



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS TRINDADE
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Lucas Herberts de Sousa

**Alterações anatômicas radiculares em *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae
Juss.), associadas às ectomicorrizas guapiroides**

Florianópolis
2024

Lucas Herberts de Sousa

Alterações anatômicas radiculares em *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae Juss.), associadas às ectomicorrizas guapiroides

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Maria Cordeiro de Oliveira

Coorientadora: Me. Marivane Celmer Slodkowski

Florianópolis

2024

Herberts de Sousa, Lucas

Alterações anatômicas radiculares em *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae Juss.), associadas às ectomicorrizas guapiroides / Lucas Herberts de Sousa ; orientadora, Fernanda Maria Cordeiro de Oliveira, coorientadora, Marivane Celmer Slodkowski, 2024.

46 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Estrutura radicular. 3. Ectomicorriza Guapiroide. 4. Córtex. 5. Rede de Hartig. I. Maria Cordeiro de Oliveira, Fernanda. II. Celmer Slodkowski, Marivane. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Lucas Herberts de Sousa

**Alterações anatômicas radiculares em *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae Juss.),
associadas às ectomicorrizas guapiroides**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Biólogo e
aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas.

Florianópolis, 14 de Junho de 2024.

Insira neste espaço
a assinatura

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Insira neste espaço
a assinatura

Profª. Fernanda Maria Cordeiro de Oliveira, Dr.(a)

Orientador(a)

Insira neste espaço
a assinatura

Profª. Ariadne Furtado, Dra.

Universidade Federal da Paraíba

Insira neste espaço
a assinatura

Prof. Fábio Cassola, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família por todo amor, apoio, cuidado, os quais carrego comigo desde muito antes de ingressar na universidade, pela atenção, suporte e interesse em saber o que eu estava aprontando pela UFSC. Obrigado por me aturarem nessa vida, sem vocês ao meu lado não teria como chegar até aqui. Aos meus amigos de longa data e aos que encontrei durante a graduação, pelas conversas, risadas, momentos, histórias, ajudas, perrengues, cafés e aprendizados, sem vocês muito disso não seria suportável/possível. Ao LAVeg que me acolheu de primeira, proporcionando o desenvolvimento de um conhecimento em botânica de qualidade, apesar do sucateamento das universidades, pelas “festinhas” no laminário e pela fraternidade que criou-se ao longo desses quatro anos juntos. Agradeço ao LaFisio e ao MICOLAB também pela interdisciplinaridade dos conhecimentos. As minhas amigas e orientadoras por todos os conselhos, direcionamentos, aprendizados, paciência, cafezinhos e parcerias durante meu período no departamento de botânica, vocês são incríveis. Ao projeto de pesquisa Tropico Ectomicorrizas, pelas saídas de campo, apresentações de trabalho, organização de eventos e fofocas no casarinho, sempre apreciando um bom café. A UFSC pela estrutura, pelo RU, pelas bolsas de pesquisa CNPq e CAPES, pelas oportunidades, e pela transversalidade no ensino de excelência. Aos professores da UFSC, dos quais a maioria eu tive prazer de ser aluno, parabéns pela maestria em ensinar. Por fim, agradeço a mim por não ter desistido mesmo nos momentos difíceis, por ter insistido em continuar e aprender cada vez mais sobre o interessante mundo da biologia (que é imenso) e pela dedicação nessa jornada da graduação.

“O lucro do nosso estudo é tornarmo-nos melhores e mais sábios.”

Michel de Montaigne

RESUMO

As ectomicorrizas (ECM) são uma importante relação simbiótica para o ecossistema entre plantas e fungos. Na região temperada os estudos acerca desta relação são numerosos, sendo que sua estrutura e funcionamento da associação são bem conhecidos. Nos Neotrópicos essa simbiose ainda é pouco estudada. Recentemente tal associação foi descoberta nas raízes de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, uma espécie abundante na ilha de Santa Catarina. Tal associação passou a ser chamada de Ectomicorriza Guapirióide, cuja estrutura da associação difere das encontradas nas regiões temperadas pela ausência da rede de Hartig, interface formada pelas hifas que se ramificam entre as paredes celulares das células da raiz, e por onde ocorre a troca entre os simbioses. Devido a isso, este trabalho tem o objetivo de verificar se a presença de tal associação promove diferenças anatômicas nas raízes de *G. opposita*. Para tanto, raízes com e sem ECM foram separadas em 8 morfotipos e foram fixadas e submetidas às técnicas usuais para inclusão em Histoiresina. Como principais resultados, observamos que as principais mudanças estruturais quando comparamos as raízes com ECM é a ausência de epiderme e presença de células parenquimáticas corticais de formato cônico. Em contrapartida, raízes sem ECM apresentam epiderme com pelos radiculares e células parenquimáticas corticais arredondadas. Em relação às diferenças encontradas entre as raízes com ECM guapirióide e as com ECM de ambientes temperados, está a ausência da rede de Hartig, interface formada pelas hifas fúngicas que se ramificam entre as paredes das células corticais, a qual possibilita a troca de produtos entre os organismos. O manto fúngico possui três camadas hifais envolvendo as células corticais da raiz. Os diferentes morfotipos analisados apresentaram pouca variação nas análises, destacando-se o manto com espessura variável, a presença ou ausência de hifas extra-radiculares e fíbulas. Anatomicamente, foi observado variação na presença de idioblasto contendo conteúdo granular no periciclo, além do número de camadas corticais. O trabalho traz luz para a anatomia da espécie modelo nos estudos de ECMs guapirioides, com características que não haviam sido descritas antes. Porém, fica evidente a necessidade de estudos anatômicos complementares, além da identificação dos parceiros fúngicos presentes nessa associação.

Palavras-chave: Estrutura radicular; Ectomicorriza Guapirióide; córtex; rede de Hartig.

ABSTRACT

Ectomycorrhizas (ECMs) are an important symbiotic relationship between plants and fungi in the ecosystem. In temperate regions, studies on this relationship are numerous, and the structure and functioning of the association are well known. In the Neotropics, this symbiosis is still poorly studied. Recently, such association was discovered in the roots of *Guapira opposita*, an abundant species on the island of Santa Catarina. This association has been named Guapirioid Ectomycorrhiza, whose structure differs from those found in temperate regions by the absence of the Hartig net. Therefore, this study aims to verify whether the presence of such an association promotes anatomical differences in the roots of *G. opposita*. For this purpose, roots with and without ECM were separated into 8 morphotypes, and underwent fixation, infiltration, and embedding in Historesin. Subsequently, transverse sections were made using a rotary microtome and stained with Toluidine blue for anatomical analysis. The main results observed were that the primary structural changes when comparing roots with ECM were the absence of the epidermis and the presence of conical-shaped cortical parenchyma cells. In contrast, roots without ECM have an epidermis with root hairs and rounded cortical parenchyma cells. Regarding the differences found between roots with Guapirian ECM and those with ECM from temperate environments, we highlight that the Hartig net was not observed, this structure facilitates exchange between symbionts via fungal hyphae branching within cortical cell walls. The fungal mantle has three hyphal layers surrounding the root's cortical cells. The different morphotypes analyzed showed little variation in the analyses, with the mantle's thickness, the presence or absence of extraradical hyphae, and clamp connections standing out. Anatomically, variation was observed in the presence of idioblasts containing granular content in the pericycle, as well as the number of cortical layers. This work sheds light on the anatomy of the model species in Guapirian ECM studies, with characteristics that had not been described before. However, the need for complementary anatomical studies and the identification of the fungal partners present in this association is evident.

Keywords: Root anatomy; Guapirioid ectomycorrhiza; cortical cells; Hartig net.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Principais tipos de micorrizas. **A.** Micorriza arbuscular; **B.** Micorriza ericóide; **C.** Micorriza Orquidóide; **D.** Ectomicorriza (ECM). 17
- Figura 2** – Aspectos morfológicos e anatômicos da raiz de *G. opposita* sem ECM. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. 22
- Figura 3** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 1. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. **D.** Detalhe de hifa com fibula. 24
- Figura 4** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 2. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. 26
- Figura 5** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 3. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. 28
- Figura 6** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 4. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. 30
- Figura 7** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 5. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. 32
- Figura 8** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 6. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. **D.** Detalhe de hifa com fibula. 34
- Figura 9** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 7. **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. **D.** Detalhe de hifa com fibula. 36
- Figura 10** – Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 8 (*G. opposita* + *Inocybe* sp.). **A-B.** Características morfológicas. **C.** Secção transversal. 38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ECM Ectomicorriza(s)

Fig Figura

LAS Leica Application Suite

LAVeg Laboratório de Anatomia Vegetal

PPGFAP Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

UFSC Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

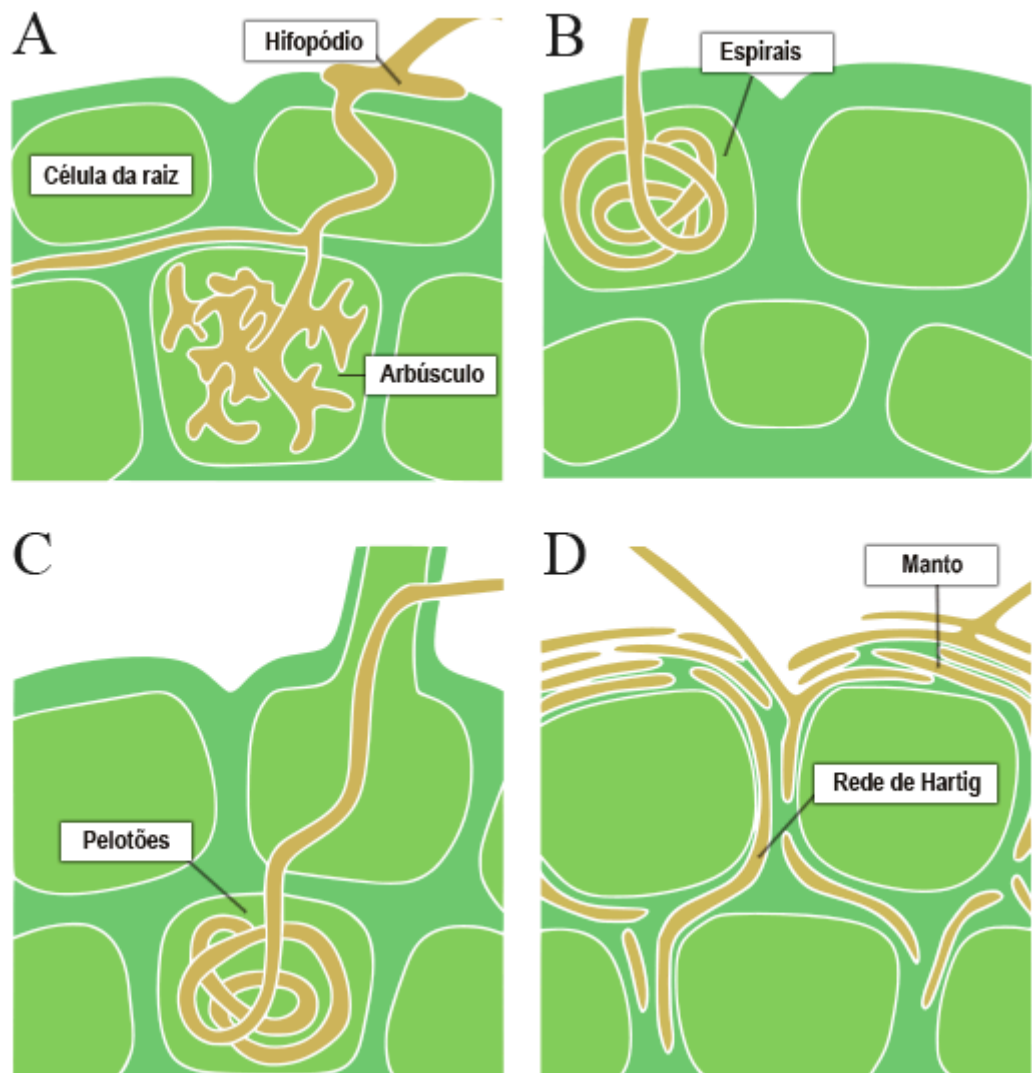
1 INTRODUÇÃO	16
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
3 RESULTADOS	20
3.1 Descrição morfológica da raiz de <i>G. opposita</i> sem ECM	21
3.2 MORFOTIPO 1	22
3.3 MORFOTIPO 2	24
3.4 MORFOTIPO 3	26
3.5 MORFOTIPO 4	28
3.6 MORFOTIPO 5	30
3.7 MORFOTIPO 6	32
3.8 MORFOTIPO 7	35
3.9 MORFOTIPO 8 (<i>G. opposita</i> + <i>Inocybe</i> sp.)	36
4 DISCUSSÃO	39
5 CONCLUSÃO	41
6 REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Micorrizas são associações entre os fungos e raízes de plantas, encontradas desde as primeiras plantas terrestres, as quais ainda não possuíam o que chamamos atualmente de raízes verdadeiras. É uma simbiose que auxilia, principalmente, na obtenção de nutrientes (Smith e Read, 2008). Essas associações podem ser observadas em quatro principais e diferentes formas: micorrizas arbusculares, micorrizas ericoides, micorrizas orquidoides e ectomicorrizas (ECM) (Fig. 1). Os três primeiros tipos de micorrizas citados envolvem penetração intracelular das hifas nas células radiculares.

