

Solubilização de micronutrientes como característica de microrganismos benéficos, capazes de aumentar a resistência das plantas e diminuir a atividade de fungos fitopatogênicos.



Rosemeri Inês Conte; Márcia Pansera; Rute T. S. Ribeiro
 Universidade de Caxias do Sul, Centro de Ciências Agrárias e Biológicas - Instituto de Biotecnologia
 Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas



INTRODUÇÃO

Microrganismos rizosféricos podem diminuir a atividade de fungos fitopatogênicos por competição e outras ações antagonistas. Muitos deles, além disso podem solubilizar e disponibilizar minerais a partir do solo, atuando como promotores de resistência ao estresse e do crescimento das plantas. Nutrientes como Ferro e Manganês são de grande importância para a saúde das plantas. A deficiência de Zinco pode comprometer importantes eventos fisiológicos vegetais, que podem apresentar teores reduzidos de Clorofila e aumento da permeabilidade de membrana. O Cobre atua na Fotossíntese e respiração das plantas. Devido a falta de Cálcio nas plantas o sistema radicular é prejudicado, o crescimento é paralisado e ocorre murchamento e queda das folhas. Plantas desnutridas ou submetidas a algum estresse são mais suscetíveis às doenças. Neste trabalho, serão avaliados microrganismos isolados da rizosfera de plantas saudáveis de *Vitis* spp., quanto a capacidade de solubilização de minerais e formação de compostos quelantes.

OBJETIVO

Avaliar a capacidade de solubilização do Ca, Fe, Mn, Cu e Zn e a formação de compostos quelantes em cultura líquida pelos fungos: *Penicillium* sp., *Verticillium* sp., *Fusarium dimerum* e *Fusarium* sp.

MATERIAIS E MÉTODOS

A) Micro-organismos: isolado 826 de *Verticillium* sp.; isolado 824 de *Penicillium* sp.; isolado 827 de *Fusarium* sp.; isolado 823 de *F. dimerum*. Todos os microrganismos foram isolados a partir da rizosfera de *Vitis* sp, saudável.

B) Caldo YS com minerais (Altomare, 1999).

Os seguintes minerais foram dissolvidos em 100 mL de caldo YS (levedura + sacarose) autoclavado: 0,001g de MnO_2 , CuO , $FeCO_3$, zinco metálico granular e fosfato de rocha (contendo aproximadamente 32% de P, como $Ca_3(PO_4)_2$, constituindo o caldo YSM.

C) Preparação das culturas fúngicas:

Para cada um dos isolados fúngicos, foram preparados 3 frascos Erlenmeyer de 250 mL de volume com 100 mL de caldo YSM, para cada dia de coleta, totalizando 15 frascos por isolado. Cada frasco representou uma repetição. Em cada frasco foi inoculado, no primeiro dia, 1 mL de uma suspensão aquosa com conídios na concentração $1.10^6.mL^{-1}$. para cada um dos dias de coleta. Frascos não inoculados serviram como testemunha. As culturas foram incubadas por 5 dias numa temperatura de 25°C a 160 rpm. As amostras foram coletadas e filtradas em papel de filtro Whatman n.1 e com membrana de celulose de 0,45 e 0,22 μm . O pH foi medido e as amostras foram acidificadas com HCl. Após, foram analisadas quanto a concentração de Ca, Cu, Fe, Mn, Zn, em espectrofotômetro de Absorção Atômica VARIAN 250 Plus.

C) Detecção de compostos quelantes (Shenker et al. 1995).

Cada um dos isolados fúngicos, foi crescido na solução modificada de Richard's, que contém em gramas/L, KNO_3 10; KH_2PO_4 , 5; $MgSO_4$, 1.3; $FeCl_3$, 0.02; sacarose, 20; $ZnSO_4 - 7H_2O$, 0.0035; $CuSO_4 - 5H_2O$, 0.0004; $MnSO_4 - H_2O$, 0.00031; e $(NH_4)_6MO_7O_{24} - 4H_2O$, 0.00013; pH 7.0. Para cada dia de coleta, foram preparados três frascos Erlenmeyer, por isolado fúngico, totalizando 21 frascos e mais os controles, não inoculados. O conteúdo de cada conjunto de três frascos foi filtrado e, uma amostra de 3 mL de cada um foi misturada com 3 mL de uma solução estoque do reagente Cu-CAS [200mM $CuCl_2$, 210 mM CAS (Sigma) e 40 mM do ácido (N-morpholinoethanesulfônico (MES) (Sigma)]. A solução reagente e o filtrado de cultura foram misturados e a absorbância medida a 540 nm. Caldo de cultura não inoculado serviu como testemunha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os cinco dias de crescimento em caldo YSM, o micélio dos fungos desenvolveu-se normalmente, sendo verificado apenas em algumas culturas a formação de pellets. Conforme a Figura 1, a partir do primeiro dia, houve rápida solubilização dos minerais Ca, Cu e Zn e Mn ao contrário do Fe, em todas as culturas.

