

Xylaria DA REGIÃO AMAZÔNICA: POTENCIAL ANTIMICROBIAL

“Jéssica Souza da COSTA”;¹ “Maria Aparecida de JESUS”²

¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA ¹Orientadora COTI/ INPA ².

1. Introdução

Os fungos endofíticos apresentam potencial para serem utilizados no controle de microrganismos patogênicos agroindustriais, pelo fato de produzirem metabólitos secundários bioativos. As linhagens de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., *Penicillium* spp e *Trichoderma* spp estão entre os principais patógenos de cultivares e sementes. *Lasiodiplodia* pertence à família Botryosphaeriaceae, são fungos cosmopolitas, típico das regiões tropicais e subtropicais, onde causam prejuízos a numerosas espécies agrícolas, tais como o cajueiro, coqueiro e mamoeiro (Olunoye e Esuruoso 1975). O gênero *Trichoderma*, pertence à ordem Hypocreales é constituído por fungos saprófitos, destacando-se pelo seu potencial de biocontrolador natural (Sá 2009). Entretanto em certas condições o *Trichoderma* pode causar a deterioração de sementes, diminuindo sua qualidade. *Penicillium* são fungos saprófitos externos, ocasionam deterioração em sementes, assim com *Trichoderma* e *Lasiodiplodia*, sendo também um dos principais causadores de doenças pós-colheita (Silva *et al.* 2011). De modo que o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antagonista de linhagens de *Xylaria* contra fungos fitopatogênicos depositadas na Coleção de Culturas de Microrganismos de Interesse Agroflorestais/INPA.

2. Material e Métodos

Avaliação do antagonismo de *Xylaria* spp a diferentes patógenos em cultivo pareado

Os isolados de *Xylaria* e *L. theobromae* foram repicados em meio de cultura Malte-Ágar 3% e mantidos em estufa a 25 °C. As linhagens de *Trichoderma* e *Penicillium* foram primeiramente reativadas em meio de cultura Malte-Ágar-Buriti e mantidas em estufa a 25 °C. Após o crescimento sobre o substrato, os isolados foram inoculados em meio de cultura Malte-Ágar 3 % e mantidas em estufa a 25 °C até o desenvolvimento do fungo em toda placa. Discos de micélio de 6 mm de diâmetro foram colocados em placas de Petri estéril a fim de selecionar os inoculos viáveis.

As linhagens de *Xylaria* spp. (LPM 1518, 1521, 1525, 1526 e 1527), *L. theobromae* (LPM, 1249, 825, 1325), *Penicillium* sp. (LPM 1519) e *Trichoderma* spp. (LPM, 757, 768, 1185 e 1529) foram acessadas da Coleção de Culturas de Microrganismos de Interesse Agroflorestais/INPA.

A ação antagonista de *Xylaria* spp contra *L. theobromae*, *Penicillium* spp. e *Trichoderma* spp foi determinada pelo Teste de Confrontação Direta. Um disco de 6 mm de *Xylaria*, foi inoculado sobre o meio de cultivo Aveia-Ágar a distância de 1 cm da borda da placa de Petri e mantido por 4 dias a 25°C. Após esse período, um disco 6 mm do patógeno foi inoculado na posição oposta da colônia de *Xylaria*. O experimento foi realizado em quatro repetições para cada isolado. As mesmas *Xylaria* foram usadas no controle. Os fungos foram incubados a 25°C em estufa. A capacidade de inibição foi determinada pelo método de confronto direto, para tal adotou-se os seguintes critérios de avaliação do antagonismo: (2) endofítico inibe o crescimento do patógeno, (1) endofítico é inibido pelo patógeno e (0) interação nula, onde os fungos se encontram no centro da placa de Petri (Biz 2009).

