



TESTE DE ANTAGONISMO UTILIZANDO FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE FOLHAS DE *Mikania glomerata* SPRENG. (ASTERACEA) CONTRA O FITOPATÓGENO *Colletotrichum* sp.

Andressa Domingos Polli¹; Sandro Augusto Rhoden²; Adriana Garcia³; Julio Cesar Polonio⁴; Caroline Menicoze dos Santos⁵; João Alencar Pamphile⁶

RESUMO: Microrganismos endofíticos habitam o interior das plantas, sem causar danos a elas, estabelecendo uma relação simbiótica planta-hospedeiro. As plantas medicinais são alvos em potencial para isolamento de fungos endofíticos com potencial biotecnológico. A *Mikania glomerata*, conhecida popularmente como “guaco”, é utilizada na medicina popular em casos de asma, bronquite e contra a tosse. Foram testados cinco fungos endofíticos isolados de folhas *M. glomerata* contra o fitopatógeno *Colletotrichum* sp. pela técnica de cultura pareada. O fitopatógeno e o fungo endofítico foram inoculados à 4 cm de distância em placas de petri contendo meio de cultura BDA e o controle foi realizado inoculando apenas o fitopatógeno. O índice de inibição percentual (Im%) foi calculado aferindo-se a área de crescimento micelial do fitopatógeno utilizando o software ImageJ 1.46r e comparando estes valores com o controle. O isolado G-58 apresentou interação competitiva do tipo CA1 (crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatógeno após “deadlock” inicial com contato micelial), já as outras linhagens apresentaram interação do tipo A (“deadlock” com contato micelial), em relação a inibição do fitopatógeno os resultados foram positivos em diferentes percentuais. O isolado G-58 se apresentou com o maior índice de inibição com um Im% de 67,16%. Esses fungos apresentam-se com potencial para futuros estudos em sua aplicação no biocontrole de fungos do gênero *Colletotrichum*.

PALAVRAS-CHAVE: Antagonismo; Controle Biológico; Endofíticos; Microrganismos; *Mikania glomerata*.

1. INTRODUÇÃO

Microrganismos endofíticos são aqueles que vivem no interior das plantas, sem causar danos a eles (Lacava et al., 2010). Localizam-se na parte aérea das plantas, principalmente nas folhas, ocupando os espaços intercelulares (Garcia et al., 2012; Rhoden et al., 2012), caracterizando uma relação simbiótica. Embora possam ser confundidos com patógenos latentes, estudos demonstram que em muitos casos existe uma importante interação simbiótica com o hospedeiro, a qual envolve a produção de compostos que diminuem a herbivoria sobre os tecidos vegetais ou conferem resistência

¹ Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia - Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá-Paraná. Bolsista PIBITI/UEM. e-mail: andressa_polli@hotmail.com

² Doutorando do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada – Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: sandro_ar@hotmail.com

³ Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada – Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: adrianagarcia.biologa@gmail.com

⁴ Acadêmico do curso de Tecnologia em Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: julioc_polonio@hotmail.com

⁵ Biomédica e Estagiária do Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. E-mail: carolinemenicoze@hotmail.com

⁶ Orientador Professor Doutor do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: prof.pamphile@gmail.com

a fitopatogênos, além da produção de fitorreguladores que podem aumentar o desenvolvimento vegetal, entre outros (Peixoto-Neto et al., 2004).

As plantas medicinais representam uma rica fonte de isolamento de microrganismos endofíticos com potencial biotecnológico (Lacava et al., 2010). A *Mikania glomerata* Spreng. (Asteracea), popular “guaco”, é uma planta medicinal utilizada popularmente em casos de asma, bronquite e como adjuvante à tosse (Ruppelt et al., 1991).

Fungos do gênero *Colletotrichum* são relacionados como parasitas de centenas de angiospermas, sendo a Antracnose uma das doenças de maior importância para muitas plantas cultivadas, sendo de ocorrência comum em hortaliças solanáceas, como pimentão (*Capsicum annum*), pimenta (*Capsicum* spp.) e jiló (*Solanum gilo*) (Tozze Junior et al., 2006).

O objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antagonística de fungos endofíticos isolados de folhas de *M. glomerata* como fitopatogênos *M. pernicioso*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 5 linhagens de fungos endofíticos isolados de folhas de *M. glomerata*. A técnica de Cultura Pareada foi realizada utilizando-se discos de 6 mm de diâmetro de colônias do fungo endofítico e do fitopatogênos crescidas à 28°C durante 7 dias. Os mesmos foram inoculados em polos opostos da placa de Petri (4 cm de distância) contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Os testes foram realizados em triplicata. Para o controle negativo, foi inoculado somente o fitopatogênos em um polo da placa.

As interações competitivas foram analisadas segundo a escala de Badalyan et al. (2002) e o crescimento do fitopatogênos foi medido utilizando o software ImageJ 1.46r. Para o índice de inibição foi realizado o cálculo: $Im\% = 100 - (MT/MC) \times 100$, onde $Im\%$ = Índice de inibição em porcentagem do crescimento micelial, MT = Média da área da triplicata aferida para o tratamento em cm^2 , e MC = Média da área da triplicata do controle em cm^2 .

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No controle biológico, a doença não é só a interação entre patogênos e hospedeiro, mas o resultado da interação entre patogênos, hospedeiro e uma série de microrganismos não patogênos que também repousam no sítio de infecção. Esses não patogênos podem limitar ou aumentar a atividade do patogênos, ou a resistência do hospedeiro (Remuska et al., 2007). O controle de doenças causadas por patogênos de solo é dificultado devido à complexidade do ambiente, no qual o controle químico tem sua eficiência prejudicada ou sua aplicação dificultada, além do controle químico poder ser prejudicial à microbiota benéfica e deixar resíduos no ambiente, dessa forma o controle biológico é uma alternativa mais sustentável (Ethur et al., 2007).

Todos os fungos endofíticos isolados de *M. glomerata* inibiram *in vitro* o crescimento do fitopatogênos *Colletotrichum* sp. em diferentes porcentagens (Tabela 1), sendo a linhagem endofítica G-58 a que apresentou melhor índice de inibição (Figura 1). Com relação aos tipos de interações, apenas o isolado G-58 apresentou interação do tipo CA1 (crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatogênos após “deadlock” inicial com contato micelial), enquanto outros endofíticos apresentaram interação do tipo A (“deadlock” com contato micelial).

Garcia (2009) avaliou a atividade *in vitro* de 97 fungos endofíticos isolados de folhas da planta *Sapindus saponaria* contra o fitopatógeno *Colletotrichum* sp., das linhagens avaliadas, 63 apresentaram índices maiores de inibição do crescimento do patógeno sendo de 42,22% à 62,79%. No segundo grupo, foram agrupadas 21 linhagens. Os índices de antagonismo variaram entre 34,46% à 41,30% e os menores índices ficaram no terceiro grupo, variando entre 17,77% à 33,07%.

Os resultados obtidos demonstram o potencial de fungos endofíticos isolados de *M. glomerata* no controle biológico de fungos do gênero *Colletotrichum*.

Tabela 1. Teste de antagonismo das linhagens endofíticas isoladas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *Colletotrichum* sp.

Linhagens	Média do crescimento micelial (cm ²)	Im%	Tipo de interação
Controle	40,254		
G-46	27,238	32,33%	A
G-58	13,219	67,16%	CA1
G-67	26,924	33,11%	A
G-72	30,115	25,19%	A
G-77	28,921	28,15%	A

