

# FUNGOS ENDOFÍTICOS DE PLANTAS DA CAATINGA NO CONTROLE DE BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE CULTURA AGRÍCOLA DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Arthur Vinícius da Silva<sup>1</sup>; Elza Áurea Luna Alves Lima<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Ciências Biológicas / Ambientas- CCB – UFPE; E-mail: arthurvinicius88@hotmail.com, <sup>2</sup>Docente/pesquisador do Depto De Micologia Prof. Chaves Batista – CCB – UFPE. E-mail: dy\_carol@hotmail.com

**Sumário:** O controle biológico de pragas de interesse agrícola tem motivado diversas pesquisas em vários campos da ciência ao longo dos últimos anos. O presente estudo teve como objetivo verificar o potencial antimicrobiano de fungos endofíticos isolados de *Pilosocereus gounellei*, cacto tipicamente chamado de xiquexique, natural da floresta tropical seca brasileira (Caatinga), contra bactérias fitopatogênicas de culturas agrícolas. O teste foi realizado com trinta fungos endofíticos contra cinco cepas de bactérias fitopatogênicas. Dos trinta fungos endofíticos testados somente um, *Aureobasidium pullulans*, apresentou “pseudohalo” de inibição contra a bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris pv. campestris*.

**Palavras-chave:** controle biológico; endófitos; potencial antimicrobiano.

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de tecnologias voltadas para a agricultura tem despertado maior interesse em pesquisas relacionadas ao controle biológico de pragas de interesse agrícola. Esses estudos evidenciam um importante avanço para a agricultura por utilizar diversos mecanismos, entre eles o potencial biotecnológico de fungos endofíticos. Tais microorganismos, além de favorecer o crescimento vegetal, combatem possíveis agentes fitopatogênicos (AZEVEDO *et al.* 2000; SANTOS 2011). Segundo PETRINI (1991) endófitos são microorganismos que habitam o interior de tecidos vegetais, durante seu total ou parcial ciclo de vida, sem causar danos visíveis à planta hospedeira. Esses microorganismos podem produzir diversas substâncias, como toxinas, antibióticos, enzimas, imunossupressores e antitumorais, sendo de grande interesse biotecnológico no combate a organismos patogênicos e na produção de diversas substâncias (AZEVEDO *et al.* 2000; PINTO *et al.* 2002; BEZERRA *et al.* 2012). Estudos de verificação da capacidade antimicrobiana de fungos endofíticos contra patógenos de culturas agrícolas, tais como frutas, leguminosas, hortaliças e ornamentais ainda são escassos e necessitam de mais incentivos no estado de Pernambuco e demais estados do Brasil (MARIANO *et al.* 2005). Deste modo, são importantes os estudos de fungos endofíticos para ampliar o conhecimento da diversidade e distribuição geográfica de possíveis novas espécies, sendo também, importantes para a biotecnologia (STONE *et al.* 2008; SIQUEIRA *et al.* 2011). O objetivo desse estudo foi verificar o potencial antimicrobiano de fungos endofíticos isolados do cacto *Pilosocereus gounellei* crescendo na floresta tropical seca brasileira (Caatinga), contra bactérias fitopatogênicas de culturas agrícolas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de 30 fungos endofíticos isolados de *Pilosocereus gounellei* foram obtidas na Coleção de Culturas – Micoteca URM e a partir de projetos realizados no Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista e no Programa de Pós-Graduação em Biologia de

