

FUNGOS ENDOFÍTICOS EM RAÍZES DE *Sorghum bicolor* (L.) MOENCH

Maielly Inês Sena da Silva¹; Gladstone Alves da Silva²

¹Estudante do Curso de Ciências Biológicas/Ambientais - CCB – UFPE; E-mail: maiellyines@gmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto. de Micologia – CCB – UFPE. E-mail: gladstonesilva@yahoo.com.

Sumário: O presente trabalho teve como objetivo determinar a micobiota endofítica em raízes de sorgo (*Sorghum bicolor*) no período de pré e pós floração. As raízes foram coletadas nas Estações Experimentais de Itapirema, Goiana-PE, sendo lavadas e desinfestadas. Em seguida seis fragmentos foram transferidos para placas de Petri, em triplicata, Ágar Malte (MEA, acrescido de cloranfenicol (50mg/L-1). Após crescimento das colônias, fragmentos de micélio foram transferidos para tubos de ensaio contendo meio ágar malte para posterior identificação das espécies utilizando características macro e microestruturais, com auxílio da literatura. Foram obtidos 274 isolados de fungos endofíticos deste, 140 isolados foram encontrados no período de pré-floração e 134 isolados no período de pós-floração. Depois das análises de identificação por microscópios, chaves e análises moleculares foram identificados 15 gêneros, dos quais *Fusarium*, *Pseudocochliobolus* e *Chaetomium* apresentaram maior abundância. Os fungos endofíticos estão bem distribuídos nas raízes do sorgo e possivelmente tem papel importante na manutenção e desenvolvimento dessa planta.

Palavras-chave: fungos endofíticos; taxonomia; sorgo

INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é um cereal que vem se destacando na agricultura, por ser uma gramínea de grande fonte energética, alta produtividade e adaptação (Buzo et al., 2011). É o quinto, entre os cereais mais plantados no mundo. No Brasil, a cultura do sorgo vem crescendo principalmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, totalizando 1,54% da produção mundial (Costa et.al., 2003). Os grãos são úteis na produção de farinha para panificação, amido industrial e álcool, e servem como forragem ou cobertura de solo. Os microrganismos endófitos podem ser compostos principalmente por fungos e bactérias, vivendo inter ou intracelularmente nos tecidos vegetais sem causar aparentemente nenhum dano aos seus hospedeiros. Os fungos endofíticos possuem uma relação mutualística com as gramíneas, sem causar doenças às plantas. A colonização por fungos endófitos pode conferir benefícios para a planta hospedeira, como o controle de doenças radiculares (St-Arnaud & Vujanovic, 2007), a captação de fósforo e a promoção do crescimento (Deshmukh & Kogel, 2007). O estudo dos fungos endofíticos presentes na rizosfera vegetal é de extrema relevância por fornecerem informações fundamentais para avaliação da diversidade e distribuição fúngica e comparação de dados globais. O objetivo desse trabalho foi estudar a diversidade de fungos endofíticos em raízes de *Sorghum bicolor*, comparando a comunidade desses organismos encontrada no período de pré e pós-floração.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas duas coletas de raízes de sorgo na Estação Experimental de Itapirema no município de Itambé, sendo uma no período pré-floração e outra no período de pós-floração. Ao final foram coletadas 12 amostras por área × dois períodos (pré e pós-

