

MICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR EM *Hyptis rugosa* BENTH.

Lilian Isolde Thomazini Casagrande¹

INTRODUÇÃO

Existe uma região de intensa atividade microbiana ao redor das raízes das plantas. Muitos microrganismos saprofíticos existentes na rizosfera, interagem com a planta, sendo que organismos parasitas especializados infectam as raízes e utilizam-nas como fontes de alimento. Assim, os tecidos tornam-se desorganizados no processo, e resulta a doença. Em associações mais especializadas, uma íntima relação é estabelecida, quando então a morfologia do tecido hospedeiro modifica-se, mas os microrganismos obtêm alimento, sem destruir o tecido da raiz e, em muitos casos, a infecção torna-se benéfica ao hospedeiro. Tais relações podem ser consideradas como o mais alto nível de especialização parasítica.

Plantas que crescem sob condições naturais geralmente são organismos nos quais os órgãos de absorção de água e nutrientes consistem de tecidos de raiz e fungo. Esses são chamados de micorriza. Há vários tipos de micorriza, sendo que basicamente podemos citar: a. ectomicorriza, na qual um manto de hifas rodeia a superfície radicular, havendo penetração intercelular no córtex; b. ectendomicorriza, tipo semelhante ao anterior, mas havendo penetração de hifa inter e intracelular e c. endomicorriza, que tem um tênue manto ao redor da raiz, mas um desenvolvimento de hifas muito grande no interior das

¹ Instituto de Biociências, Campus de Rio Claro, UNESP.

células da raiz. O grupo das endomicorrizas pode ser dividido em dois subprodutos distintos: aquelas produzidas por fungos septados e as produzidas por fungos asseptados. Este trabalho enfatiza apenas o último tipo que é chamado micorriza vesículo-arbuscular (MVA), porque são frequentemente formados vesículas e arbúsculos no tecido infectado. São fungos da ordem Endogonales que se associam simbioticamente às raízes das plantas. As MVA têm grande capacidade de exploração do solo, ampliando a área de absorção das raízes e conseqüentemente com melhor absorção de substâncias (MOSSE, 1977, 1979).

O problema da micotrofia tem sido estudado sob diferentes aspectos; são numerosos os trabalhos publicados e, em todos os países, um grande número de investigadores se ocupam do assunto. Verifica-se, também, que a questão das micorrizas entre nós, atualmente, vem conquistando, gradativamente, especial atenção (ARENS & THOMAZINI, 1968; THOMAZINI, 1972; THOMAZINI, 1974; THOMAZINI - CASAGRANDE, 1982; THOMAZINI-CASAGRANDE, 1980; THOMAZINI - CASAGRANDE, 1983; THOMAZINI-CASAGRANDE, 1987; SAITO et al., 1983; BONONI & TRUFEN, 1983; TRUFEN & BONONI, 1985).

É ponto pacífico que no estudo dos vegetais, não pode ser esquecido seu aspecto ecológico. Nesse setor, não muito tem sido feito em relação às nossas comunidades vegetais, como é o caso típico dos cerrados, que ocupam aproximadamente 25% da área do território brasileiro sendo muitos ricos em problemas a serem resolvidos e muito atraentes pela diversidade de suas espécies. A idéia inicial que nos guiou na execução desse trabalho foi a de contribuir para o preenchimento de uma lacuna existente na apreciação da ecologia dos cerrados.

Propusemo-nos, então, a fazer uma espécie de levantamento sobre micorrizas ocorrentes em algumas regiões de cerrados através de análises de suas estruturas externa e interna.

Iniciamos então, há anos, nosso estudo sobre mico-

endotrofia, considerando muitas plantas. Agora, colocamos em evidência *Hyptis rugosa* (Labiatae) muito característica e representativa no que se refere às MVA.

Esta foi destacada em nossas observações, visto tratar-se de uma espécie muito comum em todas as regiões em estudo, principalmente nas áreas de cerrado de arbus-tos, fechado.

