



DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS A MAMONA (*RICINUS COMMUNIS* L.)

G.M. Moreira

V.M. Pereira; M.C. Mendes - Costa

Centro Universitário de Lavras, Rua Padre José Poggel, nº 506, Centenário, 37200 - 000, Lavras, Minas Gerais mor-eira.glaucia@gmail.com

INTRODUÇÃO

A adaptação das plantas ao ambiente envolve a sua capacidade de interagir com diferentes espécies de seres vivos. As interações entre plantas e fungos são conhecidas há bastante tempo, dentre elas destaca-se a simbiose, onde microrganismos vivem no interior da planta, desempenhando um papel muito importante no seu desenvolvimento, e recebem dela nutrientes e proteção (Peixoto - Neto *et al.*, 002). Estes são chamados fungos endofíticos. Eles induzem a planta ou produzem metabólitos secundários extremamente benéficos para o hospedeiro, como toxinas, antibióticos e outros fármacos, que atuam no crescimento de órgãos, controle de fitopatógenos, defesa contra a herbivoria e também podem ser isolados e utilizados pelo homem na indústria e na medicina. Segundo Carrol (1986), os fungos endofíticos podem apresentar também relações neutras e antagonísticas dependendo das condições ambientais e fisiológicas do hospedeiro (Azevedo, 1998).

Até o momento, dentre as espécies vegetais estudadas, todas apresentaram microrganismos endofíticos (Pereira e Azevedo, 1993; Faeth, 2002), mostrando que a presença dos mesmos é um fenômeno geral e comum. Consequentemente, a oportunidade de encontrar novos e interessantes endófitos em diferentes ecossistemas é grande. Porém, das quase 300.000 espécies de plantas que existem na Terra, somente algumas foram bem estudadas quanto à biologia dos endofíticos. Entretanto, quase nada se sabe sobre a relação fungo - planta, poucos são os estudos feitos sobre endófitos, principalmente em plantas de clima tropical, e esses microrganismos são praticamente inexplorados.

A taxa de colonização por fungos endofíticos muda entre espécies de plantas e entre seus tecidos. A população endofítica vem sendo encontrada com maior frequência nas partes mais velhas da planta em relação às mais novas. Há autores que relatam maior proteção em folhas velhas comparadas com as jovens, o que pode ser explicado pela existência de inúmeros metabólitos produzidos em maior quantidade nas folhas mais velhas.

Com os impactos causados no ambiente nos últimos

anos mediante a grande utilização de produtos químicos, pesquisas vêm sendo realizadas com o intuito de obter métodos naturais, como substâncias bioativas. Assim, a utilização de fungos endofíticos que sintetizam metabólitos secundários de interesse para o controle de pragas e doenças é uma estratégia promissora na agricultura, já que eles ocupam o mesmo nicho ecológico e competem por espaço e alimento com os patógenos (Maki, 2006).

A mamona (*Ricinus communis* L., Euphorbiaceae) é uma espécie polimórfica, com grande variação no hábito de crescimento, cor da folhagem e caule, tamanho das sementes, conteúdo do óleo, altura das plantas, sendo uma planta que sofre com as condições ambientais, como temperatura e umidade. Apresenta um elevado potencial econômico e medicinal, com inúmeras aplicações industriais. Do seu fruto é extraído um óleo, seu produto econômico principal, que destaca-se na atualidade como fonte renovável de energia, o biocombustível. Esse óleo é também utilizado na medicina popular como purgante e na indústria na fabricação de tintas, vernizes, produção de plásticos, cosméticos e sabões e, principalmente, como lubrificante de motores de alta rotação que queimam sem deixar resíduos no ambiente (Coelho, 1979). Os subprodutos obtidos após a extração do óleo são a torta, de altíssimo teor tóxico apresentando alto valor comercial como fertilizante, fungicida (Bahia, 1994), controlador de fitonematóides parasitas (Sasser, 1989), e o farelo, que é obtido após a desativação dos princípios alergênicos e tóxicos da torta sendo usado como composto alimentar na ração animal (Savy Filho e Banzatto, 1983).

A compreensão da função que estes fungos realizam em seus hospedeiros é de fundamental importância, por isso é necessária a realização de pesquisas voltadas para a associação endófito - planta. Ainda são um campo obscuro os aspectos ecológicos, genéticos e fisiológicos dessa interação, especialmente em plantas de clima tropical.

OBJETIVOS

Nesse âmbito este trabalho objetivou contribuir para o conhecimento da diversidade de fungos endofíticos associados a duas variedades de mamona (*Ricinus communis*).