Nas micorrizas arbusculares (Fig. 1A), o primeiro contato ocorre através do hifopódio, que se liga às células epidérmicas do hospedeiro e, posteriormente, desenvolve hifas que cruzam a camada externa das células radiculares e alcançam o córtex, penetrando a parede celular e dando origem aos arbúsculos. As micorrizas ericoides (Fig. 1B) ocorrem em espécies de plantas da família Ericaceae Juss., e neste caso as hifas atravessam a parede celular da epiderme, formando-se em espirais dentro das células epidérmicas. Nas micorrizas orquidoides (Fig. 1C), o fungo pode se desenvolver em plântulas de Orchidaceae A. Juss., porém, a forma mais bem conhecida são os protocormos, na germinação da semente. As hifas, nesse caso, penetram as células epidérmicas e atingem o parênquima cortical, onde formarão estruturas compostas também por grandes espirais (pelotões). Já as ECM (Fig. 1D) conferem uma relação simbiótica entre as raízes de plantas perenes e fungos pertencentes aos filos Basidiomycota e Ascomycota (Genre *et al.*, 2020). Essa associação revela extrema importância para o funcionamento, manutenção e evolução da biodiversidade, assim como mantém a estabilidade e produtividade de ecossistemas (Bonfante e Genre, 2010; Bâ *et al.*, 2014). O fungo auxilia a planta hospedeira na obtenção de água e nutrientes decorrentes de sua melhor exploração do solo, através do micélio, além de aumentar a sua tolerância ao estresse e a resistência a patógenos, enquanto recebe carboidratos provenientes da fotossíntese. (Taylor e Alexander, 2005; Smith e Read, 2008).

Figura 1. Principais tipos de micorrizas. **A.** Micorriza arbuscular; **B.** Micorriza ericoide; **C.** Micorriza orquidoide; **D.** ECM.



Fonte: Genre *et al.* (2020) (modificado pelo autor).

Nas ECM, as hifas do fungo formam uma camada de hifas aglomeradas ao redor da raiz, denominado manto. Na parte externa do manto se irradiam hifas ou rizomorfos (agregado de hifas paralelas) para o substrato, enquanto hifas internas do manto ramificam-se entre as paredes celulares da epiderme e do córtex da raiz, sem penetrar no lúmen celular. Essas hifas formam a rede de Hartig (Fig. 1D), uma interface intercelular que aumenta a eficiência na troca de metabólitos entre os organismos (Taylor e Alexander, 2005; Smith & Read, 2008; Genre *et al.*, 2020).

Estima-se que 20.000–25.000 espécies de fungos estão envolvidos na formação de ECM, enquanto que para a flora, o número de espécies relacionadas a esse tipo de simbiose é de aproximadamente 10.000, sendo que a maioria destas espécies conhecidas estão

distribuídas em florestas de clima temperado e boreal (Rinaldi *et al.*, 2008; Brundrett *et al.*, 2009). Em relação aos trópicos, apesar de ser uma zona com grande diversidade, pouco se sabe sobre essa interação (em aspectos morfológicos, anatômicos e fisiológicos) nas florestas tropicais em comparação às florestas temperadas. Estima-se que o número de morfotipos de ECM existentes em sistemas tropicais seja igual ou maior do que os conhecidos em sistemas temperados (Smith e Read, 2008).

Na região neotropical, famílias como Fagaceae Dumort., Fabaceae Lindl., Pinaceae Spreng. ex F. Rudolphi, Nyctaginaceae Juss. e Polygonaceae A. Juss. são as que apresentam maiores registros de associações ectomicorrízicas (Corrales *et al.*, 2018). No Brasil, os estudos envolvendo ECM se iniciaram próximos a década de 80 com o trabalho realizado por Singer e Araújo (1979) na região amazônica. Atualmente, 175 espécies de fungos potencialmente ectomicorrízicos em florestas nativas estão registradas no Brasil, sendo *Russula*, *Amanita*, *Coltricia*, *Phlebotus* e *Cantharellus* os gêneros mais representativos (Roy *et al.*, 2016).

Guapira opposita (Vell.) Reitz (maria-mole) é uma espécie nativa, pertencente a um dos maiores gêneros da família Nyctaginaceae e que possui ampla distribuição geográfica no Brasil, predominantemente na costa litorânea do país (Bittrich e Kühn, 1993; Flora e Funga do Brasil, 2020). Em Santa Catarina, a espécie foi descrita pela primeira vez por Reitz (1970) nos ambientes de restinga, onde é uma das espécies mais abundantes, a qual pode ser encontrada na forma de arbusto. Nessas áreas, *G. opposita* atua como facilitadora e nucleadora, permitindo o estabelecimento de outras espécies lenhosas nesse ambiente de solo arenoso, com alta salinidade, temperatura e incidência solar (Falkenberg, 1999; Dalotto *et al.*, 2018). A formação de ECM nesse tipo de solo permite uma melhor obtenção de água e nutrientes, uma vantagem na competição com plantas que não formam esse tipo de associação em ecossistemas semelhantes (Guerrero-Galán *et al.*, 2021).

Em trabalhos realizados na Ilha de Santa Catarina, situada em uma região de Mata Atlântica, esse tipo de simbiose foi descrita pela primeira vez em fungos do gênero *Trechispora* e plantas da família Nyctaginaceae por Vanegas-Léon *et al.* (2019). A autora ainda destaca que espécies de *Russula*, *Lactifluus* e *Lactarius* foram encontrados formando ECM na mesma região (Vanegas-Léon, 2017). Slodkowski (2020) observou que microrganismos presentes no solo de restinga próximo à Lagoa do Peri influenciaram no crescimento de *G. opposita*, principalmente no número de folhas e na biomassa da parte aérea da planta. A autora ainda descreve uma provável formação de ECM, que auxiliou na eficiência do sistema radicular. Em abordagem semelhante, Genebra (2021) encontrou

formação de ECM em raízes de *G. opposita* com *Lactifluus catarinensis* na região do Morro da Lagoa da Conceição, o primeiro registro dessa simbiose na Mata Atlântica. Além disso, Furtado (2022) e Furtado *et al.* (2023) analisaram ectomicorrizas de *G. opposita* associada a parceiros fúngicos dos gêneros *Amanita*, *Austroboletus*, *Inocybe*, *Thelephoraceae* em ambientes de restinga de Florianópolis. Nestes trabalhos foram encontradas diferenças marcantes em relação às ECM “comuns” como ausência de coifa, epiderme radicular e rede de Hartig visíveis. Tais ausências deram motivo para a categorização de um novo subtipo de ECM, denominado “guapirioide”, onde o hospedeiro vegetal é *G. opposita*.

É importante ressaltar que as ECM encontradas nas regiões tropicais podem divergir estruturalmente das encontradas em regiões boreais e temperadas, muitas vezes apresentam o manto pouco desenvolvido, enquanto a rede de Hartig pode estar completamente ausente ou pouco estabelecida (Alvarez-Manjarrez *et al.*, 2017; Vanegas-Léon *et al.*, 2019). Sabe-se que o potencial uso das ECM abrange diversas possibilidades, como: reflorestamento após queimadas e em sítios de mineração, produção de frutos e iguarias (trufas), arboricultura e estabelecimento de mudas (Newbery *et al.*, 2002; Genre *et al.*, 2020). Porém, a grande maioria dos trabalhos que retratam a ecologia e a biodiversidade de ECM têm seu foco nas florestas do hemisfério norte e em uma pequena variedade de plantas hospedeiras, viés que pode levar a crer que as ECM ocorram majoritariamente nesses biomas (Alexander, 2006; Dickie e Moyersoen, 2008; Smith *et al.*, 2011).

Há muitos estudos que abordam as estruturas das ECM, (Beniwal *et al.*, 2010; Rath *et al.*, 2013; Freire *et al.*, 2018; Basrudin *et al.*, 2018; Ramadhani *et al.*, 2017), evidenciando o nível de colonização das hifas e espessura do manto; a rede de Hartig; o tamanho das células epidérmicas na raiz e os morfotipos encontrados nesse tipo de simbiose. No entanto, existem poucos trabalhos que comparam a estrutura radicular de plantas com ECM e as sem ECM, evidenciando as mudanças anatômicas que o processo de micorrização acarreta. Desse modo, o objetivo deste estudo constituiu em analisar raízes de *G. opposita* com e sem ECM que ocorrem na restinga, e então apontar e discutir possíveis diferenças anatômicas causadas pela associação. Deste modo, o objetivo deste trabalho constituiu-se em analisar raízes de *G. opposita* com e sem ECM que ocorrem na restinga de Florianópolis, apontar e discutir as diferenças anatômicas causadas pela associação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O material biológico para a condução desta pesquisa foi cedido pela Msc. Marivane Celmer Slodkowski, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos,

Algas e Plantas (PPGFAP) da Universidade Federal de Santa Catarina. Foram avaliadas 20 mudas de *G. opposita* cultivadas em solo de restinga, durante o período de um ano, em casa de vegetação. As raízes foram separadas em 8 morfotipos que visivelmente apresentavam ECM através de microscópio estereomicroscópio (Olympus SZ61), a partir das raízes de 2ª ordem, observando diferenças nas características das raízes, como a mudança de cor, ramificação e espessamento, e raízes sem a presença de ECM.

Raízes de *G. opposita* com e sem ECM foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1 M, em pH 7,2 (Feder e O'Brien, 1968), em temperatura ambiente, por 24 horas. Após fixado, todo material foi lavado e estocado em álcool etílico 70%. A partir deste material estocado foi feita a separação das raízes em morfotipos. No caso das raízes com ECM, foram escolhidas as regiões com ECM para serem processadas e emblocadas em resina plástica (Leica Historesin®).

Para infiltração em resina plástica o material foi desidratado gradualmente até etanol 96%, mantido por pelo menos 12 horas em solução de pré-infiltração e 12 horas em solução de infiltração. Posteriormente o material foi emblocado em moldes de resina pura. Os blocos foram seccionados entre 3-10 µm de espessura em micrótomo rotativo a fim de produzir secções transversais das raízes. As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, e colocadas em uma placa aquecedora (40°C). Quando seco, o material foi corado com Azul de Toluidina 1% (Feder & O'Brien 1968). A análise da microscopia foi realizada no Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVeg) da UFSC. O material analisado foi descrito e capturas de imagens foram realizadas através de câmera acoplada ao microscópio Leica DM 2500 no software Leica Application Suit (LAS).

Os resultados foram descritos por morfotipo estudado seguindo um protocolo adaptado entre o proposto por Agerer (1991, 2001) para a morfologia das ECM e as técnicas de anatomia vegetal. Em relação a análise da coloração das ECM, utilizou-se como referência o aplicativo “Munsell color system”, o qual fornece códigos para respectivas cores, disponível de forma gratuita para Android e iOS. Pranchas foram desenvolvidas a fim de destacar as modificações na estrutura radicular devida à presença das ECM. A identificação do micobionte no morfotipo 8 foi feita através da comparação morfológica entre a amostra deste trabalho e a descrição de Furtado (2022) e Furtado *et al.* (2023) para o gênero *Inocybe*, o qual possui características que se conservam no manto, principalmente em relação a coloração esbranquiçada com pontas roxas.

