

2.12.01 - Microbiologia / Biologia e Fisiologia dos Micro-organismos

ESTUDO PRELIMINAR DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE MELANCIA (*Citrullus lanatus*).

Mayara Alice Correia de Mélo¹; Rejane Maria Ferreira da Silva²; Gladstone Alves da Silva³

1. Graduanda em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da UFPE
2. Doutoranda do programa pós-graduação em biologia de fungos da UFPE
3. Professor da Universidade Federal de Pernambuco (orientador).

RESUMO:

A melancia (*Citrullus lanatus*) é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil, a planta destaca-se por ter grande importância socioeconômica, fácil manejo e menor custo. Os fungos endofíticos são caracterizados por habitarem o interior dos tecidos vegetais, sem causar dano aparente ao hospedeiro. Plantas que são colonizadas por esses micro-organismos apresentam um desenvolvimento melhor e proteção contra doenças e pragas. Além de melhorar a adaptabilidade ecológica do hospedeiro, aumentando a tolerância a estresses bióticos e abióticos. O presente trabalho teve como objetivo determinar a micobiota endofítica em folhas de melancia. As folhas foram coletadas em cultivos localizados em Petrolândia- PE, em março de 2016. Foram lavadas com água corrente e desinfestadas, sendo posteriormente lavadas três vezes em água destilada esterilizada. Após a desinfestação, foram retirados oito fragmentos das folhas, os quais foram transferidos para placa de Petri, em triplicata, contendo meio de cultura de batata dextrose (BDA). Após crescimento das colônias, fragmentos de micélio foram transferidos para tubos de ensaio contendo meio de batata dextrose. Qualquer tipo de colônia fúngica observada foi isolada, purificada e identificada, com auxílio de literatura específica. Foram obtidos 212 isolados de fungos endofíticos pertencentes a 16 gêneros e 18 espécies. Os resultados mostraram uma rica micobiota endofítica com *Alternaria alternata* e *Cladosporium colocasiae* sendo as espécies que apresentaram maior número de isolados.

Palavras-chave: Cucurbitaceae, Micro-organismos, Taxonomia.

Apoio financeiro: CNPq

INTRODUÇÃO:

A família Cucurbitaceae é constituída por 120 gêneros e cerca de 800 espécies, amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Teppner, 2004). A melancia (*Citrullus lanatus*) destaca-se por ter grande importância socioeconômica, fácil manejo e menor custo. A planta caracteriza-se por ser rasteira, anual, com folhas triangulares e trilobuladas e flores pequenas e amareladas, gerando um fruto arredondado ou alongado, de polpa vermelha, suculento e doce, com alto teor de água. Possui um fruto rico em vitaminas do complexo B, carboidratos e sais minerais, como cálcio, fósforo e ferro. A região Nordeste vem sendo apontada como um potencial centro produtivo de melancia (Romão et al., 2008), com Pernambuco ocupando o terceiro lugar em cultivo desse fruto (Braga et al., 2009; IBGE, 2014).

De acordo com Schulz & Boyle, (2005), fungos endofíticos são aqueles que habitam o interior do tecido vegetal sem demonstrar sintomas de doenças. Por estarem em íntima associação com os vegetais, esses micro-organismos são considerados fonte de grande potencial biotecnológico, despertando grande interesse da comunidade científica por serem fontes promissoras de metabólitos com aplicação na agricultura, na medicina e na indústria (Strobel, 2003).

Diversos estudos já foram realizados em variedades de frutos, tais como banana (Photita et al., 2001), uva (Lima et al., 2014), café (Oliveira et al., 2014), cacau (Rubini et al., 2005), limão (Douanla-meli et al., 2013) e pinha (Lin et al., 2010), esses trabalhos mostram uma rica diversidade de fungos endofíticos em cada tipo de vegetal.

É importante conhecer a micobiota de fungos que estão interagindo com o vegetal, visando o estudo da diversidade de fungos endofíticos e fornecendo subsídios para aplicações

futuras. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi verificar a micobiota de fungos endofíticos em folhas de melancia.