floração), totalizando 24 amostras, as quais foram levadas para o Laboratório II da Pós-Graduação em Biologia de Fungos, para serem processadas. As raízes foram lavadas e desinfestadas com álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 3% (3 minutos) e novamente álcool 70% (30 segundos), após foram lavadas com água destilada autoclavada. Para o controle da assepsia, 50µL da última água utilizada na lavagem das raízes, foi plaqueada em Malte Agar como comprovação da desinfestação superficial. Seis fragmentos foram colocados em placas de Petri, em triplicata, contendo Malte Agar (MEA) acrescido de cloranfenicol (50mg/L⁻¹), incubados em temperatura ambiente, sendo observado o crescimento das colônias diariamente por até 15 dias. Com o crescimento das colônias, fragmentos do micélio foram colocados em tubos de ensaio com MEA para posterior identificação das espécies com base nas características macro e microestruturais com auxílio de literatura especializada (Ellis, 1971; Ellis, 1976; Domsch et al., 1993; Kirk & Cooper, 2005, entre outras). Para os fungos de difícil identificação foi realizada a extração do DNA genômico, conforme Góes Neto et al. (2005), para amplificação da região ITS foram utilizados os primers ITS1 e ITS4 (White et al., 1990). Os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes seguiram Kaliyaperumal & Kalaichelvan (2008). Os produtos de PCR foram purificados, quantificados e sequenciados na plataforma de sequenciamento do CCB. As sequências obtidas foram alinhadas com outras recuperadas do GenBank com o auxílio do programa Clustal X (Larkin et al. 2007). As árvores filogenéticas foram geradas a partir da análise bayesiana utilizando o programa MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) executado a partir do programa Topali 2.5 (Milne et al., 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 432 fragmentos de raízes de sorgo inoculados em meio de cultura, foram obtidos 274 isolados de fungos endofíticos, pertencente a 15 gêneros (tabela1). Destes, 140 isolados foram registrados no período de pré-floração e 134 no período de pós-floração. Os gêneros *Fusarium* e *Pseudocochliobolus* foram os que tiveram maior frequência no período de pré-floração, enquanto *Chaetomium* e *Fusarium* foram os mais frequentes no período pós-floração, esses fungos são facilmente encontrados nos solos e considerados típicos sapróbios. Zilda et al. (2014), realizando estudos com fungos endofíticos de folhas, raízes e caules de *Sorghum bicolor* em Burkina Faso-África, isolaram 39 espécies de fungos endofíticos pertencentes a 25 gêneros. *Fusarium* é um fungo cosmopolita, apresenta espécies isoladas do solo e vegetais, estando associado a doenças em frutíferas (Ventura & Costa, 2006). *Chaetomium* é citado em outros estudos como antagonista no controle biológico de patógenos radiculares contra o tombamento de plântulas em beterraba (Sales Junior, 2007). Além da identificação com base na morfologia foram realizadas análises filogenéticas da região ITS do rDNA das espécies *Setosphaeria rostrata*, *Chaetomium megalocarpum*, *Talaromyces assiutensis* e *Pseudocochliobolus eragrostides* (Figura 1).

Tabela 1: Frequência de ocorrência das espécies de fungos endofíticos isolados de raízes de *Sorghum bicolor* durante o período de pré e pós-floração no município de Goiana, Pernambuco.

Gêneros/ Espécies	Períodos			
	Pré-floração		Pós-floração	
	Nº de isolados	%	Nº de isolados	%
<i>Aspergillus niger</i>	4	2,86%	1	0,75%
<i>Chaetomium megalocarpum</i>	9	6,4%	-	-
<i>Chaetomium nigricolor</i>	8	5,71	38	28,35%
<i>Drechslera</i> sp.	-	-	2	1,49%

<i>Eupenicillium javanicum</i>	2	1,43%	-	-
<i>Fusarium acutatum</i>	2	1,43%	21	15,67%
<i>Fusarium oxysporum</i>	1	0,71%	1	0,75%
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	4	2,86%	-	-
<i>Fusarium solani</i>	41	29,28 %	5	3,74%
<i>Gelasinospora tetrasperma</i>	-	-	12	8,95%
<i>Gibberella moniliformis</i>	1	0,71%	-	-
<i>Humicola fuscoatra</i>	1	0,71%	1	0,75%
<i>Neopestalotiopsis</i> sp.	1	0,71%	-	-
<i>Penicillium pinophilum</i>	5	3,6%	10	7,46%
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	1	0,71%	-	-
<i>Pseudocochliobolus eragrostides</i>	48	34,29%	21	15,67%
<i>Rhizoctonia zeae</i>	2	1,42%	-	-
<i>Setosphaeria rostrata</i>	-	-	3	2,23%
<i>Talaromyces assiutensis</i>	2	1,42%	3	2,23%
Não identificados	8	5,71%	16	11,94%
Total de isolados	140		134	

