

# Alterações na exsudação de raízes em plantas transgênicas e da comunidade microbiana da rizosfera colonizadas com micorrizas arbusculares

Changes in root exudation in transgenic plants and microbial community of the rhizosphere colonized with mycorrhiza

Carlos M Colodete<sup>1,2,5\*</sup>, Sávio B Souza<sup>1,3,5</sup>, Wolmen O Santos<sup>1,4,5</sup>, Gabriela C Canton<sup>1,4,5</sup>, Frederico J Eutrópio<sup>1,4,5</sup>, Thécio C Cani<sup>1,2,5</sup>, Frederico F Figueira<sup>1,3,5</sup>, Tamires C Santos<sup>1,2,5</sup>, Júlia G Barcelos<sup>1,3,5</sup>, Juliana M Conceição<sup>1,4,5</sup>, Leonardo B Dobbss<sup>1,2,5</sup> e Alessandro C Ramos<sup>1,2,5</sup>

1. Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LMAB); 2. Mestrado pelo Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ecologia de Ecossistemas; 3. Graduação em Ciências Biológicas; 4. Doutorado pelo Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ecologia de Ecossistemas; 5 Universidade Vila Velha-UVV, Rua Comissário José Dantas de Melo 21, Boa Vista, Vila Velha-ES

\*Autor para correspondência: [carloscolodete@gmail.com](mailto:carloscolodete@gmail.com)

**Resumo** O melhoramento genético das plantas tem papel fundamental para produzir alimentos em quantidade que atendam a população. Nesse sentido, plantas transgênicas também conhecidas como culturas geneticamente modificadas (GM), têm seus exsudatos radiculares alterados e são interessantes modelos nas pesquisas microbiológicas e ecológicas da rizosfera. Plantas estão expostas a uma grande variedade de microrganismos ubiqüamente distribuídos e dentre estes, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Os FMAs são biotróficos obrigatórios, cosmopolitas, susceptíveis a maioria das espécies vegetais. A principal característica desta associação é a formação no córtex radicular das plantas de arbúsculos, estruturas micorrízicas responsáveis pelo movimento bidirecional de nutrientes absorvidos do solo para a planta, notadamente o fósforo (P) e a transferência açúcares derivados do processo fotossintético ao fungo. Esta revisão traz uma abordagem sobre alterações na exsudação em raízes de plantas transgênicas e da comunidade microbiana da rizosfera colonizadas com FMAs, onde são apresentadas evidências que dão suporte a hipótese de que *AVP10X* possam modular a densidade microbiana da rizosfera e que apresentem baixos níveis nas atividades enzimáticas. Trabalhos futuros sobre os efeitos de exsudatos alterados de plantas GM em microrganismos do solo, devem envolver experimentos que utilizem ferramentas moleculares baseadas na amplificação dos ácidos nucleicos pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR-*Polimerase Chain Reaction*). Abstendo-se dos detalhes, a eficiência desta técnica resume-se no uso de DNA em quantidade e qualidade adequadas para amplificação e a escolha de *primers* específicos para a região a ser estudada. Portanto, destacamos a ausência de uma técnica perfeita. Cabe ao pesquisador decidir qual o método ou conjunto de métodos mais adequados para responder às questões científicas propostas.

**Palavras-chaves:** GM, *AVP10X*, H<sup>+</sup>-PPase, FMAs e microrganismos.

**Abstract** The genetic improvement of plants plays a fundamental role in the production food in quantity to meet the population. Accordingly, transgenic plants also known as genetically modified (GM), have their root exudates altered and are interesting models in microbiological research and ecological rhizosphere. Plants are exposed to a wide variety of microorganisms ubiquitously distributed, among which stand out the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). AMF are required biotrophic cosmopolitans likely most plant species. The main characteristic of this association is the formation in the root cortex of plants arbuscules, mycorrhizal structures responsible for bidirectional movement of nutrients absorbed from the soil to the plant, especially phosphorus (P) and the transfer process sugars derived from photosynthesis to the fungus. This review describes an approach to changes in exudation in transgenic plants and the microbial community of the rhizosphere colonized with AMF, which are presented evidence supporting the hypothesis that *AVP10X* can modulate the rhizosphere microbial density and exhibit low enzymatic activities. Future studies on the effects of GM plant exudates altered microorganisms in soil, should involve experiments using molecular tools based on nucleic acid amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR-*Polymerase Chain Reaction*). Eschewing the details, the efficiency of this technique is summarized in the use of DNA in adequate quantity and quality for amplification and selection of primers specific for the region to be studied. Therefore, we emphasize the absence of perfect technique. It is up to the researcher to decide which method or set of methods best suited to answer scientific questions proposed.

**Keywords:** GM, *AVP10X*, H<sup>+</sup>-PPase, AMF and microorganisms.

## Introdução

A perspectiva de crescimento populacional para os próximos anos possibilita antever que a demanda por alimentos será cada vez maior. Para produzir alimentos em quantidade que atendam a população, o melhoramento genético das plantas tem papel fundamental. Segundo Ahmad *et al.* 2011, um aumento de 94 vezes na área plantada de 1,7 milhões de hectares em 1996 para 160 milhões de hectares em 2011, torna as culturas GM, as mais adotadas na história da agricultura moderna.