MATERIAL E MÉTODOS

As raízes de *Hyptis rugosa* Benth., foram coletadas de uma área de cerrado que constitui uma reserva situada no Município de Corumbataí, São Paulo.

Escolhemos como material de estudo, raízes terminais, quando possível ainda em estágio primário de desenvolvimento, retiradas "in loco". Essas raízes são lavadas cuidadosamente para não haver alteração do micélio externo. Em seguida uma parte é fixada em etanol 70% para posteriores observações. Outra parte é submetida a um exame sob lupa que resulta na escolha de segmentos de raízes que apresentem maior quantidade de micélio extramatricial.

Logo após, segue-se um estudo microscópico detalhado de uma série de cortes longitudinais, transversais e superficiais das raízes, feitos a mão, com auxílio de lâminas comuns de barbear e isopor como suporte, sempre sob lupa.

O método de coloração que se apresentou mais adequado para nosso trabalho, foi o de azul de algodão-lacto-fenol contrastado com safranina.

Após uma descrição anatômica detalhada, foram escolhidas as seções mais representativas que foram desenhadas e fotografadas à medida que foram observadas e descritas detalhadamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Externamente, as raízes de *Hyptis rugosa* Benth. não apresentam modificações.

O micoplasto é variável em sua distribuição sendo que em muitas regiões da superfície radicular praticamente não existe (fig. 1).

Algumas raízes apresentam substância tânica estratificada e hifas comunicantes que no entanto, se quebram com grande facilidade.

As hifas penetram diretamente na epiderme sem apresentarem apressórios e têm aspecto diferente das situadas mais profundamente no córtex. As hifas mais superficiais são finas, apresentam coloração castanha e septos; já as situadas mais profundamente, são mais grossas e apresentam um nítido conteúdo citoplasmático (fig. 2). As hifas ao ocuparem o córtex, dão origem ao complexo miceliar formado por hifas ramificadas, com muitas entumescências. A maioria é constituída por hifas grossas que ao serem cortadas, têm o aspecto de anéis (fig. 1). Essas hifas originam então os arbúsculos que são às vezes altamente modificadas, apresentando nítidos aspectos de digestão que chamaremos de tamniscofisalidofagia, que não é um termo muito usado, mas é o que se refere a esse tipo de fenômeno digestivo nas MVA. Os arbúsculos ocupam as camadas mais profundas do córtex (fig. 2). Os espaços intercelulares são bem desenvolvidos e tomados por hifas. Muitas hifas originam as vesículas que se distribuem em todo o córtex. Essas não estão confinadas a determinadas camadas de células, mas sim distribuídas irregularmente. Apresentam aspectos variados, sendo bem alongadas primeiramente quando em localização intercelular. Quando estão endocelularmente, possuem formas mais arredondadas (fig. 2). O aspecto do conteúdo vesicular também varia. Muitas delas apresentam gotas de óleo e membranas mais espessas, outras são praticamente desprovidas de granulação interior e dotadas de