3 RESULTADOS

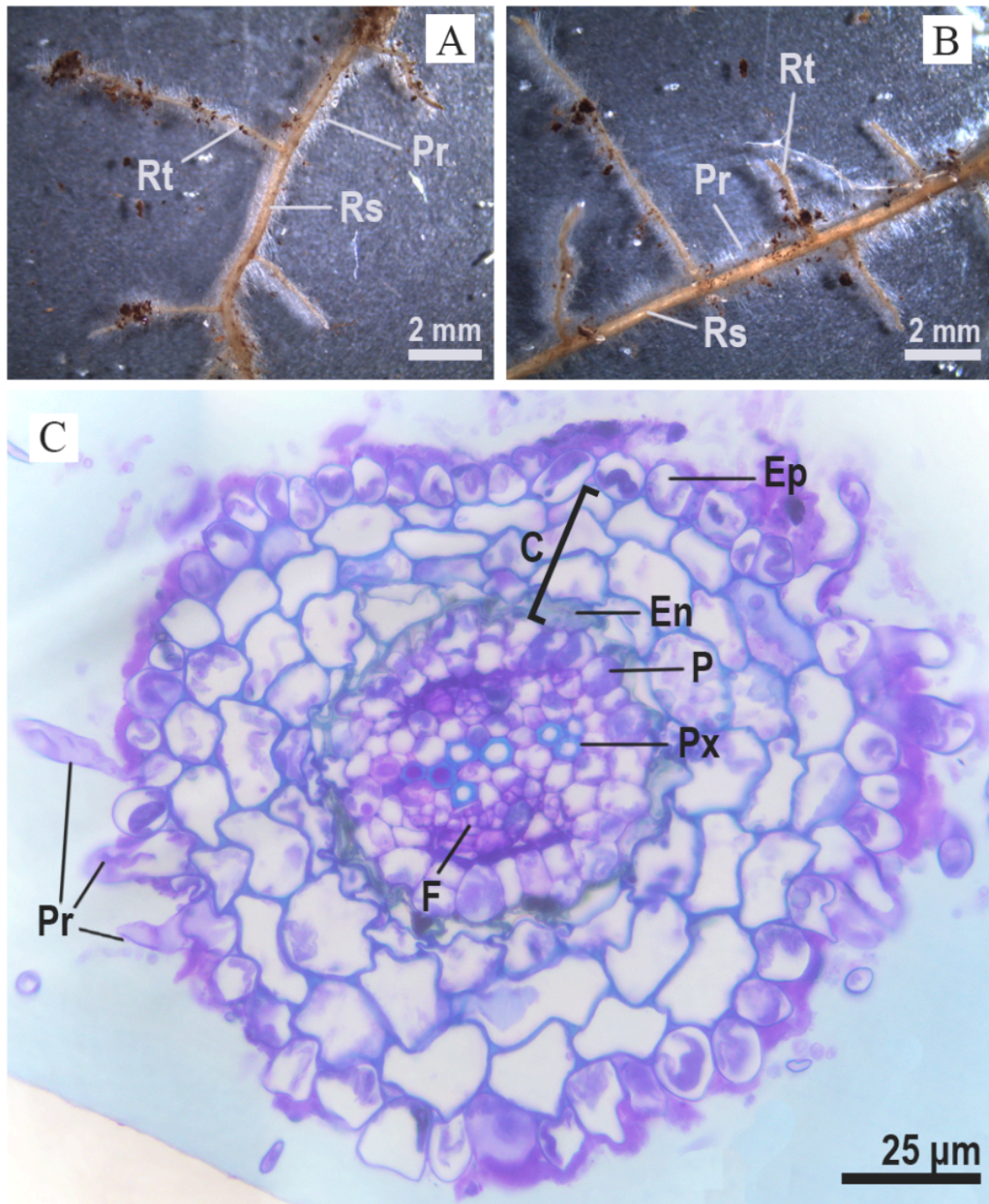
Foram identificados oito morfotipos de ectomicorrizas guapirioides. Estes foram diferenciados por meio de características anatômicas em relação a espessura e estrutura do manto e sistemas de exploração, além da presença ou ausência de hifas extra radiculares. As diferenças entre os morfotipos serão apresentadas abaixo.

3.1 Descrição morfológica e anatômica da raiz de *G. opposita* sem ECM

O sistema radicular se ramifica até terceira ordem, possui coloração bege amarelada (5Y 9/4) quando jovem e grande quantidade de pelos radiculares. Apresentou-se como um sistema monopodial pinado, em que raízes de segunda ordem tinham espessura de 0,3 mm. O espaçamento entre raízes de terceira ordem é aproximadamente 0,8–2 mm, e tais ramificações apresentaram comprimento de aproximadamente 2–6 mm e espessura de 0,1 mm (Fig. 2A-B).

Em secção transversal da porção absorptiva, a estrutura anatômica da raiz de *G. opposita* apresentou epiderme uniestratificada, com presença de pelos radiculares. O córtex possuía de três a quatro camadas de células, as quais são maiores em relação às células epidérmicas. A endoderme corou-se de verde com Azul de Toluidina, o que indica paredes lignificadas e espessadas. O periciclo possuía de uma a duas camadas quando próximo ao xilema e uma camada quando próximo ao floema. No cilindro vascular é possível identificar dois pólos de protoxilema, com os cordões de floema ocorrendo alternados entre os pólos de protoxilema. No interior de alguns elementos de vaso havia substância corada em roxo pelo Azul de Toluidina (Fig. 2C).

Figura 2. Aspectos morfológicos e anatômicos da raiz de *G. opposita* sem ECM. **A-B.** Características morfológicas observadas em estereomicroscópio. **C.** Secção transversal em microscopia ótica. **C** = CórTEX; **En** = Endoderme; **Ep** = Epiderme; **F** = Floema; **P** = Periciclo; **Pr** = Pelo radicular; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária; **Rt** = Ramificação terciária.



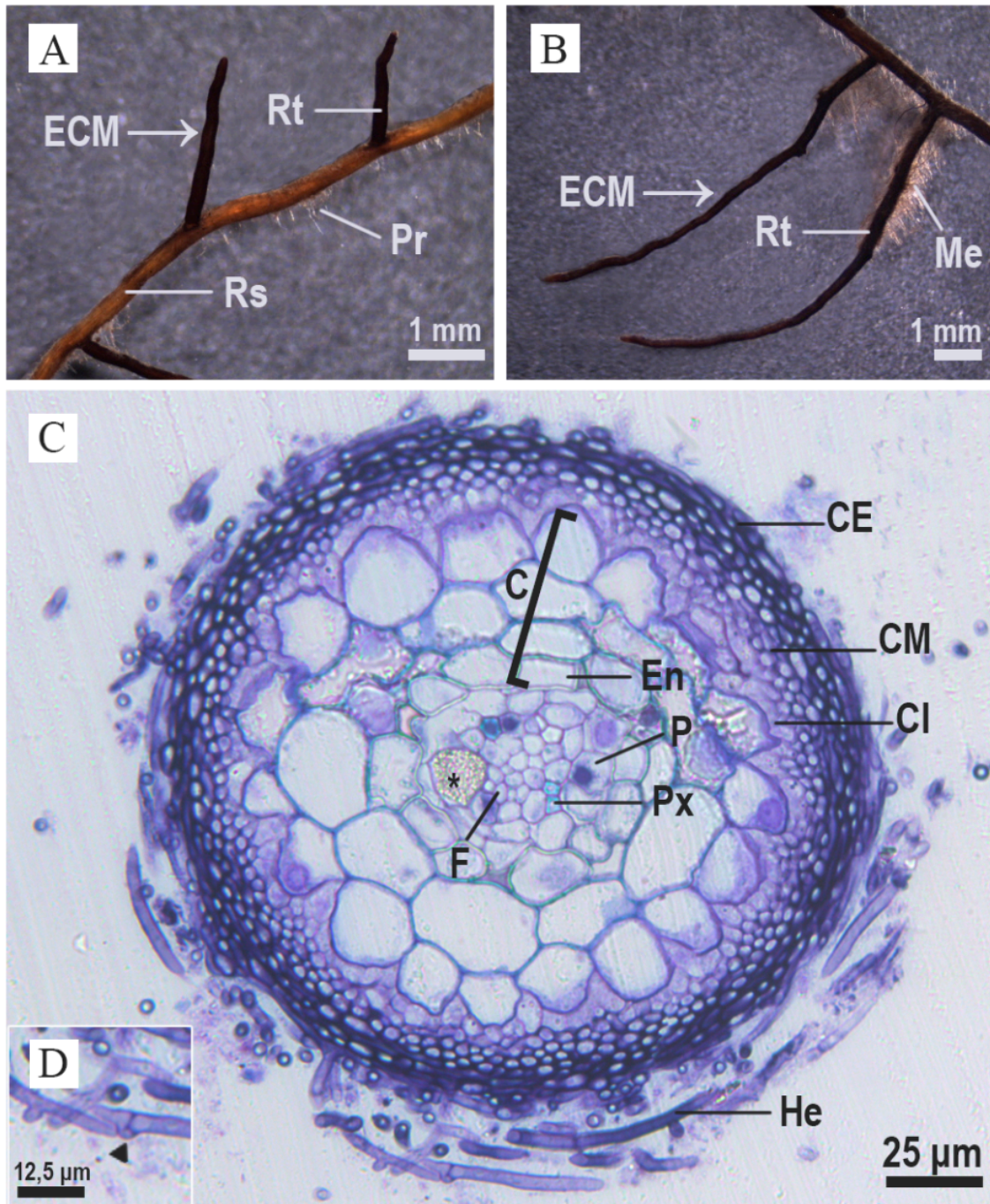
3.2 MORFOTIPO 1

Ramificação radicular secundária sem ECM, de cor marrom (2.5YR 1/2), às vezes marrom claro (2.5YR 3/4) com pelos radiculares evidentes ou ausentes. Espaçamentos entre as raízes terciárias de 1–2,5 mm e espessura de 0,1–0,4 mm. Há colonização de raízes terciárias. O sistema ectomicorrízico é simples, às vezes dicotômico, sem ramificação nas

pontas das raízes. Comprimento das raízes terciárias colonizadas de 1–7,5 mm e espessura de 0,1–0,3 mm. Colonização de raízes quaternárias com espaçamento de 1,8–2,5 mm e espessura de 0,4 mm. Manto com superfície lisa, possui coloração marrom escuro (2.5YR 1/1) na base e região medial, tornando-se marrom (2.5YR 1/2) nas pontas, as quais são levemente curvadas. Pode apresentar sistema de exploração por contato, de curta distância ou não possuir hifas extra radiculares (Fig. 3A-B).

Neste morfotipo foi observado que em secções transversais (Fig. 3C) as ECM podem apresentar ou não hifas extra radiculares com fibulas (Fig. 3D). A espessura do manto variou de 10 μm a 25 μm . O manto apresentou três camadas: a camada externa, mais espessa e desorganizada, a camada média semelhante a externa mas com hifas menos espessadas, e a camada interna interna com hifas de paredes mais finas e organizadas de forma longitudinal, em contato com o córtex. A epiderme radicular é ausente. O córtex apresentou de duas a três camadas de células, com células ovais ou cônicas em contato com o manto, e endoderme cujas células não apresentaram espessamento de parede evidente. No cilindro vascular é possível observar o periciclo uniestratificado, com presença de idioblastos com conteúdo granular. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, sendo que o metaxilema ainda se encontrava em desenvolvimento. Intercalado com os pólos de protoxilema é possível observar os cordões de floema, cujos elementos vasculares já estavam desenvolvidos.

Figura 3. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 1. **A-B.** Características morfológicas em microscópio estereoscópico. **C.** Secção transversal em microscopia de luz. **D.** Detalhe de hifa extra-radicular com fibula; **C** = Córtex; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **He** = Hifas extra-radulares; **Me** = Micélio extra-radicular; **P** = Periciclo; **Pr** = Pelo radicular; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária; **Rt** = Ramificação terciária; * = Conteúdo granular; ▲ = Fibula.