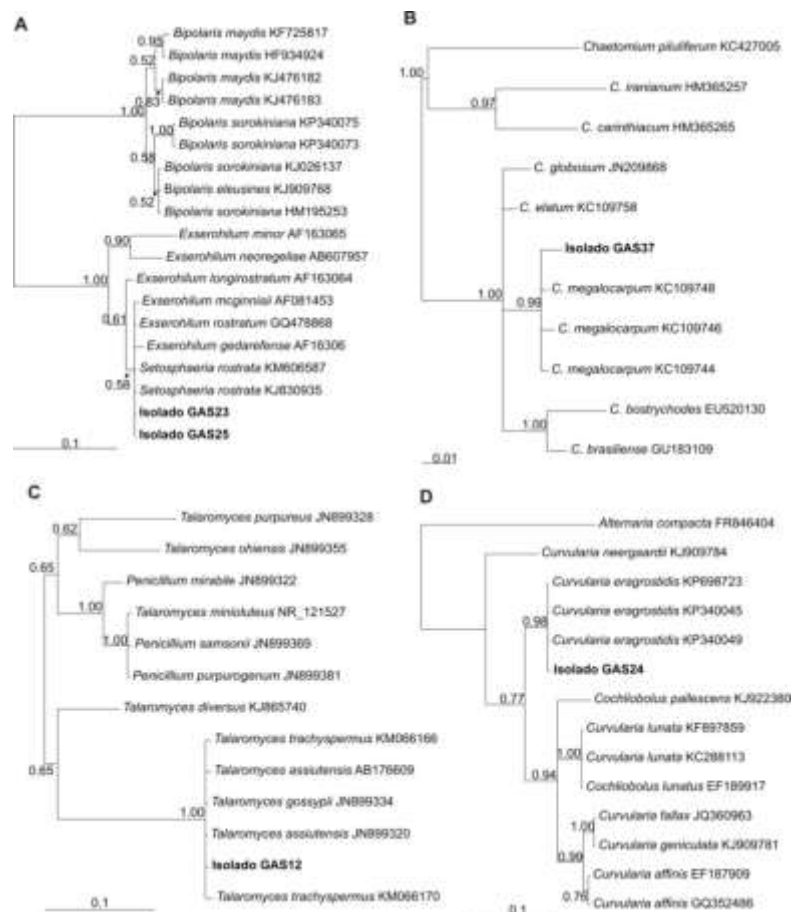


Figura 1: Filograma obtido a partir de análises de sequências da região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento das espécies: A. *Setosphaeria rostrata*, B. *Chaetomium megalocarpum*, C. *Talaromyces assiutensis* e D. *Pseudocochliobolus eragrostides*. Valores de suporte são da análise bayesiana. Sequências obtidas nesse estudo são mostradas em negro.

CONCLUSÕES

Foram isoladas 19 espécies de fungos endofíticos em raízes de *Sorghum bicolor*, os gêneros *Fusarium* e *Pseudocochliobolus* apresentaram o maior número de isolados. Os fungos endofíticos estão bem distribuídos nas raízes do Sorgo e possivelmente tem papel importante na manutenção e desenvolvimento dessa planta.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao programa de IC da UFPE pelo apoio financeiro, ao fornecimento de materiais e auxílio na identificação dos fungos por Rafael José Vilela de Oliveira e Rejane Maria Ferreira da Silva.

REFERÊNCIAS

- BUZO, W.H.D. et al. Utilização do sorgo forrageiro na alimentação animal. *PUBVET*, Londrina, V. 5, N. 23, Ed. 170, Art. 1145, 2011.
- COSTA, R. V., et al. 2003. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**. V.28, n.4. Brasília.
- DOMSCH, K.H., GAMS, W., ANDERSON, T.H. 1993. Compendium of soil fungi. Verlag: IHW, 1264p.
- ELLIS, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. England. **Common wealth Mycological Institute**, Kew, 608p.
- ELLIS, M.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. **Common wealth Mycological Institute**, Kew, 507p.
- GÓES-NETO, A., LOGUERCIO-LEITE, C., GUERRERO, R. T. DNA Extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: perform of SDS and CTAB-based methods. **Biotemas**18(2): p.19-32, 2005.
- KIRK, P.M., COOPER, J. 2005 *Index Fungorum – Authors of Fungal Names*. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/>> Acesso em: 09 de Setembro 2015.
- LARKIN, M.A. et al. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948.
- KALIYAPERUMAL, M., KALAICHELVAN, P.T. 2008. *Ganoderma australe* from southern India. *Microbiological Research* 163: 286-292.
- MILNE, I. et al. 2004. TOPALi: Software for Automatic Identification of Recombinant Sequences within DNA Multiple Alignments. *Bioinformatics* 20: 1806–1807.
- RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- SALES JUNIOR, R. et al. Controle biológico de *Monosporascus cannonballus* com *Chaetomium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 70-74, 2007.
- ST-AMAUD M, VUJANOVIC V. 2007. Effect of the arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant diseases and pests. In: (Hamel C, Plenchette C. eds). **Mycorrhizae in crop production: applying knowledge**. Haworth, Binghampton, N.Y.
- VENTURA, J.A., COSTA, H. 2006. Epidemiologia e manejo das doenças causadas por *Fusarium*. **Fitopatologia brasileira** 31: 93.
- WHITE, T. J., et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, pp 315–322.
- ZILDA, E.P et al. Fungal endophytes of sorghum in Burkina Faso - Occurrence and distribution. *African Journal of Microbiology Research*. 8:46, 2014