

Embrapa Agrobiologia
Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Caixa Postal 74505 - CEP 23851-970 - Seropédica, RJ
Fone (021) 682-1500 Fax (021) 682-1230
E-mail: acn@cnpab.embrapa.br

Nº 25, nov/99, p.1-3



Caracterização de Isolados de *Gigaspora Margarita* Através da Técnica do Elisa Indireto¹

Simão Lindoso de Souza²
Francisco Adriano de Souza³
Verônica Massena Reis³

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pertencem a ordem Glomales, a qual engloba três famílias com dois gêneros cada: Glomaceae (*Glomus* e *Sclerocystis*); Acaulosporaceae (*Acaulospora* e *Entrophospora*); Gigasporaceae (*Gigaspora* e *Scutellospora*). Estes fungos são componentes importantes da microbiota do solo, sendo fundamentais para o desenvolvimento de inúmeras espécies de plantas. Os FMA são biotróficos obrigatórios e se multiplicam somente após o estabelecimento de simbiose com raízes metabolicamente ativas. Esta característica dificulta a identificação taxonômica das espécies, uma vez que entre o estabelecimento da simbiose e a formação de esporos, é necessário um período de tempo considerável (2 a 6 meses). A taxinomia de espécies de FMA é baseada em caracteres morfológicos dos esporos, como cor, tamanho, espessura e tipo de parede, necessitando de especialistas. Neste sentido, o uso de técnicas imunológicas pode contribuir de forma eficiente para a identificação correta de isolados na ausência de taxonomistas, através do reconhecimento antígeno-anticorpo.

¹ Projeto financiado: CNPq/Embrapa Agrobiologia/Pronex II

² Estudante de Licenciatura em Ciências Agrárias, Bolsista de PIBIC, UFRRJ-Embrapa Agrobiologia

³ Pesquisadores da Embrapa Agrobiologia, Caixa Postal 74505, CEP: 23851-970 Seropédica, RJ



Este trabalho teve por objetivo a caracterização de isolados de *Gigaspora* de diferentes origens e espécies com um anti-soro policlonal obtido a partir de proteínas solúveis extraídas de esporos (PSE) de *Gigaspora margarita* (acesso CNPAB 001) (GMC) através da técnica do ELISA Indireto.

Produziu-se um anti-soro policlonal a partir de proteínas solúveis de esporos de *G. margarita* (acesso CNPAB 001) (GMC). Para a inoculação, extração e conservação do anti-soro, utilizou-se da metodologia descrita por Reis et al. (1997). O anti-soro obtido foi testado contra 9 isolados/espécies: *G. margarita* (acessos: IES 32 (GMV); CNPAB 015 (GMT); CNPAB 016 (GMP)); *G. albida* (INVAM 927) (GA); *G. rosea* (IES 19) (GR); *Glomus clarum* (CNPAB 005) (GC); *Glomus etunicatum* (CNPAB 006) (GE); *Scutellospora gregaria* (CNPAB 007) (SG) e *S. heterogama* (CNPAB 002) (SH). As placas de ELISA foram impregnadas com macerados de 20 esporos dos diversos isolados/espécies.

O título do anti-soro testado foi de 1:1000, este foi incubado com o anti-soro secundário (1:1000) por um período de 45 minutos, conforme Li & Macrae (1992). O anti-soro também foi testado contra micélio extra-radicular e raízes de sorgo e batata doce cultivadas em casa de vegetação, assim como em raízes transformadas de cenoura cultivadas em placas de Petri, em meio "M" (Bécard & Fortin, 1988). Todas as raízes estavam colonizadas pelo mesmo isolado de fungos utilizado na produção do anti-soro. Estes testes seguiram a metodologia de Schloter et al. (1997). As placas foram impregnadas com tampão carbonato-bicarbonato e incubadas por uma noite, para este teste o anti-soro foi utilizado na mesma diluição anterior (1:1000).