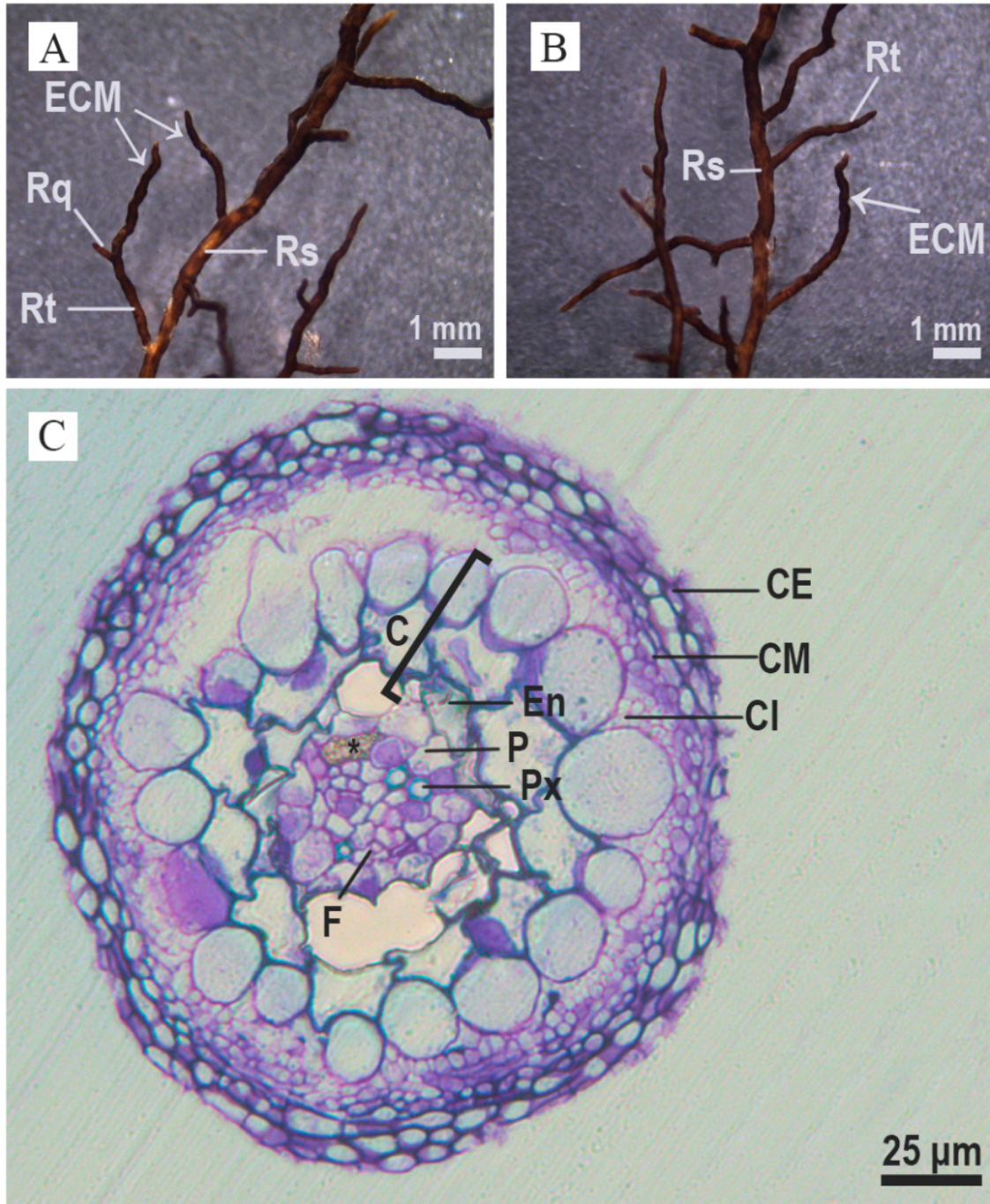
3.3 MORFOTIPO 2

Ramificação radicular secundária sem ECM, sem pelos radiculares evidentes em estereomicroscópio, de coloração castanho avermelhado (2.5YR 1/2), com espaçamento entre

1–2 mm entre as ramificações terciárias e espessura de 0,3–0,4 mm. Colonização de raízes terciárias e quaternárias, sistema ectomicorrízico pinado irregular, sem ramificação nas pontas das raízes, com comprimento de 0,7–6 mm e espessura de 0,1–0,2 mm. Manto com superfície lisa, pontas retas ou tortuosas e coloração marrom (5YR 1/1) em todas as regiões. Não há presença de hifas extra-radiculares (Fig. 4A-B).

Neste morfotipo observou-se que em secções transversais (Fig. 3C), a ECM não apresentou hifas extra-radiculares. O manto apresentou espessura de aproximadamente 25 μm . O manto possui três camadas, a camada externa, mais espessa e desorganizada, a camada média semelhante à externa mas cujas hifas são menos espessadas, e a camada interna com hifas de paredes mais finas e organizadas de forma longitudinal, em direto contato com o córtex radicular. Não foi possível observar a epiderme. O córtex era composto por duas camadas de células parenquimáticas e endoderme cujas células não apresentavam espessamento de parede aparente. No cilindro vascular, o periciclo era uniestratificado e foi possível observar idioblastos portando conteúdo granular. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, sendo que os elementos vasculares do metaxilema ainda se encontravam em desenvolvimento. Intercalado com os pólos de protoxilema foi possível observar os cordões de floema.

Figura 4. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 2. **A-B.** Características morfológicas em microscópio estereoscópico. **C.** Seção transversal em microscopia de luz; **C** = Córtex; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **ECM** = Ectomicorriza; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **P** = Periciclo; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária; **Rt** = Ramificação terciária; **Rq** = ramificação quaternária; * = Conteúdo granular.



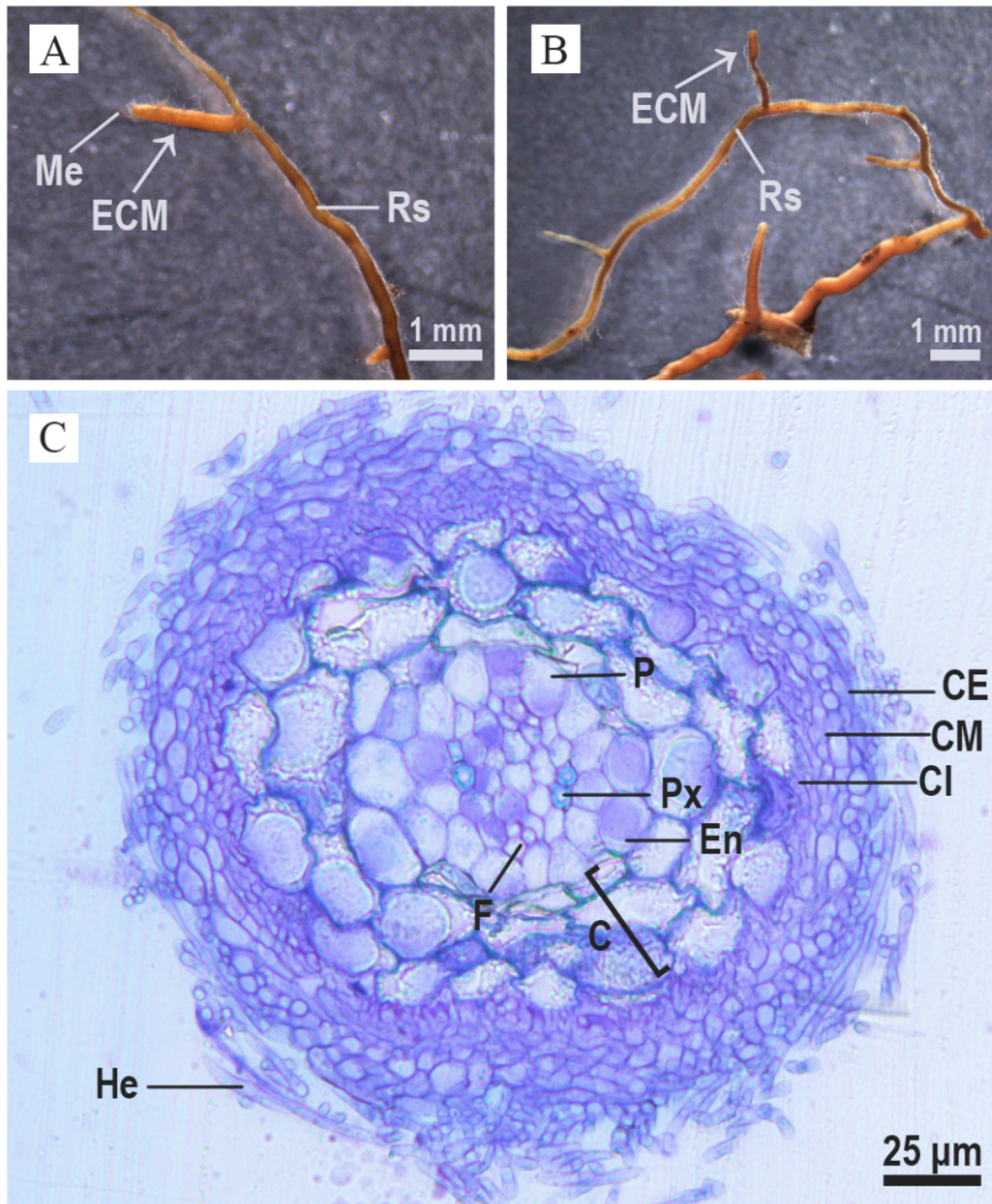
3.4 MORFOTIPO 3

Ramificação secundária sem ECM de coloração castanho ou castanho claro (2.5Y 7/4), com pelos radiculares pouco evidentes. Espaçamento das ramificações terciárias de 1–4 mm e espessura de 0,2 mm. Colonização de raízes terciárias, sistema ectomicorrízico simples,

às vezes pinado irregular, sem ramificação nas pontas. Algumas raízes não estão completamente micorrizadas. Comprimento de 1,5–5,5 mm e espessura de 0,1–0,2 mm. Manto com superfície lisa, pontas retas ou às vezes curvadas, coloração marrom claro ou marrom amarelado (2.5Y 8/10; 2.5Y 8/8), às vezes com regiões de coloração marrom (5F8). Foi possível observar a presença de hifas de exploração por contato (Fig. 5A-B).

Neste morfotipo observou-se que em secções transversais (Fig. 5C), a ECM apresentou hifas extra-radiculares. O manto tinha espessura de aproximadamente 25 μm . Pode-se observar que o manto possui três camadas, a camada externa, mais espessa e desorganizada, a camada média semelhante a externa mas com hifas menos espessadas, e a camada interna com hifas de paredes mais finas, em contato com o córtex. Não foi possível identificar a epiderme radicular. O córtex era formado por duas a três camadas de células parenquimáticas e endoderme cujas células não apresentavam espessamento de parede evidente mas que apresentavam núcleo conspícuo. No cilindro vascular, o periciclo era uniestratificado. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, sendo que o metaxilema ainda se encontrava em desenvolvimento. Intercalado com os pólos de protoxilema foi possível observar os cordões de floema, cujos elementos vasculares já estavam desenvolvidos.

Figura 5. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 3. **A-B.** Características morfológicas em microscópio estereoscópico. **C.** Seção transversal em microscopia de luz.; **C** = CórTEX; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **ECM** = Ectomicorriza; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **He** = Hifas extra-radiculares; **Me** = Micélio extra-radicular; **P** = Periciclo; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária.



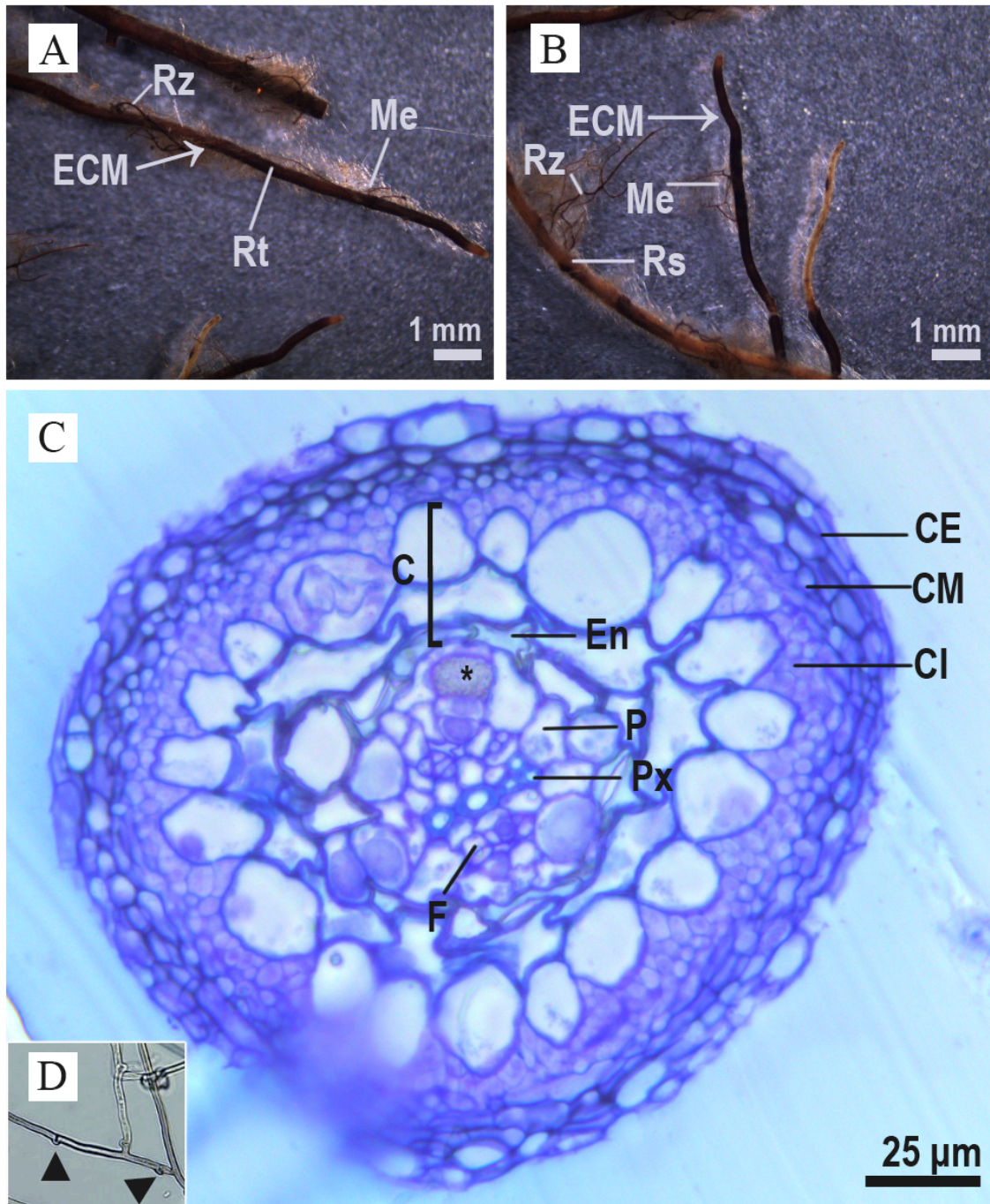
3.5 MORFOTIPO 4 (Fig. 6)