3. Resultados e discussão

As interações de antagonismo de *Xylaria* spp contra *L. theobromae*, *Penicillium* spp e *Trichoderma* spp encontram-se na Tabela 1. De modo geral, as culturas de *Trichoderma* apresentaram crescimento micelial rápido com superfície lisa e com aspecto translúcido, tornando-se posteriormente flocoso e de coloração esverdeada. Notou-se que os isolados de *Xylaria* 1518, 1521, 1525 e 1526 apresentam interação antagonista tipo (2) com todas as linhagens *Trichoderma*. Enquanto que *Xylaria* 1527 apresentou interação (2) com *Trichoderma* 1185, por outro lado foi inibida pela linhagem de *Trichoderma* 768, enquanto que nos isolados de *Trichoderma* 757 e 1529 a interação foi nula (Figura 3. A-A3; B-B3; C-C3; D-D3; E-E3). No confronto micelial de *Trichoderma* com *Xylaria* houve grande produção tanto de esporos como de micélio aéreo como mecanismo de inibir o crescimento da colônia de *Xylaria*. Entretanto, *Xylaria* cresceu agressivamente sobre ou sob o micélio e esporos de *Trichoderma*, que ao mesmo tempo, ora atacavam ou recuavam da *Xylaria*. E finalmente os isolados de *Xylaria* cresceram sobre micélio e os esporos, resultando na morte de *Trichoderma* (757, 768 e 1135). Estes comportamentos culturais também foram observados quando linhagens de *Trichoderma* foram antagonizadas contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Sacc., *Cercospora musae* Zimm., e *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl. (Almeida 2002).

Tabela 1. Avaliação do potencial antagonista de linhagens de *Xylaria* spp frente a diferentes fungos fitopatogênicos.

Nº de registro da cultura de <i>Xylaria</i>	Isolado do fungo patógeno							
	<i>L. theobromae</i>			<i>Penicillium</i> sp	<i>Trichoderma</i> spp			
	825	1325	1249	1519	757	768	1185	1529
1518	2	2	2	2	2	2	2	2
1521	0	0	0	2	2	2	2	2
1525	2	2	2	2	2	2	2	2
1526	0	0	0	2	2	2	2	2
1527	2	2	2	2	0	1	2	0

Legenda: Endófitico inibe o crescimento do patógeno (2); endófitico é inibido pelo patógeno (1) e Interação nula entre endófitico e patógeno (0). e interação nula (0).

