



## **Efeito de Fontes orgânicas de nutrientes no crescimento de fungos dark septate**

*Effect of organic sources of nutrients on the growth of dark septate fungi*

VERGARA, Carlos<sup>1</sup>; ARAUJO, Karla Emanuelle Campos<sup>1</sup>; SILVA, Krisle<sup>2</sup>; XAVIER, Gustavo Ribeiro<sup>3</sup>; ZILLI, Jerri Édson<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UFRRJ, vergaramaputo93gmail.com; karlaeca@gmail.com; <sup>2</sup>Embrapa Roraima, krisle.silva@embrapa.br; <sup>3</sup>Embrapa Agrobiologia, gustavo.xavier@embrapa.br; jerri.zilli@embrapa.br

### **Resumo**

Os fungos dark septate atuam na promoção do crescimento vegetal, contudo as funções ecológicas destes fungos ainda permanecem obscuras. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de Fontes orgânicas de nutrientes no crescimento de fungos dark septate. Utilizando um delineamento de blocos casualizados, isolados de fungos dark septate, obtidos de *Oryza glumaepatula*, foram avaliados quanto à capacidade para utilizar Fontes orgânicas de nutrientes. Os Resultados mostraram que o isolado ERR 04 desenvolveu-se melhor na presença de Fontes orgânicas de nutrientes comparativamente aos demais isolados. O fungo ERR 04 é promissor para testes de avaliação da transferência de nutrientes a partir da matéria orgânica para seu hospedeiro.

**Palavras-chave:** DSE; feijão de porco; crescimento.

### **Abstract**

The dark septate endophytes (DSE) act in promoting plant growth, however the ecological functions of these fungi remain obscure. This work aimed to evaluate the effect of organic sources of nutrients on the growth of dark septate endophytic fungi. Using a randomized block design, DSE isolates obtained from *Oryza glumaepatula* were evaluated on the use of organic nutrients sources. The results showed that ERR 04 isolate developed better in the presence of organic nutrients sources compared to other. The ERR 04 fungus is promising for testing the transfer of nutrients from organic matter to its host.

**Keywords:** DSE; jack bean; growth.

### **Introdução**

Nos últimos anos, o interesse pela agricultura orgânica tem aumentado no mundo. Contudo apenas 0,9% das terras adotam o cultivo orgânico (WILLER et al., 2013). Geralmente, a reposição de nutrientes em campos orgânicos, depende de adubação orgânica, tais como esterco, adubação verde e restos culturais (REEVE et al., 2008). Os fungos *dark septate* podem acessar e liberar nutrientes presentes nesses substratos, uma vez que são reconhecidos como promotores de crescimento de várias espécies vegetais (UPSON & NEWSHAM, 2009), em especial, por facilitarem absorção de nitrogênio em Fontes orgânicas (DIENE et al., 2013; MAHMOUD & NARISAWA, 2013; NEWSHAM, 2011). Os fungos endofíticos *dark septate* ou simplesmente fungos *dark*



*septate* são reconhecidos pela pigmentação escura, hifas septadas, incluem espécies comuns do solo como simbióticos, saprofitas e são frequentemente encontradas em ambientes estressantes.

Alguns trabalhos sugerem que fungos *dark septate* sejam capazes de acessar compostos complexos de carbono, nitrogênio e fósforo (MANDYAN & JUMPPONEN, 2005) e transferirem nutrientes ao seu hospedeiro (MANDYAN, 2008), possivelmente pela produção de enzimas hidrolíticas que promovem a liberação dos nutrientes ou mesmo pela absorção de compostos orgânicos como aminoácidos e pequenos peptídeos (JUMPPONEN & TRAPPE, 1998). Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de Fontes orgânicas de nutrientes no crescimento de fungos *dark septate*.

