



ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA *IN VITRO* DE FUNGOS FOLIARES ISOLADOS DE *Passiflora* spp. L. (PASSIFLORACEAE) CONTRA O FUNGO FITOPATOGÊNICO *Fusarium* sp.

*Maria Carolina dos Santos e Silva*¹; *Vagner Alexandre Bongiorno*²; *João Lúcio de Azevedo*³; *João Alencar Pamphile*⁴

RESUMO: Microrganismos endofíticos, geralmente fungos e bactérias, vivem sistematicamente no interior das plantas, sem causar aparentemente dano a seus hospedeiros. Os endófitos habitam um nicho ecológico bastante semelhante àqueles ocupados por fitopatógenos que permite controlá-los por competição, produção de substâncias antibióticas, parasitismo, ou mesmo induzir o vegetal a desenvolver resistência à doença. O maracujazeiro é uma planta de clima tropical, encontrado em todo território brasileiro, onde apresenta excelentes condições ecológicas para o seu cultivo. O fitopatógeno *Fusarium* sp. causa doenças de plantas, como feijão, milho e uva, afetando economicamente a agricultura. Este trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade antagonística de isolados endofíticos foliares de maracujazeiro contra o fungo fitopatogênico *Fusarium* sp. A técnica de Cultura Pareada: os fungos endofíticos e o fitopatógeno foram repicados e inoculados em placas de Petri contendo meio BDA e incubados a 28°C por sete dias. Após esse período, retirou-se fragmentos de 6mm² de cada um dos fungos endofíticos e do fitopatógeno que foram inoculados em placa de Petri em pólos opostos, mantendo distância de 2cm entre os dois fungos testados. Os testes foram realizados em triplicata, inoculados a 28°C por sete dias. O Índice de Antagonismo (AI) foi calculado para todas as linhagens endofíticas testadas de acordo com a fórmula: $AI = (RM - rm) / RM \times 100$. A análise das interações endofíticas foi baseada na escala de Badalyan de acordo com três tipos de interações A, B, C. Os endófitos apresentaram índice de antagonismo entre 47% a 69% contra o fitopatógeno *Fusarium*.

PALAVRAS-CHAVE: Endófitos; Maracujazeiro; Cultura pareada.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com Azevedo (2002), 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.

¹ Acadêmica do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. Projeto PIBIC. mariacarol_oi@hotmail.com

² Mestrando em Biologia Comparada da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. Bolsista da CAPES. vagnerbongiorno@gmail.com

³ Pesquisador Visitante Nível 1 do CNPq no Departamento de Biologia Celular e Genética - UEM. jazevedo@esalq.usp.br

⁴ Orientador, Professor Doutor do Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. prof.pamphile@gmail.com

Plantas medicinais ou com propriedades terapêuticas estão sendo cada vez mais analisadas a partir de pressupostos de sua interação com microrganismos endofíticos os quais tem apresentado diversos benefícios como produtores de antibióticos e metabólitos secundários de interesse farmacológico (Pileggi, 2002).

O maracujá-azedo ou maracujá-amarelo, *Passiflora* spp. L. (Passifloraceae) é uma planta de clima tropical, encontrado em todo território brasileiro, onde apresenta excelentes condições ecológicas para o seu cultivo. É originário da América Tropical, com mais de 150 espécies nativas do Brasil. Na classificação Botânica, a planta é uma dicotiledônea, trepadeira, de grande porte, lenhosa, vigorosa e de crescimento rápido, podendo atingir 10 metros de comprimento. Atualmente o Brasil é o maior produtor e consumidor mundial, onde apresentou em 2006, uma produção superior a 600 mil toneladas, com área de aproximadamente 45 mil hectares (IBGE, 2008). O maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e a espécie mais cultivada pois representa 97% da área plantada e do volume comercializado em todo país com 60% da produção destinada ao consumo *in natura* e o restante destinado as indústrias de processamento.

Os endofíticos habitam um nicho ecológico bastante semelhante àqueles ocupados por fitopatógenos, permitindo, assim, controlá-los por competição, produção de substâncias antibióticas, parasitando o patógeno ou mesmo induzindo o vegetal a desenvolver resistência à doença (Azevedo *et al.*, 2002).

Fusarium sp. é um gênero de fungo filamentoso cosmopolita amplamente distribuído em plantas e no solo. Este fitopatógeno pode produzir micotoxinas em cereais e grãos estocados, o que pode afetar a saúde de humanos e animais (Martins, 2005). O gênero *Fusarium* sp. causa algumas das mais importantes doenças de plantas, afetando economicamente a agricultura. Culturas como feijão, milho, uva e inúmeras outras podem sofrer grandes prejuízos por causa desse fungo (Brum, 2006).

O objetivo desse trabalho foi o de avaliar a atividade antagonística de endófitos de maracujazeiro contra o fungo fitopatogênico *Fusarium* sp..

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização da cultura pareada, foram utilizados sete fungos endofíticos isolados de quatro plantas de *Passiflora* spp., sendo duas plantas de maracujá doce e duas plantas de maracujá azedo.