METODOLOGIA:

1. Local de coleta

A coleta das folhas de melancia foi realizada em cultivos localizados no município de Petrolândia, sertão pernambucano.

1.2 Coleta do material

As folhas de melancia foram coletadas em março de 2016. A área de estudo foi delimitada em quatro parcelas. Em cada parcela foram escolhidos três espécimes do vegetal, em três pontos aleatórios, nos quais foram retiradas seis folhas aleatoriamente, acondicionadas em sacos de papel devidamente etiquetados, e transportadas ao Laboratório I da pós-graduação em biologia de fungos, para manipulação, no tempo máximo de 24 horas.

1.3. Isolamento dos fungos endofíticos

As folhas foram lavadas em água corrente para a remoção da poeira e outros resíduos e depois submetidas a técnica de desinfestação para eliminação dos micro-organismos epifíticos. Foi utilizada a técnica de Araújo et al., (2002), que consiste na imersão, em câmara asséptica, das folhas em etanol 70 % por 30 segundos, após em hipoclorito de sódio (3 % de cloro ativo) por 1 minuto e 30 segundos, sendo posteriormente lavadas três vezes em água destilada esterilizada. Após a desinfestação de cada folha, foram retirados oito fragmentos de 2,5 x 2,5 mm (Gamboa et al., 2002). Esses fragmentos foliares foram distribuídos sobre o meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (100 µg/mL), contido em placas de Petri, e incubados a temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) por até 30 dias, sendo observados diariamente. Qualquer colônia fúngica observada foi isolada, purificada e identificada. O controle de eficiência de desinfestação foi confirmado pela inoculação de 1 mL da última água de lavagem em placas de Petri com o mesmo meio de cultura. Após o crescimento, as colônias foram repicadas até a obtenção de colônias puras para posterior identificação, utilizando literatura especializada.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram obtidos 212 isolados de fungos endofíticos pertencentes a 16 gêneros e 18 espécies (Tabela 1). Este resultado foi semelhante a outros estudos que tratam a comunidade de fungos endofíticos em tecidos vegetais. Rubinni et al., (2005) obtiveram 150 fungos endofíticos a partir de caules de cacau e Siqueira et al., (2011) isolaram um total de 203 fungos endofíticos de folhas e caules de alecrim-pimenta.

Alternaria alternata e *Cladosporium colocasiae* foram as espécies que apresentaram maior número de isolados 118 e 34, respectivamente. O gênero *Alternaria* foi relatado por González & Tello, (2011) como o táxon mais abundante em folhas de uva com 82 isolados, 42 desses pertencentes a espécie *A. alternata*. *Cladosporium* já foi comumente isolado de diversos frutos, tais como uva (González & Tello, 2011), banana (Photita et al., 2001) e cacau (Rubini et al., 2005).

As espécies *Absidia cylindrospora*, *Aspergillus tonophilus*, *Chaetomium nigricolor*, *Hypoxyton monticulosum*, *Myrmecridium* sp., *Nigrospora oryza*, *Phoma multirostrata* e *ALPreussia* sp. apresentaram apenas um isolado cada. Normalmente se observa a presença de uma ou duas espécies dominantes no hospedeiro e um número maior de espécies mais raras (Pimenta et. al., 2012). Sabe-se também que a micobiota de fungos endofíticos em um vegetal pode ser afetada por uma variedade de fatores bióticos e abióticos e condições fisiológicas do vegetal (Faeth e Fagan, 2002).

Tabela 1. Número de espécies de fungos endofíticos encontrados nas folhas de melancia, coletadas no município de Petrolândia, Pernambuco.

