



POTENCIAL ANTAGONISTA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA PLANTA *Mikania glomerata* SPRENG. (ASTERACEA) CONTRA O FITOPATÓGENO *Glomerella* sp.

Julio Cesar Polônio¹; Tiago Tognolli Almeida²; Adriana Garcia³;
Andressa Domingos Polli⁴; Caroline Menicoze dos Santos⁵;
 João Alencar Pamphile⁶

RESUMO: Endofíticos são microrganismos que habitam os tecidos das plantas, sem causar danos ao seu hospedeiro estando presente ao menos em um período do ciclo de desenvolvimento da planta. A *Mikania glomerata* (Spreng), conhecida popularmente como “guaco”, é uma planta trepadeira nativa do Brasil, pertencente à família Asteraceae e popularmente utilizada em casos de asma, bronquite e como adjuvante à tosse. Fitopatógenos do gênero *Glomerella* são frequentemente relacionados a antracnoses, causando pequenas lesões necróticas principalmente em regiões apicais de plantas como feijoeiro, soja e outras leguminosas. O objetivo neste trabalho foi avaliar a capacidade antagonística de fungos endofíticos isolados de folhas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *Glomerella* sp. pela técnica de cultura pareada, inoculando o fitopatógeno e o fungo endofítico à 4 cm de distância em placas de petri contendo meio de cultura BDA e o controle 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. Todos apresentaram interação competitiva do tipo A (“deadlock” com contato micelial), obtendo resultados positivos em todos os testes. O isolado G-03 se apresentou o mais efetivo com um Im%=57,71%. Estes fungos apresentaram-se com potencial em futuros estudos de sua aplicação no controle biológico deste fitopatógeno.

PALAVRAS-CHAVE: *Glomerella* sp.; *Mikania glomerata*; Endofíticos; Controle Biológico;

1. INTRODUÇÃO

Endofíticos são microrganismos que habitam o interior de tecidos saudáveis das plantas, sem causar danos ao seu hospedeiro estando presente ao menos em um período do ciclo de desenvolvimento da planta. Mantem uma complexa relação de simbiose com a planta hospedeira, podendo proporcionar proteção contra diversos fatores bióticos e abióticos (Azevedo et al. 2000).

¹ Acadêmico do curso de Tecnologia em Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: julio_c_polonio@hotmail.com

² Mestrando do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada-Universidade Estadual de Maringá UEM. e-mail: tiagotognolli@hotmail.com

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

⁴ Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: andressa_polli@hotmail.com

⁵ Biomédica e Estagiária do Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM-Maringá, Paraná 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

As plantas medicinais tem-se mostrado uma grande fonte de isolamento de microrganismos endofíticos com potencial biotecnológico para a produção de novas moléculas bioativas (Lacava et al., 2010). A *Mikania glomerata* (Spreng), conhecida popularmente como “guaco”, é uma planta trepadeira nativa do Brasil, pertencente à família Asteracea e popularmente utilizada em casos de asma, bronquite e como adjuvante à tosse (Ruppelt et al.1991).

Fungos do gênero *Glomerella* são frequentemente relacionados a antracnoses, causando pequenas lesões necróticas principalmente em regiões apicais de plantas como feijoeiro, soja e outras leguminosas. Na fase anamórfica correspondem à fungos do gênero *Colletotrichum* (Kimati et al., 1997).

Recentemente, tem aumentado o interesse pela utilização de microrganismos endofíticos como controladores biológicos devido à necessidade de se buscar alternativas viáveis para reduzir o uso de agroquímicos e dos problemas recorrentes de sua utilização indiscriminada (Shiomi et al., 2008).

O objetivo neste trabalho foi avaliar a capacidade antagonista de 6 linhagens fungicas endofíticas isoladas de folhas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *Glomerella* sp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 6 linhagens endofíticas (G-03, G-05, G-06, G-37, G-38 e G-39) de fungos isolados de folhas da planta *M. glomerata*. A técnica de Cultura Pareada foi realizada utilizando-se discos de 6 mm de diâmetro de colônias do fungo endofítico e do fitopatógeno 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 fitopatógeno em um polo da placa. As interações competitivas foram analisadas segundo a escala de Badalyan et al. (2002) e o crescimento do fitopatógeno 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

O controle de doenças causadas por patógenos 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, procurando-se assim, no controle biológico, uma alternativa mais sustentável (Ethur et al., 2007).

O habitat dos endofíticos é semelhante àquele ocupado por fitopatógenos, podendo assim, se tornar uma ferramenta poderosa no controle desses patógenos por meio de competição por nutrientes, produção de substâncias antagônicas, parasitismo ou mesmo induzindo a planta a desenvolver resistência (Peixoto-Neto et al., 2002). Os mecanismos pelos quais o controle biológico atua incluem a indução de resistência da planta, a competição por nutrientes e a produção de metabólitos secundários (Guetsky et al., 2002).

