOLIN, B., RAVINDRANATH, N.H., VERARDO, D.J., DOKKEN, D.J. Land use, land use change and forestry: a special report of the IPCC. Cambridge: Cambridge, University Press, 2000. 3.



Figura 1. A. Local de coleta de *A. macrorhizza* em ambientes de borda de mata. B. Local de coleta de *A. macrorhizza* em margens de igarapés degradados

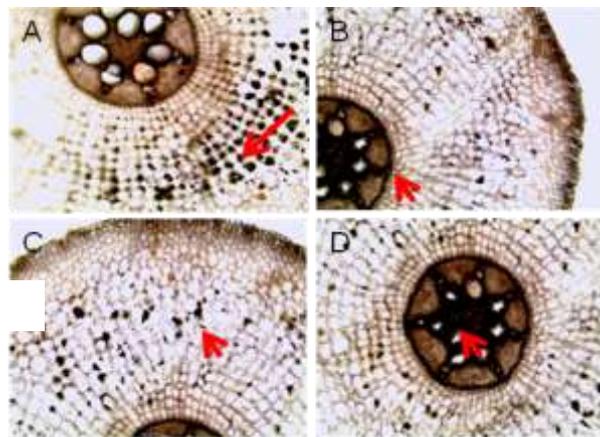


Figura 2. A e B Corte transversal da raiz de *A. macrorhizza* evidenciando tecidos em ambientes alterados próximos aos igarapés. C e D - Corte transversal da raiz de *A. macrorhizza* evidenciando tecidos de plantas em bordas de mata.

Gêneros Fúngicos Áreas degradadas	Qtf	Gêneros Fúngicos Bordas de florestas	Qtf
<i>Aureobasidium</i>	4	<i>Penicillium</i>	7
<i>Tricoderma</i>	1	<i>Aureobasidium</i>	5
<i>Cladosporium</i>	1	<i>Fusarium</i>	1
<i>Memnoniella</i>	2		
<i>Penicillium</i>	4		
<i>Fusarium</i>	1		

Tabela 1. Gêneros fúngicos identificados a partir da coleta de plantas do igarapé de núcleo xv (Fotos: Borges 2012).

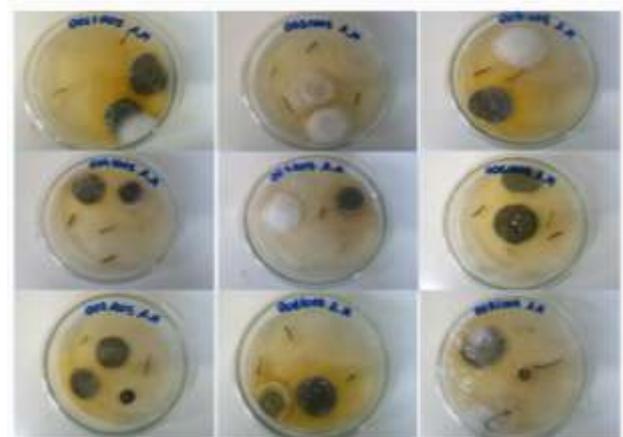


Figura 3. Gêneros fúngicos identificados a partir da coleta de plantas do campus da UFAM (Fotos: Borges 2012).

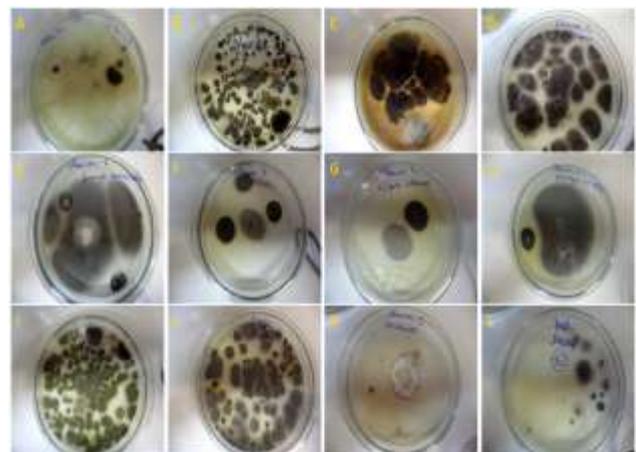


Figura 4. Gêneros fungicos identificados a partir de coleta de plantas do igarapé núcleo XV. (Foto: Borges, 2012)