A atividade quelante foi detectada no terceiro e quarto dias para os fungos *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. segundo a Figura 2. O pH ficou entre 6,5 e 7,5 nestes dias, ocorrendo um aumento que ficou entre 8,0 e 9,0 nos dias seguintes.

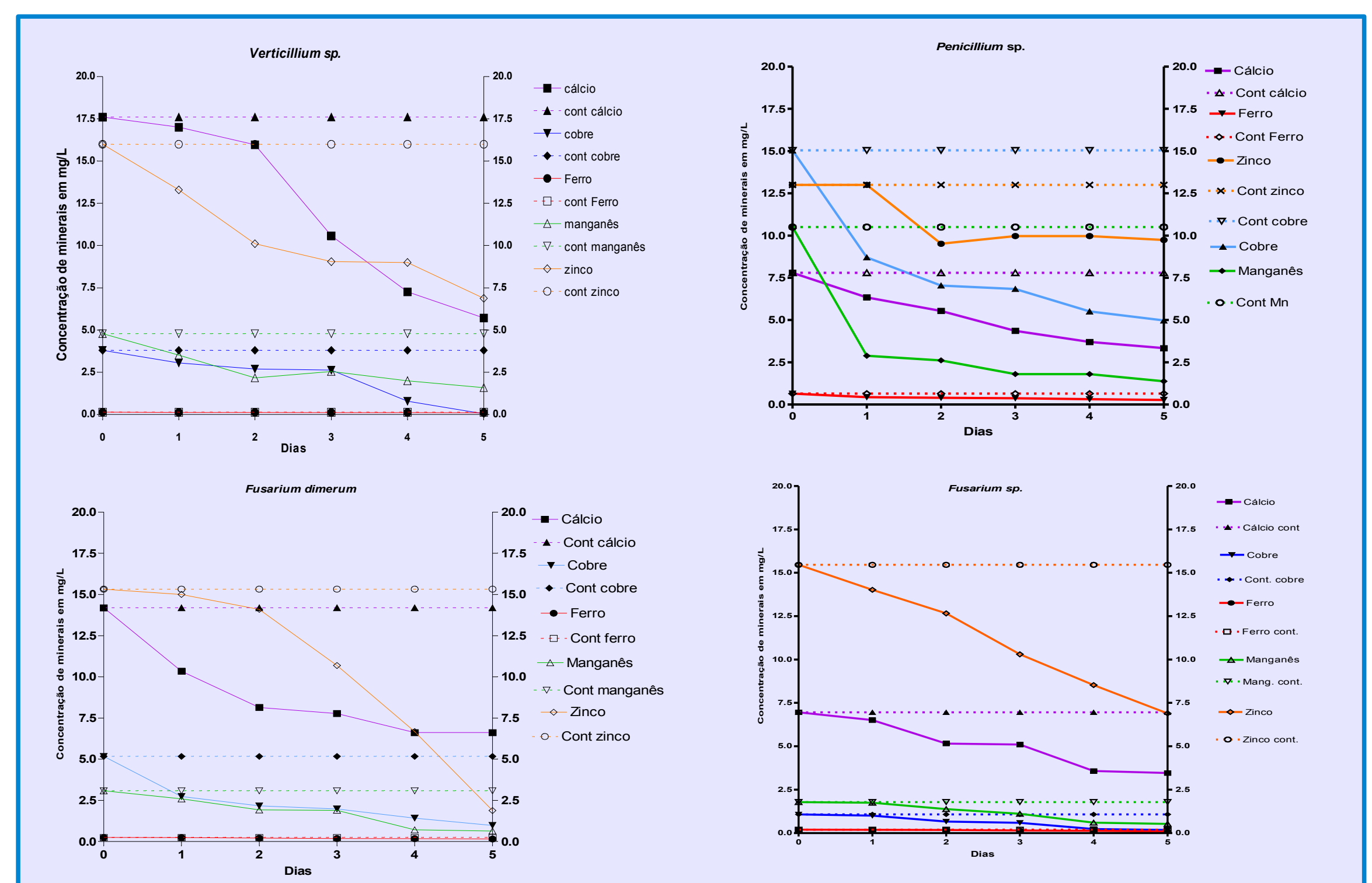


Figura 1: Solubilização dos minerais Ca^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Cu^{3+} e Zn^{2+} em cultura líquida.