Com a tecnologia do DNA recombinante através do desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas (PGMs), torna-se possível incrementar a dinâmica das pesquisas científicas e que vem tornando uma poderosa ferramenta na obtenção de conhecimentos mais detalhados sobre os mecanismos bioquímicos e fisiológicos de plantas e das interações planta-microrganismos (Gaxiola *et al.* 2005; 2007; 2011; 2012; Paez-Valencia *et al.* 2013).

Nesse contexto, a superexpressão da H<sup>+</sup>-pirofosfatase (H<sup>+</sup>-PPase), gene *AVP1OX*, em *Arabidopsis thaliana* resultaram na homeostase iônica, aumento das divisões celulares, hiperplasia, crescimento vegetal via um maior desenvolvimento radicular, maior absorção de água e nutrientes, elevação da auxina com consequente alongamento celular, maior atividade da H<sup>+</sup>-ATPase e tolerância ao estresse salino (Gaxiola *et al.* 2007; 2011; 2012; 2013).

Segundo Gaxiola *et al.* (2007), mudanças na expressão do *AVP1OX* afetaram a abundância e a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase da membrana plasmática, alterando o pH do apoplasto e o transporte de auxina em plantas. Testes moleculares, bioquímicos e fisiológicos realizados com *A. thaliana* demonstraram um aumento na tolerância à salinidade devido a maior absorção e acumulação de íons (sódio) Na<sup>+</sup> em seus vacúolos e conseqüentemente uma elevação na capacidade osmorregulatória. Sendo assim, *AVP1OX* revelaram uma habilidade em resistir a diferentes condições de estresses.

Anteriormente, Park *et al.* (2005) realizaram pesquisas sobre a superexpressão da H<sup>+</sup>-PPase vacuolar em raiz de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) *AVP1OX*. Estes estudos bioquímicos e de transporte, confirmaram a expressão funcional desta proteína recombinante na linhagem dos tomates GM. Determinações da atividade hidrolítica da H<sup>+</sup>-PPase do tonoplasto de raízes de duas linhagens representativas *XAVP1D* e plantas controles, mostraram que as plantas GM obtiveram em média 56% de aumento de sua atividade em relação as plantas controles, enquanto a H<sup>+</sup>-ATPase vacuolar, não sofreram modificações significativas. Quando submetidas ao estresse hídrico, *AVP1OX* demonstraram rápida recuperação após reidratação, ou seja, após interrupção do estresse.

Ramos *et al.* (2005) realizaram estudos associando a atividade de H<sup>+</sup>-ATPases da membrana plasmática e vacuolar e também da H<sup>+</sup>-PPase vacuolar em plantas de milho (*Zea mays* L.) inoculadas com dois FMAs (*Glomus clarum* e *Gigaspora margarita*). Estes autores observaram que nas raízes de milho colonizadas pelos FMAs apresentavam significativos incrementos na nutrição mineral e na atividade das H<sup>+</sup>-ATPases na fase de estabelecimento da interação.

Por outro lado, foi relatado que a atividade da H<sup>+</sup>-PPase vacuolar foi fortemente estimulada nas fases iniciais da simbiose. Sendo assim, pode ser feita uma analogia entre micorrização e *AVP1OX* (super-expressando a H<sup>+</sup>-PPase vacuolar), pois ambas promovem efeitos semelhantes nos indivíduos. Dados moleculares demonstraram anteriormente a mesma capacidade do FMAs em induzir o aumento da expressão do gene H<sup>+</sup>-ATPase da membrana plasmática da planta hospedeira, tal como acontece com *AVP1OX* (Ferrol *et al.* 2002).

## Impacto das PGMs sobre a colonização micorrízica

Alterações e reduções na colonização micorrízica radicular inoculados com FMAs em algumas PGMs foram observadas (Tabela 1).

Powell *et al.* (2007) demonstraram que em quatro variedades de soja *Glycine max* - *CP4-EPSPS* (2602R, 2702R, AG1901 e DKB06-52) obtiveram efeitos significativos sobre a colonização micorrízica nas raízes de soja, no entanto, em nenhum caso a variação foi significativamente associada com a modificação genética. Além disso, foram realizados experimentos com tabaco *Nicotiana tabacum* do tipo silvestre, PGMs *NabG* (PGMs de tabaco expressando o gene *NabG* bacteriana) e tabaco GM *CSA*, que foram inoculadas com o *G. mosseae*. Durante o início do desenvolvimento, as plantas *NabG* obtiveram melhores níveis de colonização radicular, enquanto que, em plantas de *CSA*, a micorrização foi reduzida. No entanto, no final do experimento, a colonização foi semelhante em ambas as PGMs e silvestres, indicando que o aumento dos níveis de ácido salicílico (AS). O acúmulo de AS foi proposto como um marcador endógeno para a resistência das plantas, ligando melhorados níveis AS em plantas, para uma susceptibilidade reduzida destas plantas aos patógenos

