

Workshop "Investigação em
Olivicultura e Azeite -
Resultados e Aplicações"

27 e 28 de junho 2013
Universidade de Évora



Isolamento e seleção de fungos endofíticos da oliveira para luta biológica contra *Colletotrichum acutatum* e *Verticillium dahliae*

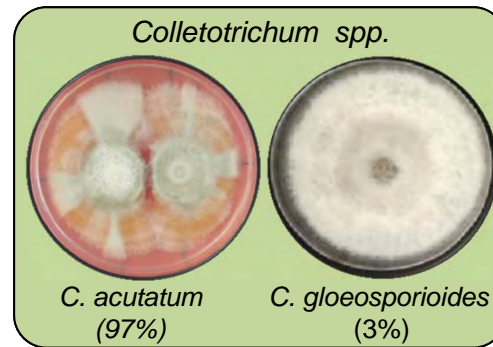
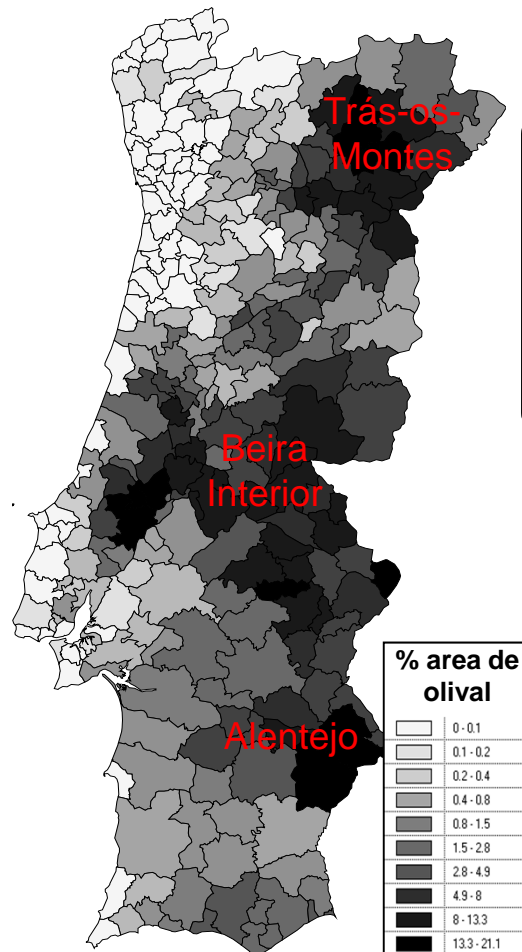
Paula Baptista



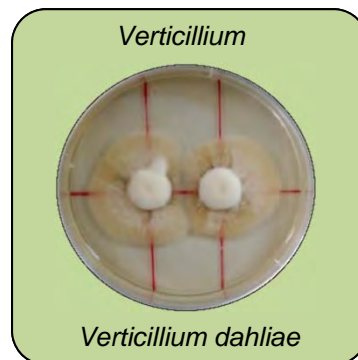
Centro de Investigação de Montanha (CIMO) / Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança
pbaptista@ipb.pt

Introdução

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma cultura de grande importância nos países da bacia do Mediterrâneo, incluindo Portugal

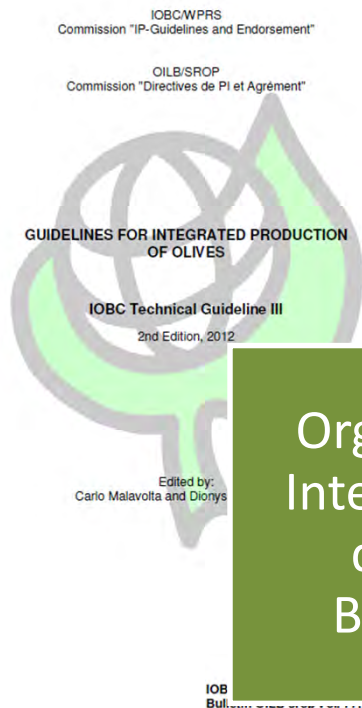


Significantes perdas na produção



Introdução

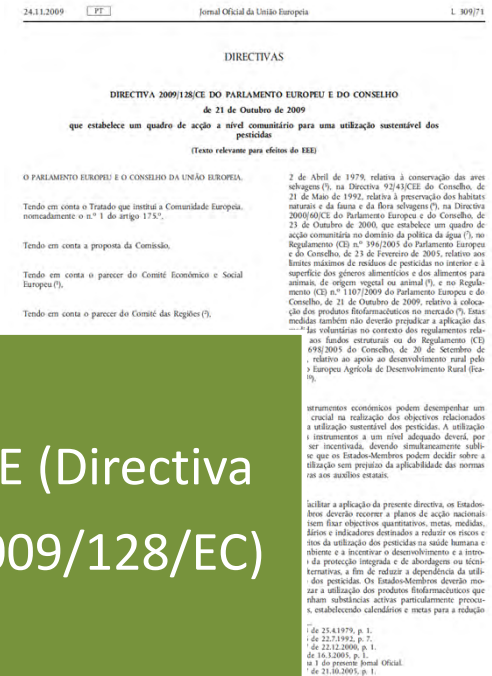
Nas últimas décadas, ao nível europeu



Organização
Internacional
de Luta
Biológica

Fomento de modos
de produção
sustentável, com
destaque para o uso
da **luta biológica**

UE (Directiva
2009/128/EC)



Pesquisa de agentes de luta biológica contra a gafa e a verticilose

Introdução

Aos **fungos endofíticos** foi-lhes recentemente reconhecido potencial:

- no aumento da resistência das plantas a agentes patogénicos
- como agentes de luta biológica



Planta hospedeira

Nutrição e Proteção



- Tolerância/resistência contra stresses abióticos e bióticos
- Aumento de crescimento e enraizamento



Fungo endófito

- Avaliar a diversidade de fungos endofíticos em 3 cultivares:

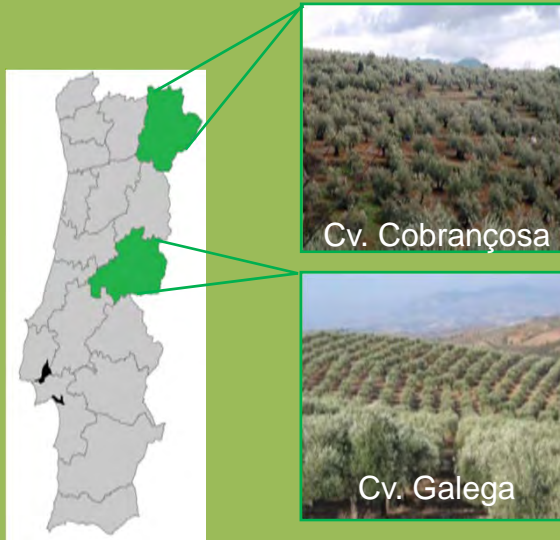


 Gafa	Suscetível	Tolerante	Mod. tolerante
 Verticilose	?	Suscetível	Tolerante

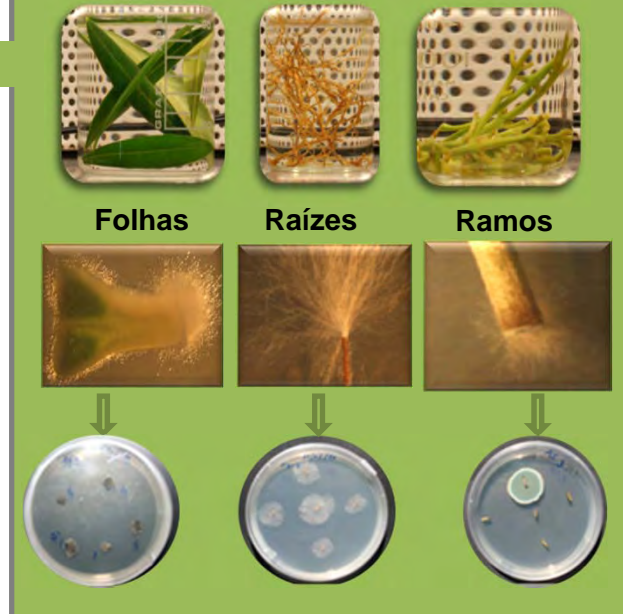
- Selecionar os isolados endófitos com maior potencialidade na luta biológica contra *C. acutatum* e *V. dahliae*