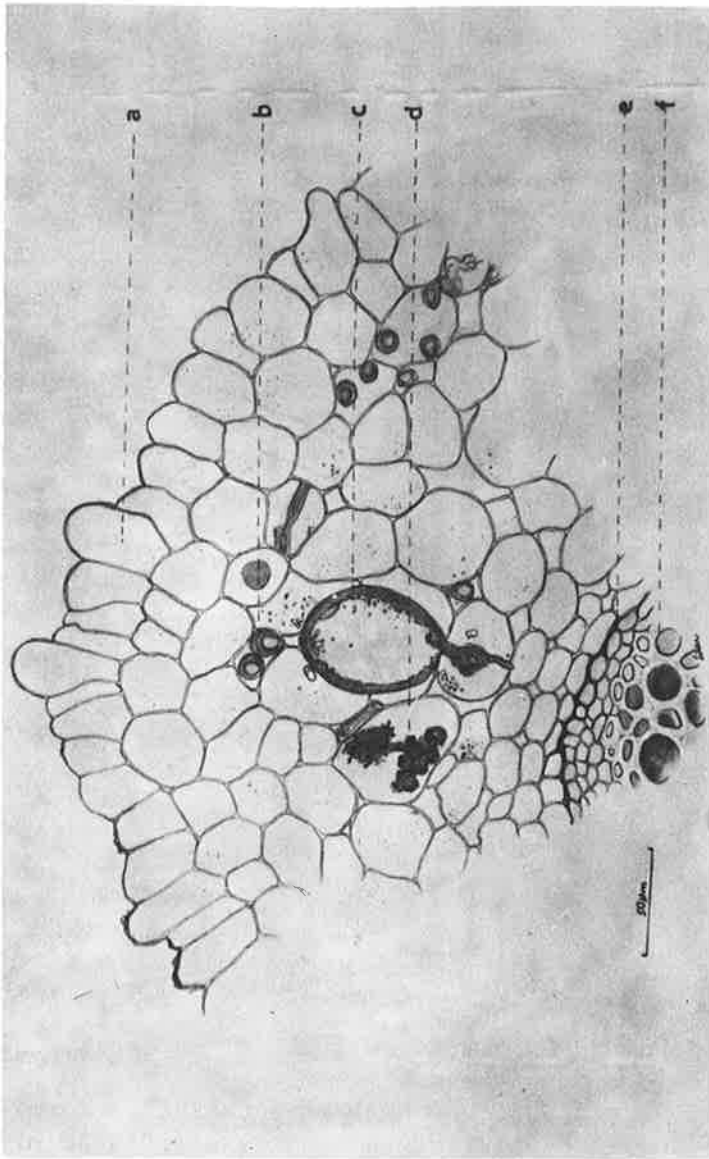


Figura 1 Setor de um corte transversal de raiz de *Hyptis rugosa* Benth. a. células epidérmicas; b. hifas cortadas; c. vesícula; d. formação arbuscular; e. espessamento; f. cilindro central.