A técnica de Cultura Pareada foi realizada de acordo com Campanile *et al.* (2007), modificada. Os fungos endofíticos e o fitopatógeno foram repicados e inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, modificado por Pamphile (1997) e, posteriormente, incubados a 28°C por sete dias. Após esse período, foram retirados fragmentos de 6mm² de cada um dos fungos endofíticos e do fitopatógeno e inoculados em placa de Petri em pólos opostos, mantendo uma distância de 2cm entre os dois fungos testados. Os testes foram realizados em triplicata, bem como, o controle negativo sem o endofítico. As placas foram incubadas a 28°C por sete dias.

O Índice de Antagonismo (AI) foi calculado para todas as linhagens endofíticas testadas de acordo com a fórmula: $AI = (RM - rm) / RM \times 100$, onde: RM = média dos raios nas outras três direções e rm = raio da colônia em direção ao antagonismo. A análise das interações endofítico-fitopatógeno foi baseada na escala de Badalyan *et al.* (2002), de acordo com três tipos de interações: A, B e C, sendo C dividida em 4 subcategorias (CA1, CA2, CB1 e CB2), onde: A= “deadlock” com contato micelial, B= “deadlock” à distância, C= crescimento do endofítico sobre o fitopatógeno sem “deadlock” inicial; CA1 e CA2= crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial, CB1 e CB2= crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial à distância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados testados contra o fitopatógeno *Fusarium* sp. apresentaram índice de antagonismo entre 47% a 69%. O isolado G5P1.63 apresentou índice de antagonismo de 66,26%. O isolado G6P3.7 apresentou índice de antagonismo de 66,16%. Os endófitos G6P3.7.1 e G16P1.70 apresentaram índice de antagonismo de 63,36% e 63,74%, respectivamente. Os isolados G17P1.87 e G18P3.23 apresentaram, respectivamente, índice de 69,53% e 57,62%. Seguindo a escala de Badalyan, a maioria dos endófitos apresentaram interação do tipo “CA1”, sobreposição parcial após “deadlock” com contato micelial, sendo que apenas o endófito G17P1.87 apresentou interação do tipo “A”, “deadlock com contato micelial (Tabela1). Para Mejía *et al.* (2008), o endofítico que se apresenta como controlador biológico deve possuir uma boa colonização e índice de crescimento combinado com graus de antibiose. A afirmação deste autor sugere a importância de combinar informações de campo com testes *in vitro* para obter resultados satisfatórios nas escolhas de controladores biológicos. Os resultados de antagonismo mostram que os isolados do maracujazeiro são promissores para o controle do fitopatógeno.

Tabela 1: Índice de antagonismo e tipo de interação dos isolados.

Linhas	Índice De Antagonismo (%)	Tipo de Interação
G5 P1.63	66,26	CA1
G6 P3.7	66,16	CA1
G6 P3.7.1	63,36	CA1
G16 P1.70	63,74	CA1
G17 P1.87	69,53	A
G18 P3.23	57,62	CA1

Fonte: Autores.

4 CONCLUSÃO

Os isolados endofíticos foliares de *Passiflora* spp. apresentaram inibição em cultura pareada contra o fungo fitopatogênico *Fusarium* sp.. A possibilidade do emprego de endófitos como antagonistas do fitopatógeno mostra-se importante, pois terá um baixo impacto ambiental, por se tratar de fungos que não devem causar danos em plantas. Esses estudos, utilizando isolados de maracujazeiro são de caráter preliminar, mas abrem um importante leque de opções do ponto de vista biotecnológico na obtenção futura de produtos bioativos de importância agrônômica.

REFERÊNCIAS

BADALYAN, S. M., et al.. Antagonistic activity of xylophilic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathologia Mediterranea**. 41, 200–225. 2002

BRUM, M. C. P. Microrganismos endofíticos da videira Niágara rosada (*Vitis labrusca* L.) e o controle biológico de *Fusarium*. **Dissertação de Mestrado**, Universidade de Mogi das Cruzes, 26 p, 2006.

CAMPANILE, G., RUSCELLI, A., & LUISI, N. Antagonistic activity fo endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by *in vitro* and in plant tests. **Eur. J. Plant Patho.**, 117, 237-246. 2007

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA-IBGE. **Maracujá: área plantada e quantidade produzida**. Brasília: IBGE, 2008. (Produção Agrícola Municipal 2008.) Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acessado em: 04 mar. 2011.

MARTINS, M. K. Variabilidade genética de isolados de *Fusarium* spp. e estudo da interação com a planta hospedeira. **Tese de Doutorado**, Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 110 p., 2005.
MEJÍA, L. C.; ROJAS, E. I.; MAYNARD, Z.; BAEL, S. V.; A. ARNOLD, A. E.; HEBBAR, P.; SAMUELS, G. J.; ROBBINS, N.; HERRE, E. A. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. **Biological Control**. 2008.

PAMPFILE, J. A. Variabilidade, transformação genética e transposons em linhagens endofíticas de *Fusarium moniliforme* isoladas de milho (*Zea mays* L.). **Dissertação de Mestrado**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1997, Piracicaba – SP, Brasil.

PILEGGI, M., RAIMAM., P.M. BEATRIZ, S. , BOBATO, V. Ação Antimicrobiana E Interação Endofítica Em *Symphytum officinale* L (Antimicrobial Action And Endophytic Interaction In Symphytum Officinale L). **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, Vol. 8, p. 47-55, 2002.