Ramificação secundária sem ECM, de coloração castanho claro (2.5Y 7/6), pêlos radiculares evidentes, espaçamento entre as ramificações terciárias de aproximadamente 1–10 mm e espessura de 0,2–0,3 mm. Colonização de raízes terciárias, algumas não completamente

micorrizadas, sistema ectomicorrízico simples, sem ramificação nas pontas, com comprimento de 6,4–11,8 mm e espessura de 0,1–0,3mm. Manto com superfície lisa, de coloração marrom claro (7.5YR 3/6) nas pontas e marrom escuro (7.5YR 1/1) no restante, pontas levemente curvadas. Foi possível observar a presença de hifas de exploração de curta distância, é possível visualizar rizomorfos (Fig. 6A-B).

Neste morfotipo observou-se que em secções transversais (Fig. 6C), a ECM não aparentava ter hifas extra-radiculares. Foram identificadas fibulas (Fig. 6D). O manto tinha espessura de aproximadamente 20 µm. O manto apresentava três camadas, a camada externa, mais espessa e desorganizada, a camada média semelhante a externa mas com hifas menos espessadas, e a camada interna com hifas de paredes finas e organizadas de forma longitudinal, em contato com o córtex. Não foi possível identificar a epiderme radicular. O córtex era formado por duas camadas de células parenquimáticas, com células ovais ou cônicas em contato com o manto, e endoderme cujas células não apresentavam espessamento de parede evidente. No cilindro vascular, o periciclo tinha de uma a duas camadas de células, e além disso apresentava idioblastos portando conteúdo granular em suas células. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, com o metaxilema bem desenvolvido. Intercalado com os pólos de protoxilema era possível observar os cordões de floema, cujos elementos vasculares já estavam desenvolvidos.

Figura 6. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 4. **A-B.** Características morfológicas em microscópio estereoscópico. **C.** Seção transversal em microscopia de luz. **D.** Detalhes das fíbula em aumento de 40x; **C** = CórTEX; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **ECM** = Ectomicorriza; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **He** = Hifas extra-radiculares; **Me** = Micélio extra-radicular; **P** = Periciclo; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária; **Rt** = Ramificação terciária; **Rz** = Rizomorfos; * = Conteúdo granular; ▲ = Fíbula.



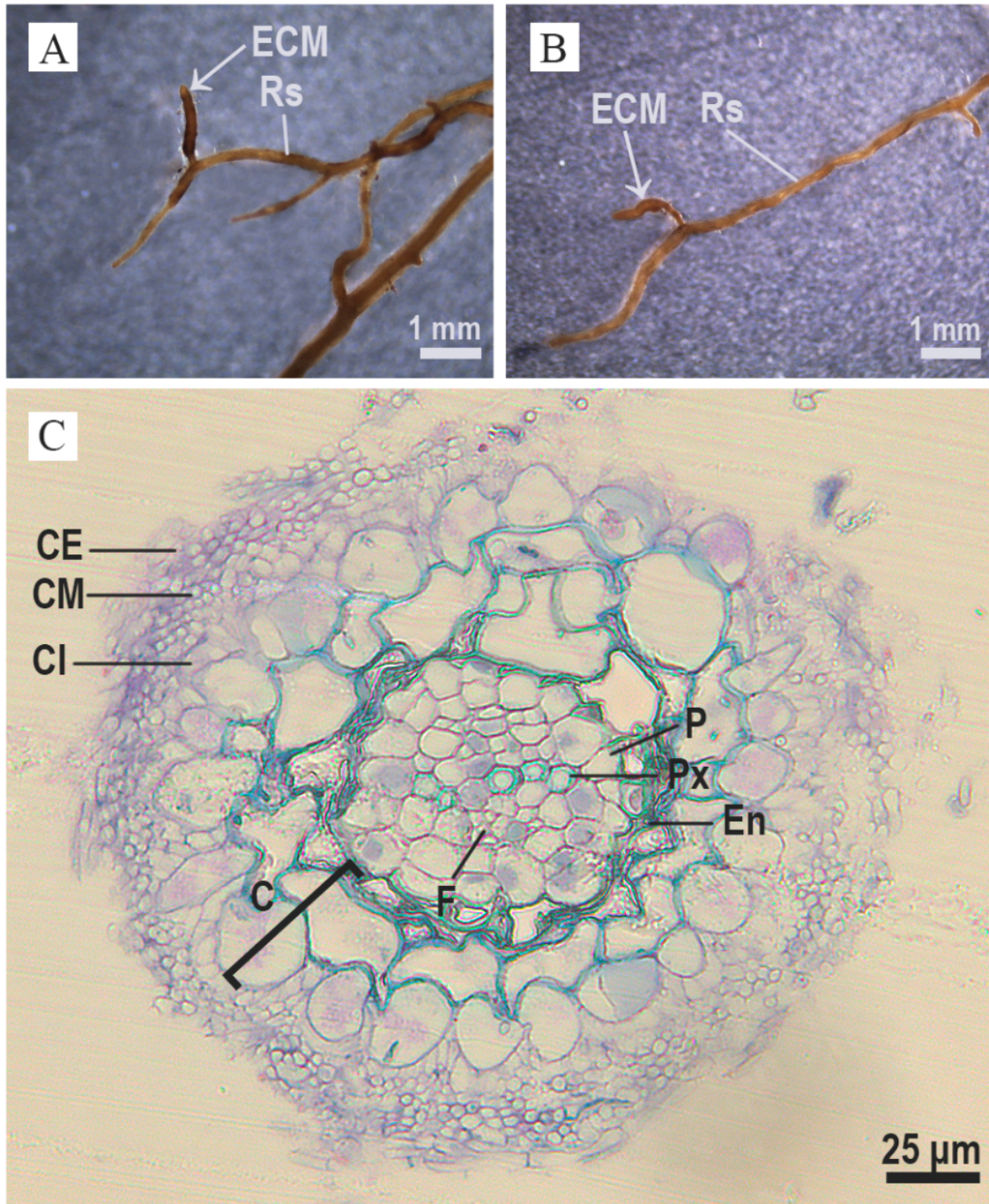
3.6 MORFOTIPO 5

Raiz principal sem ECM, de cor castanho claro (10YR 7/4) com poucos pelos radiculares, espaçamento de aproximadamente 1,4–5 mm entre as raízes secundárias e

espessura de aproximadamente 0,3 mm. Colonização de raízes terciárias, algumas não completamente colonizadas, sistema ectomicorrízico simples, às vezes dicotômico, sem ramificação nas pontas, com comprimento de 1,2–1,5 mm e espessura de 0,2 mm. Manto com superfície lisa de coloração marrom claro (10YR 1/2) na ponta e marrom médio (10YR 3/6) em outras regiões, pontas levemente curvadas. Foram observadas hifas de exploração por contato (Fig. 7A-B).

Neste morfotipo observou-se que em secções transversais (Fig. 7C), a ECM não apresentava hifas extra-radiculares. O manto tinha espessura de aproximadamente 25 μm . O manto era formado por três camadas, a camada externa, mais espessa e desorganizada, a camada média semelhante a externa mas com hifas de paredes menos espessas, e a camada interna com hifas de paredes mais finas, organizadas de forma longitudinal e em contato com o córtex. Não foi possível identificar a epiderme radicular. O córtex era formado por duas a três camadas de células parenquimáticas, com células ovais ou cônicas em contato com o manto, e endoderme cujas células não apresentavam espessamento de parede evidente. No cilindro vascular, o periciclo tinha de uma a duas camadas de células. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, sendo que o metaxilema ainda se encontrava em desenvolvimento. Intercalado com os pólos de protoxilema era possível distinguir os cordões de floema, cujos elementos vasculares também estavam em desenvolvimento.

Figura 7. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 5. **A-B.** Características morfológicas sob microscópio estereoscópico. **C.** Seção transversal em microscopia de luz; **C** = Córtex; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **ECM** = Ectomicorriza; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **P** = Periciclo; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária.