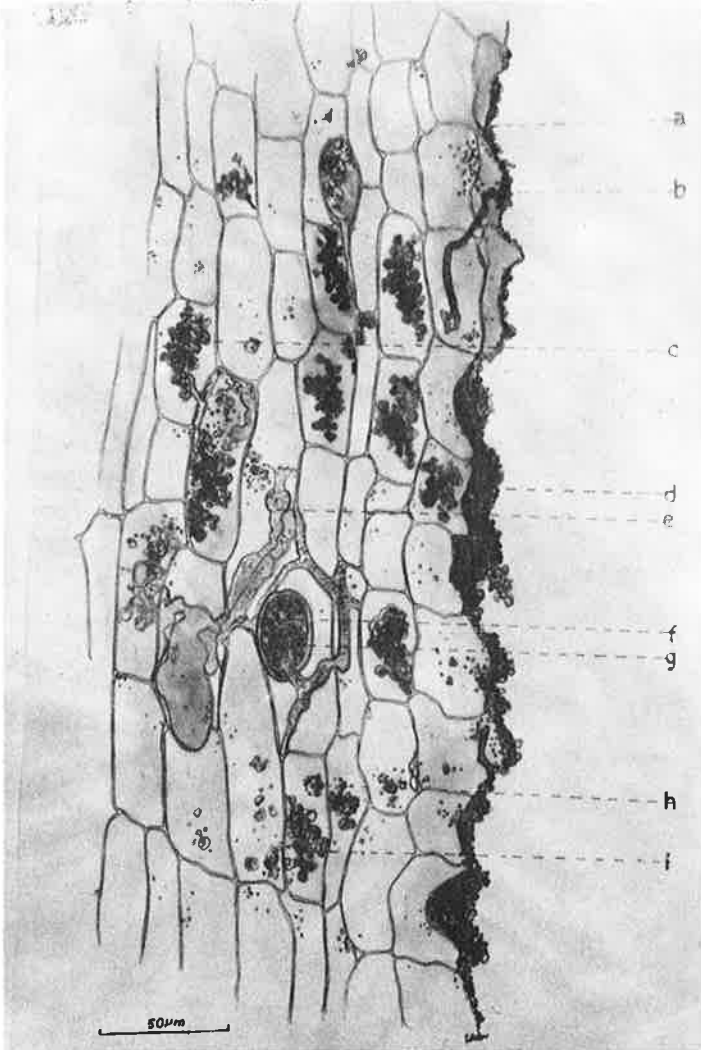


Figura 2 - Setor de um corte longitudinal de raiz de *Hyptis rugosa* Benth.

a. micoplasto; b. hifa infectante; c. formação arbuscular; d. substância aderida ao micoplasto; e. entumescência; f. pouca penetração intercelular; g. vesícula; h. núcleos; i. resíduos de processo digestivo.

membranas mais finas (fig. 2). Por vezes, o conteúdo dessas vesículas restringe-se à sua porção interna periférica (fig. 1).

Os aspectos apresentados por essa micorriza fazem com que a aproximemos da série *Arum maculatum* de GALAUD (1905), devido à presença de hifas, inclusive de vesículas intercelulares.

Segundo a bibliografia referente, das várias espécies de micorrizas, o tipo vesículo-arbuscular é o mais comum. GERDEMANN (1968) salientou que é mais difícil enumerar as famílias onde não ocorrem micorrizas desse tipo do que as famílias onde são encontradas.

As MVA são de particular interesse devido ao grande número de plantas importantes para a agricultura onde ocorrem, como nas Leguminosae e Gramineae (GERDEMANN, 1968).

É interessante mostrar em nossas preparações, o caráter dimórfico das hifas externas. Essa característica é bastante citada como uma das identificadoras das MVA (BUTLER, 1939; MOSSE, 1959; NICOLSON, 1959) e são compostas de ramos laterais mais finos não septados, irregulares, originários de hifas de paredes mais grossas septadas.

Conforme dados de muitos pesquisadores (GERDEMANN, 1968) e inclusive nessas observações, a infecção micorrizica endocelular, e particularmente a MVA, produz geralmente pouca ou nenhuma alteração na morfologia externa das raízes, no entanto, a morfologia interna pode ser facilmente observada microscopicamente. Como podemos notar, as hifas infectantes ao penetrarem as células epidérmicas das raízes jovens, podem tomar formas muito características, podendo ser o crescimento inteiramente intracelular ou previamente intercelular com formação do denominado retículo de Hartig (HARLEY, 1969).

Em micorrizas mais novas, é na parte média do córtex que se encontra a maior porção do micélio, sendo que as hifas das camadas de células mais externas são utilizadas apenas como células de passagem pelas hifas, ao passo que nas micorrizas mais velhas, a infecção está distribuída por todas as camadas, mesmo nas mais externas do córtex.

Os arbúsculos, estruturas provenientes de ramificações intracelulares das hifas, a partir de haustórios, podem apresentar-se como massas indistintas, granuladas, de contorno pouco nítido. Eles desenvolvem-se por repetidas ramificações dicotômicas a partir de uma hifa "tronco". A hifa ramifica-se até uma "pequena árvore" complexa e é formada no lúmen da célula. Os últimos desintegram-se rapidamente, sendo aceito que são digeridos pelo hospedeiro. A desintegração começa nas pontas. Como eles são destruídos, o óleo permanece nas células hospedeiras o que foi comum nessa planta em estudo. O arbúsculo digerido forma certa massa granular, irregularmente lobada, no início com entumescências arredondadas nas extremidades das hifas. Em 1986, JANSE (c.f. HARLEY, 1969) chamou de "esporangiólos" os arbúsculos desintegrados e a mistura complexa de hifas, arbúsculos e esporangiólos, GALLAUD já em 1905 denominou "arbúsculos complexos".