**Tabela 1** Visão geral das pesquisas sobre os efeitos de PGMs na colonização dos FMAs.

Plantas GM	Modificações	Principais resultados	Autores
Arroz	<i>Chitinase (RC24)</i>	A taxa de colonização radicular diminuiu significativamente;	Yang <i>et al.</i> (2002)
Tabaco	<i>NabG</i>	PGMs de tabaco <i>CSA</i> , as micorrizações foram reduzidas. A colonização radicular nas plantas silvestres e GM ( <i>NabG</i> e <i>CSA</i> ) com <i>G. mosseae</i> , foram semelhantes;	Medina <i>et al.</i> (2003)
Milho	<i>Cry1Ab</i>	PGMs de milho <i>Bt176</i> reduziram significativamente o crescimento das hifas na fase pré-simbótica e o desenvolvimento de apressórios por <i>G. mosseae</i> ;	Turrini <i>et al.</i> (2004a)
Milho	<i>Cry1Ab</i>	Foram detectados baixos níveis de colonização micorrízica nas raízes de milho GM <i>Bt176</i> , inoculadas por <i>G. mosseae</i> ;	Castaldini <i>et al.</i> (2005)
Milho	<i>Cry1Ab</i>	PGMs de milho, contendo genes do solo <i>Bacillus thuringiensis</i> ( <i>Bt</i> ) ou não- <i>(Bt)</i> , a colonização destas raízes com FMAs variaram entre 19% e 39%;	Fließbach <i>et al.</i> (2012)

podem, por vezes, atrasar a colonização do FMA nestas raízes, mas, neste último caso, eles não afetaram o nível de colonização radicular (Medina *et al.* 2003). Algumas literaturas relevantes e os seus principais resultados estão listados na (Tabela 1).

---

### PGMs e alterações na comunidade microbiana da rizosfera

Vários estudos têm se dedicado a comparar os efeitos da exsudação radicular de PGMs e suas consequentes alterações na comunidade microbiana da rizosfera (Ceccherini *et al.* 2003; Bruinsma *et al.* 2003; Liu 2010; Bouasria *et al.* 2012; Chaparro *et al.* 2013). Além disso, os mesmos autores demonstraram avanços significativos na avaliação de riscos ambientais, especialmente através da possível transferência horizontal de genes (THG) (Ceccherini *et al.* 2003) das PGMs, na microbiota dos solos.

A atividade microbiana tem como principal fonte de nutrientes os compostos orgânicos excretados principalmente pelas raízes na forma de exsudatos (Singh *et al.* 2007; Chaparro *et al.* 2013). No entanto, reduzidas revisões abrangem os efeitos de PGMs em comunidades de FMAs. Nos últimos anos, a importância do FMAs nas avaliações de riscos ecológicos, foi destacada por alguns autores (Bruinsma *et al.* 2003; Liu 2010; Chaparro *et al.* 2013).

Hannula *et al.* (2010) relataram que FMAs (*Ascomycota*, *Basidiomycota* e *Glomeromycota*), são propostos como potenciais indicadores biológicos de perturbação e agentes úteis em estratégias de monitoramento após a introdução de PGMs, como de batata (*Solanum tuberosum L.*) na rizosfera de solos *in situ*. Um dos fatores determinantes na composição destas comunidades, está no crescimento das plantas e na propriedade do solo. Outros estudos têm abordado os efeitos destes transgenes nas estruturas das comunidades de fungos (Verbruggen *et al.* 2010).

Milling *et al.* (2004) observaram tendências nas alterações dos perfis da comunidade bacteriana total e de grupos específicos, como alfa e betaproteobactérias, actinomicetos e pseudomonas, na rizosfera de batatas GM (*S. tuberosum L.*) com composição de amido alterada. Este estudo demonstrou que a transgenia pode diretamente ou indiretamente modificar a estrutura de comunidades específicas do solo. Entretanto, outros estudos investigaram os efeitos das PGMs nas estruturas das comunidades bacterianas (Rasche *et al.* 2006; Weinert *et al.* 2009) e funcionamento (Verbruggen *et al.* 2010).

Bruinsma *et al.* (2003) pesquisaram os efeitos das PGMs sobre os microrganismos do solo (fungos e bactérias), através de técnicas tradicionais como: número mais provável (NMP), seguida de *Pour Plate* de contagem em placas de Petri, ou de técnicas moleculares: PCR, ERIC-PCR, T-RFLP, SSCP e DGGE, detectando amplas variações ou tendências diferentes em extensão e intensidade. Outros estudos demonstraram efeitos transitórios e temporários da atividade enzimática no solo e da estrutura bacteriana associada à rizosfera (Rasche *et al.* 2006).

Chaparro *et al.* (2013) observaram que os exsudatos de

*Arabidopsis, in vitro*, colhidas em diferentes fases de desenvolvimento e analisados por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (CG-EM), revelaram que a composição dos exsudatos das raízes destas plantas, variaram em cada fase do desenvolvimento. Já os níveis de secreção cumulativa de açúcares e alcoóis foram maiores nos pontos de tempo iniciais e diminuiu ao longo do desenvolvimento. Em contraste, os níveis de secreção de aminoácidos e compostos fenólicos aumentaram ao longo do tempo.

De maneira geral, as alterações de uma população refletem na combinação dos efeitos das condições de recursos, migração, competição (intra e interespecífica), mutualismo, predação e parasitismo (Neal *et al.* 2012). Entretanto, para o fornecimento de respostas completas a essas variantes, faz-se necessário conhecer as condições físicas e químicas, o nível de recursos disponíveis, o ciclo de vida dos organismos e a influência de competidores, predadores e parasitas. Paralelamente, os microrganismos que habitam o solo estão em constante disputa por água, nutrientes e energia (Neal *et al.* 2012). Esse fator também delimita sua capacidade competitiva, pois na rizosfera a fonte de carbono (C) liberada pela planta é limitada. As plantas estão expostas a uma grande variedade de microrganismos ubiquamente distribuídos, sendo que os mesmos possuem funções-chave nos ecossistemas, dentre estes, destacam-se os FMAs (Soares e Carneiro 2010; Ramos *et al.* 2011).