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico e local da coleta

Foram coletadas duas variedades de mamona: uma geneticamente melhorada de coloração verde e outra nativa, de coloração vermelha, das quais se retirou amostras de caule, folha, flor, fruto e semente, de plantas mais desenvolvidas, distintas e escolhidas aleatoriamente. A coleta das mamonas verdes foi realizada na estação experimental do Departamento de Engenharia da Universidade Federal de Lavras, onde são cultivadas diferentes variedades de mamona para estudo da sua utilização para o biocombustível, e das mamonas vermelhas, em locais onde encontradas na natureza. As coletas foram realizadas em janeiro e março de 2007, sendo esta época considerada como estação chuvosa. Isolamento dos fungos endofíticos

As amostras de caule, folha, flor, fruto e semente foram levadas para o Laboratório de Pesquisa I - Fungos do Centro Universitário de Lavras onde passaram por tratamento prévio de desinfecção segundo metodologia de Araújo *et al.*, (2002) modificado.

Após a desinfecção das amostras e em condições assépticas as mesmas foram fragmentadas no tamanho de aproximadamente 0,5 cm. Foram colocados sete fragmentos das amostras por placa de Petri, sendo quatro plantas com três repetições totalizando 420 fragmentos plaqueados por variedade e 840 no total. Os fragmentos foram distribuídos aleatoriamente nas placas de Petri previamente esterilizadas, contendo meio de cultura BDA acrescido de 100 μ L/250mL de solução de antibiótico cloranfenicol. As placas foram incubadas em BOD à temperatura de 24°C de 1a 30 dias.

Após o crescimento, as colônias foram contadas e purificadas realizando a determinação da taxa de colonização de acordo com Petrini (1986), onde F1 é a frequência analisada:

$$F1 = \frac{N^0 \text{ de fragmentos com crescimento fúngico}}{N^0 \text{ total de fragmentos plaqueados}}$$

Identificação morfológica das colônias

Para avaliação morfológica das colônias foram utilizados como critério a coloração da colônia (frente e reverso da placa de Petri), tipos e bordas do micélio. As características primárias determinantes para o micélio das colônias foram classificadas em camurçada, algodonosa e afeltrada. As características secundárias de modo geral foram classificadas como presença ou ausência de grânulos sobre o micélio.

RESULTADOS

A taxa de colonização dos fungos endofíticos

As amostras utilizadas para análise apresentaram crescimento micelial em até 96 horas de incubação. Dos 840 fragmentos incubados das duas variedades, 123 apresentaram fungos endofíticos na frequência de 14,6%. Analisando as

variedades separadamente, dentre os 420 fragmentos da variedade vermelha foram obtidos 90 fungos endofíticos com frequência de 21,42%; na variedade verde foram obtidos 33 fungos apresentando uma frequência de 7,85%. Na mamona vermelha a frequência de isolados do fruto foi 44,76%, da folha 9,52%, do caule 16,19%, da semente 11,42% e da flor 3,80%. Já na verde a frequência de isolados do fruto foi de 16,19%, da folha 6,66%, do caule 6,66%, na semente não houve crescimento e da flor 1,90%.

Nas duas variedades de mamona a maior incidência de fungos endofíticos foi vista no fruto, sendo ela ainda maior na mamona vermelha do que na verde. Segundo Peixoto - Neto *et al.*, (2002) os microrganismos endofíticos têm apresentado a capacidade de estimular o crescimento das plantas devido às substâncias que sintetizam, logo, uma justificativa plausível para o fato acima citado é a presença de substâncias secretadas por estes microrganismos endofíticos no fruto da mamona favorecendo sua produção de óleo. No caso da semente pode sugerir que a não colonização seja devido a não transmissão vertical de microrganismo endofíticos, ou seja, a colonização não é dada por geração.

A análise de variância mostrou que não houve diferença significativa na frequência de isolados na variável planta, tanto na mamona verde quanto na vermelha, mas houve diferença significativa nas variáveis partes da planta. A diferença na taxa de colonização por fungos endofíticos nas partes das plantas pode ter ocorrido devido ao acesso deles ao hospedeiro, pois penetram por aberturas naturais ou ocasionadas por lesões, ao ciclo biológico da planta, a fatores abióticos, como vento, chuva e umidade e à migração dos endófitos dentro da planta.