## Material e Métodos

Visando avaliar a capacidade de uso de Fontes orgânicas de nutrientes por doze isolados de fungos *dark septate*, obtidos de plantas de *Oryza glumaepatula* (RIBEIRO, 2011), um experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados em condições *in vitro*. Os isolados foram previamente crescidos em placas de Petri contendo o meio BDA a 28 °C por sete dias. Em seguida discos de micélios (aproximadamente 6 mm de diâmetro) foram retirados e transferidos para o centro de placas de Petri contendo os seguintes meios: 1) meio ECE1%, contendo 1% de extrato de *Canavalia ensiformis* (L.) agarizado com 1,5% de ágar; 2) meio ECE1% + aa, composto de meio ECE1% acrescido de glicina. A glicina foi adicionada aos meios, quando os mesmos estavam com temperatura de 35-40 °C, tendo sido filtrada em membrana de Millipore. A proporção de N utilizada foi de 0,3% p/v. O extrato vegetal apresentava a seguinte concentração de macronutriente (g kg<sup>-1</sup>) e micronutriente (mg kg<sup>-1</sup>): N=23.8; P=2.0; K=5.8; Ca=12.3; Mg=3,2; S=1.9; Cu=10.0; Fe=792.0; Zn=39.0; Mn=50.0; B=27.0 e C=38,2%.. Essas placas foram incubadas a 28 °C por até 12 dias.

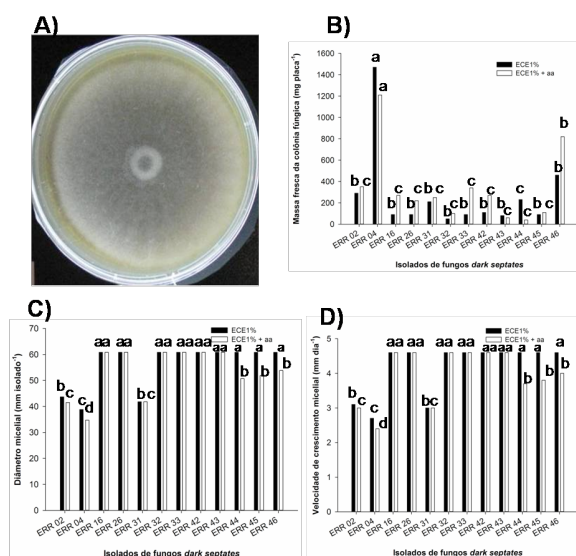
As plantas de *Canavalia ensiformis* foram cultivadas para fins de adubação verde e coletadas com aproximadamente 60-70 dias após germinação, na época de floração. O extrato vegetal que possui de 3-4% de N na sua constituição foi obtido pela moagem da parte aérea seca das plantas (por 72h; 65 °C) e esterilização através de irradiação com raios gama (dose de 25 kgy). Foram realizadas observações aos 12 dias após a inoculação dos fungos. Mediu-se o diâmetro das colônias fúngicas usando um paquímetro digital e determinou-se a velocidade de crescimento micelial por meio da razão entre o diâmetro micelial e os respectivos dias de crescimentos (12 dias), retirando-se o diâmetro (6 mm) do disco utilizado para inoculação. Foi removida a colônia do meio de cultura utilizando-se uma espátula e a mesma foi colocada em recipiente de peso



conhecido para a determinação do peso fresco da colônia fúngica. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2003).

## Resultados e Discussão

Todos os isolados fúngicos testados, apresentaram crescimento micelial em todos os meios utilizados (Figura 1). A massa da colônia fresca do fungo ERR 46, aumentou significativamente no meio ECE1%+aa, comparativamente ao meio ECE1% (Figura1-B). O fungo ERR 04 destacou-se nos meios ECE1% e ECE1%+aa, pois apresentou maior massa da colônia, menor diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial que os demais isolados (Figura1-B,C e D). O emprego do feijão de porco e glicina parece não trazer benefícios no crescimento dos demais isolados, uma vez que apresentaram menor massa da colônia fúngica quando comparados ao ERR 04. Os Resultados mostram que há ocorrência de diferentes perfis de isolados quanto à habilidade para utilizar diferentes Fontes orgânicas de nutrientes.



**Figura 1.** Crescimento micelial do fungo ERR 46 no meio com apenas extrato de *Canavalia ensiformis* 1% (L.) (A); massa fresca da colônia fúngica (B), diâmetro micelial (C) e velocidade de crescimento (D) de isolados de fungos endofíticos dark septate (DSE), crescidos em meios de cultura a base de Fontes orgânicas de nutrientes até aos 12 dias após a inoculação. Letras iguais minúsculas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade. ECE1%: 1,5% de ágar + 1% de extrato vegetal de *Canavalia ensiformis* (L.) (feijão de porco); ECE1% + aa: 1,5% de ágar + 1% de extrato vegetal de feijão de porco + 0,3 % de N na forma da glicina.