Metodologia

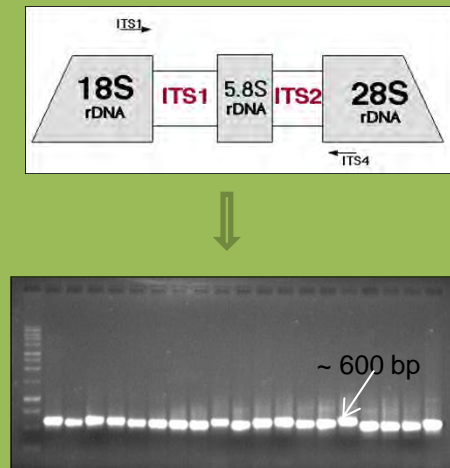
Colheita do material vegetal



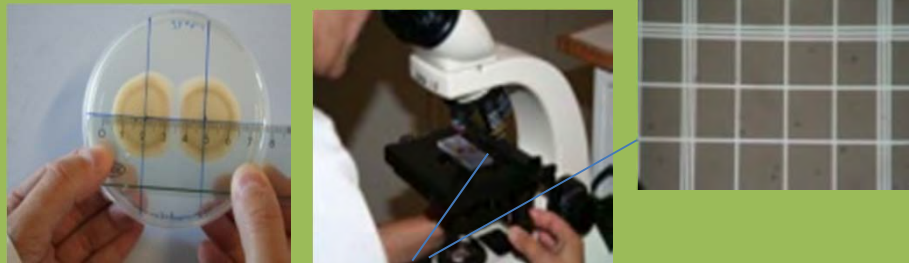
Isolamento de FE



Identificação dos isolados pela sequenciação da região ITS do rDNA



Caracterização macro e microscópica das co-culturas



Estabelecimento de co-culturas com *C. acutatum* e *V. dahliae*



Resultados

Comunidade de fungos endofíticos

cv. Cobrançosa

5250 Segmentos
(19% colonizados com EF)

976 isolados

27 Géneros

38 sp.



cv. Galega

525 Segmentos
(23% colonizados com EF)

130 isolados

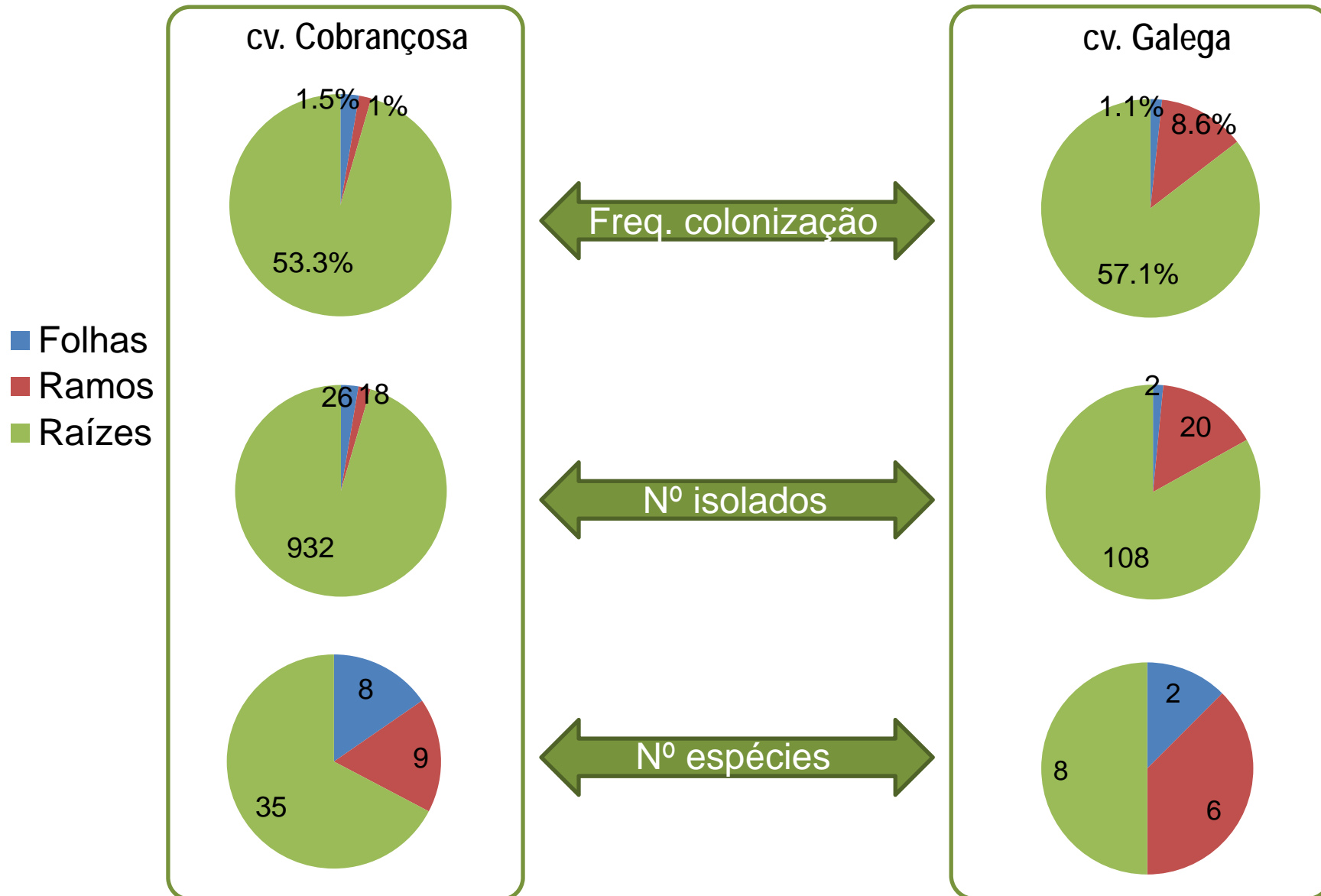
8 Géneros

12 sp.