---

### Biologia e desenvolvimento das micorrizas arbusculares (MAs)

Estudos de fósseis de plantas da era Devoniana evidenciam que a associação micorrizica arbuscular existe há pelo menos 400 milhões de anos (Remy *et al.* 1994; Ramos *et al.* 2011). Estimativas feitas com o relógio molecular (18S rRNA), calibrado com esse dado fóssil e taxas de substituição de nucleotídeos dessa sub-unidade menor do gene ribossomal, apontam que a origem dos principais grupos de fungos terrestres (glomeromicetos, ascomicetos e basidiomicetos) ocorreu há mais de 600 milhões de anos (Redecker *et al.* 2000a), porém não foi encontrado sinal de simbiose. Os FMAs, Filo *Glomeromycota*, Classe *Glomeromycetes*, são uma das mais antigas, conspícuas e ecologicamente importantes simbioses da terra (Ramos *et al.* 2011). Sua ocorrência é notável nos ecossistemas, associando-se com mais de 80% das espécies de plantas, formando assim, uma relação simbiótica mutualística denominada MAs (Ferreira *et al.* 2012).

Os FMAs são recentemente classificados em 5 ordens, 14 famílias e 26 gêneros, com pouco mais de 230 espécies descritas (Stürmer 2012) (Tabela 2).

A genética desses fungos ainda é pouco conhecida (De Souza *et al.* 2008). Até recentemente, os *glomeromycetes* eram considerados organismos exclusivamente clonais (De Souza *et al.* 2008). Os esporos são multinucleados e podem conter, dependendo da espécie, centenas a milhares de núcleos (Pawłowska e Taylor 2004). Outros glomeromicetos estudados apresentam genomas com tamanho maior (ver detalhes De Souza *et al.* 2008).

**Tabela 2** Classificação atual dos FMAs no reino Fungi.

Filo-Classe-Ordem	Famílias	Gêneros	
<b>Filo:</b> Glomeromycota			
<b>Classe:</b> Glomeromycetes			
<b>Ordem:</b> Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i>	
		<i>Funneliformis</i>	
		<i>Simiglomus</i>	
		<i>Septoglomus</i>	
	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>	
		<i>Viscospora</i>	
		<b>Ordem:</b> Diversisporales	<i>Diversispora</i>
			<i>Redeckera</i>
			<i>Otophora</i>
			Entrophosporaceae
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>		
	<i>Kuklospora</i>		
<b>Ordem:</b> Gigasporales	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	
	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	
		Scutellosporaceae	<i>Scutellospora</i>
	Racocetraceae	<i>Orbispora</i>	
		<i>Racocetra</i>	
		<i>Cetraspora</i>	
	Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i>	
<i>Fuscutata</i>			
<i>Quatunica</i>			
<b>Classe:</b> Archaeosporomycetes			
<b>Ordem:</b> Archaeosporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>	
		<i>Intraspora</i>	
	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>	
	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>	
<b>Classe:</b> Paraglomeromycetes			
<b>Ordem:</b> Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	

Os FMAs são considerados biotróficos obrigatórios (Folli-Pereira *et al.* 2012). Essa característica é esperada em simbioses altamente evoluídas, em que o microsimbionte se torna totalmente dependente do macrosimbionte. Como consequência, esses fungos precisam estabelecer simbiose com raízes de plantas compatíveis para que possam completar seu ciclo de vida. Geralmente mostram-se pouca especificidade, e os fatores que determinam se micorrizas são formadas ou não, parecem depender do genótipo da planta hospedeira. A evidência para isso é a existência de espécies de plantas GM não nodulantes (nod<sup>-</sup>) são incapazes de formar simbiose MA, sendo denominadas (myc<sup>-</sup>), sugerindo que a parte das vias de transdução de sinais ambos os simbiontes são análogas (Ramos *et al.* 2011).

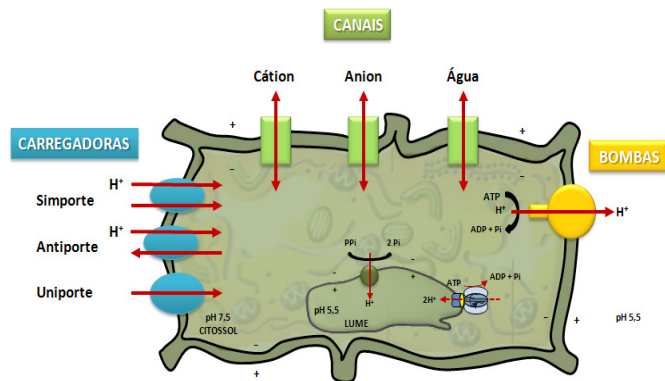
Dentro do reino fungi, glomerosporos são assexuais (Goto e Maia 2006). Na reprodução assexuada os organismos tendem a acumular mutações deletérias devido as falhas durante o crescimento somático. As vesículas são estruturas globosas que ocorrem intra e