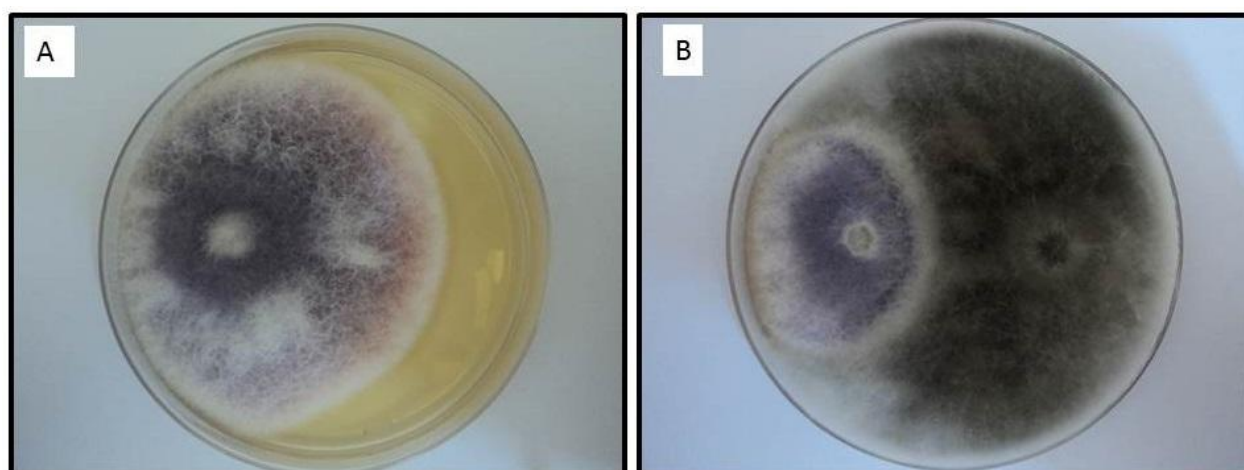


Figura 1. Teste de antagonismo da linhagem endofítica G-58 isoladas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *Colletotrichum* sp. (A) Controle com *Colletotrichum* sp.; (B) Inibição do fitopatógeno *Colletotrichum* sp. à esquerda pelo isolado endofítico G-58 à direita.

4. CONCLUSÃO

Os fungos endofíticos isolados de folhas de *M. glomerata* apresentaram resultados promissores no controle do fitopatógeno *Colletotrichum* sp., na qual ainda são necessários estudos sobre o seu potencial biotecnológico e suas formas de aplicação.

5. REFERÊNCIAS

BADALYAN, S. M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N. G. Antagonistic activity of xylo-trophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathologia Mediterrânea**, v. 41, p. 200–225, 2002.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; FLORES, M. G. V. Seleção de antagonistas fúngicos a *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* em substrato comercial para mudas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, 2007.

GARCIA, A. **Bioprospecção e caracterização citológica e molecular de fungos endofíticos isolados de folhas de *Sapindus saponaria* L.** Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá. 2009.

GARCIA, A.; RHODEN, S. A. ; RUBIN-FILHO, C.J. ; NAKAMURA, C.V. ; PAMPHILE, J. A. Diversity of foliar endophytic fungi from medicinal plant *Sapindus saponaria* L .and their localization by scanning electron microscopy. **Biological Research** (Print), v. 45, p. 149-158, 2012.

LACAVA, P. T.; SEBASTIANES, F. L. S.; AZEVEDO, J. L. Fungos endofíticos: diversidade e aplicações biotecnológicas. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Org.). Fungos: Biologia, Bioquímica e biotecnologia. 2ed. EDUCS: Caxias do Sul, v. 1, p. 533-568, 2010.

PEIXOTO-NETO, P. A. S., AZEVEDO, J. L.; CAETANO, L. C. Microrganismos endofíticos em plantas: status atual e perspectivas. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 3, n. 4, p. 69-72, 2004.

REMUSKA, A. C.; PRIA, M. D. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Publicatio UEPG-Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 13, n. 03, p. 31-36, 2009.

RHODEN, S. A.; GARCIA, A.; BONGIORNO, V. A.; AZEVEDO, J.L.; PAMPHILE, J. A. Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Medicinal Plant *Trichiliaelegans* A.JUSS. **Journal of Applied Pharmaceutical Science** (JAPS), v. 02, p.57-59, 2012.

RUPPELT, B. M.; PEREIRA, E. F.; GONÇALVES, L. C.; PEREIRA, N. A. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom. I. Analgesic and anti-inflammatory activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p.203-205, 1991.

TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, M. B. A.; MASSOLA JUNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, Mar. 2006.