Resultados

Comunidade de fungos endofíticos

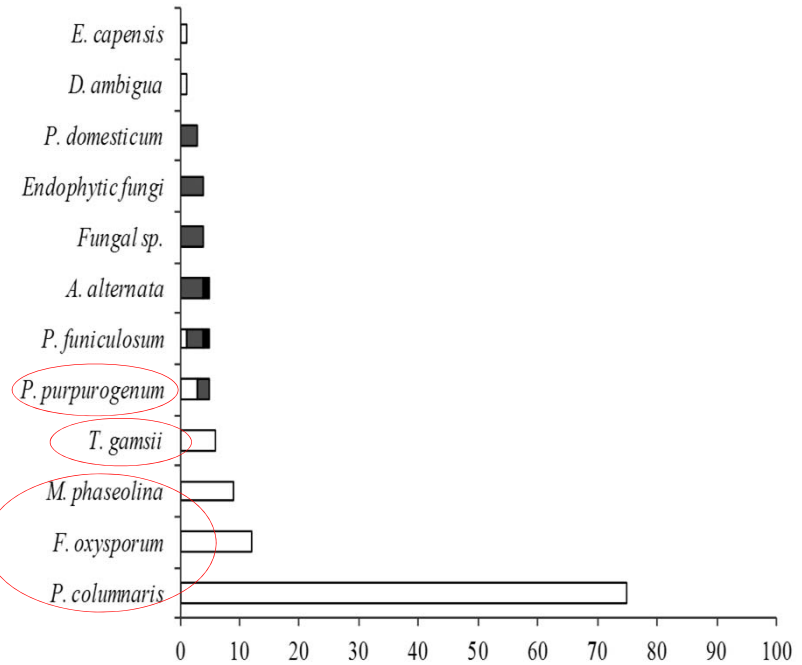
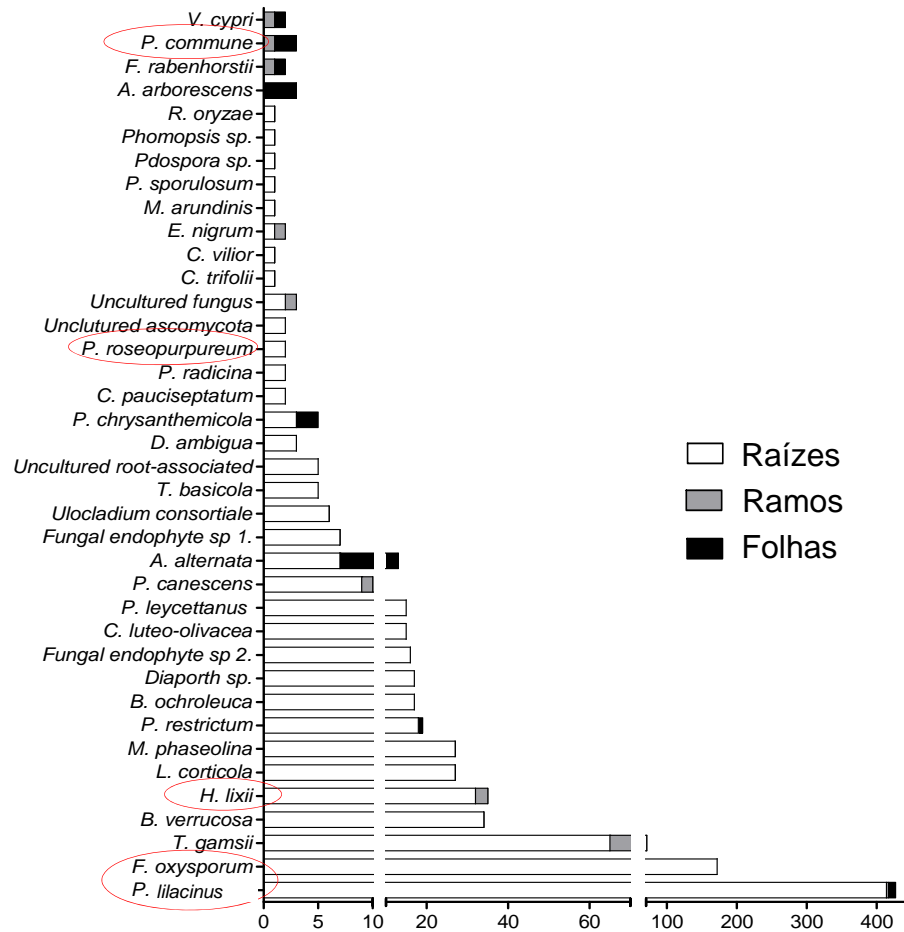


Resultados

Comunidade de fungos endofíticos

cv. Cobrançosa

cv. Galega

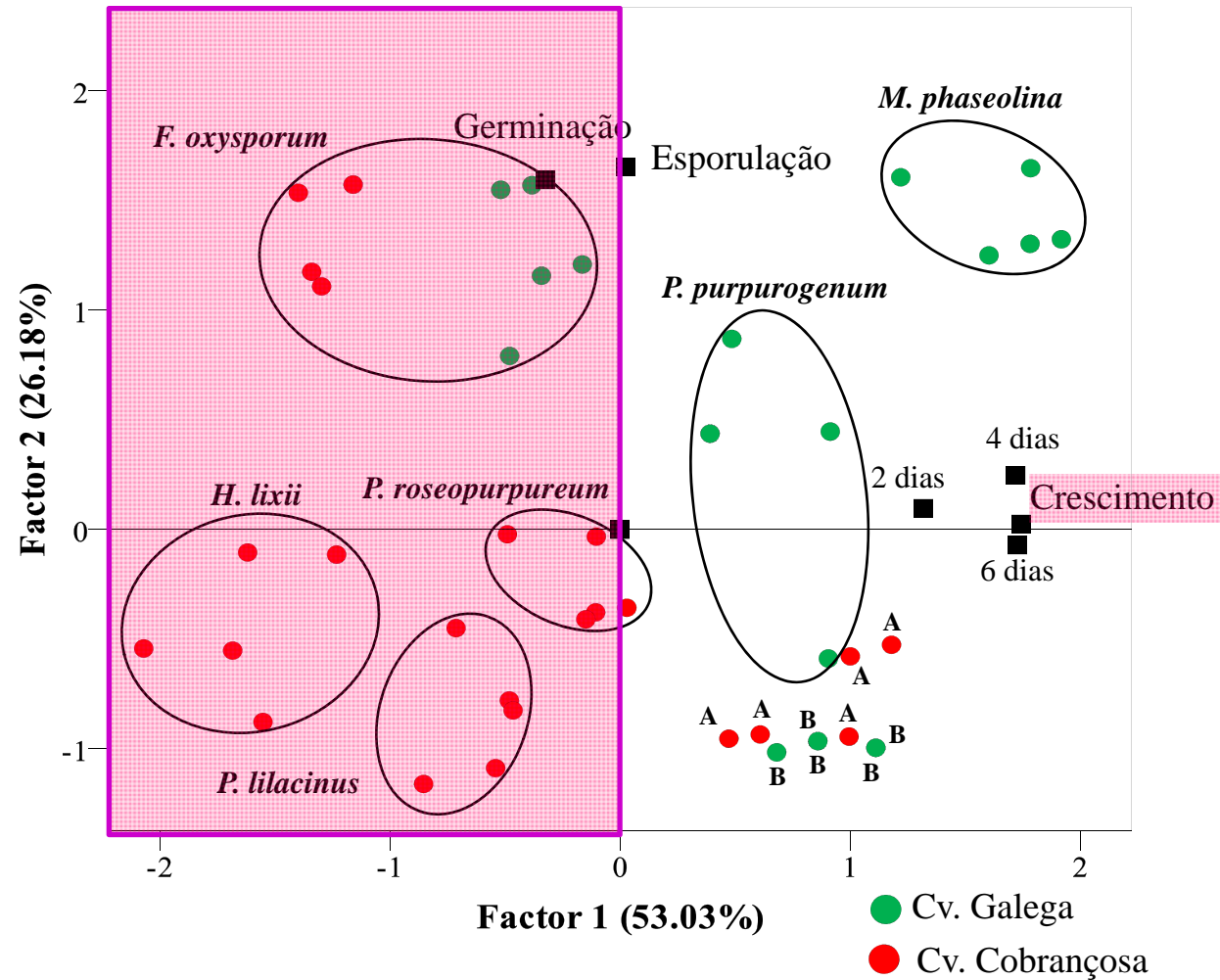
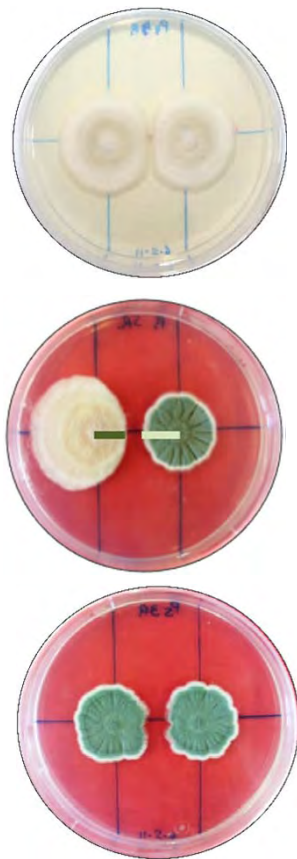


