

## **Atividade Antagonística dos Fungos Endofíticos *Phoma* sp. e *Alternaria* sp. Isolados de Folhas de *Sapindus saponaria* Contra o Fitopatógeno *Fusarium solani***

**Andressa Domingos Polli<sup>1</sup>, Adriana Garcia<sup>1</sup>, Caroline Menicoze dos Santos<sup>1</sup>, Sandro Augusto Rhoden<sup>1</sup>, Julio Cesar Polonio<sup>1</sup>, Mariana Sanches Santos<sup>1</sup>, João Lúcio de Azevedo<sup>1</sup>, João Alencar Pamphile<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular  
CEP 87.020-900 Maringá – Paraná - E-mail: andressa\_polli@hotmail.com

### **RESUMO**

*Endófitos são microrganismos que habitam o interior de plantas, sem causar danos ao hospedeiro, podendo trazer benefícios à planta, como a resistência à patógenos. Quando habitam plantas medicinais, podem ter ações similares às da planta, como a atividade antimicrobiana. Sapindus saponaria L. é uma árvore conhecida como sabão-de-soldado, utilizada na medicina popular. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antagonística dos fungos endofíticos Phoma sp. e Alternaria sp. isolados de folhas de S. saponaria contra o fitopatógeno Fusarium solani. Disco de 6mm do endófito e do fitopatógeno foram inoculados em polos opostos da placa de Petri. No controle, apenas o fitopatógeno em um dos polos. O crescimento micelial foi medido utilizando o programa imageJ 1.46r. Os Im's foram: 10,83% (Phoma sp.) e 22,28% (Alternaria sp.). A interação foi analisada pela escala de Badalyan, sendo do tipo "deadlock" com contato micelial. Estes endófitos são potencialmente promissores no controle deste fitopatógeno.*

**Palavras-chave:** Fungos endofíticos, antagonismo, *Sapindus saponaria*, *Fusarium solani*, biotecnologia.

### **INTRODUÇÃO**

Microrganismos endofíticos ou endófitos são fungos ou bactérias que habitam o interior de tecidos ou órgãos vegetais das plantas, podendo ser desde folhas, caule e raiz, sem causar danos aos seus hospedeiros. Estudos apontam que muitos endófitos possuem uma relação benéfica com a planta que habitam, fornecendo algumas vantagens ao hospedeiro, protegendo-o contra o ataque de insetos e moléstias, apresentando modificações fisiológicas e havendo produção de substâncias de interesse biotecnológico<sup>1</sup>.

Durante o processo de colonização da planta pelo endófito, ocorre a ativação do sistema de defesa da planta, causando um aumento da resistência desta contra patógenos<sup>2</sup>. Os endófitos podem controlar os fungos patogênicos pela competição por nutrientes e produção de substâncias antibióticas, uma vez que eles ocupam o mesmo nicho, podendo também parasitar o patógeno ou mesmo induzir a planta a desenvolver resistência às doenças<sup>3,4</sup>.

Microrganismos endofíticos que habitam plantas medicinais ou com propriedades terapêuticas tem sido analisados devido aos supostos benefícios provenientes desta interação,



inclusive muitas substâncias encontradas em plantas foram extraídas de endófitos<sup>5,6</sup>. *Sapindus saponaria* L. é uma árvore da família Sapindaceae, conhecida popularmente como sabão-de-soldado. Esta árvore é conhecida por sua utilização na medicina popular, sendo que todas as suas partes apresentam atividades terapêuticas diversas, como as ações calmante, adstringente, diurética, expectorante, tônica, depurativa do sangue e contra a tosse, neutralizadoras de hemorragia e principalmente suas atividades biológicas, incluindo a ação antimicrobiana e larvicida<sup>7,8</sup>.

O genero *Fusarium* compreende um grupo grande e heterogêneo de fungos que provoca doenças em diversas plantas, tais como a soja (*Glycine max*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*), reduzindo tanto a qualidade como a quantidade dos seus produtos, sendo portanto economicamente prejudicial<sup>9</sup>. Assim, presume-se que os fungos endofíticos da planta *S. saponaria* podem apresentar alguma atividade antimicrobiana, podendo ser utilizados no controle biológico deste fitopatógeno. Desta forma, o objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antagonística dos fungos endofíticos *Phoma* sp. e *Alternaria* sp. isolados de folhas de *S. saponaria* contra o fitopatógeno *F. solani*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados duas linhagens de fungos endofíticos, *Phoma* sp. e *Alternaria* sp., isolados da planta *S. saponaria* L. (Sapindaceae) por Garcia et al.<sup>10</sup>, pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia Microbiana (BIOMIC) da Universidade Estadual de Maringá.

A técnica de Cultura Pareada foi realizada inoculando discos de 6 mm de diâmetro de colônias crescidas à 28°C durante 7 dias do fungo endofítico e do fitopatógeno em polos opostos de placas de Petri, contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar), a 2 cm de distância da borda da placa, sendo o diâmetro total da placa de 9 cm. Para o controle negativo, o fitopatógeno foi inoculado em apenas um dos polos da placa de Petri. Os testes foram realizados em triplicata.

As interações competitivas foram analisadas segundo a escala de Badalyan<sup>11</sup> e o Índice de Inibição foi avaliado utilizando o programa imageJ 1.46r, pela aferição de área do fitopatógeno em comparação com a área do controle, de acordo com a fórmula:  $Im\% = 100 - (MT/MC) \times 100$ , 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 aferida para o controle em  $cm^2$ .