As seis linhagens endofíticas testadas apresentaram interação do tipo A (“deadlock” com contato micelial) (Figura 1) segundo escala de Badalyan et al.(2002),

sendo que o isolado endofítico G-03 apresentou um $Im\% = 57,61\%$. As outras linhagens tiveram uma variação do $Im\%$ de 24% à 29% (Tabela 1).

Estes resultados demonstram que estes fungos endofíticos isolados de *M. glomerata* possuem potencial para futuros estudos de possíveis metodologias de aplicação no controle biológico de fungos endofíticos.

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

Linhagens	Média do crescimento micelial (cm ²)	$Im\%$	Tipo de interação
Controle	31,630		
G-03	13,375	57,71%	A
G-05	23,759	24,88%	A
G-06	22,800	27,92%	A
G-37	22,297	29,51%	A
G-38	22,767	28,02%	A
G-39	23,224	26,58%	A

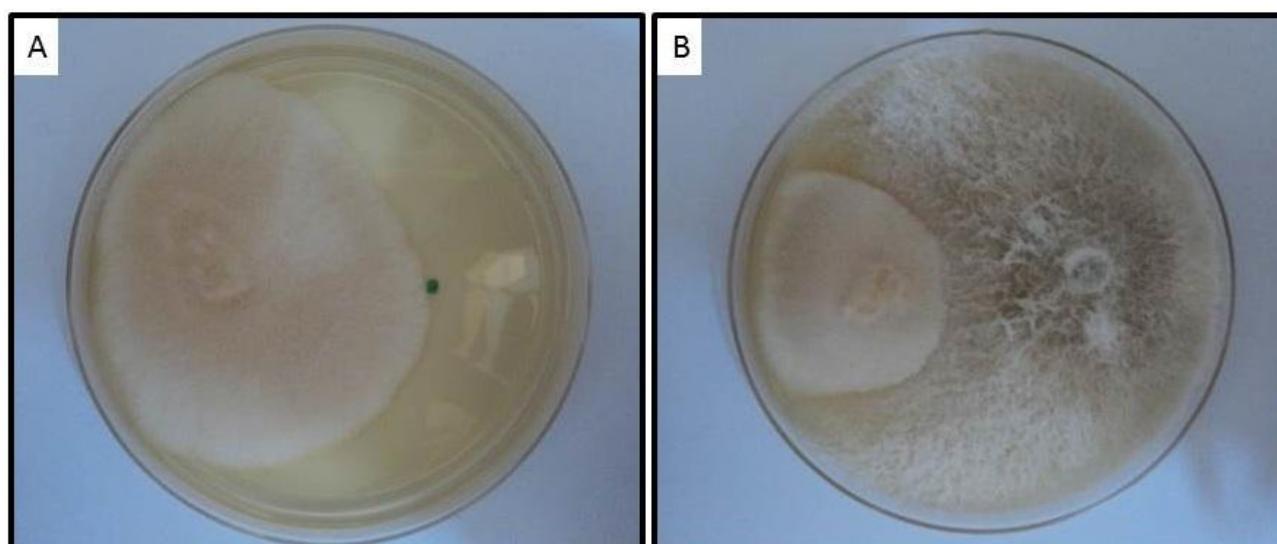


Figura 1. Teste de antagonismo com fungos endofíticos isolados de folhas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *Glomerella sp.* (A) Controle com o fitopatógeno *Glomerella sp.*; (B) Isolado G-03 (à direita) contra *Glomerella sp.* (à esquerda).

4. CONCLUSÃO

Os fungos endofíticos isolados de *M. glomerata* apresentaram resultados promissores no controle biológico do fitopatógeno *Glomerella sp.*, sendo necessários maiores estudos sobre o seu real potencial biotecnológico e uma possível forma de aplicação.

5. REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J.L.; MACCHRONI, W.Jr.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L.; Endophytic microorganisms: a review on insect control and recente advances on tropical plants. **Eletronic Journal of Biotechnology**. v. 3, p. 40-65, 2000.

BADALYAN, S.M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N.G. Antagonistic activity of xylophilic 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 *Fusariumsolani* e *Fusariumoxysporum* em substrato comercial para mudas. **Ciências Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, Dec. 2007 .

GUETSKY, R., SHTIENBERG, D., ELAD, Y., FISCHER, E., DINNOR, A..Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. **Phytopathology**. v. 92, n. 9, pág. 976-985, 2002.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. Manual de Fitopatologia - Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**.p.774,1997.

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.; ARAUJO, W.L. Microrganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v. 29, p. 62-76. 2002.

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. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**.v.86, p.203-205, 1991.