

Fungos endofíticos isolados do capim citronela e seleção de antagonistas a fitopatógenos

Jeanne Cândida Lopes^{1*}, Aloisio Freitas Chagas Junior², Antônio Carlos da Costa Neves³, Vanessa Mara Chapla⁴, Carmes Ana da Rosa Batistella⁵

1. Farmacêutica (Universidade Federal de Goiás). Mestre em Biotecnologia (Universidade Federal do Tocantins, Brasil).

2. Agrônomo (Universidade Federal Rural da Amazônia). Doutor em Biotecnologia (Universidade Federal do Amazonas). Professor da Universidade Federal do Tocantins, Brasil.

3. Agrônomo (Universidade Federal do Tocantins) Mestre em Biotecnologia.

4. Química (Universidade Estadual do Oeste do Paraná). Doutora em Química (Instituto de Química-Universidade Estadual Paulista/University of Arizona). Professora da Universidade Federal do Tocantins, Brasil.

5. Graduação em Ciências (Universidade de Ijuí). Doutoranda em Educação (Pontifícia Universidade Católica de Goiás). Professora da Universidade Federal do Tocantins, Brasil.

*Autor para correspondência: jeaneclopes@hotmail.com

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo isolar e identificar fungos endofíticos de folhas e segmentos de haste sadias do capim citronela (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) e avaliar o potencial antagonístico dos fungos isolados contra fitopatógenos, observando a possível produção de metabólitos voláteis pelos fungos endofíticos. Foi inicialmente realizada a coleta, a separação e a assepsia das folhas sadias e segmentos de haste de planta de capim citronela. Após incubação do material botânico, procedeu-se o isolamento, identificação e avaliação *in vitro* do potencial antagonístico dos fungos endofíticos contra os fitopatógenos *Curvularia lunata*, *Bipolaris oryzae* e *Fusarium oxysporum*. Foram isolados doze representantes de fungos endofíticos originados de partes saudáveis da folha e do segmento da haste do capim citronela e classificados em seis gêneros, sendo eles: *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Bipolaris* sp., *Trichoderma* sp., *Epicoccum* sp. e *Pyricularia* sp. Os endófitos *Trichoderma* sp. e *Fusarium* sp. apresentaram maior potencial antagonístico, sendo que os isolados de *Trichoderma* sp. inibiram o crescimento dos três fitopatógenos confrontados.

Palavras-chave: *Cymbopogon nardus*; biocontrole; metabólitos voláteis.

Endophytic fungi isolated from citronella grass and selection of antagonists to phytopathogens

ABSTRACT

This study aimed to isolate and identify endophytic fungi in healthy leaves and stem segments of the citronella grass (*Cymbopogon nardus*) and evaluate the antagonistic potential of isolated fungi against phytopathogens, observing the possible production of volatile metabolites by endophytic fungi. Initially, the healthy leaves and stem segments of the citronella grass plant were collected, separated and sterilized. After the incubation of the botanical material, the antagonistic potential of the endophytic fungi against the phytopathogens *Curvularia lunata*, *Bipolaris oryzae* and *Fusarium oxysporum* was isolated, identified and evaluated *in vitro*. Twelve representatives of endophytic fungi originated from healthy parts of the leaf and the stem segment of citronella grass were isolated and classified into six genera: *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Bipolaris* sp., *Trichoderma* sp., *Epicoccum* sp. and *Pyricularia* sp. The endophytes *Trichoderma* sp. and *Fusarium* sp. showed higher antagonistic potential, and *Trichoderma* sp. inhibited the growth of the three confronted phytopathogens.

Keywords: *Cymbopogon nardus*; biocontrol; volatile metabolites.

Introdução

Nas últimas décadas, o controle químico de fitopatógenos vem sendo utilizado intensivamente criando inúmeros problemas, tais como: resistência microbiana adquirida, contaminação ambiental (água, solo, produtor e consumidor) e elevação dos custos de produção. Estudos de controle alternativo com plantas medicinais, como a citronela, vem crescendo atualmente em função de não apresentarem risco ambiental, serem geralmente inócuas aos animais e seres humanos, bem como apresentam menor custo (MOREIRA et al., 2008).

O capim citronela *Cymbopogon nardus* L. Rendle, é uma planta originária do Ceilão e da Índia, pertence à família Poaceae, subfamília Panicoideae. O gênero *Cymbopogon* é constituído de oitenta e cinco espécies. O *C. nardus* é uma planta medicinal que apresenta em sua constituição óleo essencial com dois compostos majoritários o citronelal e o geraniol (CASTRO et al., 2007).