Abundância

Abundância

Resultados

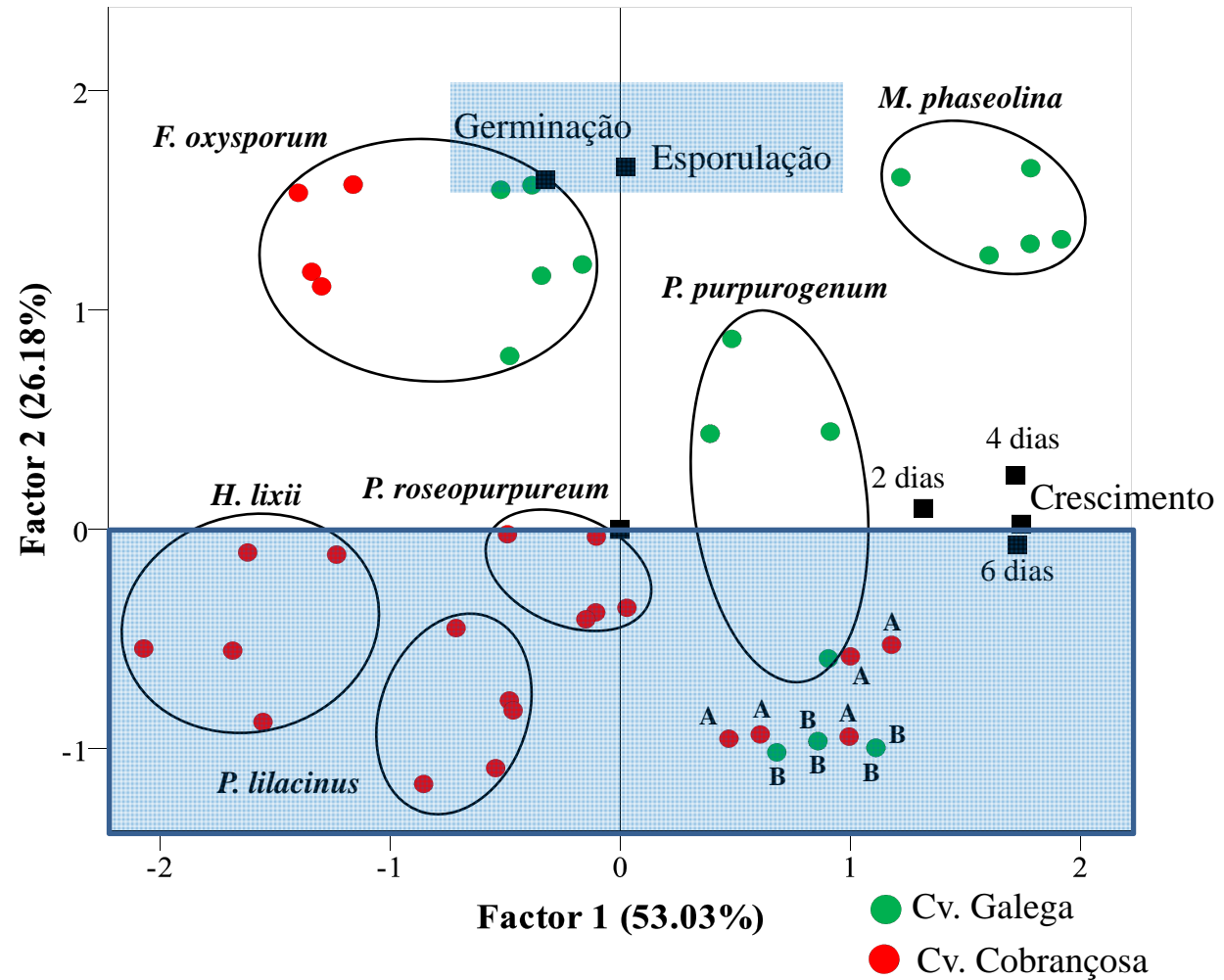
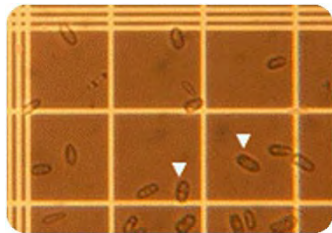
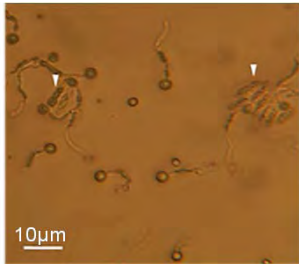
Efeito dos fungos endófitos das cvs. Cobrançosa e Galega no **crecimento**, esporulação e germinação de *C. acutatum*



Os dois fatores explicam 79.21% da variância total.
A – *P. commune*; B – *T. gamsii*.

Resultados

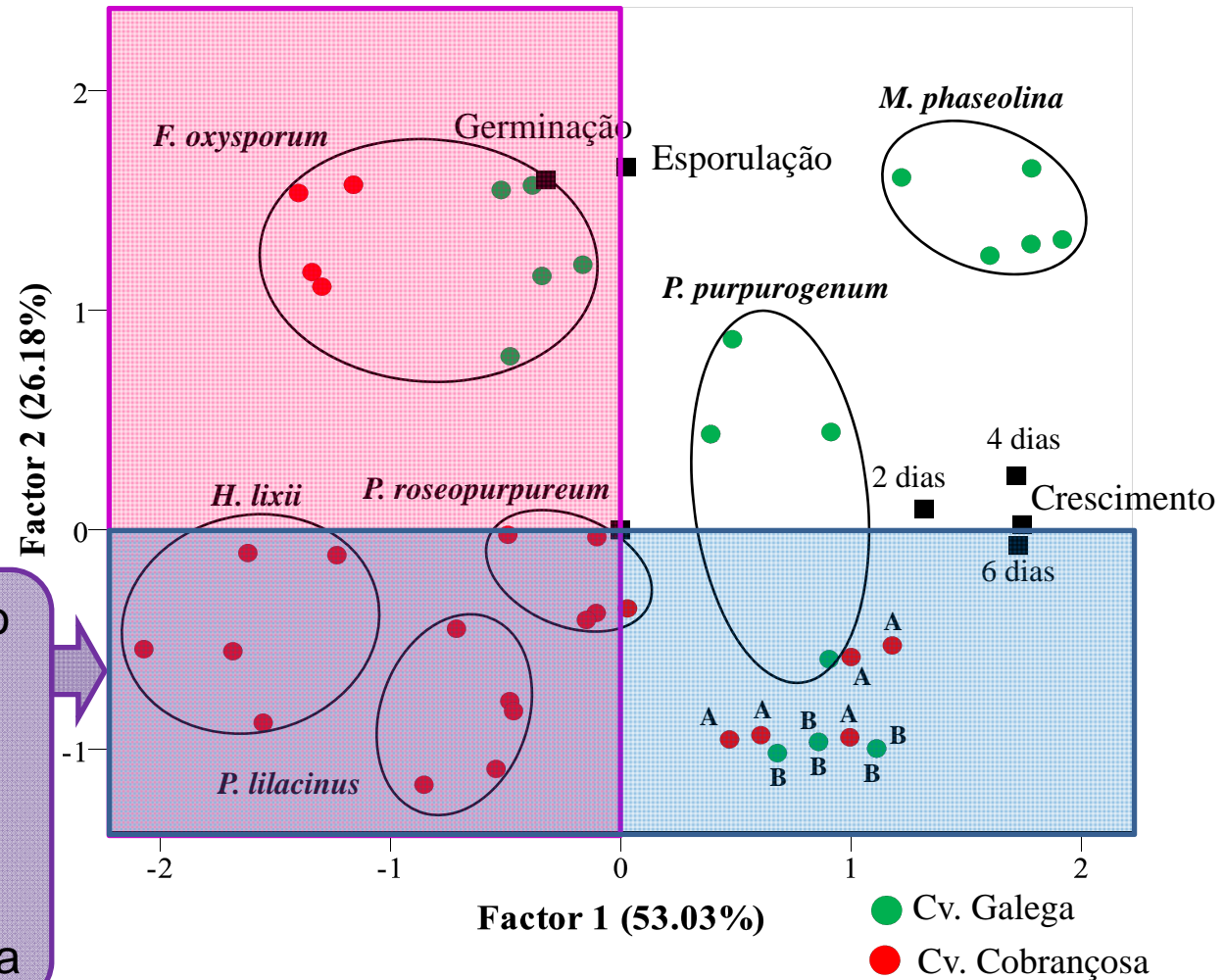
Efeito dos fungos endófitos das cvs. Cobrançosa e Galega no crescimento, esporulação e germinação de *C. acutatum*



Os dois fatores explicam 79.21% da variância total.
A – *P. commune*; B – *T. gamsii*.