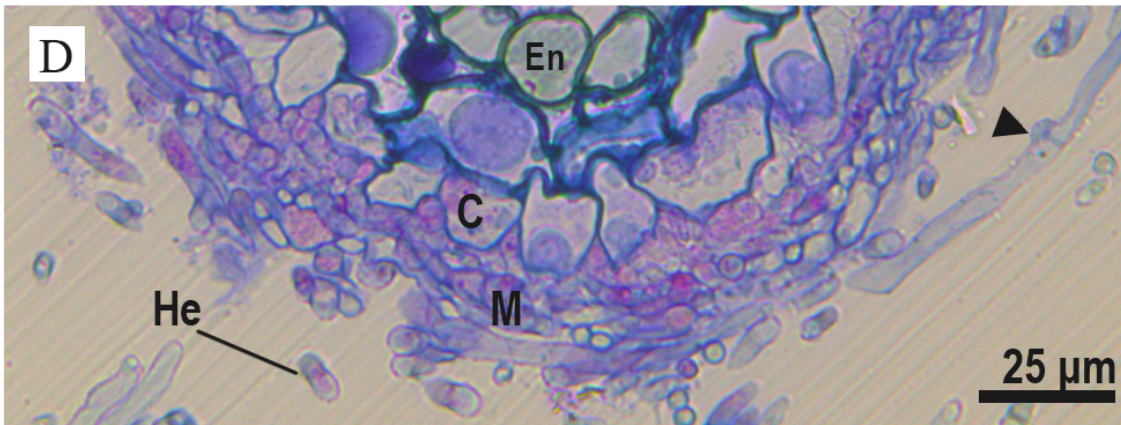
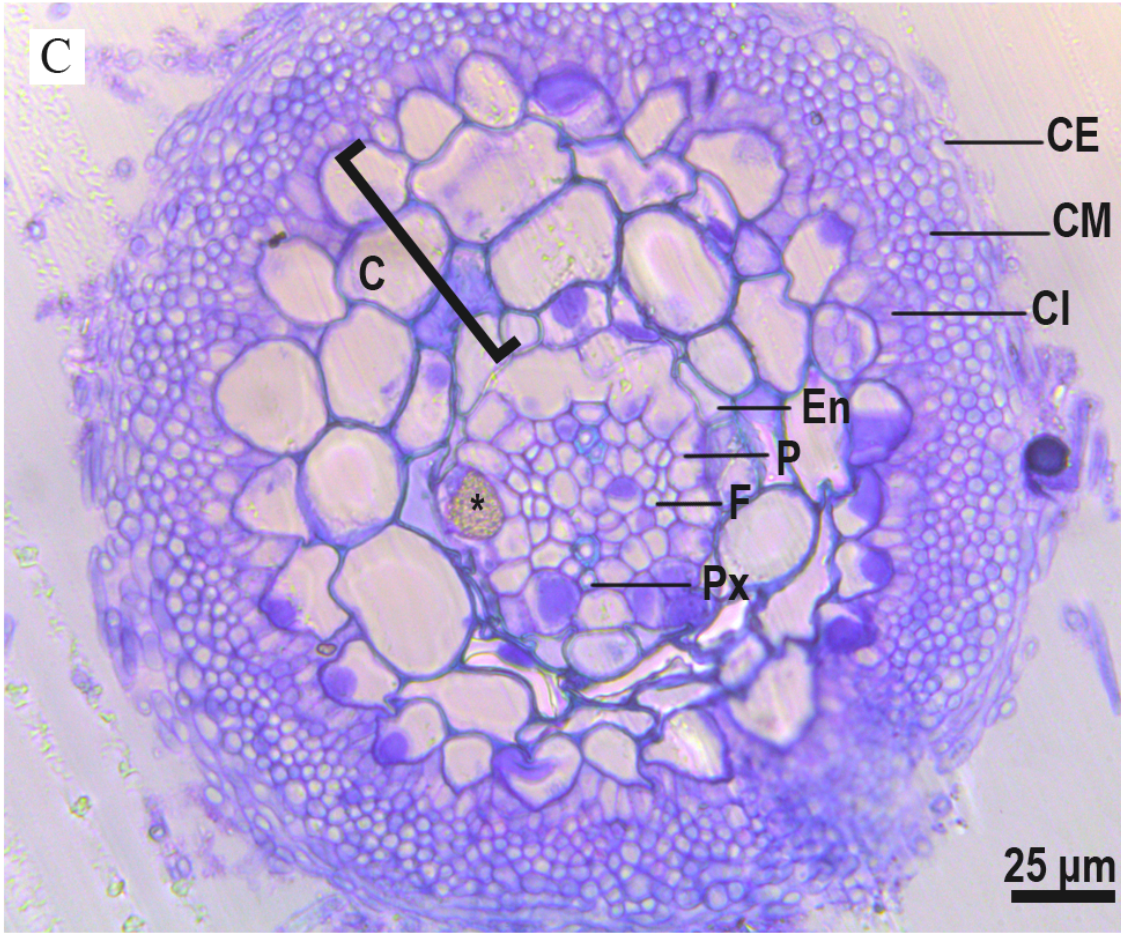
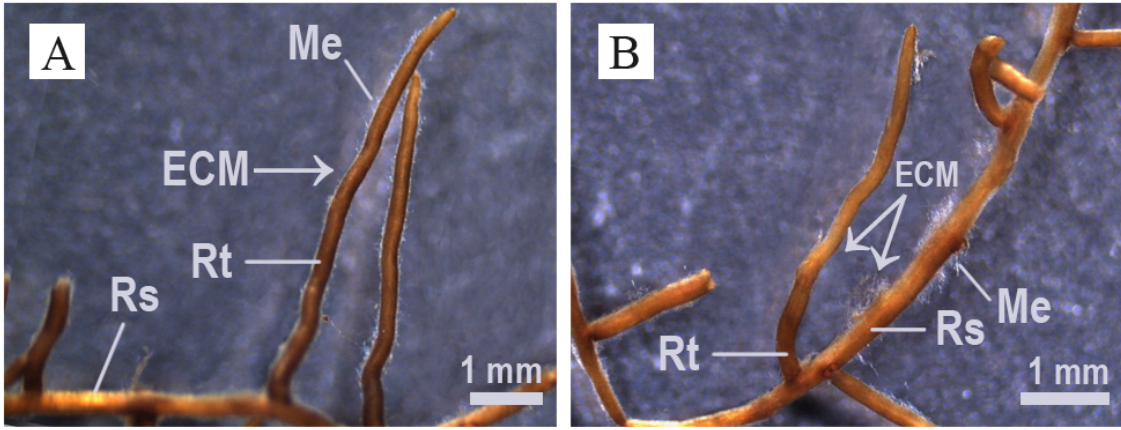
3.7 MORFOTIPO 6

Raiz principal sem ECM de coloração marrom claro com ou sem pelos radiculares evidentes. Espaçamento de 0,5–4 mm entre as ramificações secundárias e espessura de 0,1–0,2 mm. Quando não micorrizada as ramificações secundárias apresentam coloração

marrom claro ou médio. Espaçamento entre as ramificações terciárias de 0,7–2,0 mm e espessura de 0,1–0,3 mm. Sistema ectomicorrízico pinado irregular, às vezes simples, sem ramificação nas pontas. Colonização das raízes secundárias e terciárias com comprimento de 0,5–5,7 mm e espessura de 0,1–0,3 mm. Manto com superfície lisa de coloração variando entre castanho médio (2.5Y 5/8) e castanho dourado (2.5Y 8/8). Pontas retas ou levemente curvadas. Foi possível identificar hifas de exploração por contato ou de curta distância (Fig. 8A-B).

Neste morfotipo observou-se que em secções transversais (Fig. 8C), a ECM apresentava hifas extra-radiculares com fíbulas (Fig. 8D). A espessura do manto variou de 25 µm a 35 µm. O manto tinha três camadas, a camada externa, mais espessa e desorganizada, a camada média semelhante a externa mas com hifas menos espessadas, e a camada interna com hifas de paredes mais finas e organizadas de forma longitudinal, em contato com o córtex. Não foi possível identificar a epiderme. O córtex era formado por três camadas de células parenquimáticas, com células ovais ou cônicas em contato com o manto, e endoderme cujas células apresentavam espessamento de parede evidente. No cilindro vascular, o periciclo era uniestratificado e havia idioblastos portando conteúdo granular. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, sendo que o metaxilema ainda se encontrava em desenvolvimento. Intercalado com os pólos de protoxilema foi possível observar os cordões de floema, cujos elementos vasculares também estavam em desenvolvimento.

Figura 8. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 6. **A-B.** Características morfológicas em microscópio estereoscópico. **C.** Secção transversal da raiz em microscopia de luz. **D.** Detalhe de hifa extra-radicular com fibula; **C** = Córtex; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **ECM** = Ectomicorriza; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **He** = Hifas extra-radiculares; **M** = Manto; **Me** = Micélio extra-radicular; **P** = Periciclo; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária; **Rt** = Ramificação terciária; * = Conteúdo granular; ▲ = Fibula.

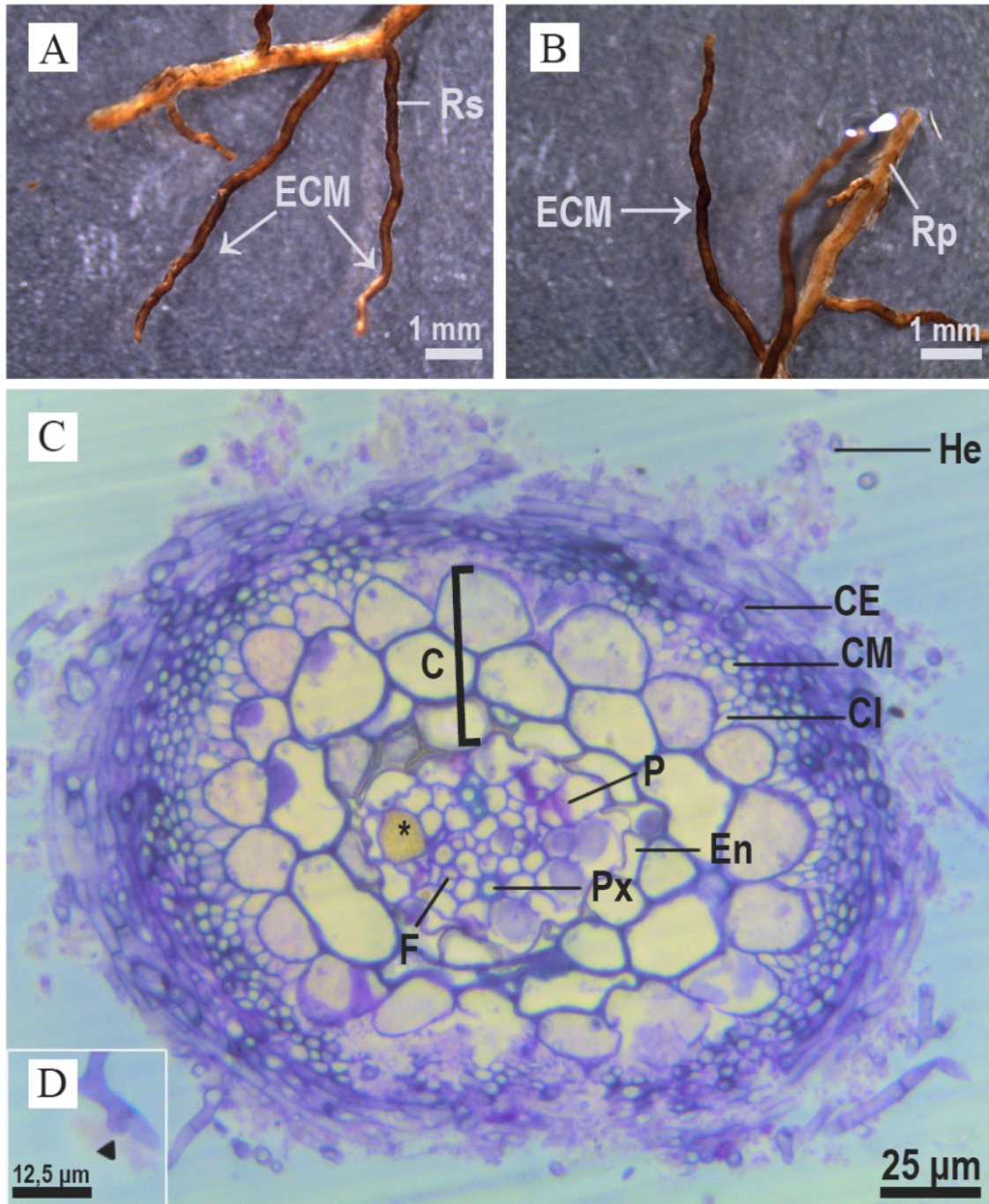


3.8 MORFOTIPO 7

Raiz principal sem ECM, coloração bege alaranjado (10YR 9/4), sem pêlos radiculares evidentes, com espaçamento de aproximadamente 1–3 mm entre as ramificações secundárias e espessura de 0,3 mm. Colonização de raízes secundárias e terciárias, sistema ectomicorrízico simples, sem ramificação das pontas, com comprimento de aproximadamente 2,5–5,8 mm e espessura de 0,2 mm. Manto com superfície lisa de coloração marrom escuro (10YR 1/2) apresentando regiões mais claras (10R 5/4), com pontas tortuosas. Foi possível identificar hifas de exploração por contato (Fig. 9A-B).

Neste morfotipo observou-se que em secções transversais (Fig. 9C), a ECM apresentava hifas extra-radiculares com fíbulas. O manto apresentava espessura de aproximadamente 30 μ m. O manto era formado por três camadas, a camada externa, mais espessa e desorganizada, a camada média semelhante a externa mas com hifas menos espessadas, e a camada interna com hifas de paredes mais finas, organizadas de forma longitudinal e em contato com o córtex. Não foi possível reconhecer a epiderme radicular. O córtex era formado por duas a três camadas de células parenquimáticas, com células ovais ou cônicas em contato com o manto, e endoderme cujas células não apresentavam espessamento de parede evidente. No cilindro vascular, o periciclo tinha de uma a duas camadas de células, e além disso havia idioblastos portando conteúdo granular. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, sendo que o metaxilema ainda se encontrava em desenvolvimento. Intercalado com os pólos de protoxilema foi possível observar os cordões de floema, cujos elementos vasculares também estavam em desenvolvimento.

Figura 9. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 7. **A-B.** Características morfológicas em microscópio estereoscópico. **C.** Secção transversal em microscopia de luz. **D.** Detalhe de hifa com fíbula; **C** = CórTEX; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **ECM** = Ectomicorriza; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **He** = Hifas extra-radiculares; **P** = Periciclo; **Px** = Protoxilema; **Rp** = Raiz principal; **Rs** = Ramificação secundária; * = Conteúdo granular; ▲ = Fíbula.