Fungos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As cepas de bactérias fitopatogênicas de culturas de interesse agrícola (banana, alface, cenoura, batata, couve, pimentão, caju, uva e/ou melão) foram fornecidas pela coleção de culturas do Laboratório de Fitobacteriologia do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Para a atividade antimicrobiana em meio sólido, as bactérias foram semeadas 48h antes do experimento em placas de Petri contendo o meio de cultura ágar nutritivo, extrato de levedura e dextrose (NYDA). Foram feitas suspensões de cada bactéria-tese em solução fisiológica correspondendo ao tubo de nº 0,5 da escala MacFarland. De cada suspensão foram retiradas 100µl e semeados em placas Petri contendo meio de cultura NYDA. Os fungos endofíticos foram cultivados em meio de cultura batata-dextrose-ágar(BDA) durante sete dias. Discos de 6mm de diâmetro foram colocados sobre o meio de cultura semeado com os micro-organismos-teses. As placas foram incubadas a 28°C por até 48h. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela medição do halo de inibição dos fungos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram 30 fungos endofíticos no teste de atividade antimicrobiana e em meio sólido, apenas *Aureobasidium pulluans* apresentou “pseudo halo” e de inibição para a bactéria *Xanthomonas Campestris pv. Campestris* (CoBr-2)(tabela 1). Nenhum estudo foi encontrado relatando a capacidade de endófitos contra bactérias fitopatogênicas de culturas de interesse agrícola. A maioria dos estudos verificaram esse potencial contra fungos fitopatogênicos e bactérias de interesse médico. NASCIMENTO *et al.* (2015) relataram que os endófitos *Cladosporium cladosporioides* (URM 6084), *Xylariasp.* (URM 6085) e *Curvularia pallescens* (URM 6048) apresentaram atividade antimicrobiana contra micro-organismos de interesse médico, inibindo *Escherichia coli* (UFPEDA 224), *Enterobacter aerogenes* (UFPEDA 739), *Salmonella typhi* (UFPEDA 478), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 735), *Proteus vulgaris* (UFPEDA 740), *Candida albicans* (URM 5889), *Malassezia furfur* (URM 4849), *Trichosporon cutaneum* (URM 5743), *Fusarium solani* (URM5776) e inibiram fungos fitopatogênicos *Colletotrichum dematium* (URM 3315) e *F. oxysporum* (URM 5283) SOUZA *et al.* (2004) mencionaram que oito linhagens de endófitos, entre eles (*Aspergillus niveus*, *Colletotrichum* sp. e *Trichoderma* sp.), foram os mais promissores no seu bioensaio. Semelhantemente, Siqueira *et al.* (2011) demonstraram o potencial antagonístico de fungos endofíticos da planta medicinal *Lippiasidoides*, obtendo 11 extrato de endófitos com atividade antimicrobiana. Somente Silva-Hughes *et al.* (2015), estudaram a atividade antimicrobiana de endófitos isolados do cacto *Opuntia humifusa* nos Estados Unidos. Os autores demonstraram que seis extratos de fungos endofíticos, dos dezessete testados, apresentaram atividade antifúngica.

**Tabela 1.** Fungos endofíticos de plantas da caatinga no controle de bactérias fitopatogênicas

Código	Fungos endofíticos	Bactérias fitopatogênicas*				
		UFRPE Pcc36	UFRPE Ac1.12	UFRPE CoBr-2	UFRPE CGM17	UFRPE Psto
F13	<i>Penicilium janthinellum</i>	-	-	-	-	-
F18	<i>Cladosporium</i>	-	-	-	-	-
F5	<i>Fusarium</i>	-	-	-	-	-
F17	<i>Penicilium restrictum</i>	-	-	-	-	-
E2	<i>Aspergillus</i>	-	-	-	-	-

	<i>fumigatus</i>					
URM 6268	<i>Penicillium glandicola</i>	-	-	-	-	-
URM 6226	<i>Fusarium lateritium</i>	-	-	-	-	-
URM 6705	<i>Tritirachium dependens</i>	-	-	-	-	-
URM 6230	<i>Aspergillus japonicus</i>	-	-	-	-	-
F21	<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	-	-	-
E3	<i>Trichoderma</i>	-	-	-	-	-
E29	<i>Penicilium citrinum</i>	-	-	-	-	-
F20	<i>Phoma</i>	-	-	-	-	-
F10	<i>Cladosporium</i>	-	-	-	-	-
E1	<i>Curvularia senegalensis</i>	-	-	-	-	-
A17	<i>Acremonium</i>	-	-	-	-	-
A12	<i>Acremonium</i>	-	-	-	-	-
E5	<i>Cladosporium</i>	-	-	-	-	-
E6	<i>Aureobasidium</i>	-	-	-	-	-
E13	<i>Cladosporium</i>	-	-	-	-	-
E7	<i>Phoma</i>	-	-	-	-	-
E11	<i>Curvularia</i>	-	-	-	-	-
E27	<i>Nodulisporium</i>	-	-	-	-	-
E33	Morfoespécie E33	-	-	-	-	-
F25	<i>Aureobasidium pullulans</i>	-	-	#	-	-

(-) Não apresentou halo de inibição; (#) apresentou “pseudo halo” para a bactéria testada; \* Bastérias fitopatogênicas utilizadas no teste: *Pectobacterium Carotovorum subsp. Carotovorum* (PCC36), *Acidovorax citrulli* (Ac 1.12), *Xanthomonas Campestri pv. Campestri* (CoBr-2), *Ralstonia Solanacearum* (raça 1, biovar 3) (CGM117), *Pseudomonas syringae pv. Tomato* (Psto).