extracelularmente, com função de reserva (lipídeo) para o fungo, as quais são formadas em apenas alguns gêneros (Bonfante-Fasolo 1984). As hifas são importantes na aquisição e translocação de metabólitos do solo para a planta (Folli-Pereira *et al.* 2012). O micélio é asseptado (cenocítico) (Moreira e Siqueira 2006). Essas hifas diferenciam-se em apressórios na superfície da raiz e colonizam o tecido cortical, tanto intercelular quanto intracelularmente (Kiriacheck *et al.* 2009). Dependendo do genótipo vegetal em certas células do córtex, hifas intracelulares se diferenciam em arbúsculos, que formam invaginações no interior das células do parênquima cortical radicular vegetal, podendo assumir um padrão *Arum* ou *Paris*, sendo circundados por uma membrana plasmática diferenciada de origem vegetal, chamada Peri-arbuscular (Folli-Pereira *et al.* 2012). São importantes nos processos de troca de nutrientes entre simbiontes em até 80% de P, 60% de cobre (Cu), 25% de nitrogênio (N), 25% de zinco (Zn) e 10% de potássio (K) (Moreira *et al.* 2010).

Nesta troca de nutrientes, as H<sup>+</sup>-ATPase da membrana plasmática da planta e fungo (Figura 1) são responsáveis pelo efluxo unidirecional de íons H<sup>+</sup> a catálise de moléculas de ATP, denominado de transporte primário de H<sup>+</sup> (Figura 1). Assim o gradiente eletroquímico gerado pelas ATPases impulsionam o influxo de macromoléculas e outros nutrientes via transportadores de membrana, representado pelo

respostas, estão as alterações no processo fotossintético (Sena *et al.* 2004), crescimento vegetal (Tabela 3), redução na incidência de ataques patógenos nas raízes (Borges *et al.* 2007), resistência ao déficit hídrico (Moratelli *et al.* 2007), tolerância das plantas a condições de estresse (Folli-Pereira *et al.* 2012) e acumulação da biomassa microbiana em solos (Olsson e Wilhelmsson 2000).

O desenvolvimento das MAs é um processo complexo e assíncrono (Ramos *et al.* 2011). Segundo Siqueira *et al.* (2007), o estabelecimento e desenvolvimento MA é caracterizado com as seguintes fases: (i) assimbiótica pela germinação de esporos e crescimento do tubo germinativo (Figura 2), (ii) pré-simbiótica na ramificação das hifas esporofíticas em resposta a fatores de ramificação produzidos pelas plantas (Figura 2), (iii) simbiótica através da diferenciação do apressório, penetração, colonização intraradicular e diferenciação e funcionamento do arbúsculo (Figura 2) e (iv) esporulação – o ciclo do fungo se completa, com a formação de novos esporos, os quais podem perdurar como esporos viáveis por longo tempo no solo.



**Figura 1** Transporte primário e secundário pela membrana plasmática. O gradiente eletroquímico criado pela H<sup>+</sup>-ATPase é usado por transportadores secundários para movimentar íons e compostos orgânicos pela membrana. O transporte de água pelas aquaporinas pode não responder diretamente ao gradiente eletroquímico de H<sup>+</sup>, todavia responde ao potencial osmótico e dessa forma, ao movimento de solutos. Modificado (Morsomme e Boutry 2000).

### Mecanismo de defesa das plantas durante os estágios de interação planta-FMAs

O estabelecimento dos FMAs envolvem complexos processos de desenvolvimento, concomitantemente nas alterações bioquímicas, fisiológicas e moleculares em ambos os simbiontes (Moreira e Siqueira 2006). Modificações na fisiologia da planta após a colonização

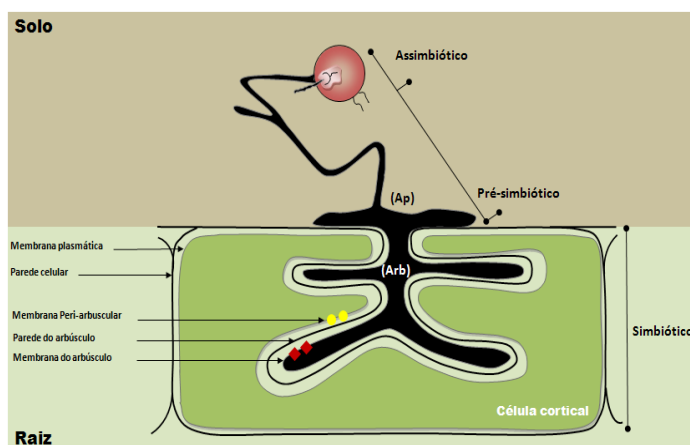
transporte secundário (Figura 1) (Ramos *et al.* 2011).

Aqui são propostos modelos inéditos, do transporte primário e secundário pela membrana plasmática (Figura 1) e as etapas de desenvolvimento dos FMAs (Figura 2).

Apesar da colonização dos FMAs se restringirem ao ambiente da raiz, respostas ecofisiológicas diversas podem ser observadas na parte aérea do hospedeiro (Sena *et al.* 2004). Dentre estas

**Tabela 3** As utilizações dos FMAs no crescimento vegetal

Utilização	Mecanismos principais
<b>Biofertilizadora</b>	Acessos a nutrientes pouco disponíveis; Maior absorção e utilização de nutrientes do solo; Amenização de estresses nutricionais e nutrição balanceada; Favorecimento da nodulação e fixação de N <sub>2</sub> em leguminosas.
<b>Biorreguladora</b>	Atua na produção e acúmulo de substâncias reguladoras do crescimento; Interfere favoravelmente na relação água-planta (aumenta tolerância a déficit hídrico); Alterações bioquímicas e fisiológicas (acúmulo de certos metabólitos secundários).
<b>Biocontroladora</b>	Efeitos benéficos na agregação das partículas do solo por meio da produção e liberação denominada glomalina, melhora a conservação da água e do solo; Ação de biocontrole sobre certos patógenos e pragas; Redução de danos causados por pragas e doenças; Amenização de estresses causados por fatores diversos como metais pesados e poluentes orgânicos.