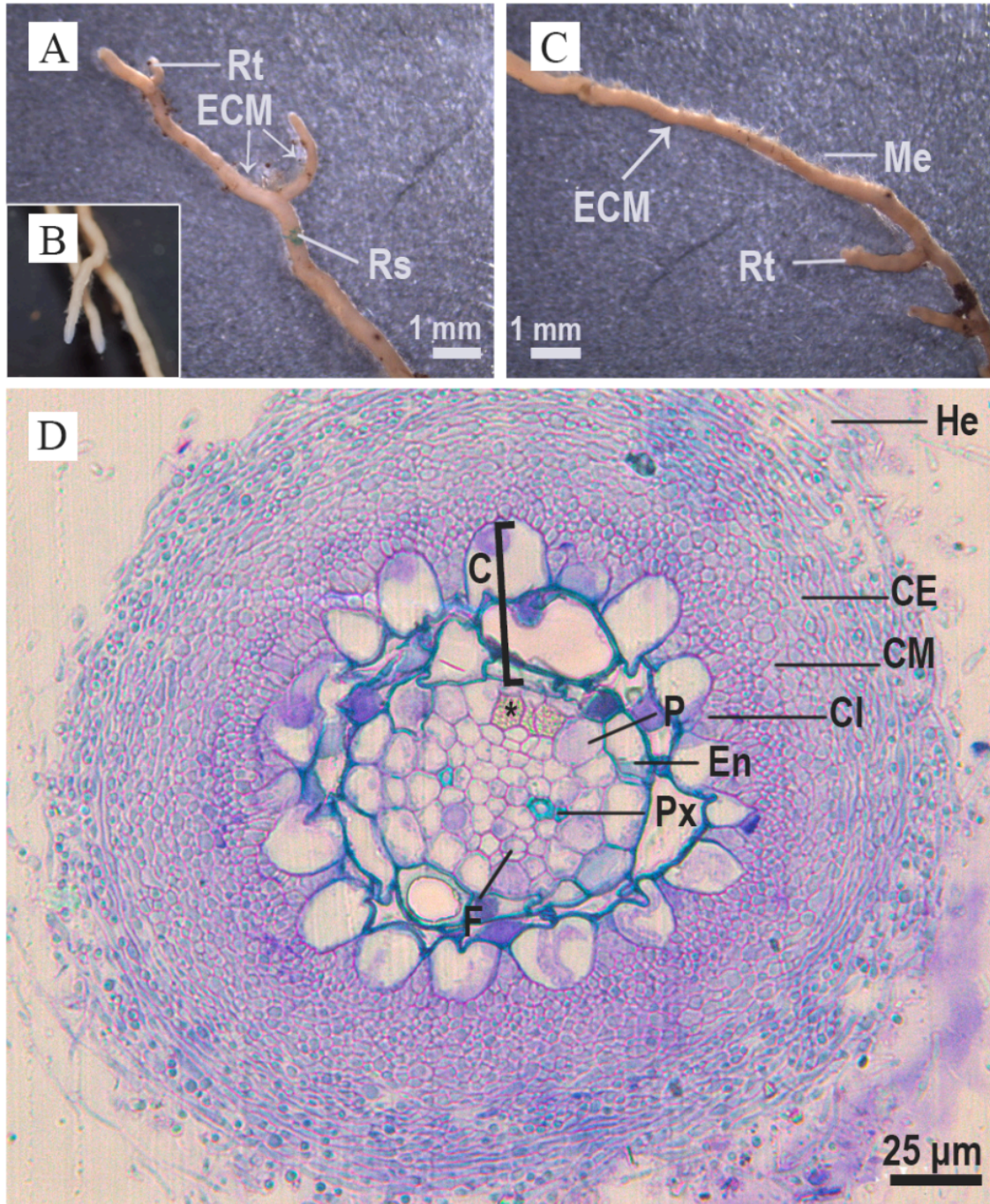
3.9 MORFOTIPO 8 (*G. opposita* + *Inocybe* sp.)

Raiz principal sem ECM de coloração marrom (5Y 3/4) ou marrom escuro (5Y 1/2), sem pelos radiculares evidentes ou pouco evidentes. Colonização de ramificações secundárias e terciárias. Espaçamento entre as ramificações terciárias de aproximadamente 0,5–2 mm e

espessura de 0,1–0,3 mm. Sistema ectomicorrízico pinado irregular, às vezes dicotômico, com comprimento de aproximadamente 15 mm e espessura de 0,1–0,3 mm. Manto de superfície lisa de coloração branco amarelado (10YR 9/2) com roxo acinzentado nas pontas (2.5P 9/4), as quais podem ser retas, curvas e às vezes tortuosas. Foi possível observar a presença de hifas de exploração por contato (Fig. 10A-C).

Neste morfotipo observou-se que em secções transversais (Fig. 10D), a ECM apresentava hifas extra-radiculares. A espessura do manto variou de 25 μm a 50 μm e o mesmo era formado por três camadas, a camada externa, com hifas de paredes mais espessas e desorganizadas, a camada média semelhante a externa mas com hifas menos espessadas, e a camada interna com hifas de paredes mais finas e organizadas de forma longitudinal, em contato com o córtex. A epiderme radicular não era distinta. As células parenquimáticas do córtex apresentavam de duas a três camadas, com células ovais ou cônicas em contato com o manto, e endoderme cujas células não apresentavam espessamento de parede evidente. No cilindro vascular, o periciclo era uniestratificado próximo ao polo de protoxilema e estratificado próximo ao floema. Também no periciclo foi possível observar o idioblastos portando conteúdo granular. O xilema estava organizado em dois pólos de protoxilema, com os elementos vasculares do metaxilema ainda em desenvolvimento. Intercalado com os pólos de protoxilema foi possível observar os cordões de floema, cujos elementos vasculares também estavam em desenvolvimento.

Figura 10. Aspectos morfológicos e anatômicos da ECM morfotipo 8 (*G. opposita* + *Inocybe* sp.). **A-C.** Características morfológicas em microscópio estereoscópico. **D.** Secção transversal em microscopia de luz; **C** = CórTEX; **CE** = Camada externa; **CI** = Camada interna; **CM** = Camada média; **ECM** = Ectomicorriza; **En** = Endoderme; **F** = Floema; **He** = Hifas extra-radiculares; **Me** = Micélio extra-radicular; **P** = Periciclo; **Px** = Protoxilema; **Rs** = Ramificação secundária; **Rt** = Ramificação terciária; * = Conteúdo granular.



4 DISCUSSÃO

Em geral, o manto nas ECM estudadas tinham superfície lisa, sendo que alguns morfotipos tinham sistema ectomicorrízico simples, às vezes pinado irregular, dicotômico ou monopodial pinado, de exploração por contato ou sistema de exploração de curta distância. Tais características estão de acordo ao descrito nos trabalhos de Furtado (2022) e Furtado *et al.* (2023), que também destacam a presença de rizomorfos (cordão micelial), representados no morfotipo 4 deste trabalho. Em relação ao comprimento das ECM, os morfotipos 1 e 5 apresentaram raízes micorrizadas menores em comprimento quando comparadas à raízes sem ECM na mesma planta, isso pode estar relacionado com o que foi descrito por Balestrini & Kottke (2016), onde os autores salientam que uma característica de plantas que formam ECM é o crescimento limitado das raízes de primeira ordem ou de ordens maiores, aspecto ainda não descrito para espécies que formam ECM guapirioides.

Apesar da baixa divergência entre as características anatômicas das ECMs analisadas, identificamos neste trabalho que o fungo associado ao morfotipo 8 (Fig. 10) se trata do gênero *Inocybe*. O diagnóstico foi feito através de análises das características do manto desenvolvido, que correspondem ao descrito para o gênero na literatura de ECM guapirioides (Furtado, 2022; Furtado *et al.*, 2023), onde os autores enfatizam a conservação das características em relação a coloração do manto para o gênero, além da evidente ponta roxa e o sistema de exploração por contato. Entretanto, nas amostras estudadas neste trabalho, o morfotipo tinha um sistema ectomicorrízico diferente (pinado irregular; dicotômico) do relatado pelos autores. Está prevista ainda a identificação dos sete morfotipos restantes, através da análise molecular das amostras.

Atualmente não existem dados na literatura acerca da anatomia radicular de *G. opposita*. Neste estudo, foi observado que nas raízes não micorrizadas a epiderme é uniestratificada, não cutinizada e com pelos radiculares. Outro gênero de Nyctaginaceae, *Bougainvillea*, apresentou hipoderme bem distinta e uma grande quantidade de pelos radiculares (Chew, 2010). No entanto, a hipoderme não foi identificada nas raízes de *G. opposita*. O córtex parenquimático era composto por 3-4 camadas e endoderme uniestratificada. O periciclo era biestratificado próximo aos pólos de protoxilema e uniestratificado em frente aos cordões floemáticos se assemelha ao encontrado por Sun (1955) e Rost *et al.* (1988) em raízes de soja e ervilha, onde descrevem de uma a quatro camadas adjacentes ao xilema e uma a duas adjacentes ao floema. Phillips (1976) também descreve para *Allionia* L. (Nyctaginaceae) raiz com três camadas corticais e periciclo bi ou triestratificado contendo ráfides. O cilindro vascular da raiz de *G. opposita* é diarco e não

possui medula. Raízes diarcas também foram descritas para os gêneros *Allionia* e *Bougainvillea* Comm. ex Juss. (Phillips, 1976; Chew, 2010; Cunha Neto *et al.* 2020). As características descritas acima para *G. opposita* estão de acordo com o descrito por Fahn (1982) para eudicotiledôneas.

Em relação à anatomia dos sistemas micorrízicos, é reconhecida a predileção das secções longitudinais em relação às secções transversais no estudo de ECM (Agerer, 1991). Isto porque é possível descrever mais características do micélio nestas secções. No entanto, para avaliação de modificações estruturais das raízes o plano de corte preferível é o transversal. Ainda assim, os dados levantados neste trabalho mostram que secções transversais são informativas para as ECM guapirioides, a exemplo da espessura do manto, estrutura das camadas do manto e presença de hifas extra-radiculares. Além disso, tais secções permitiram a visualização de fíbulas encontradas nas hifas dos morfotipos 1, 6, e 7, o que as classifica como pertencentes ao filo Basidiomycota (Furtado, 1966). Ainda, é importante salientar que as amostras de ECMs estudadas apresentam características que concordam o descrito por Furtado *et al.* (2023) em relação ao subtipo guapirioide, ou seja, não apresentam epiderme radicular e rede de Hartig evidentes. Há apenas conexão próxima entre as hifas do manto e as células corticais, sem penetração intra e intercelular no córtex. A rede de Hartig é dita como uma estrutura facilitadora para a transferência de solutos (Balestrini & Kottke, 2016) e sua ausência precisa ser melhor estudada para entender como ocorre a troca de produtos entre planta e fungo na ECM guapirioide. Além disso, em seu estudo com espécies de Nyctaginaceae dos gêneros *Neea* Ruiz & Pav. e *Guapira*, associadas à ECM, Haug *et al.* (2005) descreve a presença de pelos radiculares na raiz colonizada, e não completamente envolta pelo manto, semelhante ao que foi encontrado neste trabalho para os morfotipos 3, 4 e 5 que possuíam raízes que não estavam completamente micorrizadas.

Sobre as características observáveis do manto, alguns autores (Ashford & Allaway, 1982; Águeda *et al.* 2006; Montecchio *et al.* 2006; Becerra *et al.* 2009) analisaram secções transversais em ECM e encontraram de duas a três camadas distintas: externa, média e interna. Neste trabalho, os morfotipos também apresentaram três camadas distinguíveis, a mais externa com hifas desorganizadas de forma mais frouxa, com paredes espessas (CE); a média com hifas notadamente de paredes espessas (CM) e a camada interna mais compacta, de paredes finas e organizadas de forma longitudinal (CI). Esse tipo de disposição do manto também foi encontrado em *Pisonia grandis* R. Br. (Nyctaginaceae) associadas a ECM (Ashford & Allaway, 1985). Ainda em relação ao manto, foi observado que este encobre células meristemáticas da raiz envoltas por hifas nos morfotipos 1, 3, 4, 5, 6, 7 e 8.

O córtex apresentou variação no número de camadas, com a raiz sem ECM possuindo de 3-4 estratos e nos morfotipos estudados variando entre 1-3 estratos, com o morfotipo 8 apresentando menor número de camadas (1-2 camadas) e o morfotipo 6 apresentando o maior número de camadas (3 camadas), semelhante à raiz sem ECM. Aliado a estas observações, destacamos que em alguns morfotipos seccionados foram observadas células ainda se desenvolvendo no córtex, com característico citoplasma denso e núcleo evidente. Isso pode indicar que as raízes estavam em diferentes estágios de desenvolvimento, visto que a padronização de secções transversais em raízes é bastante difícil. Em relação à endoderme, somente o morfotipo 6 apresentou amostras com endoderme cujas paredes se encontram espessas, semelhante ao observado na raiz sem ECM. É nítido que as raízes sem ECM não apresentam epiderme, e que as células do córtex em contato com o micélio da ECM pode ter aparência mais ovalada em sua parede periclinal externa, quase que cônica em alguns morfotipos (1, 4, 5, 6, 7 e 8).