Em um trabalho realizado com o fruto da pupunha, uma planta de clima tropical, foram incubados 1760 fragmentos, destes 422 apresentaram microrganismos endofíticos (bactérias, fungos e leveduras) obtendo uma frequência de 23,9% (Costa - Neto, 2002). Neste trabalho com a mamona, a frequência de microrganismos endofíticos foi de 14,6%, a partir de 840 fragmentos incubados. Souza *et al.*, (2004) utilizando *Palicourea longiflora* e *Strychnos cogens*, plantas de clima tropical que apresentam substâncias tóxicas, obteve 571 isolados fúngicos dos quais 59 de *S. cogens* e 512 isolados de *P. longiflora*. Ocorreram diferenças no número de isolados, pois, segundo Faeth (2002), a taxa de colonização em determinados locais da planta varia de espécie para espécie, visto que os fatores abióticos e bióticos influenciam na quantidade e diversidade de fungos endofíticos no hospedeiro.

Morfologia das colônias

O estudo morfológico das colônias de fungos endofíticos provenientes da mamona apresentou inúmeras variações permitindo a detecção de vários fenótipos, indicando que a taxocenose fúngica deve ser grande. A coloração apresentada no micélio foi um caráter importante, pois foram observadas variações tanto no verso como reverso da placa de Petri. As tonalidades que mais predominaram no micélio aéreo foram bege, branco, verde musgo, verde escuro e marrom. No caráter formato da borda foi observada predominância de borda regular e quanto à textura do micélio, a maioria apresentou micélio algodonososo e com grânulos.

CONCLUSÃO

A análise dos isolados mostrou que a mamona apresenta grande variedade de fungos endofíticos e estes foram encontrados em todas as partes analisadas da planta, sugerindo que devem desempenhar importante papel nesse hospedeiro. Ao CNPq pela concessão da bolsa e ao Dr. Pedro Castro Neto do Departamento de Engenharia da Universidade Federal de Lavras.

REFERÊNCIAS

- Araújo, W.L.; Lima, A.O.S.; Azevedo, J.L.; Marcon, J.; Kublincky - Sobral, J. & Lacava, P.T. 2002.** *Manual: isolamento de microrganismos endofíticos*. 1 ed. Piracicaba: CalQ, 86 p.
- Azevedo, J.L. 1998.** Microrganismos endofíticos. *In: Melo, I.S. & Azevedo, J.L., (eds). Ecologia Microbiana*. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.117 - 137.
- Bahia 1994.** Secretaria da Indústria, Comércio e Turismo. *Diagnóstico e oportunidades de investimentos em oleoquímica na Bahia*. Salvador: SICT/SEBRAE, 143 p.
- Carrol, G.C. 1986.** Fungal associates of woody plants as insect antagonists in leaves and stems. *In: Barbosa, P.; Krischik, V.A.; Jones, C.G.; John, W. & Sons, (eds). Microbial mediation of plant - herbivore interactions*. New York, p. 253 - 2741.
- Coelho, I. 1979.** *Avaliação das exportações tradicionais baianas: caso de sisal e mamona*. 1979. 174 p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal da Bahia, Salvador.
- Costa - Neto, P.Q. 2002.** *Isolamento e identificação de fungos endofíticos da pupunha (Bactris gasipaes Kunth) e caracterização por marcadores moleculares*. 2002. 86 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução)-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Faeth, S.H. 2002.** Are endophytic fungi defensive plant mutualists? *Oikos, Arizona*, **98 (1)**: 25 - 36.
- Maki, C.S. 2006.** *Diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos de cacau (Theobroma cacao L.)*. 2006. 127p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Planta)-Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- Peixoto - Neto, P.A.S.; Azevedo, J.L. & Araújo, W.L. 2002.** Microrganismos endofíticos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, Brasília, n^o 29. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio29/micro.asp>>. Acesso em: 16 set. 2007.
- Pereira, J.O. & Azevedo, J.L. 1993.** Endophyte fungi of Stylosanthes: a first report. *Mycologia*, **85 (3)**: 362 - 364.
- Petrini, O. 1986.** Taxonomy of endophytic fungi of aerial tissues. *In: Fokkema, N.J. & Heuvel, J. van den, (eds). Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, p. 175 - 187.
- Sasser, J.N. 1989.** *Plant parasitic nematodes: the Farmers's Hidden Enemy*. Raleigh: University Graphics, 115 p.
- Savy Filho, A. & Banzatto, N.V. 1983.** O mercado está para mamona. *Casa de Agricultura*, **5 (5)**: 12 - 15.
- Souza, A.; Souza, A.D.L. de; Astolfi Filho, S.; Belém Pinheiro, M.L.; Sarquis, M.I. de M. & Pereira, J.O. 2004.** Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. *Acta Amazônica*, Manaus, **34 (2)**: 185 - 195.