



ANTAGONISMO E INTERAÇÕES COMPETITIVAS ENTRE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE GIRASSOL (*Helianthus annuus* L.) E O FITOPATÓGENO *Sclerotinia sclerotiorum*

Tiago Tognolli de Almeida¹; Ravely Casarotti Orlandelli²; Aretusa Cristina Felber³; João Lúcio de Azevedo⁴; João Alencar Pamphile⁵

RESUMO: Microrganismos endofíticos são aqueles que vivem no interior de plantas habitando, de modo geral, suas partes aéreas como caules e folhas, sem causar, aparentemente, qualquer dano aos seus hospedeiros. Já foram descritas várias substâncias produzidas por estes organismos que são capazes de inibir o crescimento de bactérias e fungos patogênicos. O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma dicotiledônea originária da América do Norte e pode ser cultivada em diversas regiões, pois é uma planta que se adapta muito bem às condições climáticas adversas, sendo ela uma planta com características muito especiais. Foi realizada a técnica de cultura pareada, onde o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* e o isolado endofítico são colocados para crescer em meio BDA em pólos opostos da placa a 1 cm da borda, em triplicata. O cálculo do Índice de Antagonismo (IA) foi calculado para todos os endófitos testados de acordo com a fórmula: $IA = (RM - rm)/RM \times 100$, onde: RM = média dos raios nas outras três direções e rm = raio da colônia em direção ao antagonista. Foram testados dois isolados endofíticos de (*Helianthus annuus* L.), IG03 e IG06, os quais demonstraram 22,43 % e 36,86 % de inibição. Com os resultados obtidos concluímos que os isolados endofíticos de girassol possuem potencial biotecnológico para o controle de *Sclerotiorum*.

PALAVRAS-CHAVE: Antagonismo; Biotecnologia; Endófitos; *Sclerotiorum*.

INTRODUÇÃO

Microrganismos endofíticos são aqueles que vivem no interior de plantas habitando, de modo geral, suas partes aéreas como caules e folhas, sem causar, aparentemente, qualquer dano aos seus hospedeiros. Eles distinguem-se dos patogênicos, que causam doenças nas plantas, e dos epifíticos que vivem na superfície dos vegetais. Alguns autores também consideram como microrganismos

¹ Acadêmico do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, UEM. Maringá – Paraná. totus_tiago@hotmail.com

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada da Universidade Estadual de Maringá, UEM. Maringá – Paraná. Bolsista da Capes. ravelycasarotti@gmail.com

³ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada da Universidade Estadual de Maringá, UEM. Maringá – Paraná. Bolsista da Capes. are264@hotmail.com

⁴ Pesquisador Visitante Nível 1 do CNPq no Departamento de Biologia Celular e Genética - UEM. jazevedo@esalq.usp.br

⁵ Orientador. Docente do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá, UEM. Maringá – Paraná. prof.pamphile@gmail.com

endofíticos os fungos micorrízicos e as bactérias que formam nódulos nas raízes de plantas; estes, entretanto, são muito bem estudados e por essa razão, considerados separadamente dos que habitam preferencialmente as partes aéreas dos vegetais. Um microrganismo endofítico pode tornar-se um patógeno conforme as condições de ambiente ou equilíbrio com outros endofíticos; um microrganismo epifítico pode, eventualmente, entrar em uma planta e lá permanecer por um certo período, causando ou não danos a mesma (PEIXOTO, 2002).

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma dicotiledônea originária da América do Norte, e é cultivada em várias partes do mundo, apresentando cerca de 18 milhões de hectares plantados. Pode ser cultivada em diversas regiões, pois é uma planta que se adapta muito bem às condições climáticas adversas, sendo ela uma planta com características muito especiais, principalmente em relação ao seu potencial para aproveitamento econômico onde seus principais produtos são o óleo produzido de suas sementes, ração animal, além de ser utilizado na alimentação humana (SMIDERLE, 2000).

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é considerado o patógeno mais importante para o girassol no mundo e está distribuído em todas as regiões produtoras. Pode infectar a raiz e o colo da planta, a haste ou o capítulo, matando rapidamente as plântulas infectadas e afetando seriamente a produção do girassol (LEITE, R.M.V.B.C., 1997).

