

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTOGÔNICA DE FUNGOS ISOLADOS DE *Justicia brandegeana* CONTRA O FITOPATÓGENOS *Alternaria alternata*

Vinicius Paiva Mota (PIBIC/CNPq), Aline Maria Bulla, Helio João de Oliveira Junior, Julio Cesar Polonio, Angela Aparecida da Silva, João Alencar Pamphile (Coorientador), João Lúcio Azevedo (Orientador), e-mail: vinipaivam@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área: 2.12.00.00-9 Microbiologia; Sub-área: 2.12.02.00-1 Microbiologia Aplicada

Palavras-chave: camarão-vermelho, endófitos, antagonismo

Resumo:

A utilização de micro-organismos endofíticos como controle biológico de doenças e pragas agrárias é de amplo conhecimento, pois viabiliza opções sustentáveis que contribuem para um futuro mais ecológico. Os fungos endofíticos são responsáveis pela produção de uma ampla gama de substâncias de alto valor agregado e também, por habitar o mesmo nicho ecológico que os fungos patogênicos, podem ser utilizados como recurso no tratamento das várias doenças por eles causadas. No presente trabalho foram testados fungos endofíticos isolados de *Justicia brandegeana* como potencial controladores biológicos contra o fungo fitopatogênico *Alternaria alternata*.

Introdução

O termo endofítico é derivado do grego (*endo*; dentro) e (*phyton*; planta) e representa micro-organismos que habitam o interior de tecidos vegetais. Os endófitos podem se relacionar de maneira simbiote com seu hospedeiro, pois a planta fornece nutrientes ao micro-organismo e este disponibiliza à planta compostos que a ajudam em seu crescimento e resistência a doenças e predação. Os fungos endofíticos possuem uma ampla gama de características que chama atenção para serem usados na biotecnologia, tais como produção de enzimas, degradação dos mais variados substratos, biocontrole de pragas e doenças agrárias e síntese de metabólitos secundários com alto valor agregado.

As relações antagônicas entre micro-organismos ocorrem de várias formas que vai desde a antibiose, competição, parasitismo e indução de resistência. Com base nesses conhecimentos, a descoberta de fungos capazes de combater um fitopatógeno nos dá liberdade para que possamos ter uma

melhor compreensão dos mecanismos que nos permitem um avanço na produção agrária (VALADARES-INGLIS et al., 2002).

A *Alternaria alternata* é um patógeno que ataca várias culturas de alto valor comercial causando a mancha marrom e a podridão negra. Este trabalho tem como objetivo testar *in vitro* fungos endofíticos isolados da planta *Justicia brandegeana* como possíveis controladores deste mal.

Materiais e métodos

Para o teste de antagonismo entre os fungos endofíticos e *A. alternata*, foram selecionados 5 linhagens de forma aleatória sendo elas JB85, JB115, JB155, JB195-G1 e JB228, crescidas previamente em meio BDA por 4 dias. A técnica utilizada se baseou na cultura pareada descrita por Campanile, Ruscelli e Luisi (2007), com algumas modificações.

Com as linhagens renovadas, foram cortados discos com 6 mm de diâmetro dos endófitos e do fitopatógeno e inoculados em lados opostos de uma placa de Petri contendo meio BDA à distância de 4cm um do outro. Após isso, as placas foram incubadas à 28°C por 7 dias. Os testes foram realizados em triplicata assim como o controle contendo somente o fitopatógeno.

As placas de Petri foram fotografadas após 7 dias e as imagens foram tratadas utilizando o software ImageJ (v 1.46r) para aferir o índice de inibição pela fórmula: $Im\% = 100 \times (1 - MT/MC)$, onde $Im\%$ = Índice de inibição do crescimento micelial em porcentagem, MT = média da área da triplicata ferida para o tratamento em cm^2 , e MC = média da área da triplicata aferida para o tratamento em cm^2 . As médias do crescimento micelial do fitopatógeno em relação aos controles de cada tratamento foram analisadas estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,05$) com o objetivo de diminuir a ambiguidade nos grupos estatísticos com o auxílio do software Sisvar 5.3.

Resultados e Discussão

A utilização de micro-organismos endofíticos para o controle biológico de doenças e pragas se mostra uma alternativa viável na redução do uso de produtos químicos na agricultura, podendo reduzir significativamente a poluição causada por esses agentes (Azevedo et al. 2000).

As 5 linhagens de fungos endofíticos isolados de *J. brandegeana* apresentaram inibição contra o fitopatógeno *A. alternata* sendo que a linhagem JB115 obteve o melhor índice de inibição com 39,38% (tabela 1; figura 1). Resultados obtidos por Mónaco et al. (2004) e Orlandelli et al. (2012) mostraram que é possível a utilização de fungos endofíticos no controle do fungo *A. alternata*

Tabela 1: Taxa de inibição do fungo fitopatogênico pelos endófitos isolados de *Justicia brandegeana*.

TRATAMENTOS	MEDIA DA AREA CRESCIMENTO DE <i>Alternaria alternata</i>	ÍNDICE DE INIBIÇÃO (%) *
CONTROLE	37,24	0,00 ^c
JB85	27,22	26,91 ^b
JB115	22,57	29,84 ^b
JB155	26,12	39,38 ^a
JB195 G1	27,28	26,73 ^b
JB228	27,21	27,80 ^b

* Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).



Figura 1: Teste de antagonismo contra *Alternaria alternata*. 1) controle negativo contendo *A. alternata* e 2) antagonismo entre *A. alternata* e JB155.

Conclusões

O presente trabalho mostrou que as linhagens de fungos endofíticos isolados de *J. brandegeana* possuem potencial biotecnológico no controle de doenças agrárias causadas pelo fungo fitopatogênico *A. alternata*.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq e CAPES pela oportunidade e auxílio financeiro.

Referências

AZEVEDO J. S.; MACCHERONI Jr W, PEREIRA J O, ARAUJO W. L, Endophytic microorganisms: a review on insect control and recente advances on tropical plants. **Electon J Biotechnol** 3: 41- 65, 2000

CAPANILE G, RUSCELLI A, LUISI N. Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by *in vitro* and *in planta* test. **Eur J Plant Pathol** 2007; 117: 237-46.

MÓNACO C. , SISTERNA M., PERELLO A., DAL BELLO G., Preliminary studies on biological control of the blackpoint complex of wheat in Argentina. **World J Microbiol Biotechnol** 20: 285- 290, 2004

ORLANDELLI R. C., ALBERTOL R. N., RUBIM FILHO C. J., PAMPHILE J. A., Diversity of endophytic fungal community associated with *Piper hispidum* (Piperaceae) leaves. **Genetics and Molecular Research** 11 (2): 1575-1585 (2012)

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 biológica. 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