



## **AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CAPACIDADE ANTAGONISTA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS FOLIARES DE *Mikania glomerata* SPRENG. (ASTERACEA) CONTRA O FITOPATÓGENO *Moniliophthora perniciosa*.**

*Julio Cesar Polônio*<sup>1</sup>; *Tiago Tognolli Almeida*<sup>2</sup>; *Adriana Garcia*<sup>3</sup>;  
*Andressa Domingos Polli*<sup>4</sup>; *Caroline Menicoze dos Santos*<sup>5</sup>;  
*João Alencar Pamphile*<sup>6</sup>

**RESUMO:** Microrganismos Endofíticos são aqueles que habitam o interior das plantas sem causar danos à seus hospedeiros. Recentes estudos tem demonstrado um grande potencial biotecnológico à cerca destes microrganismos. Neste contexto, as plantas medicinais tem sido alvo de isolamento de fungos e bactérias endofíticas sendo uma grande fonte de compostos bioativos. A *Mikania glomerata*, conhecida popularmente como “guaco”, é utilizada na medicina popular em casos de asma, bronquite e principalmente como adjuvante à tosse. Para o presente trabalho, foram testados 5 fungos endofíticos isolados de folhas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa* pela técnica de cultura pareada, inoculando o fitopatógeno e o fungo endofítico à 4 cm de distância, sendo que ambos a 2 cm da borda da placa de petri contendo meio de cultura BDA, sendo o controle inoculado 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 os fungos testados apresentaram interação do tipo A (“deadlock” com contato micelial), obtendo resultados positivos em diferentes percentuais. O isolado G-01 foi o mais efetivo com um Im% de 61,64%. Esses fungos apresentam um potencial biotecnológico no controle biológico da *M. perniciosa* sendo necessários maiores estudos para sua aplicação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antagonismo; Biotecnologia; Endofíticos; Microrganismos; *Mikaniaglomerata*;

### **1. INTRODUÇÃO**

Microrganismos endofíticos habitam o interior das plantas em pelo menos uma fase do seu ciclo de vida sem causar danos aparentes, estando muitas vezes ligados à complexos mecanismos de defesa das plantas (Peixoto-Neto et al., 2004; Garcia et al., 2012). Estudos tem demonstrado que a presença destes microrganismos trazem benefícios às plantas, promovendo o crescimento, redução da herbívora e defesa contra doenças provocadas por fitopatógenos, principalmente pela produção de metabólitos

<sup>1</sup> Acadêmico do curso de Tecnologia em Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM-Maringá, Paraná; email: [julio\\_c.polonio@hotmail.com](mailto:julio_c.polonio@hotmail.com)

<sup>2</sup> Mestrando do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada-Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail [tiagotognolli@hotmail.com](mailto:tiagotognolli@hotmail.com)

<sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada – Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: [adrianagarcia.biologa@gmail.com](mailto:adrianagarcia.biologa@gmail.com)

<sup>4</sup> Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail [andressa\\_polli@hotmail.com](mailto:andressa_polli@hotmail.com)

<sup>5</sup> 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](mailto:carolinemenicoze@hotmail.com)

<sup>6</sup> Orientador Professor Doutor do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: [prof.pamphile@gmail.com](mailto:prof.pamphile@gmail.com)

secundários. As plantas medicinais tem representado uma rica fonte de isolamento de microrganismos endofíticos com potencial biotecnológico (Lacava et al., 2010). Neste contexto, 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).

O fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa* é o agente causal da “vassoura de bruxa”, uma das mais importantes doenças que atingem o cacau (*Theobroma cacao* L.) além de atingir outras cinco famílias de dicotiledôneas, incluindo Malvaceae e Solanaceae (Rio et al., 2008).

O objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antagonística de fungos endofíticos isolados de folhas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *M. perniciosa*.

## 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 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 biológico visa manter, através de certas práticas, um equilíbrio no agrossistema, de modo que o hospedeiro, na presença do patógeno, não sofra danos significativos, em função da ação controladora dos organismos não patogênicos (Grigoletti Júnior et al., 2000).

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 nicho ecológico habitado pelos 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).

Mejía et al. (2008), demonstrou que fungos endofíticos isolados de tecidos sadios de cacau apresentaram antagonismo de 65% contra *Phytophthora palmivora*, 40% contra *Moniliophthora palmivora*, e 27% contra *Moniliophthora perniciosa*.