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade antagonística de fungos endofíticos isolados de folhas de *Helianthus annuus* L. contra o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção de fungos endofíticos foram coletadas no horto didático da Universidade Estadual de Maringá, de 10 a 30 amostras de folhas de *Helianthus annuus* L. que estavam sadias sem manchas ou qualquer tipo de lesão. A desinfecção superficial das folhas foi realizada segundo Pimentel et al. (2006). As folhas foram lavadas em água corrente, em seguida, as amostras vegetais foram desinfetadas superficialmente por enxágue em etanol 70% (1 minuto), NaCl 3% (4 minutos), etanol 70% (30 segundos) e enxaguadas uma vez em água destilada autoclavada. As folhas previamente desinfetadas foram cortadas em fragmentos de aproximadamente 2 - 5 mm² e colocadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA suplementado com 50 µg.ml⁻¹ de Tetraciclina (Sigma®) para inibição do crescimento bacteriano. Como controle negativo, 100 µl da água destilada autoclavada usada no último enxágue da desinfecção superficial foi semeada em placas com BDA. Todas as placas foram incubadas por 7 dias a 28° C., obtendo-se 33 endofíticos, dos quais foram escolhidos aleatoriamente dois para o teste de antagonismo. A técnica de Cultura Pareada (Campanile et al., 2007) foi realizada com as seguintes modificações: em placas de Petri (9 cm) contendo 20 mL do meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) (Smith & Onions, 1974) foram inoculados em triplicata, em lados opostos a 4 cm de distância, discos de 6 mm de colônias de 7 dias de endófitos e fitopatógeno. Como controle negativo, as placas receberam apenas o patógeno, tanto em um (C1) quanto em ambos os lados da placa (C2). As placas foram incubadas a 28° C por 7 dias. As interações competitivas entre os endófitos e o patógeno foram analisadas segundo a escala de Badalyan (Badalyan et al., 2002). O índice de antagonismo (IA) de cada endófito foi calculado de acordo com Campanile et al. (2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da cultura pareada podem ser observados na tabela 1. Em estudos anteriores, Rocha et al (2009) observaram resultados semelhantes, em que endófitos

isolados de *Symphytum officinale* L. (confrei) foram utilizados em testes de antagonismo contra *S. sclerotiorum*. Os endófitos utilizados foram *C.pseudotropicalis*, *Chrysosporium*, *C. tropicalis* sp e *Trichophyton* sp. Os índices de antagonismo foram de 50,0%, 48,9%, 47,8%, 46,7% respectivamente, o que revelou um efeito antagônico considerável.

No presente estudo como observado na tabela 1, o endofítico IG06 demonstrou um índice de antagonismo de 36,86%, e para o endofítico IG03 esse índice foi de 22,43%, onde ambos apresentaram o tipo de interações competitivas tipo A, na qual a inibição do crescimento do fitopatógeno ocorre pela formação de uma barreira (*deadlock*) com contato micelial entre endófitos e patógeno, segundo a escala de Badalyan. Assim, o isolado endofítico IG06 obteve um melhor índice de antagonismo que o isolado endofítico IG03

Tabela-I: **Antagonismo e interações competitivas entre 2 fungos endofíticos de girassol e o fitopatógeno *S. sclerotiorum*.**

Isolado	Índice de antagonismo	Tipo de interação
IG03	22,43 %	A
IG06	36,86 %	A

Fonte: autores

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que fungos endofíticos isolados de folhas de *Helianthus annuus* L. apresentam potencial biotecnológico no controle do fitopatógeno *S. sclerotiorum*.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J. L.; BARROS, N. M.; SERAFINI, L. A. Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria. **EDUCS**, 2002, Caxias do Sul – RS, Brasil.

BADALYAN, S.M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N.G. Antagonistic activity of xylophilic mushrooms against pathogenic fungi of cereal in dual culture. **Phytopatol Medit.**, 41: 200-225, 2002.

CAMPANILE, G.; RUSCELLI, A.; LUISI, N.; Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in planta test. **Eur. J. of Plant Pathol.**, 117: 237-246, 2007.

LEITE, R.M.V.B.C. Doenças do girassol. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1997. 68p. (**EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 19**). ISSN: 0100-6703

ROCHA, R.; ENGELS, C.; PILEGGI, S.A.V.; FILHO, D. S. J.; MATIELLO, R.R.M.; PILEGGI, M. Selection of endophytic fungi from comfrey (*Symphytum officinale* L.) for *in vitro* biological control of the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.). **Revista Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p.73-78, 2009.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos: Interação com as plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, n. 29, p. 62-76, 2002.

PIMENTEL IC, GLIENKE-BLANCO C, GABARDO J, STUART RM, AZEVEDO JL. Identification and colonization of endophytic fungi from Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, p.705-11, 2006.

Pileggi, M.; Raiman, P.M; Micheli, A; Beatriz, S.; Bobalto,V. (2002). Antimicrobial Action and Endophytic interaction in *Symphytum officinale* L.; **Publicatio UEPG**. 8(1), 47-55.

SMITH, D. & ONIONS, A.G.H. the preservation and maintenance of living fungi. Great Britain, **Commonwealth Mycological Institute**, 51 p., 1983.

SMIDERLE, O. J. **O girassol como alternativa de combustível**. Disponível em: <<http://www.agrisustentavel.com/artigos>>. Acesso em: 01 abril. 2010.