## CONCLUSÃO

Fungos endofíticos do cacto *Pilosocereus gounellei*, não apresentam potencial antimicrobiano em meio sólido contra bactérias fitopatogênicas de plantas de interesse agrícola. Apesar disso, outros estudos necessitam ser realizados para testar a capacidade destes micro-organismos, tais como a participação deles na proteção *in vivo* da planta.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelo auxílio financeiro e aos estudantes do Laboratório de Citologia e Genética de Fungos, Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista/UFPE.

## REFERÊNCIAS

1. AZEVEDO, J. L., MACCHERONI JR., PEREIRA J.O., ARAÚJO, W.L. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.3,n, 1, p.40-65.

2. BAUER A.W., KIRBY M.M., SHERRIS J.C., TRUCK M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45:p.493-6.
3. BEZERRA, J.D.P., SANTOS, M.G.S., SVEDESE, V.M., LIMA, D.M.M., FERNANDES, M.J.S., PAIVA, L.M., SOUZA-MOTTA, C.M. 2012. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and Preliminary screening for enzyme production. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.28, p.1-7.
4. COOK, R. J. 2000. Advances in plant health management in the twentieth century. **Annual Review of Phytopathology**, v. 38, p. 95-116.
5. GAO. 2003. Technology transfer in taxol development. **United States General Accounting Office**. June.
6. MARIANO RLR; GOMES AMA; ASSIS SMP; SILVEIRA EB. 2005. Mecanismos de ação de bactérias promotoras de crescimento de plantas. In: MARIANO RLR; SILVEIRA EB (Coords). **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: RLR Mariano. p. 143-158
7. NASCIMENTO, T.L., OKI, Y., LIMA, D.M.M., ALMEIDA-CORTEZ, J.S., WILSON FERNANDES, G., SOUZA-MOTTA, C.M. 2015. Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of *Calotropis procera* and their antimicrobial activity. **Elsevier fungal ecology** 14 p.79-86.
8. Petrini O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews J, Hirano SS (eds) *Microbial Ecology of Leaves*. **Springer-Verlag New York**, 179-197.
9. SCHOURLO, G., MENDONÇA-FILHO, R.R., ALVIANO, C.S., COSTA, S.S. 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medical and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.96, p. 563-568.
10. SCHULZ, B., BOYLE, C., DRAEGER, S., AUST, H.J., RÖMMERT, A.K., KROHN, K. 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research** 106(9): 996-1004.
11. SILVA-HUGHESA AF, WEDGE DE, CANTRELL CL, CARVALHO CR, PAN Z, MORAES RM, MADO LV, LUIZ H. ROSA. 2015. Diversity and antifungal activity of the endophytic fungi associated with the native medicinal cactus *Opuntia humifusa* (Cactaceae) from the United States. **Microbiological Research**.
12. SIQUEIRA, M.V., BRAUN, U., SOUZA-MOTTA, C.M. 2008. *Corynespora subcylindrica* sp. Nov., a new hyphomycete species from Brazil and a discussion on the taxonomy of corynespora-like genera. **Sydowia** v. 60 n. 1, p. 113-122.
13. SIQUEIRA VM, CONTI R, ARAÚJO JM, SOUZA-MOTTA CM. 2011. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippiasidoides* Cham. and their antimicrobial activity. **Symbiosis** 53:89-95
14. SOUZA DE, A.Q.L., SOUZA DE, A.D.L., FILHO, S. A., PINHEIRO, M.L.B., SARQUIS M.I.M., PEREIRA, J.O. 2004. Antimicrobiana de Fungos Endofíticos Isolados de Plantas Tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (AUBL.) RICH E *Strychnos cogens* BENTHAM. **Acta Amazonica**, v.34(2) p. 185 - 195.
15. STROBEL, G.A. 2006. Harnessing endophytes for industrial microbiology. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v.9, n. 3, p. 240-244.
16. TAN, R.X., ZOU, W.X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural Product Reports**, Cambridge, v. 18, p. 448-459.
17. THEANTANA, T. HYDE, K.D. LUMYONG, S. 2009. Asparaginase Production by Endophytic fungi from Thai medicinal plants: cytotoxicity properties. **International Journal of Integrative Biology** v. 7, n. 1, p. 1-8.