**Figura 2** Etapas de desenvolvimento dos FMAs (Assimbiótico, Pré-simbiótico e Simbiótico) associados à diferenciação do apressório (Ap), desenvolvimento do arbúsculo (Arb) e formação das interfaces de troca em célula cortical vegetal radicular; O espaço entre a Membrana Peri-arbuscular e a Parede do arbúsculo é denominado de interface arbuscular. Os círculos, representam a localização das H<sup>+</sup>-ATPases da membrana Peri-arbuscular e os triângulos, as H<sup>+</sup>-ATPases dos FMAs. Modificado (Ramos *et al.* 2005).

micorrízica ativam mecanismos de defesa e pode explicar, pelo menos parcialmente, a diminuição da suscetibilidade das plantas a patógenos. Esses efeitos podem surgir por meio de mudanças na formação de lignina (Saldajeno *et al.* 2008), na produção de compostos fenólicos (Zeng 2006) e aparecimento de novas isoformas das enzimas hidrolíticas, como quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase. Proteínas relacionadas à patogênese, acúmulos de fitoalexinas e lignificação da parede celular têm sido relatadas em plantas micorrizadas em locais distantes dos sítios de infecção, indicando assim a ocorrência de resistência sistêmica (Selosse *et al.* 2004).

Os modos de ação e estratégias envolvidos na supressão de patógenos pelos FMAs podem ser resumidos em quatro grupos: (i) competição direta entre FMAs e patógenos; (ii) regulação da população microbiana no solo em torno do sistema radicular; (iii) modificações no crescimento, nutrição e morfologia vegetal; (iv) e alterações de ordens bioquímicas e moleculares nos hospedeiros vegetais (Costa e Lovato 2011).

Plantas com maior atividade de enzimas antioxidativas mostram-se mais tolerantes a diferentes estresses, e as micorrizas induzem aumento da atividade das enzimas antioxidativas, como peroxidase (PO), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (Arfaoui *et al.* 2007).

Espécies reativas de oxigênio (EROs), como radical superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila (OH), ocorrem normalmente no metabolismo celular; podendo causar sérios danos ao metabolismo normal, por meio de danos oxidativos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. A indução de enzimas antioxidantes que eliminam EROs, como SOD, PO e CAT, é um mecanismo de desintoxicação mais comum e que ocorre durante as respostas ao estresse oxidativo (Mittler 2002). Em raízes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) colonizadas por *Glomus clarum*, SOD e CAT foram induzidas em raízes na fase final de desenvolvimento da simbiose, sob baixo nível de P (Lambais *et al.* 2003).

---

## Considerações finais

Apesar dos avanços nos conhecimentos biotecnológicos de PGMs e bioquímicos da microbiota dos solos associados aos FMAs, esforços adicionais são necessários para elucidar tais mecanismos, como por exemplo, em avanços metodológicos especialmente na introdução de técnicas de biologia molecular, baseadas na análise do ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ribonucleico (RNA), além das vantagens de ser um processo rápido e de alta sensibilidade. Aliados a isso, o uso de controles apropriados nos procedimentos de avaliação de impacto e a determinação de variações que possam ocorrer naturalmente, são fatores-chave para uma boa interpretação dos resultados. As conclusões e sugestões sobre os avanços dos conhecimentos e aplicações metodológicas mencionados nesta fundamentação teórica, não devem ser visto como absoluto ou definitivo.

Trabalhos futuros, sobre os efeitos de exsudatos alterados em PGMs nos microrganismos do solo, devem envolver experimentos que utilizem ferramentas moleculares, baseadas na amplificação dos ácidos nucleicos pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR-*Polimerase Chain Reaction*), permitindo assim o avanço no conhecimento sobre: diversidade genética, caracterização, estrutura, dinâmica, variabilidade genética das populações de microrganismos e seus habitats e melhor compreensão da relação destes com as plantas.

---

## Agradecimentos

Ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LMAB), pelo apoio à pesquisa e por disponibilizar suas estruturas e equipamentos no desenvolvimento do trabalho. À Universidade Vila Velha, através do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, pela bolsa do Mestrado de Carlos Moacir Colodete. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela bolsa de (IC) de Sávio Bastos de Souza. À Coleção Internacional de Culturas de Glomeromycota – (CICG), coordenado pelo professor Dr. Sidney Luiz Stürmer, Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, por ter concedido gentilmente os artigos científicos para elaboração da (Tabela 2).