Resultados

Efeito dos fungos endófitos das cvs. Cobrançosa e Galega no crescimento, esporulação e germinação de *C. acutatum*



Os FE com maior efeito inibitório no:

- crescimento,
- esporulação,
- e germinação

de *C. acutatum* foram isolados da Cobrançosa

Os dois fatores explicam 79.21% da variância total.
A – *P. commune*; B – *T. gamsii*.

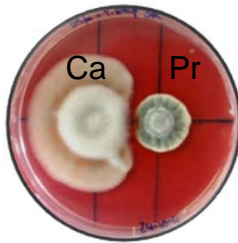
Resultados

cv. Cobrançosa

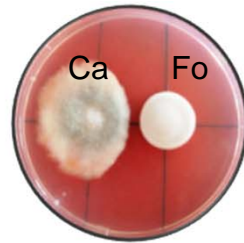
Macroscópicas

Co-antagonismo

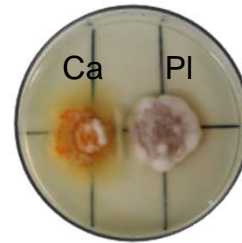
Antagonismo



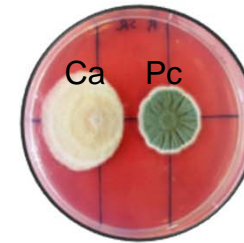
(-/-)



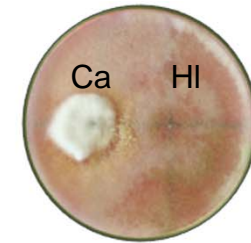
(-/-)



(-/-)



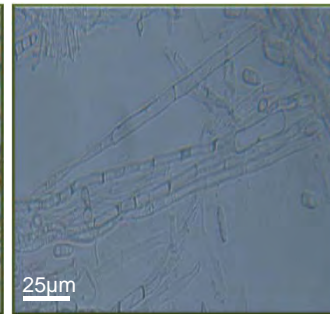
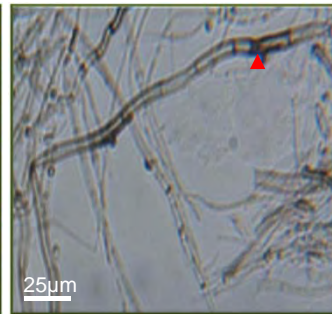
(-/0)



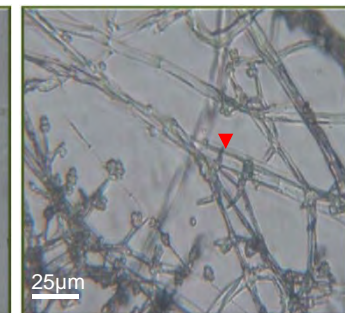
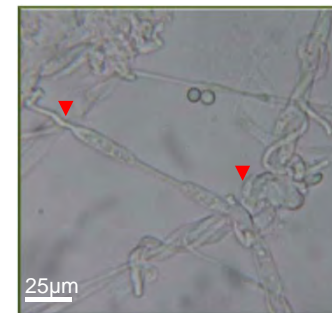
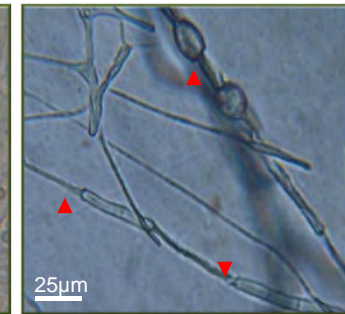
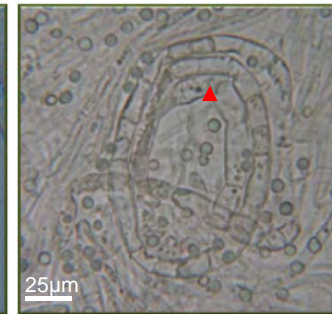
(-/0)



Microscópicas
(na zona de interação)



Sem alterações



Ca - *Colletotrichum acutatum*
Pr - *Penicillium roseopurpureum*
Fo - *Fusarium oxysporum*
Pl - *Paecilomyces lilacinus*
Pc - *Penicillium commune*
Hl - *Hypocrea lixii*

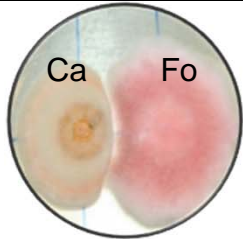
A terminologia usada para descrever as interações foi baseada em Tuininga (2005) *The fungal community*, Taylor and Francis

Resultados

cv. Galega

Macroscópicas

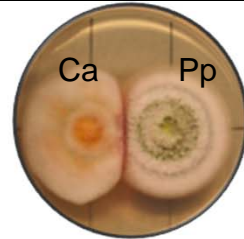
Agonismo



(-/+)



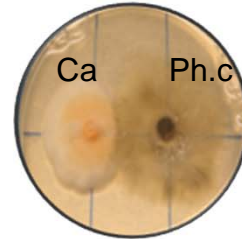
Antagonismo



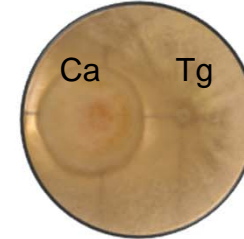
(-/0)



Co-habitação



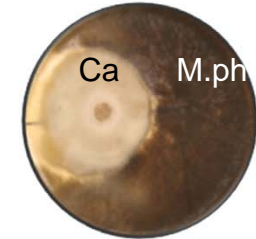
(0/0)



(0/0)



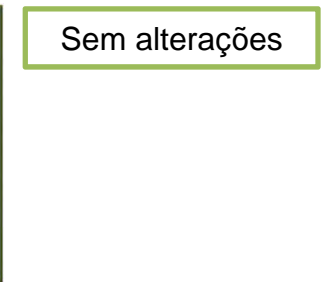
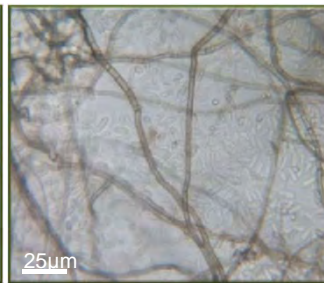
Agonismo



(+/-)



Microscópicas
(na zona de interação)