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

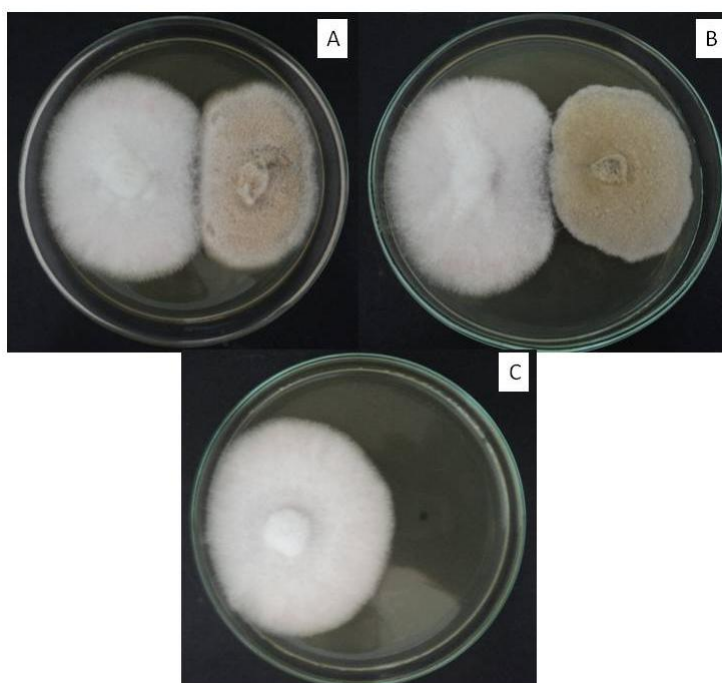
Na natureza, interações antagonísticas entre os microrganismos incluem a antibiose, a competição e o parasitismo. Essas interações servem de mecanismos básicos pelos quais os agentes de biocontrole atuam<sup>12</sup>.

Dos isolados endofíticos avaliados ambos apresentaram resultados antagonistas ao *F. solani*, sendo que o Índice de Inibição (Im) apresentado pelo fungo endofítico *Phoma* sp. foi de 10,83%, e para *Alternaria* sp. foi de 22,28%. Observa-se também que a interação entre os fungos foi do tipo A, "deadlock" com contato micelial (Figura 1), sendo esta análise importante para o estudo do potencial biotecnológico dos endófitos, uma vez que traz informações sobre como ocorre a associação entre os eles.

Campanile et al.<sup>13</sup> estudando a atividade antagônica e as interações entre isolados endofíticos de plantas do gênero *Quercus* contra o fitopatógeno *Diplodia corticola*, encontraram índices de antagonismo com redução de até 28,5% do crescimento do patógeno comparada com o controle.

Estes resultados demonstram que os fungos endofíticos isolados de *S. saponaria* possuem potencial para serem utilizados como controladores biológicos.

Figura 1. Teste de antagonismo e interação dos fungos endofíticos de *S. saponaria*, na inibição do crescimento do fitopatógeno *F. solani*. (A) *F. solani* (esquerda) contra linhagem *Phoma* sp., (B) *F. solani* (esquerda) contra linhagem *Alternaria* sp. e (C) controle somente com o fitopatógeno.



### CONCLUSÕES

Os fungos endofíticos isolados de *S. saponaria* apresentaram resultados positivos em cultura pareada contra o *F. solani*, representando um potencial promissor no controle deste fitopatógeno, sendo que outros estudos ainda são necessários para efetivar estes endofíticos como controladores biológicos.

### REFERÊNCIAS

- (1) AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI, W. J.; ARAÚJO, W. L.; PEREIRA, J. O. Microrganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Biotecnologia: Avanços na agricultura e na agroindústria**, Caxias do Sul: EDUCS, p. 233-268, 2002.

- (2) PAZ, Z.; BURDMAN, S.; GERSON, U.; SZTEJNBERG, A. Antagonistic effects of the endophytic fungus *Meira geulakonigii* on the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 2570-2579, 2007.
- (3) SAIKKONEN, K.; FAETH, S. H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T. J. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, n. 29, p. 319-343, 1998.
- (4) MACCHERONI, W. J.; ARAÚJO, W. L.; LIMA, A. O. S. Ecologia: habitat e interações fúngicas com plantas, animais, fungos e bactérias. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: Uma introdução à Biologia, Bioquímica e Biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 2004.
- (5) AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI, W. J.; PEREIRA, J. O.; ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, n. 3, p. 40-65, 2000.
- (6) STROBEL, G. A. Harnessing endophytes for industrial microbiology. **Current Opinion in Microbiology**, v.9, p.240-244, 2006.
- (7) ALBIERO, A. L. M.; BACCHI, E. M.; MOURÃO, K. S. M. Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 549-560, 2001.
- (8) LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**. v.1, 4. ed. São Paulo: Editora Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2004.
- (9) MATARESE, F.; SARROCCO, S.; GRUBER, S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; VANNACCI, G. Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. **Microbiology**, n. 158, p.98-106, 2012.
- (10) GARCIA A., RHODEN, S. A.; RUBIN-FILHO, C. J.; NAKAMURA, C. V.; PAMPHILE, J. A. Diversity of foliar endophytic fungi from the medicinal plant *Sapindus saponaria* L. and their localization by scanning electron microscopy. **Biological Research**, v. 45, p. 139-148, 2012.
- (11) BADALYAN, S. M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N. G. Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 41, p. 200-225, 2002.
- (12) VALADARES-INGLIS, M. C.; INGLIS, P. W.; QUEIROZ, P. R.; CASTRO, M. E. B. Genética e Biologia molecular de fungos e vírus utilizados no controle biológico. In: MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C.; NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C. **Recursos Genéticos & Melhoramento – Microrganismos**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 476- 518, 2002.
- (13) CAMPANILE, G.; RUSCELLI, A.; LUISI, N. Antagonistic activity fo endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in planta tests. **European Journal of Plant Pathology**, v. 117, p. 237-246, 2007.