

Francilina Araújo Costa

MICORRIZAS ARBUSCULARES E ENZIMAS DO ESTRESSE OXIDATIVO EM  
RAÍZES DE CENOURA TRANSFORMADA E EM MORANGUEIRO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2003

## RESUMO

**COSTA, Francilina Araújo, D.S., Universidade Federal de Viçosa, dezembro, 2003. Micorrizas arbusculares e enzimas do estresse oxidativo em raízes de cenoura transformada e em morangueiro.** Orientador: Arnaldo Chaer Borges. Conselheiros: Maria Catarina Megumi Kasuya e Wagner Campos Otoni

O objetivo deste trabalho foi estabelecer o cultivo *in vitro* de *Glomus clarum* e *Gigaspora decipiens* e estudar os efeitos da simbiose micorrízica arbuscular sobre a atividade de enzimas do estresse oxidativo em raízes de cenoura transformadas, submetidas a temperaturas de choque térmico, e em plantas de morangueiro micropropagadas, durante a fase de aclimatização em casa-de-vegetação. Para o desenvolvimento do cultivo *in vitro*, a viabilidade do micélio de fungos micorrízicos arbusculares, durante o cultivo, e os efeitos do pH do meio de cultura e da temperatura de incubação sobre a produção de esporos fúngicos foram analisados. Para *G. clarum*, a mais alta viabilidade do micélio foi de 70%, obtida aos 75-90 dias após a transferência do inóculo para

meio novo. Para *G. decipiens*, a viabilidade medida variou de 70 a 90% após 30-90 dias de cultivo. A produção de esporos não diferiu significativamente às temperaturas de 22 a 28°C. No entanto, declínio significativo na produção de esporos foi verificado à temperatura de 32°C para ambas as espécies fúngicas. O pH ótimo para a produção de esporos foi de 4,0, para *G. clarum*, e de 6,0, para *G. decipiens*. No estudo de tolerância térmica conduzido com raízes de cenoura transformadas, a colonização micorrízica e as temperaturas testadas (28, 40, 42, 44, 46°C) não induziram a expressão de novas isoenzimas do estresse oxidativo. No entanto, as atividades de catalase e superóxido dismutase apresentaram aumentos significativos às temperaturas supra-ótimas (40-46°C) ou como resultante da colonização radicular por *G. decipiens*. Estes resultados demonstram que o sistema de cultivo de raízes *in vitro* é um sistema modelo promissor para os estudos sobre as respostas de plantas a condições ambientais desfavoráveis. Nos experimento de casa-de-vegetação, a inoculação de plântulas de morangueiro micropropagadas com *G. clarum* e *Glomus etunicatum* resultou em aumentos significativos nas atividades de peroxidase, catalase e superóxido dismutase. Esses aumentos ocorreram em diferentes períodos durante a fase de aclimatização. A colonização das raízes de morangueiro micropropagadas por *G. clarum* e *G. etunicatum* foi benéfica, possivelmente por resultar em aumentos na tolerância da planta ao estresse oxidativo, durante a aclimatização.

## ABSTRACT

**COSTA, Francilina Araújo, D.S., Universidade Federal de Viçosa, December, 2003. Arbuscular mycorrhizas and oxidative stress enzymes in transformed carrot roots and in strawberry plants.** Advisor: Arnaldo Chaer Borges. Committee members: Maria Catarina Megumi Kasuya and Wagner Campos Otoni

The objective of this work was to establish the *in vitro* cultivation of *Glomus clarum* and *Gigaspora decipiens* and to study the effects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis on the activity of oxidative stress enzymes in transformed carrot roots submitted to supra-optimum temperatures and in micropropagated strawberry plants, during acclimatization in the greenhouse. For the development of the *in vitro* cultivation, the viability of the arbuscular mycorrhizal fungi, during cultivation, and the effects of pH of the culture medium and of the incubation temperature on the production of fungal spores were analyzed. For *G. clarum*, the highest viability of the mycelium corresponded to 70%, at 75 to

90 days after the transfer of the inoculum to a fresh medium. For *G. decipiens*, a viability of 70-90% was obtained at 30 to 90 days. The production of spores did not differ significantly at temperatures ranging from 22 to 28°C. However, a decline in spore production was observed at 32 °C for both fungal species. The optimum pH for the production of spores was 4.0, for *G. clarum*, and 6.0, for *G. decipiens*. In the thermal tolerance studies conducted with transformed carrot roots, the mycorrhizal colonization and the temperatures tested (28, 40, 42, 44, 46°C) did not induce the expression of new oxidative stress isozymes. However, the activities of catalase and superoxide dismutase were significantly increased only at supra-optimum temperatures (40-46°C) and by root colonization by *G. decipiens*. These results demonstrate that the *in vitro* technique for the cultivation of roots is a suitable model system for the studies of plant responses to unfavorable environmental conditions. In the greenhouse experiments, the inoculation of micropropagated strawberry plants with *G. clarum* and *Glomus etunicatum* caused significant increases in the activities of peroxidase, catalase, and superoxide dismutase. These increases occurred at different periods for each enzyme. The colonization of the roots of micropropagated strawberry plants by *G. clarum* and *G. etunicatum* was beneficial, probably as a consequence of increases in plant tolerance to oxidative stress during acclimatization.