Espécies	Número de Isolados
<i>Absidia cylindrospora</i> Hagem.	01
<i>Alternaria alternata</i> Keissl.	118
<i>Aspergillus</i> sp.	20
<i>Aspergillus sydowii</i> (Bainier & Sartory) Thom & Church	06
<i>Aspergillus tonophilus</i> Ohtsuki	01
<i>Cladosporium colocasiae</i> Sawada	34
<i>Chaetomium nigricolor</i> L.M. Ames	01
<i>Cochliobolus lunatus</i> R.R. Nelson & F.A. Haasis	14
<i>Curvularia</i> sp.	02
<i>Hypoxylon monticulosum</i> Mont.	01
<i>Myrmecridium</i> sp.	01
<i>Nigrospora oryza</i> (Berk. & Broome) Petch	01
<i>Penicillium citrinum</i> Thom 1910	04
<i>Periconia</i> sp.	02
<i>Phoma multirostrata</i> (P.N. Mathur, S.K. Menon & Thirum.) Dorenb. & Boerema	01
<i>Preussia</i> sp.	01
<i>Setosphaeria rostrata</i> K.J. Leonard	02
<i>Talaromyces macrosporus</i> (Stolk & Samson) Frisvad, Samson & Stolk	02
Total de Isolados	212

CONCLUSÕES:

As espécies de *Alternaria alternata* e *Cladosporium colocasiae* foram as mais predominantes nas folhas de melancia (*Citrullus lanatus*). As folhas de melancia apresentam um número considerável de fungos endofíticos. O estudo desses fungos em melancia pode gerar subsídios para aplicações biotecnológicas futuras, visando o aumento da produção nessa planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Araújo, W.L. et al. Manual: Isolamento de micro-organismos endofíticos. *ESALQ*, Piracicaba, 86p. 2002.
- Braga, M.B. et al. Produtividade e qualidade do melão em função da cobertura do solo no submédio do vale do São Francisco. *Horticultura Brasileira*. 2009.
- Douanla-meli, C. et al. Fungal endophyte diversity and community patterns in healthy and yellowing leaves of *Citrus limon*. *Fungal Ecology* v.6. p.212-222,2013.
- Faeth, S.H., Fagan, W.F. Fungal endophytes: common host plant symbionts but uncommon mutualists. *Integrative and Comparative Biology*, v. 42, n. 2, p. 360-368, 2002.
- Gamboa M.A., Laureano S., Bayman P. 2002. Measuring diversity of endophytic fungi in leaf fragments: does size matter? *Mycopathologia* 156: 41–45.
- González, V., Tello, M. L. The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain, *Fungal Diversity*. 2011.

IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. *Produção agrícola municipal* 2013. Rio de Janeiro, 2014.

Lima, T.E.F. et al. Endophytic fungi from leaves and roots of *Vitis labrusca* cv. Isabel in Pernambuco/Brazil. 2014.

Lin, X. et al. Endophytes from the pharmaceutical plant, *Annona Squamosa*: isolation, bioactivity, identification and diversity of its polyketide synthase gene. *Fungal Diversity* v. 41, p. 41-51, 2010.

Oliveira, R.J.V. et al. Endophytic fungal diversity in coffee leaves (*Coffea arabica*) cultivate dusing organic and conventional crop management systems. *Mycosphere*, v. 5(4), p. 523-530. 2014.

Photita, W. et al. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, *Mycological Research* v. 105(12), p. 1508 - 1513 Thailand. 2001.

Pimenta, R. S.; Da silva, J. F. M.; Buyer, J. S.; Janisiewicz, W. J. Endophytic Fungi from Plums (*Prunus domestica*) and Their Antifungal Activity against *Monilinia fructicola*. *Journal of Food Protection*, v. 75, p. 1883-1889, 2012.

Rubini, M. R. et al. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom Disease. *International Journal of Biological Sciences* v. 1, p. 24-33, 2005.

Romão, R. L., Assis, J. G. A., Queiroz, M. A. Melancia: história africana de dar água na boca. 2008

Schulz & Boyle. The endophytic continuum. *Mycological Research* v. 109, p. 661-686, 2005.

Strobel, G.A. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes Infect* v. 5, p. 535-544, 2003

Siqueira, V.M. et al. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. *Symbiosis*, v. 53, n. 2, p. 89-95, 2011.

Teppener, H. Notes on *Lagenaria* and *Cucurbita* (Cucurbitaceae) Review and New Contributions. *Phyton (Horn, Austria)* v. 44, p. 245-308, 2004.