Um estudo realizado *in vitro* avaliou a utilização de sete Fontes de N, nomeadamente glutamina, glicina, leucina, fenilalanina, valina,  $\text{NaNO}_3$  e  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  na espécie de fungos *dark septates*, *Heteroconium chaetospora* em meio ágar basal (USUKI & NARISAWA, 2007). Os autores observaram aumento significativo na massa seca do fungo nos meios modificados com Fontes orgânicas de N, comparativamente ao meio suplementado com nitrato de amônio ou sem N. Neste estudo, o fungo ERR 04 utilizou melhor os meios com extrato de *Canavalia ensiformis* (L.) comparativamente aos demais isolados.

O diâmetro micelial da colônia variou, de maneira geral, de três a seis centímetros (Tabela 2). Este diâmetro da colônia é similar àquele observado durante a identificação uma nova espécie de fungos *dark septate* (*Harpophora oryzae*), na China, que foi de 4,5 cm no meio BDA ou no meio ágar malte quando o fungo foi crescido durante sete dias sob uma temperatura de 25°C (YUAN et al., 2010).

A capacidade de crescimento dos fungos *dark septate* em meio de cultura composto unicamente por Material vegetal indica que os mesmos são capazes de utilizar Fontes orgânicas de nutrientes, possivelmente pela produção de enzimas hidrolíticas para liberação dos nutrientes ou mesmo pela absorção de compostos orgânicos como aminoácidos (JUMPPONEN & TRAPPE, 1998). O fato de fungos *dark septate* produzirem uma variedade de enzimas extracelulares indica que estes apresentam potencial para acessar e transferir ao seu hospedeiro nutrientes essenciais, como nitrogênio (N) e fósforo (P) (MANDYAN, 2008). A espécie de fungos *dark septate*, *Heteroconium chaetospora*, utilizou aminoácidos como sua Fonte de carbono e N e quando foi inoculado nas plantas de repolho chinês facilitou absorção dessas Fontes de N (USUKI & NARISAWA, 2007).

Os mecanismos para essa transferência de nutrientes podem ser semelhantes aos observados nas interações micorrízicas, onde hifas fúngicas absorvem N orgânico, como aminoácidos e pequenos peptídeos, bem como N inorgânico do solo e transferem às plantas através da interface fungo-planta (BERBARA et al., 2006).

Estes Resultados mostram que fungos *dark septates* possuem potencial para serem utilizados como decompositores de matéria orgânica, uma vez que são conhecidos como saprofitos, e podem atuar na absorção de nutrientes orgânicos e inorgânicos (MANDYAN & JUMPPONEN, 2005). Os Resultados sugerem ainda, que os fungos *dark septates* estudados além de apresentarem caráter endofítico também possuem habilidade saprofítica (BARROW & AALTONEN, 2001; MANDYAN & JUMPPONEN, 2005), pois todos apresentaram crescimento quando o extrato de *Canavalia ensiformis* era a



única Fonte de nutrientes. Isso indica eventualmente, que estes microrganismos podem ter a habilidade de absorver os nutrientes da matéria orgânica e transferi-los para os vegetais.

### **Conclusões**

A habilidade de crescimento em extrato vegetal dos fungos *dark septate*, em especial do ERR 04, abre a possibilidade de testes de avaliação da transferência de nutrientes diretamente da matéria orgânica para os vegetais mediada pelos fungos.

### **Referências Bibliográficas**

JUMPPONEN, A. & TRAPPE, J. M. Dark septate root endophytes: a review with special reference to facultative biotrophic symbiosis. *New Phytologist*, v.140, n.2, p.295-310, 1998.

MAHMOUD R. S; NARISAWA K. A. New Fungal Endophyte, *Scolecobasidium humicola*, Promotes Tomato Growth under Organic Nitrogen Conditions. *PLoS ONE*, 8(11): e78746, 2013.

MANDYAM K, JUMPPONEN A. Abundance and possible functions of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology*, v.53, p.173-190, 2005.

NEWSHAM, K. K. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. *New Phytologist*, v.190 n.3, p.783-793, 2011.

REEVE, J. R. et al. P. Soil-based cycling and differential uptake of amino acids by three species of strawberry (*frágaria* spp.) plants. *Soil Biology & Biochemistry*, v.40, p.2547-2552, 2008.

USUKI, F.; NARISAWA, K. A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Repolho chinês. *Mycologia*, 99(2), 175-184, 2007.