---

## Referências

- Ahmad P, Ashraf M, Younis M, Hu X, Kumar A, Akram AN (2011) Role of transgenic plants in agriculture and biopharming. **Biotechnology Advances** 234: 133-146.
- Bonfante-Fasolo P (1984) Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: Powell C. L., Bagyaraj, D. J. (ed). **Mycorrhiza** 23: 5-33.
- Borges AJS, Trindade AV, Matos AP, Peixoto MFS (2007) Redução do mal-do-panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízico arbuscular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 42: 31-41.
- Bouasria A, Mustafa T, De Bello F, Zinger L, Lemperiere G, Geremia RA, Choler P (2012) Changes in root-associated microbial communities are determined by species-specific plant growth responses to stress and disturbance. **European Journal of Soil Biology** 52: 59-66.
- Bruinsma M, Kowalchuk GA, van Veen JA (2003) Effects of genetically modified plants on microbial communities and processes in soil. **Biology Fertility of Soils** 37: 329-337.
- Ceccherini MT, Carneiro C, Junior OJ (2003) Degradation and transformability of DNA from transgenic leaves. **Microbiology** 69: 673-678.
- Costa MD, Lovato PE (2011) Micorrizas arbusculares e a supressão de patógenos. In: Klauber-Filho, O., Mafra, A.L., Gatiboni, L.C. (ed) **Tópicos em ciência do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo 6: 119-139.
- Chaparro JM, Badri DV, Bakker MG, Sugiyama A, Manter DK, Vivanco JM (2013) Root exudation of phytochemicals in *Arabidopsis* follows specific patterns that are developmentally programmed and correlate with soil microbial functions. **PLoS One** 8: 55731- 55735.
- De Souza FA, Declerck S, Smit E, Kowalchuk GA (2008) Comparison of

- parental and transgenic alfalfa rhizosphere bacterial communities using Biolog *G/N* metabolic fingerprinting and enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence. **Microbiological Ecology** 37: 129–139.
- Ferreira DA, Carneiro MAC, Junior OJS (2012) Fungos Micorrízicos Arbusculares em Latossolo Vermelho sob Manejos e usos no cerrado. **Revista Brasileira Ciência do Solo** 36: 51-61.
- Ferrol N, Pozo MJ, Antelo M, Azcón-Aguilar C (2002) Arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene expression in tomato plants. **Experimental Botany** 53: 1683–1687.
- Fließbach A, Messmer M, Nietispach B, Infante V, Mäder P (2012) Effects of conventionally bred and *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize varieties on soil microbial biomass and activity. **Biology Fertil Soils** 48: 315–324.
- Folli-Pereira MS, Meira-Haddad LS, Bazzolli DMS, Kasuya MCM (2012) Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira Ciência do Solo** 36: 1663-1679.
- Gaxiola RA, Park S, Li J, Jon K, Gerald A, Yang H, Undurraga S, Morris J, Hirschi DK (2005) Up-regulation of a H<sup>+</sup>-pyrophosphatase (H<sup>+</sup>-PPase) as a strategy to engineer drought-resistant crop plants. **PNAS** 102: 18830–18835.
- Gaxiola RA, Palmgren MG, Schumacher K (2007) Plant proton pumps. **Febs Letters** 581: 2204-2214.
- Gaxiola RA, Paez-Valencia J, Patron-Soberano A, Rodriguez-Leviz A, Sanchez-Lares J, Sanchez-Gomez C, Valencia-Mayoral P, Diaz-Rosas G (2011) Plasma membrane localization of the type I (H<sup>+</sup>-PPase) *AVP1* in sieve element–companion cell complexes from *Arabidopsis thaliana*. **Febs Letters** 181: 23-20.
- Gaxiola RA, Sanchez CA, Paez-Valencia J, Ayre BG, Elser JJ (2012) Genetic manipulation of a vacuolar H<sup>+</sup>-PPase from salt tolerance to yield enhancement under phosphorus-deficient soils. **Plant Physiology** 159: 3-11.
- Goto BT, Maia LC (2006) *Glomerospores*: a new denomination for the spores of *Glomeromycota*, a group molecularly distinct from the *Zygomycota*. **Mycotaxon** 96: 129-132.
- Hannula SE, Boer W, van Veen JA (2010) *In situ* dynamics of soil fungal communities under different genotypes of potato, including a genetically modified cultivar. **Soil Biology and Biochemistry** 42: 2211–2223.
- Kiriachek SG, Azevedo LCB, Peres LEP, Lambais MR (2009) Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 33: 1–16.
- Lambais MR, Rios-Ruiz WF, Anadrade RM (2000) Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist** 160: 421-428.
- Lambais MR, Ríos-Ruiz WF, Andrade RM (2003) Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist** 160: 421-428.
- Liu W (2010) Do genetically modified plants impact arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecotoxicology** 19: 229–238.
- Medina MJH, Gagnon H, Piche Y, Ocampo JA, Garrido JMG, Vierheilig H (2003) Root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi is affected by the salicylic acid content of the plant. **Plant Science** 164: 993–998.
- Milling A, Smalla K, Mädl FX, Schloter M, Munch JC (2004) Effects of transgenic potatoes with an altered starch composition on the diversity of soil and rhizosphere bacteria and fungi. **Plant and Soil** 266: 23-39.
- Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science** 7: 405-410.
- Moratelli EM, Andrade VC, Assis-Júnior SL (2007) Efeito da disponibilidade de água e de luz na colonização micorrízica e no crescimento de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. (*Bignoniaceae*). **Revista Árvore** 31: 555-566.
- Moreira FMS, Faria SM, Baleiro FC, Florentino LA (2010) Bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares em espécies florestais: avanços e aplicações biotecnológicas. In: **Biotecnologia Aplicada à Agricultura**. Recife, Embrapa Informação Tecnológica. Instituto agrônomo de Pernambuco (IPA) 761: 456-468.
- Moreira FMS, Siqueira JO (2006). *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2ed. Lavras. Ufla. **Revista Brasileira Ciência do Solo**.
- Morsomme, P, Boutry, M. 2000. The plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase: structure, function and regulation. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1465: 1–16.
- Neal AL, Ahmad S, Gordon-Weeks R, Ton J (2012) Benzoxazinoids in root exudates of maize attract *Pseudomonas putida* to the rhizosphere. **PLOS One** 7: 35498-35501.
- Olsson PA, Wilhelmsson P (2000) The growth of external AM fungal mycelium in sand dunes and in experimental systems. **Plant and Soil** 226: 161-169.
- Park S, Li J, Pittman JK, Berkowitz GA, Yang H, Undurraga S, Morris J, Hirschi KD, Gaxiola RA (2005) Up-regulation of H<sup>+</sup>-pyrophosphatase (H<sup>+</sup>-PPase) as a strategy to engineer drought-resistant crop plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 102: 18830-18835.
- Powell JR, Gulden RH, Hart MM, Campbell RG, Levy-Booth DJ, Dunfield KE, Pauls KP, Swanton CJ, Trevors JT, Klironomos JN (2007) Mycorrhizal and rhizobial colonization of genetically modified and conventional soybeans. **Environmental Microbiology** 73: 4365–4367.
- Pawlowska TE, Taylor JW (2004) Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. **Nature** 427: 733-737.
- Rasche D, Rinaldi PC, Young RF, Tronnier VM (2006) Deep brain stimulation for the treatment of various chronic pain syndromes. **Neurosurgical Focus** 21: 6-17.
- Ramos AC, Martins MA, Façanha RA (2005) Atividade ATPásica e pirofosfatásica em microcromossomos de raízes de milho colonizadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 29: 207-213.
- Ramos AC, Façanha AR, Palma LM, Okorokov LA, Cruz ZMA, Silva AG, Siqueira AF, Bertolazi AA, Canton GC, Melo J, Santos WO, Schimitberger VMB, Okorokova-Façanha AL (2011) An outlook on ion signaling and ionome of mycorrhizal symbiosis. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 23: 79-89.
- Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000a) Glomalean fungi from the Ordovician. **Science** 289: 1920-1921.
- Remy W, Taylor TN, Hass H, Kerp H (1994) Hundred-Million-Year-Old Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 91: 11841-11843.
- Saldajeno MG, Chandanie WA, Kubota M, Hyakumachi M (2008) Effects of interactions of arbuscular mycorrhizal fungi and beneficial saprophytic mycoflora on plant growth and disease protection. In: Siddiqui ZA, Akhtar MS, Futai K (ed) **Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry**, Springer Science, pp 211-226.
- Soares CRFS, Carneiro MAC (2010) Micorrizas arbusculares na recuperação de áreas degradadas. In: Siqueira, JO, Souza FA, Cardoso EJB, Tsai SM (ed) **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Editora Ufla 34: 441-474.
- Selosse MA, Baudoin E, Vandenkoornhuyse P (2004) Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. **Comptes Rendus Biologies** 327: 639-648.
- Senna ER, De Barros AL, Silva EO (2004) Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the copcord approach. **Rheumatology** 31: 594-603.
- Stürmer SL (2012) A history of the taxonomy and systematics of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the phylum *Glomeromycota*. **Mycorrhiza** 22: 247–258.