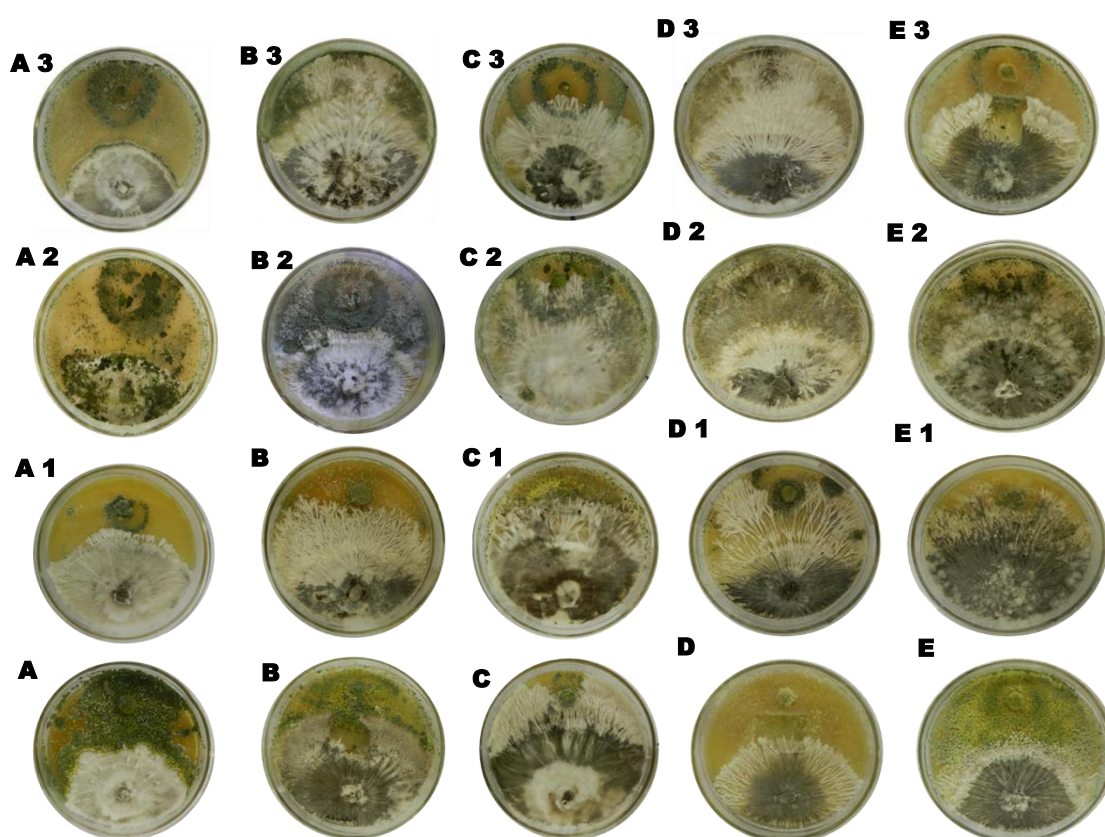


Figura 3. Antagonismo entre isolados de *Xylaria* e *Trichoderma* sp (A) *Xylaria* sp (1527) e *Trichoderma* sp (1529); (A1) *Xylaria* sp (1527) e *Trichoderma* sp (1185); (A2) *Xylaria* sp (1527) e *Trichoderma* sp (768); (A3) *Xylaria* sp (1527) e *Trichoderma* sp (757); (B) *Xylaria* sp (1526) e *Trichoderma* sp (1529); (B1) *Xylaria* sp (1526) e *Trichoderma* sp (1185); (B2) *Xylaria* sp (1526) e *Trichoderma* sp (768); (B3) *Xylaria* sp (1526) e *Trichoderma* sp (757); (C) *Xylaria* sp (1525) e *Trichoderma* sp (1529); (C1) *Xylaria* sp (1525) e *Trichoderma* sp (1185); (C2) *Xylaria* sp (1525) e *Trichoderma* sp (768); (C3) *Xylaria* sp (1525) e *Trichoderma* sp. (757); (D) *Xylaria* sp (1521) e *Trichoderma* sp. (1529); (D1) *Xylaria* sp (1521) e *Trichoderma* sp (1185); (D2) *Xylaria* sp (1521) e *Trichoderma* sp (768); (D3) *Xylaria* sp (1521) e *Trichoderma* sp. (757); (E) *Xylaria* sp (1518) e *Trichoderma* sp (1529); (E1) *Xylaria* sp (1518) e *Trichoderma* sp (1185); (E2) *Xylaria* sp (1518) e *Trichoderma* sp (768); (E3) *Xylaria* sp (1521) e *Trichoderma* sp (757).

Os isolados de *Xylaria* 1518, 1525 1527 apresentaram interação (2) com todas as linhagens de *L. theobromae*, sendo que a cepa 1518 ao se encontrar com micélio de *L. theobromae* formou uma barreira impedindo o desenvolvimento do patógeno (Figura 1. A-A2; B-B2; C-C2), sendo que os isolados 1521 e 1526 apresentaram interação nula. As linhagens de *L. theobromae* cresceram vigorosamente com micélio aéreo de coloração inicialmente branca, escurecendo com o tempo, dentre as linhagens de *L. theobromae*, o isolado 1249 apresentou maior resistência a *Xylaria*, exceto com a *Xylaria* 1525 que cresceu rapidamente, inibindo totalmente os patógenos testados.

As linhagens de *Xylaria* apresentaram interação (2) com o *Penicillium* sp, o isolado 1525 cresceu mais rápido que os demais, enquanto que *Penicillium* sp desenvolve-se lentamente com alteração na cor do micélio de verde-escuro para bege à medida que houve encontro dos micélios de ambos fungos (Figura 2 A-E). Notou-se que o *Penicillium* liberou um pigmento que difunde no meio de cultivo, deixando-o amarelo, é provável que este pigmento seja um bioativo de defesa do *Penicillium*.

Tal processo é observado no arroz contaminado por *Penicillium* que fica amarelo em consequência dos pigmentos e toxinas liberados (Dúran e Teixeira 2010). Os processos pelos quais as *Xylaria* degradam o pigmento e quebram a resistência do *Penicillium* ainda não são conhecidos, portanto recomenda-se futuros estudos químicos a fim de determinar o pigmento produzido pelo *Penicillium*.