No cilindro vascular, o número de camadas do periciclo variou, com os morfotipos 4, 5 e 7 apresentando 1-2 camadas, similar ao encontrado na raiz sem ECM, e o restante com apenas uma camada. Uma característica que chama atenção no periciclo dos morfotipos 1, 2, 4, 6, 7 e 8 é a presença de idioblastos portando conteúdo granular, que não foi encontrado na raiz de *G. opposita* sem ECM. Metcalf & Chalk (1965) relatam a presença de grânulos cristalinos nas células epidérmicas das folhas de Nyctaginaceae, semelhantes ao conteúdo granular que encontramos nas raízes, porém sua composição e função é desconhecida. Isto é correlativo ao descrito para *Allionia* e *Pisonia grandis* associada à ECM, que apresentaram cristais em forma de ráfides no periciclo (Phillips, 1976; Ashford & Allaway, 1985). Na disposição dos elementos traqueais e elementos crivados, não foram observadas mudanças significativas entre a raiz sem ECM e os morfotipos estudados. Porém, devido algumas raízes ainda estarem em desenvolvimento, foi possível observar que os elementos do metaxilema e do floema não estavam totalmente diferenciados em alguns casos.

5 CONCLUSÃO

As ECM observadas neste trabalho possuem características estruturais para serem classificadas como do subtipo guapirioide, tais como ausência da rede de Hartig, no que se refere ao fungo e ausência de epiderme em relação à planta. O trabalho também demonstrou a utilidade das secções transversais no estudo das ECM guapirioides. Em aspectos gerais, a anatomia dos morfotipos não varia entre si, todos possuem manto com três camadas distintas em organização, independente da espessura, mas que também se distinguem na espessura da

parede celular das hifas. Entretanto, algumas características como hifas extra-radiculares e fíbulas podem estar presentes ou ausentes nos morfotipos. A alteração significativa notada no córtex quando comparada a raiz sem ECM com a raiz com ECM foi o número de camadas e o formato cônico/oval das células em contato com o manto, o que aumenta a superfície de contato entre os organismos. Além disso, foi encontrado conteúdo granular nas células do periciclo de raízes de *G. opposita* com ECM, característica ainda não relatada para a espécie e de composição e função desconhecida.

REFERÊNCIAS

- AGERER, R. Characterization of Ectomycorrhiza. In: NORRIS, J. R. *et al.* **Methods in Microbiology**. 23. ed. Academic Press, 1991. Cap. 2. p. 25-73.
- AGERER, R. Exploration types of ectomycorrhizae. **Mycorrhiza**, v. 11, n. 2, p. 107-114, jun. 2001.
- ÁGUEDA, B. *et al.* Characterization and identification of field ectomycorrhizae of *Boletus edulis* and *Cistus ladanifer*. **Mycologia**, v. 98, n. 1, p. 23-30, jan. 2006.
- ALEXANDER, I. J. Ectomycorrhizas – out of Africa? **New Phytologist**, v. 172, n. 4, p. 589-591, 8 nov. 2006
- ALVAREZ-MANJARREZ, J. *et al.* Caryophyllales are the main hosts of a unique set of ectomycorrhizal fungi in a Neotropical dry forest. **Mycorrhiza**, v. 28, n. 2, p. 103-115, 27 nov. 2017
- ASHFORD, A. E.; ALLAWAY, W. G. A sheathing mycorrhiza on *Pisonia grandis* R. BR. (Nyctaginaceae) with development of transfer cells rather than a hartig net. **New Phytologist**, v. 90, n. 3, p. 511-519, mar. 1982.
- ASHFORD, A. E.; ALLAWAY, W. G. Transfer cells and hartig net in the root epidermis of the sheathing mycorrhiza of *Pisonia grandis* R. BR. from Seychelles. **New Phytologist**, v. 100, n. 4, p. 595-612, ago. 1985.
- BÂ, A. M. *et al.* **Ectomycorrhizal Symbioses in Tropical and Neotropical Forests**. Boca Raton: Crc Press, 2014. 298 p.
- BALESTRINI, R.; KOTTKE, I. Structure and development of ectomycorrhizal roots. **Molecular Mycorrhizal Symbiosis**, p. 47-61, 28 out. 2016.
- BASRUDIN *et al.* Ectomycorrhiza Status of *Castanopsis buruana* Miq. in The Field. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 197, p. 1-9, 2 nov. 2018.
- BECERRA, A. G. *et al.* *Alnus acuminata* in dual symbiosis with *Frankia* and two different ectomycorrhizal fungi (*Alpova austroalnicola* and *Alpova diplophloeus*) growing in soilless growth medium. **Symbiosis**, v. 47, n. 2, p. 85-92, jan. 2009.
- BENIWAL, R. S. *et al.* Ectomycorrhiza and hydrogel protect hybrid poplar from water deficit and unravel plastic responses of xylem anatomy. **Environmental And Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 189-197, nov. 2010.
- BITTRICH, V.; KÜHN, U. Nyctaginaceae. **Flowering Plants · Dicotyledons: The Families and Genera of Vascular Plants**, v. 2, p. 473-486, 1993.
- BONFANTE, P.; GENRE, A.. Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. **Nature Communications**, v. 1, n. 48, p. 1-11, 27 jul. 2010

BRUNDRETT, M. C. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. **Plant And Soil**, v. 320, n. 1-2, p. 37-77, 7 fev. 2009.

CHEW, S. Anatomical features of *Bougainvillea* (Nyctaginaceae). **Surg Journal**, v. 4, n. 1, p. 72-78, 22 set. 2010.

CORRALES, A. *et al.* Ectomycorrhizal associations in the tropics – biogeography, diversity patterns and ecosystem roles. **New Phytologist**, v. 220, n. 4, p. 1076-1091, 24 abr. 2018.

CUNHA NETO, I. L. *et al.* Anatomy of vegetative organs in *Allionia* L. (Nyctaginaceae), with emphasis on the vascular system. **Journal of The Botanical Research Institute of Texas**, v. 14, n. 2, p. 373-394, 7 dez. 2020.

DALOTTO, C. E. S. *et al.* Facilitation influences patterns of perennial species abundance and richness in a subtropical dune system. **Aob Plants**, v. 10, n. 2, p. 1-8, 1 mar. 2018.

DICKIE, I. A.; MOYERSOEN, B. Towards a global view of ectomycorrhizal ecology. **New Phytologist**, v. 180, n. 2, p. 263-265, 25 set. 2008.

FAHN, A. **PLANT ANATOMY**. 3. ed. Oxford: Pergamon Press, 1982. 534 p.

FALKENBERG, D. B. Aspectos da flora e da vegetação secundária da restinga de Santa Catarina, sul do Brasil. **Insula**, v. 28, p. 1-30, jan. 1999.

FLORA E FUNGA DO BRASIL 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 08 fev. 2022.

FREIRE, C. G. *et al.* First record of in vitro formation of ectomycorrhizae in *Psidium cattleianum* Sabine, a native Myrtaceae of the Brazilian Atlantic Forest. **Plos One**, v. 13, n. 5, p. 1-15, 8 maio 2018

FURTADO, Ariadne N. M. **Interação e diversidade de ectomicorrizas em áreas de restinga da Ilha de Santa Catarina**. 2022. 97 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.

FURTADO, A. N. M. *et al.* Guapirioid ectomycorrhiza: a novel fungus-plant subtype is described associated to *Guapira opposita* (Nyctaginaceae) in the brazilian restinga. **Forest Systems**, v. 32, n. 2, p. 1-15, 12 jun. 2023.

FURTADO, João S. Significance of the clamp-connection in the Basidiomycetes. **Persoonia**, v. 4, n. 2, p. 125-144, 1966.

GENEBRA, Carina Czerencha. **Relações ectomicorrízicas em Russulaceae Lotsy: estudo de caso em áreas de Mata Atlântica da Ilha de Santa Catarina**. 2021. 41 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.

GENRE, A. *et al.* Unique and common traits in mycorrhizal symbioses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 11, p. 649-660, 21 jul. 2020

GUERRERO-GALÁN, C. *et al.* Ectomycorrhizal symbiosis helps plants to challenge salt stress conditions. **Mycorrhiza**, v. 29, n. 4, p. 291-301, 22 abr. 2019

HAUG, I. *et al.* Russulaceae and Thelephoraceae form ectomycorrhizas with members of the Nyctaginaceae (Caryophyllales) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. **New Phytologist**, v. 165, n. 3, p. 923-936, 15 dez. 2004.

KORNERUP, A.; WANSCHER, J. H. **Methuen Handbook of Colour**. 3. ed. Londres: Eyre Methuen, 1978.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Londres: Oxford Clarendon Press, 1965.

MONTECCHIO, L. *et al.* *Entoloma nitidum* Quél. plus *Carpinus betulus* L. **Descriptions of Ectomycorrhizae**. p. 31-36, 2006.

NEWBERY, D. M. *et al.* Does low phosphorus supply limit seedling establishment and tree growth in groves of ectomycorrhizal trees in a central African rainforest? **New Phytologist**, v. 156, n. 2, p. 297-311, 21 out. 2002.

PHILLIPS, Barbara Goodrich. **Anatomy and developmental morphology of *Allionia* L. (Nyctaginaceae)**. 174 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia, Universidade do Arizona, Tucson, 1976.

RATH, M. *et al.* Combining microtomy and confocal laser scanning microscopy for structural analyses of plant–fungus associations. **Mycorrhiza**, v. 24, n. 4, p. 293-300, 19 nov. 2013.

RAMADHANI, I. *et al.* Basidiospores attach to the seed of *Shorea leprosula* in lowland tropical dipterocarp forest and form functional ectomycorrhiza on seed germination. **Mycorrhiza**, v. 28, n. 1, p. 85-92, 2 set. 2017.

REITZ, P. R. **Flora ilustrada catarinense - Nyctaginaceas**. Itajaí. 1970.

ROST, T. L. *et al.* Distribution and relationship of cell division and maturation events in *Pisum Sativum* (Fabaceae) seedling roots. **American Journal Of Botany**, v. 75, n. 10, p. 1571-1583, out. 1988.

RINALDI, A. C. *et al.* Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. **Fungal Diversity**, v. 33, p. 1-45, nov. 2008.

ROY, M. *et al.* Diversity and Distribution of Ectomycorrhizal Fungi from Amazonian Lowland White-sand Forests in Brazil and French Guiana. **Biotropica**, v. 48, n. 1, p. 90-100, jan. 2016.

SINGER, R.; ARAUJO, I. J. S. Litter decomposition and Ectomycorrhiza in Amazonian forests. 1. A comparison of litter decomposing and ectomycorrhizal Basidiomycetes in

latosol-terra-firme rain forest and white podzol campinarana. **Acta Amazonica**, v. 9, n. 1, p. 25-42, mar. 1979.

SLODKOWSKI, Marivane Celmer. **Contribuições das ectomicorrizas sobre o metabolismo da *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae Juss.), uma espécie-chave na sucessão da restinga**. 2020. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

SMITH, M. E. *et al.* Ectomycorrhizal fungal diversity and community structure on three co-occurring leguminous canopy tree species in a Neotropical rainforest. **New Phytologist**, v. 192, n. 3, p. 699-712, 24 ago. 2011.

SMITH, S. E.; READ, D. **Mycorrhizal Symbiosis**. 3. ed. Nova Iorque: Academic Press, 2008. 815 p.

SUN, C. N. Growth and Development of Primary Tissues in Aerated and Non-Aerated Roots of Soybean. **Bulletin Of The Torrey Botanical Club**, v. 82, n. 6, p. 491, nov. 1955.

TAYLOR, A. F. S.; ALEXANDER, I. The ectomycorrhizal symbiosis: life in the real world. **Mycologist**, v. 19, n. 03, p. 102-112, 25 out. 2005.

VANEGAS-LEÓN, Mary Luz. **Ectomicorrizas Tropicais: Estudos de caso na Mata Atlântica**. 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

VANEGAS-LEÓN, M. L. *et al.* Are Trechisporales ectomycorrhizal or non-mycorrhizal root endophytes? **Mycological Progress**, v. 18, n. 9, p. 1231-1240, set. 2019.