Notamos também com muita frequência, expansões arredondadas do micélio, de conteúdo granular de início e depois vacuolar e com grande abundância de núcleos e gotas de óleo. São estas formações, estruturas especiais formadas pelos endófitos que JANSE em 1986 já designou como "vesículas" (HARLEY, 1969). As vesículas podem ser terminais e intercalares. As terminais são formadas pelo alargamento das hifas.

Alguns pesquisadores consideraram as vesículas como órgãos reprodutores, onde acumular-se-iam substâncias nutritivas e que, permanecendo no solo durante longo tempo, poderiam, em condições favoráveis, germinar, produzindo micélio apto a infectar novas raízes e assim con-

tribuir para a propagação do endófito (KESSLER, 1966; PEYRONEL, 1921). Esporos menores poderiam ser formados dentro das vesículas (GERDEMANN, 1968). Até hoje porém, não foi possível confirmar essa hipótese, pois todas as experiências nesse sentido falharam (BURGEFF, 1959). É contudo, de bem fácil aceitação, a idéia de que as vesículas são simples e temporários órgãos de reserva, sob a forma de gordura ou óleo.

Quanto ao tipo de penetração e ocupação do córtex, esse nos permite enquadrar a micorriza em uma determinada classe segundo os tipos de GALLAUD (1905). GALLAUD dividiu as micorrizas vesículo-arbusculares em dois grupos, que foram chamados de *Arum* e *Paris*. No tipo *Arum* as hifas são intercelulares na epiderme e exoderme. Após a penetração o fungo cresce intercelularmente nessas camadas de células através do córtex. As vesículas são intercelulares, os arbúsculos são intracelulares e terminais. No tipo *Paris*, as hifas, vesículas e arbúsculos são sempre intracelulares. Os arbúsculos são produzidos lateralmente nas hifas e tendem a ser localizados em camadas bem definidas.

As espécies hospedeiras e o fungo determinam o tipo de desenvolvimento. Portanto, pelas características do endófito, a micorriza de *Hyptis rugosa* está melhor situada no tipo *Arum*. Quanto ao fenômeno digestivo, podemos enquadrar o fungo como tamniscófago, já que observamos resíduos de digestão de arbúsculos. Isso, contudo, não exclui a possibilidade da existência de um fenômeno de tamniscofosalidofagia, quando arbúsculos e vesículas são digeridos. Esses termos são muito usados e fazem parte de uma classificação feita por BURGEFF, em 1938, baseada em processos digestivos.

RESUMO

O estudo das micorrizas de plantas herbáceas e arbóreas de regiões do cerrado incidiu especialmente em exem

plares obtidos no Município de Corumbataí, Estado de São Paulo. O problema micotrófico foi encarado com a finalidade da determinação de tipos, incidência, e intensidade da infecção micorrizica. Tivemos então a oportunidade de observar em *Hyptis rugosa* Benth., micorriza endocelular tipo MVA.

SUMMARY

In order to study the types, incidence and intensity of mycotrophic infestation developed in natural conditions of the "cerrado" with native or introduced plants, material of *Hyptis rugosa* Benth. was collected.

The mycorrhiza belongs to the endotrophic type (VAM).