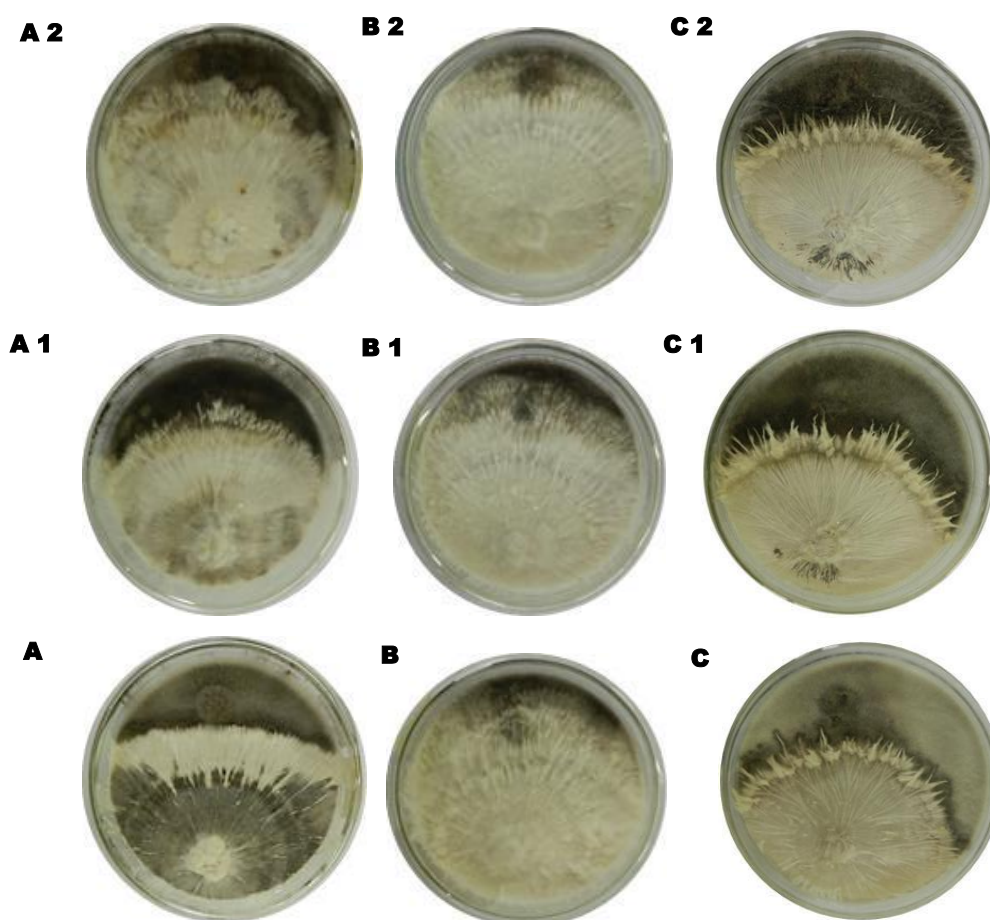


Figura 1. Antagonismo entre isolados de *Xylaria* e de *L. theobromae*. **(A)** *Xylaria* sp (1527) *L. theobromae* (1325); **(A1)** *Xylaria* sp (1527) e *L. theobromae* (1249); **(A2)** *Xylaria* sp (1527) e *L. theobromae* (825); **(B)** *Xylaria* sp (1525) e *L. theobromae* (1325); **(B1)** *Xylaria* sp (1525) e *L. theobromae* (1249); **(B2)** *Xylaria* sp (1525) e *L. theobromae* (1325); **(C)** *Xylaria* sp (1518) e *L. theobromae* (1325); **(C1)** *Xylaria* sp (1518) e *L. theobromae* (1249); **(C2)** *Xylaria* sp (1518) e *L. theobromae* (825).