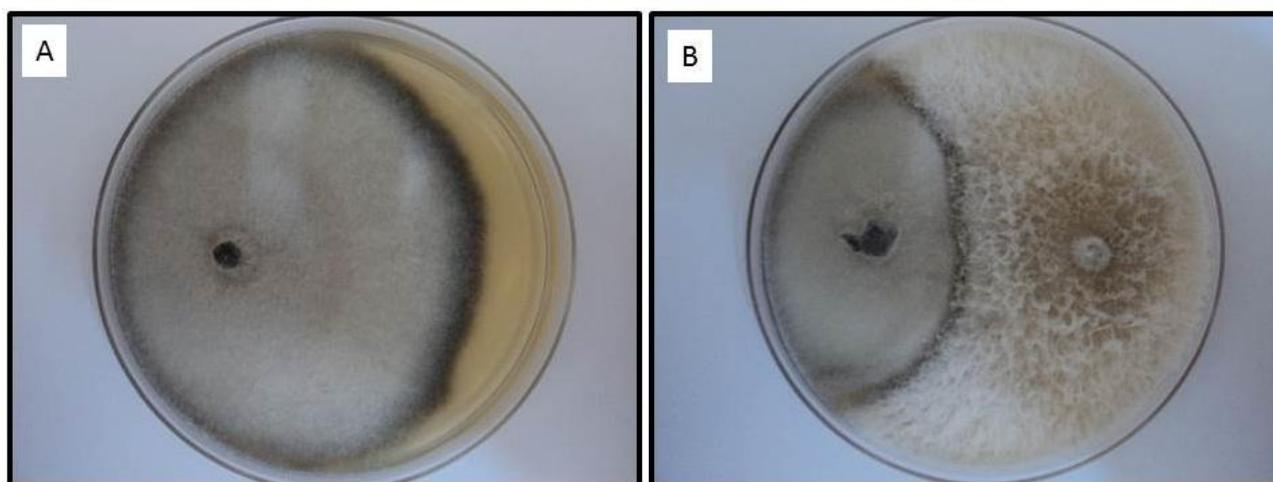
Todos os isolados apresentaram inibição no crescimento do fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa* em diferentes porcentagens (Tabela 1), sendo que a linhagem endofítica que apresentou melhor índice de inibição foi a linhagem G-01 (Figura 1).

Com relação aos tipos de interações, todos os endofíticos apresentaram interação do tipo A (“deadlock” com contato micelial) frente ao fitopatógeno, de acordo com a escala

de Badalyan et al.(2006). Esses resultados demonstram que estes fungos endofíticos isolados da planta *M. glomerata*, demonstram potencial no controle biológico do fungo fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa*.

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

Linhagens	Média do crescimento micelial (cm <sup>2</sup> )	Im%	Tipo de interação
Controle	50,247		
G-01	19,274	61,64%	A
G-05	31,538	37,23%	A
G-13	30,078	40,14%	A
G-24	29,876	40,54%	A
G-38	33,142	34,04%	A



**Figura 1.** Teste de antagonismo das linhagens endofíticas G-01 isoladas de *M. glomerata* contra o fitopatógeno *M. perniciosa*. (A) Controle com o fitopatógeno *M. perniciosa*; (B) Inibição do fitopatógeno *M. perniciosa* à esquerda pelo isolado endofítico G-01 à direita.

#### 4. CONCLUSÃO

Os fungos endofíticos isolados de *M. glomerata* apresentaram resultados promissores no controle biológico deste fitopatógeno, na qual ainda são necessários estudos sobre o seu real potencial biotecnológico e uma possível forma de aplicação.

#### 5. REFERÊNCIAS

BADALYAN, S.M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N.G. Antagonistic activity of xylophilic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathol Mediterr.** v.41. p.200–225,2002.

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.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A.F.; AUER, C.G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Revista Floresta**, v. 30, n. 1-2, p.155-165, 2000.

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.

MEJÍA, L.C.; ROJAS, E.I.; MAYNARD, Z.; VAN BAEL, S.; ARNOLD, A.E.; HEBBAR, P.; SAMUELS, G.J.; ROBBINS, N.; HERRE, E.A. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. **Biological Control**, v. 46, p.4-14, 2008.

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

PEIXOTO-NETO, P.A.S.; AZEVEDO, J.L.; ARAUJO, W.L. Microorganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, p. 62-76. 2002.

RIO, M.C.S.; OLIVEIRA, B.V.; TOMAZELLA, D.P.T.; SILVA, J.A.F.; PEREIRA, G.A.G. Production of calcium oxalate Crystals by the Basidiomycete *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao. **Current Microbiology**, v.56, p.363-370, 2008.

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.

SCHIOMI, H.F.; MELO, I.S.; MINHONI, M.T.A. Seleção de bactérias endofíticas com ação antagônica à fitopatógenos. **Scientia Agrária**, Curitiba, v.9, n.4, p.535-538, 2008.