LITERATURA CITADA

- ARENS, K. & L.I. THOMAZINI, 1968. Estudo sobre a ocorrência de micorriza em raízes de plantas de cerrado. **Ciê. e Cult.** 20: 311.
- BONONI, V.L.R. & S.F.B. TRUFEM, 1983. Endomicorrizas vesículo-arbusculares do cerrado da Reserva Biológica de Moji-Guaçu, SP, Brasil. **Rickia** 10: 55-84.
- BURGEFF, H., 1938. **Mycorrhiza**. In *Manual of Pteridology*, Chronica Botanica, The Hague, p.159-191.
- BURGEFF, H., 1959. **The Orchids**. Ed. by C/I Withner, Ronald Press, New York, p.361-393.
- BUTLER, N.A., 1939. On the significance of mycorrhiza. **New Phytol.** 35: 117-131.
- GALLAUD, G., 1905. Études sur les mycorryzes endotrophes. **Rev. Gen. Bot.** 17: 5-48.

- GERDEMANN, J.W., 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *A. Rev. Phytopathol.* 6: 394-418.
- HARLEY, J.L., 1969. **The biology of mycorrhiza.** Edit. Leon-Hill, London, 334p.
- KESSLER, K.J., 1966. Growth and development of mycorrhizae of sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.). *Can. J. Bot.* 44: 1413-1425.
- MOSSE, B., 1959. Observation on the extramatricial mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 42: 431-448.
- MOSSE, B., 1977. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhizae. *New Phytol.* 78: 277-288.
- MOSSE, B., 1979. Vesicular-arbuscular mycorrhizae research for tropical agriculture. *Res. Bull. Hawaii Inst. Trop. Agr. Hum. Res.* 194: 1-85.
- NICOLSON, T.H., 1959. Mycorrhiza in the Graminae I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 44: 421-428.
- PEYRONEL, B., 1921. Nouveaux cas de rapports mycorrhizique entre Phanérogames et Basidiomycetes. *Bull. Soc. Myc. France* 37: 143-146.
- SAITO, S.M.T., F.C.S. MARTINS, J.R. FREITAS & A.J. ROSTON, 1983. Ocorrência natural de micorriza e *Rhizobium phaseoli* em áreas com feijoeiro. *Pesq. Agrop. Bras.* 8: 855-861.
- THOMAZINI, L.I., 1972. **Micorriza em plantas do cerrado.** Tese de Doutorado pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro, UNESP, 185p.

- THOMAZINI, L.I., 1974. Micorriza vesicular-arbuscular em *Aegiphila verticilara* Vell. **Phyton** 32(1): 53-60.
- THOMAZINI, L.I., 1978. Micorriza vesicular - arbuscular em *Tocoyena formosa* (Cham & Sch.) K.Sch. **Rev. Agr.** 53(1-2): 63-67.
- THOMAZINI, L.I., 1978. Micorriza vesicular - arbuscular em *Annona coriacea* Mart. **Phyton** 36(1): 75-84.
- THOMAZINI, L.I., 1979. Micorriza em plantas de cerrado: *Davilla rugosa* Poir. **Rev. Agr.** 54(4): 195-199.
- THOMAZINI, L.I., 1979. Micorriza vesicular - arbuscular em *Solanum lycocarpum* St. Hil. **Phyton** 37(2): 97-103.
- THOMAZINI-CASAGRANDE, L.I., 1981. Estudo sobre a associação micorrizal em *Caryocar brasiliense* Camb. **Rev. Agr.** 56(1-2): 5-8.
- THOMAZINI-CASAGRANDE, L.I., 1981. *Solanum palnacathum* Dun.: aspectos micorrizais. **Rev. Agr.** 57(4): 293-297.
- THOMAZINI-CASAGRANDE, L.I., 1987. Micorriza vesicular - arbuscular em *Banisteria schizoptera* Juss. **Rev. Agr.** 62(2): 149-155.
- THOMAZINI-CASAGRANDE, L.I., 1987. Ectomicorrizas e endo micorrizas em *Jacaranda decurrens* Cham. **Rev. Agr.** 62(3): 229-237.
- TRUFEM, S.F.B. & V.L. BONONI, 1985. Endomicorrizas vesí culo-arbusculares em culturas introduzidas em áreas de cerrado. **Rickia** 12: 165-187.