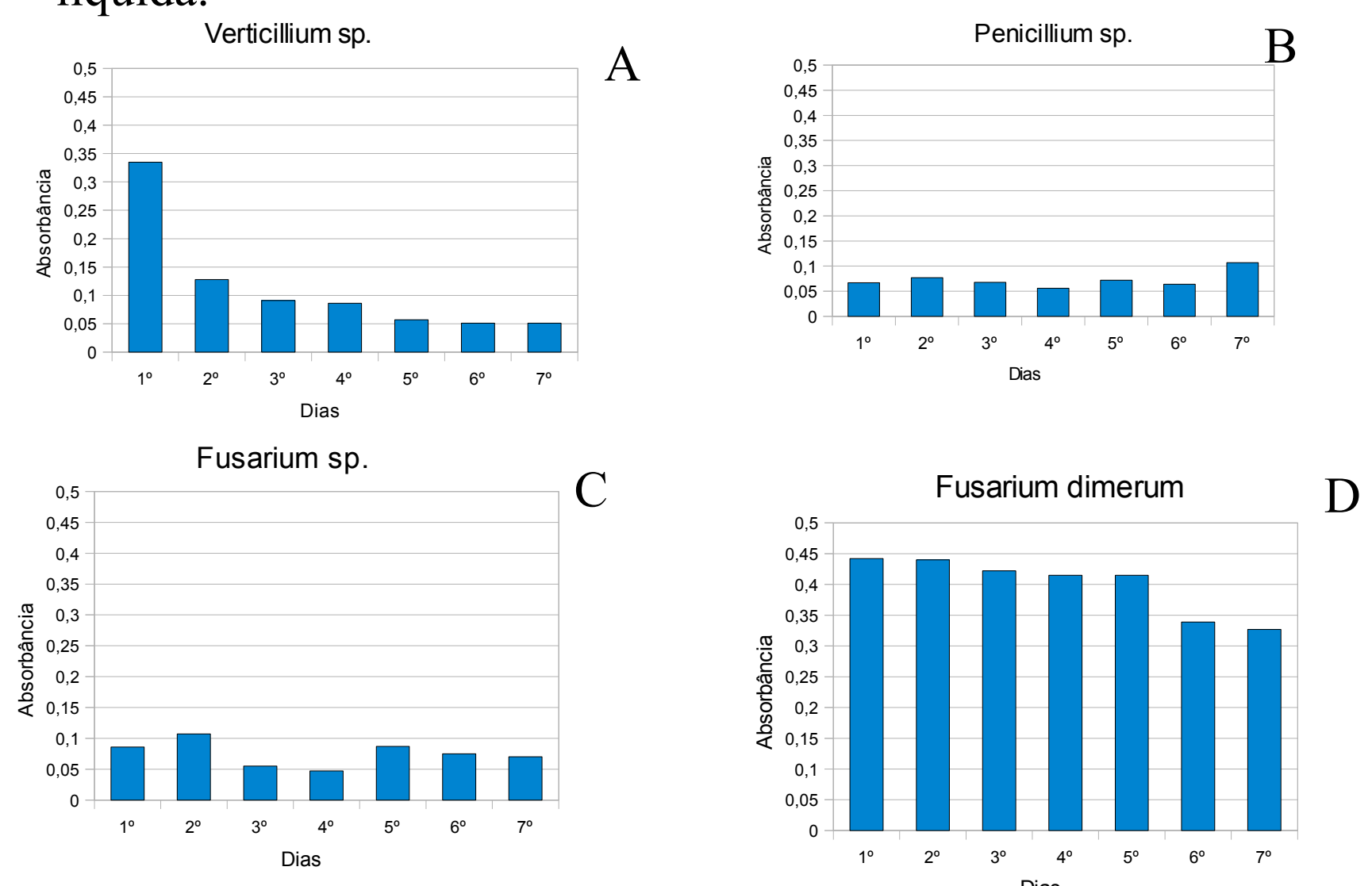


Figura 2: Detecção de compostos quelantes nos filtrados de cultura.

Embora, os dados apresentados na Fig. 1, mostrem que não houve diferenças entre os isolados, no que se refere a solubilização de minerais, em relação a formação de compostos quelantes, os dados apresentados na Fig. 2, mostram que o isolado 823 de *F. dimerum*, merece destaque. No controle biológico, compostos quelantes e/ou compostos com atividade redox formados pelos microrganismos, principalmente aqueles residentes da rizosfera, podem ser parte de uma múltipla ação exercida pelos fungos para a realização efetiva no biocontrole de plantas (Altomare et al. 1999). Os dados obtidos neste trabalho, sugerem que este isolado de *F. dimerum*, seja um promissor agente de controle biológico.

Referências:

- ALTOMARE, C. NORVEL W.A., BJORKMAN, T. ; HARMAN, G. E. 1999. Solubilization of Phosphates and Micronutrients by the Plant-Growth-Promoting and Biocontrol Fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiology, 65:2926-2933.
 SHENKER; M. Y. HADAR; Y. CHEN. 1995. Rapid method for accurate determination of colorless siderophores and synthetic chelates. Soil Sci. Soc. Am. J. 59:1612-1618.
 KAYA, C; HIGGS, 2001. D.Inter-relationships between zinc nutrition, growth parameters and nutrient physiology in a hydroponically grown tomato cultivar. J Plant Nutr., 24:1491-1503.
 KLOEPPER, J. W., D. J. HUME, F. M. SCHER, C. SINGLETON, B. TIPPING, M. LALIBERTE, K. FRAULEY, T. KUTCHAW, C. SIMONSON, R. LIFSHITZ, I. ZALESKA; A L.LEE. 1988. Growth-promoting rhizobacteria on calona (rapeseed). Plant Dis.72:4246.