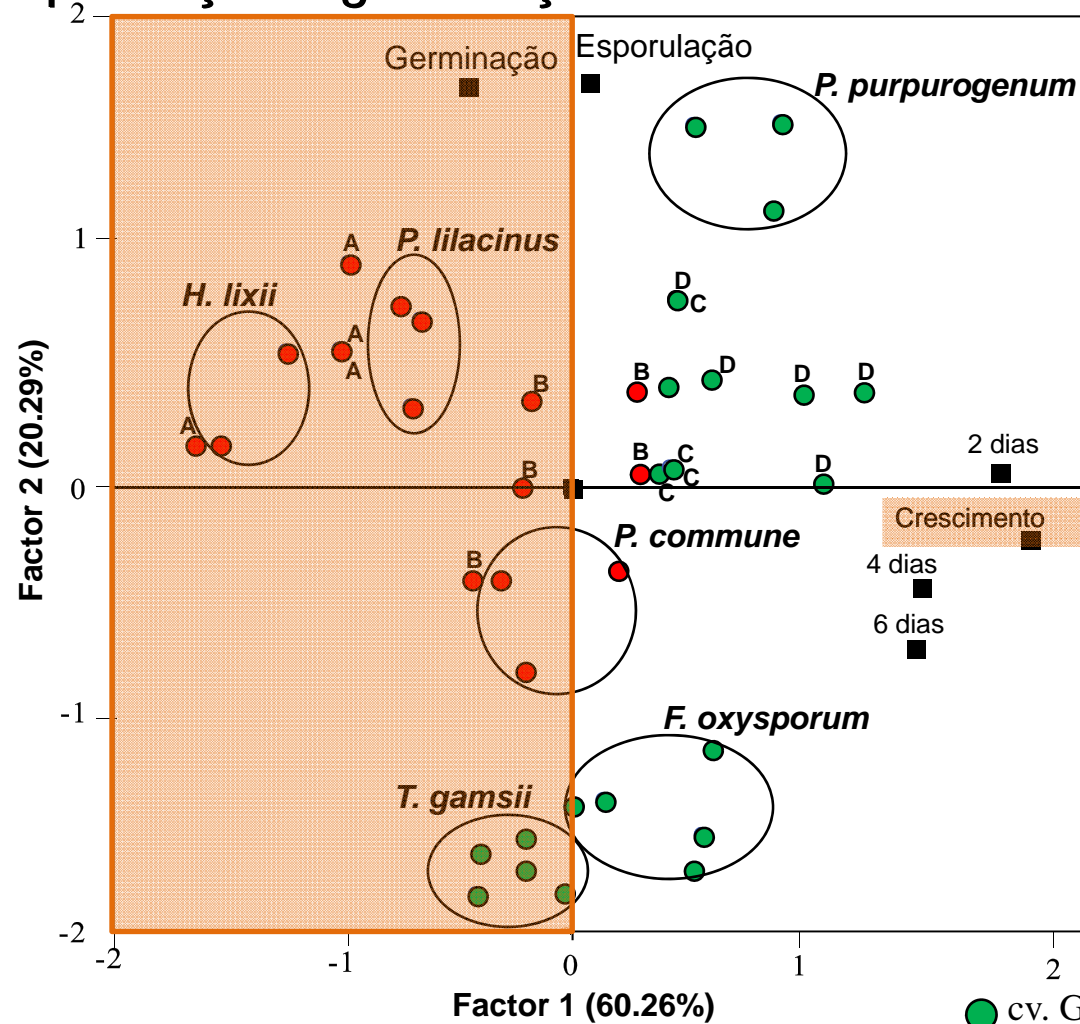
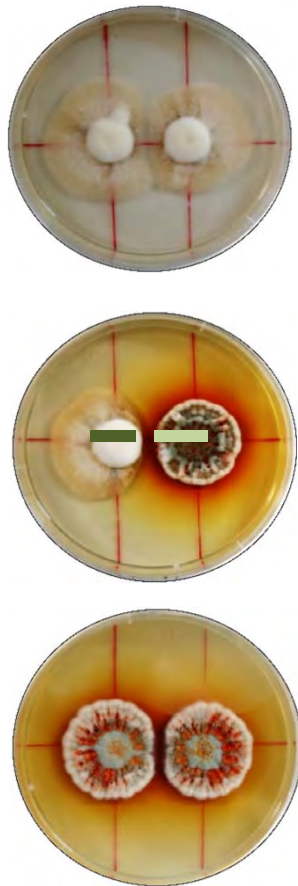


Sem alterações

Ca - *Colletotrichum acutatum*; Fo - *Fusarium oxysporum*; Pp - *Penicillium purpurogenum*; Ph.c - *Phomopsis columnaris*
Tg - *Trichoderma gamsii*; M.ph - *Macrophomina phaseolina*;

Resultados

Efeito dos fungos endófitos das cvs. Cobrançosa e Galega no **crecimento**, esporulação e germinação de *V. dahliae*

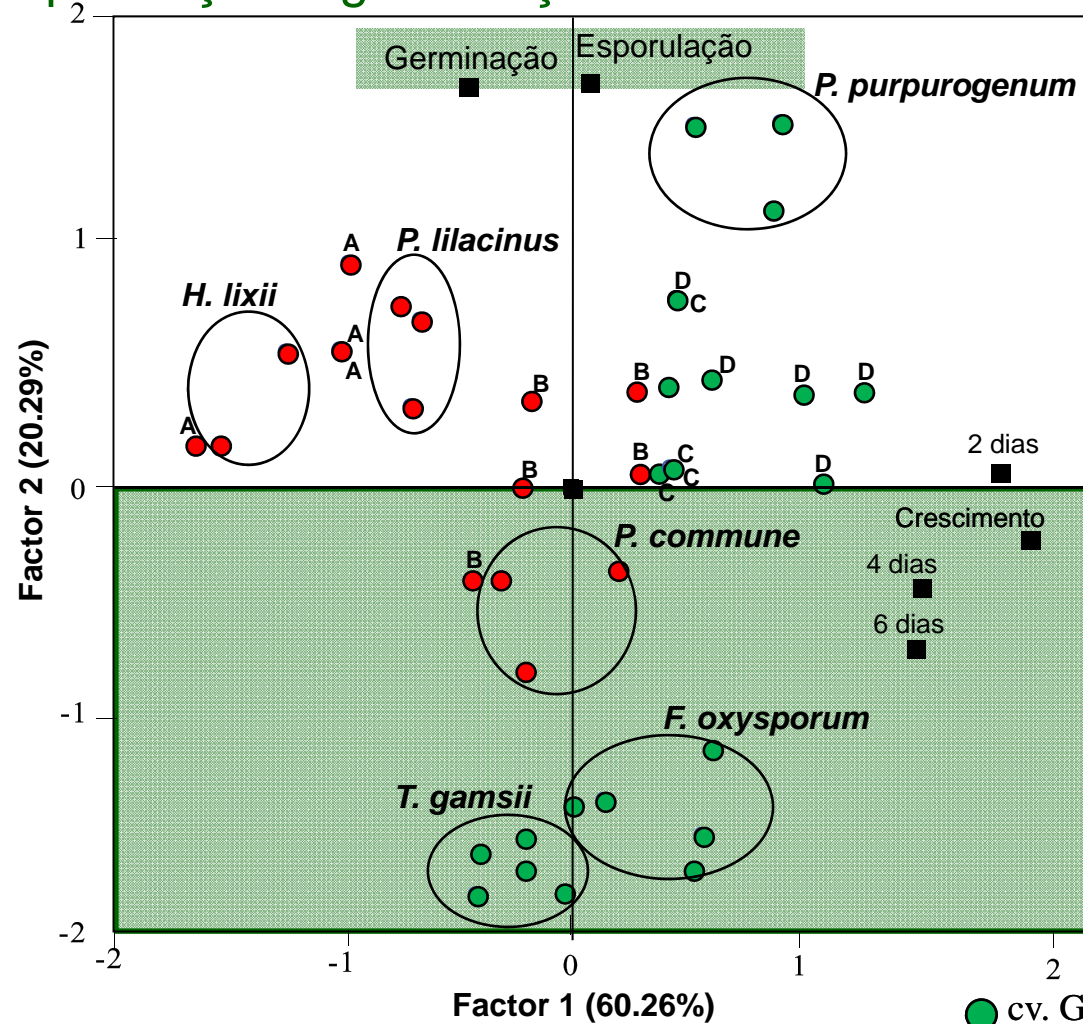
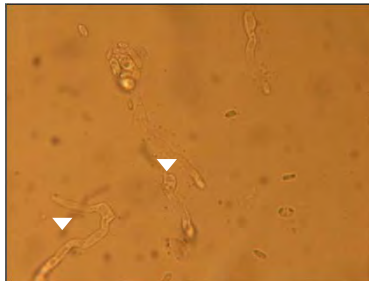
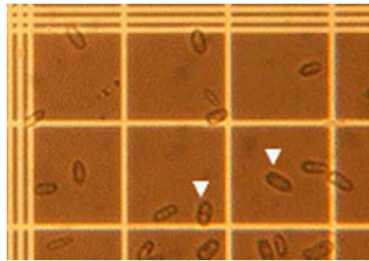


Os dois fatores explicam 80.55% da variância total.