O anti-soro apresentou baixa reação cruzada contra espécies pertencentes ao gênero *Scutellospora* e *Glomus* (Figura 1). Isolados/espécies pertencentes ao gênero *Gigaspora* apresentaram valores de reação cruzada que variaram de 42,3 a 98,5% em relação ao isolado do qual o anti-soro foi produzido. De três acessos classificados morfológicamente como sendo *G. margarita* (GMT, GMV e GMP), dois apresentaram nível de detecção bem próximo do obtido para a *G. margarita* empregada na produção do anti-soro (GMV 98,5 e GMT 86,4%). O acesso GMP apresentou sinal menor (54,1%), o que pode sugerir uma revisão na identificação morfológica deste acesso, visto que o valor obtido foi mais próximo de dois acessos classificados como *G. albida* (63,6%) *G. rosea* (42,3%). Este anti-soro pode ser empregado na diferenciação taxonômica de espécies pertencentes ao gênero *Gigaspora*, as quais apresentam pequenas variações morfológicas entre espécies. O sinal obtido para raízes e micélio não permitiu uma detecção acima do nível mínimo, o que sugere que o anti-soro produzido a partir de proteínas de esporos não permite a detecção positiva destas estruturas do fungo, uma vez que a composição protéica é diferente.

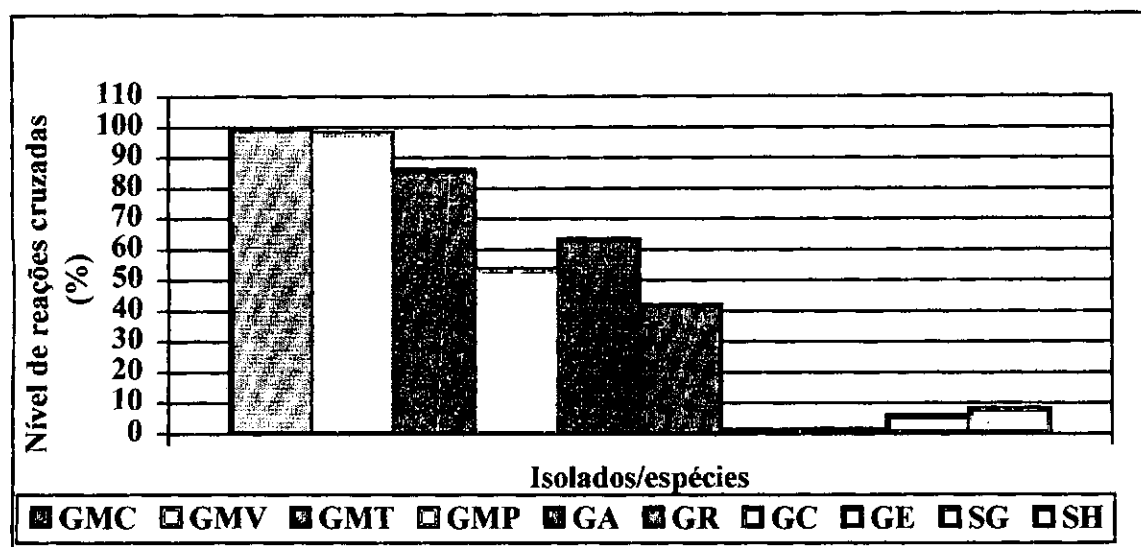


Figura 1: Percentagem de reações cruzadas do anti-soro produzido a partir de proteínas solúveis de esporos de *Gigaspora margarita* (GMC) contra espécies/isolados de FMA: *Gigaspora margarita* (GM), *G. albida* (GA), *G. rosea* (GR), *Glomus clarum* (GC), *G. etunicatum* (GE), *Scutellospora gregaria* (SG) e *S. heterogama* (SH).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BÉCARD, G.; FORTIN, J.A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. *New Phytologist*, Oxford, v.108, p.211-218, 1988.
- LI, R.; MACRAE, I.C. Specific Identification and enumeration of *Acetobacter diazotrophicus* in sugarcane. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.24, p.413-419, 1992.
- REIS, V.M.; CRUZ, G.B.; FERREIRA, A.; FERREIRA, M.; FERREIRA, A.C.; REIS JÚNIOR, F.B.; ASSIS, J.R.; SALLES, J.F.; WEBER, O.B. **Produção e caracterização de soros policlonais para a detecção de bactérias diazotróficas**. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, maio 1997. 11p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 30).
- SCHLOTTER, M.; WIEHE, W.; ASSMUS, B.; STEINDL, H.; BECKE, H.; HOFLICH, G.; HARTMANN, A. Root colonization different plants by Plant-Growth-Promotion *Rhizobium leguminosarum* bv. tifoldii R39 studied with Monospecific Policlonal Antisera. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.63, p.2038-2046, 1997.