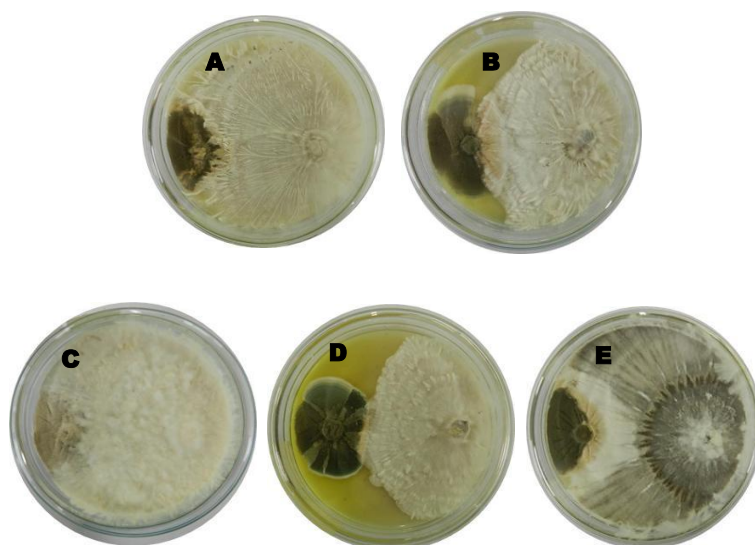


Figura 2. Confronto entre isolados de *Xylaria* e de *L. theobromae*. *Xylaria* sp (1518) e *Penicillium* (1519) (A); *Xylaria* (1521) e *Penicillium* (1519) (B); *Xylaria* (1525) e *Penicillium* (1519) (C); *Xylaria* (1526) e *Penicillium* (1519) (D); *Xylaria* (1527) e *Penicillium* (1519) (E).

4. Conclusão

Os dados da interação antagonista de *Xylaria* spp indicam que dentre os patógenos testados, o isolado de *L. theobromae* 1249 apresentou maior resistência a todas as linhagens de *Xylaria*. Dado importante, que sugere estudos visando à quebra de resistência de *L. theobromae* através da aplicação de *Xylaria*, considerando-se que *L. theobromae* causa grandes prejuízos econômicos no setor agroflorestal.

Com relação aos isolados de *Trichoderma* somente a linhagem 1529 apresentou maior capacidade antagonista a *Xylaria*. Todas as *Xylaria* spp são antagonistas ao *Penicillium* sp Com base nas informações obtidas sobre o efeito antagonista entre *Xylaria* e os fungos patógenos, recomenda-se estudos a fim de verificar os mecanismos de defesa e determinar os compostos bioativos e visando à aplicabilidade de *Xylaria* em controle biológico. O estudo de biologia molecular está sendo realizado visando identificar as linhagens de *Xylaria*.

5. Referências

- Almeida, W. K. D.S.2009. Antagonismo de *Trichoderma viride* Sobre Fungos Fitopatogênicos, *Colletotrichum spp.*, *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em Fruteiras Tropicais. *Rev. Bras. De Agroecologia*, 4 (2): 1374-1378.
- Biz, A.R.; Santaella, A.G.; Souza, R.D.; Soares, M.A. 2009. Atividade antagonista *in vitro* de fungos endofíticos contra fitopatógenos. *Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Cancerologia*.
- Dúran, N.; Teixeira, M.F.S; Esposito, E. 2010. Pigmentos fúngicos e seu potencial biotecnológico, p. 209-308. In: Esposito, E Azevedo, J. L. *Fungos - Uma Introdução À Biologia, Bioquímica e Biotecnologia* (EducS).
- Olunoye, O.; A.; Esuruoso, O.I. 1975. Lasiodiplodia floral shoot dieback disease of cashew in Nigeria. *Plant Disease Reporter*. 59: 176-179.
- Sá, J. O. 2009. *Patogênese de Aspergillus niger e Biocontrole da Podridão Vermelha do Sisal por Trichoderma spp.* Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das almas, Bahia. 33 pp.
- Silva, J.G.; Melo, R.P.; Araújo, J.D.M; Pessoa, M.N.G.; Albiero, D.; Monteiro, L. A. 2011. Evaluation of extract of Bitter Mellon (*Momordica charantia* L.) a agro-ecological way to control pathogenic fungi. *Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia*.