A- *P. roseopurpureum*; B- *F. oxysporum*; C- *M. phaseolina*; D- *Ph.columnaris*.

Resultados

Efeito dos fungos endófitos das cvs. Cobrançosa e Galega no crescimento, esporulação e germinação de *V. dahliae*



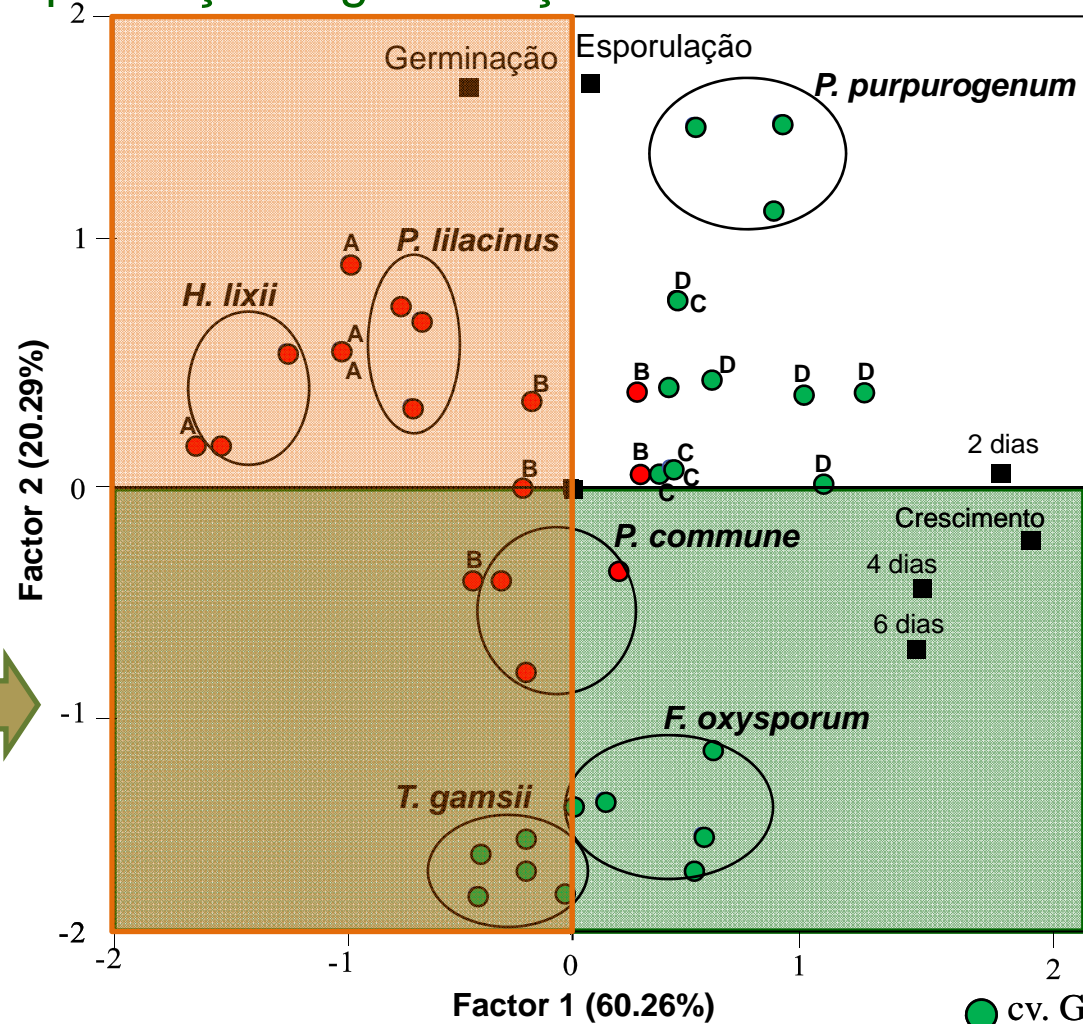
Os dois fatores explicam 80.55% da variância total.

A- *P. roseopurpureum*; B- *F. oxysporum*; C- *M. phaseolina*; D- *Ph.columnaris*.

Resultados

Efeito dos fungos endófitos das cvs. Cobrançosa e Galega no **crescimento**, **esporulação** e **germinação** de *V. dahliae*

Os FE com maior efeito inibitório:
 - no crescimento foram isolados da cv. Cobrançosa
 - na esporulação e germinação foram isolados da cv Galega



Os dois fatores explicam 80.55% da variância total.

A- *P. roseopurpureum*; B- *F. oxysporum*; C- *M. phaseolina*; D- *Ph.columnaris*.

● cv. Galega

● cv. Cobrançosa

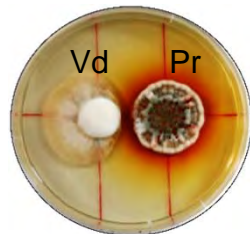
Resultados

cv. Cobrançosa

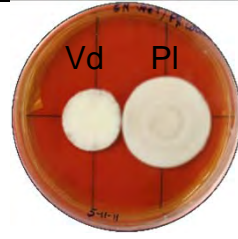
Antagonismo

Agonismo

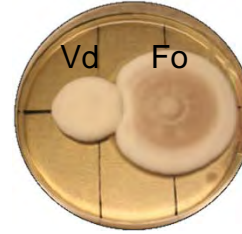
Macroscópicas



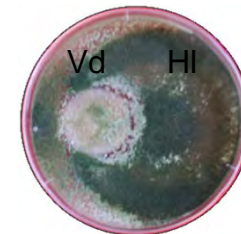
(-/0)



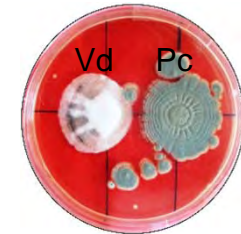
(-/0)



(-/0)



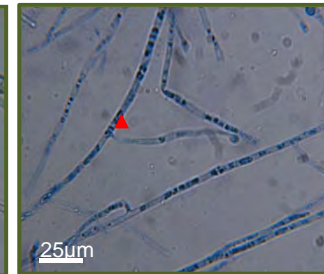
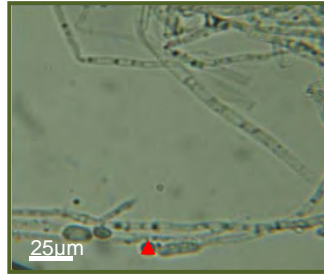
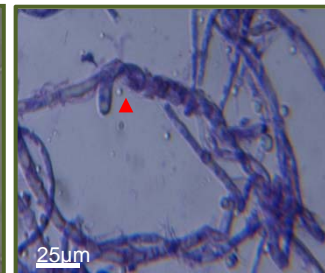
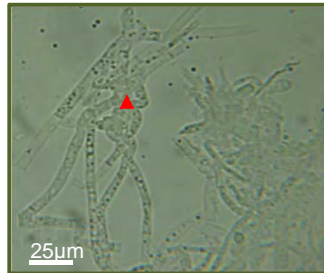
(-/+)



(-/+)



Microscópicas
(na zona de interação)



Vd - *Verticillium dahliae*; Pr - *Penicillium roseopurpureum*; Pl - *Paecilomyces lilacinus*; Fo - *Fusarium oxysporum*; Hl - *Hypocrea lixii*; Pc - *Penicillium commune*.