- Paez-Valencia J, Sanchez-Lares J, Marsh E, Dorneles LT, Santos MP, Sanchez D, Winter A, Murphy S, Cox J, Trzaska M, Metler J, Kozic A, Façanha AR, Schachtman D, Sanchez CA, Gaxiola RA (2013) Enhanced proton translocating pyrophosphatase activity improves nitrogen use efficiency in romaine lettuce. **Plant Physiology** 161: 1557-1569.
- Siqueira JO, Sylvia DM, Gibson J, Hubbell DH (2007) Micorrizas e degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. In: Cereta, CA, Silva LS, Reichert JM. **Tópicos em ciência do solo** 33: 219-306.
- Siqueira JO, Lambais MR, Stürmer SL (2002) Fungos micorrízicos Arbusculares: Características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento** 25: 12-21.
- Singh BK, Munro S, Potts JM, Millard P (2007) Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils. **Applied Soil Ecology** 36: 147-155.
- Turrini A, Sbrana C, Nuti MP (2004a) Development of a model system to assess the impact of genetically modified corn and aubergine plants on arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil** 266: 69-75.
- Verbruggen E, Rölting WFM, Gamper HA, Kowalchuk GA, Verhoeef HA (2010) Positive effects of organic farming on below-ground mutualists: large-scale comparison of mycorrhizal fungal communities in agricultural soils. **New Phytologist** 186: 968-979.
- Weinert LA, Tinsley MC, Temperley M, Jiggins FM (2009) Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. **BMC Biology** 7:6
- Zeng RS (2006) Disease resistance in plants through mycorrhizal fungi induced allelochemicals. In: Inderjit, K.M., Mukerji, K.G. (eds) **Allelochemicals: Biological control of plant pathogens and diseases**. Springer Science 34: 181-192.