Resultados

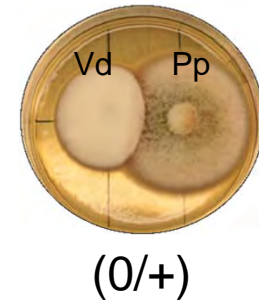
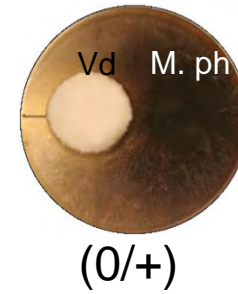
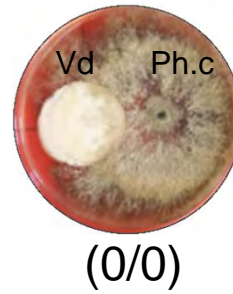
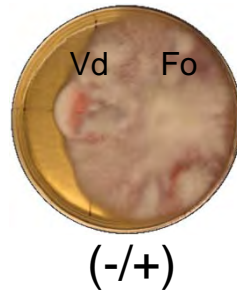
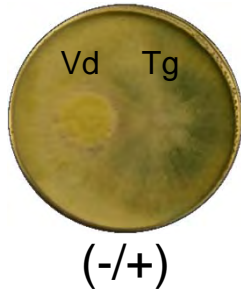
cv. Galega

Macroscópicas

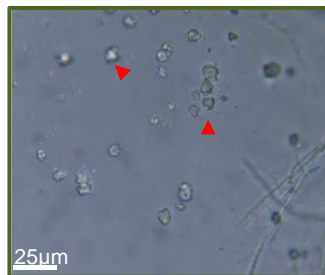
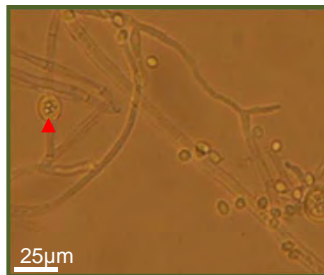
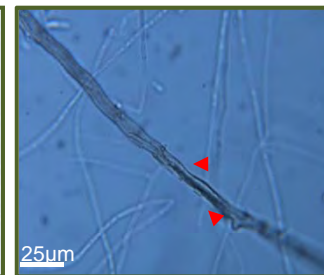
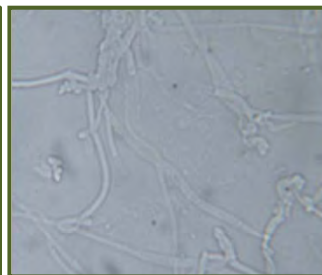
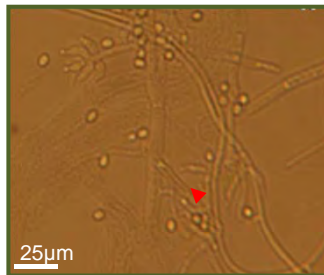
Agonismo

Co-habitação

Comensalismo



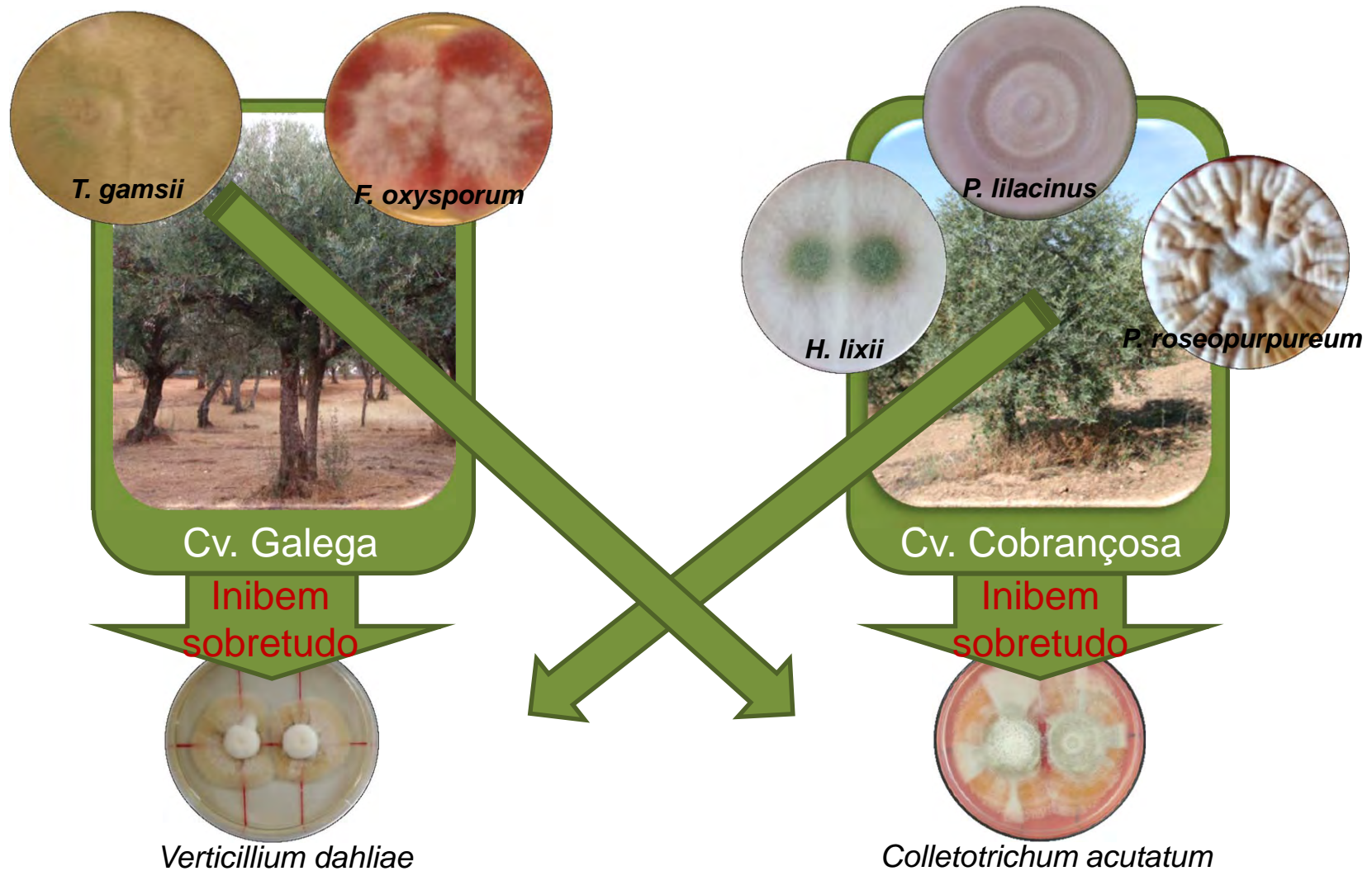
Microscópicas
(na zona de interação)



Vd - *Verticillium dahliae*; Tg - *Trichoderma gamsii*; Fo - *Fusarium oxysporum*; Ph.c - *Phomopsis columnaris*;
M. ph - *Macrophomina phaseolina*; Pp - *Penicillium purpurogenum*

Conclusões

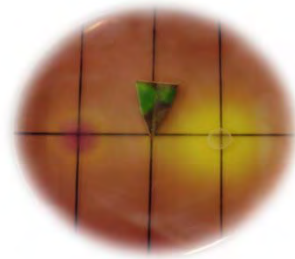
A frequência de colonização por FE nas duas cultivares de oliveira foram muito similares e, superior, nas raízes face aos restantes órgãos analisados



Conclusões

A **resistência/suscetibilidade** destas duas cultivares à gafa da oliveira e à verticilose poderá, em parte, estar relacionada com a presença de **fungos endofíticos antagonistas** destes fitopatogénios

Apesar destas 5 espécies constituírem potenciais agentes de luta biológica da gafa da oliveira e da verticilose, é necessário confirmar a sua ação antagonista contra *C. acutatum* e *V. dahliae* em condições *in vivo*, através da realização de ensaios na planta!



Agradecimentos



Fundação para a Ciência e a Tecnologia
MINISTRO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR

GOVERNO DA REPÚBLICA PORTUGUESA



PTDC/AGR-PRO/4354/2012
PTCD/AGR AAM/102600/2008



Teresa Lino-Neto
BioFig/UMinho



INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA
Escola Superior Agrária



Laboratório Agrobiotecnologia



Albino Bento
IPB/ESA



José Alberto Pereira
IPB/ESA



Fátima Martins
IPB/ESA



Paulo Bota
IPB/ESA



Amaya Vilches
Universidade Heidelberg