Muitos estudos utilizando óleos essenciais do capim citronela para controle de fitopatógenos estão sendo conduzidos, porém, poucos trabalhos exploram os microrganismos endofíticos da planta. Esses microrganismos, constituídos principalmente por fungos e bactérias, habitam o interior das plantas e se disseminam sistematicamente sem causar doença, mas impedindo o avanço dos fitopatógenos. Estudos realizados com endófitos revelaram a riqueza destas espécies que são capazes de promover o aumento da resistência a condições de estresse, alterações fisiológicas, produção de fitohormônios, toxinas, fármacos, imunossuppressores, antitumorais e enzimas, crescimento vegetal, controle de fitopatógenos, remoção de contaminantes, dentre outros (ROSENBLUETH; MARTINEZ-ROMERO, 2006).

Por desempenharem variadas e estreitas relações com as plantas, sem demonstrar sintomas visíveis, há necessidade de isolamento e cultivo desses fungos em laboratório (AZEVEDO; ARAÚJO, 2007), trazendo assim novas formas de controle biológico a diversos cultivares.

Considerando a crescente utilização do capim citronela no país e no mundo e o impacto que os fungos endofíticos podem apresentar no controle de doenças, à realização de pesquisas voltadas a associação endófito/planta é relevante, podendo contribuir para o aumento da produção juntamente com a melhoria ambiental.

O presente trabalho teve por objetivos isolar e identificar fungos endofíticos de folhas e segmentos de haste sadias do capim citronela e avaliar o potencial antagonístico de fungos endofíticos selecionados contra fitopatógenos, observando a possível produção de metabólitos voláteis pelos fungos endofíticos.

Material e Métodos

Inicialmente, foi realizada a colheita da espécie vegetal *Cymbopogon nardus* L. Rendle do herbário do campus UFT de Gurupi (TO). O material botânico foi separado em folhas e segmentos de haste saudáveis e processado no prazo de 24 horas. Em seguida, em câmara asséptica, o material foi imerso em álcool 70% por 1 minuto, em hipoclorito de sódio 3% por 4 minutos e novamente em álcool 70% por 30 segundos, para retirar o excesso de hipoclorito de sódio. Lavou-se, então, em água destilada estéril da qual se retirou 50 µl para fazer o controle da assepsia (PEREIRA, 1993).

Após a assepsia, as partes da planta foram trituradas separadamente em gral e pistilo com 5 ml de tampão fosfato de sódio monobásico estéril pH 7,4. Os pequenos fragmentos resultantes da

trituração foram plaqueados em meio de batata, dextrose e ágar (BDA), acrescido de ampicilina (500 µg ml⁻¹), para inibir o crescimento bacteriano no isolamento dos fungos. As placas com os fragmentos foram incubadas a 25 ± 2 °C em incubadora BOD por oito dias. Sucessivas repicagens resultaram no isolamento dos endófitos.

A identificação dos gêneros foi realizada em culturas puras dos fungos cultivados em meio BDA contido em placas de Petri. A caracterização morfológica foi procedida através de observação das características macroscópicas das colônias e microscópicas das estruturas reprodutivas com base em referências bibliográficas especializadas (SIVANESAN, 1984; HANLIN; MENEZES, 1996).

Os experimentos de antagonismo *in vitro* pelo método de culturas pareadas em placas (MARIANO, 1993), consistiu no confronto direto dos endófitos obtidos do capim citronela contra os isolados fitopatogênicos *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata* e *Bipolaris oryzae* obtidos da micoteca do laboratório de Fitopatologia da UFT. Cada placa, contendo meio BDA, recebeu dois discos de 6 mm pareados, em pontos equidistantes, sendo um disco retirado da borda da colônia do fungo patogênico e o outro disco retirado da borda da colônia do fungo endofítico. Após o pareamento, as placas foram incubadas a 25 ± 2 °C por 14 dias. Como testemunha, o fungo patogênico foi inoculado sem a presença dos endófitos. A avaliação foi realizada quando a colônia do fungo (controle) alcançou as bordas da placa (BELL et al., 1982).

Para testar a inibição dos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata* e *Bipolaris oryzae* devido à produção de metabólitos voláteis pelos isolados endofíticos, foi realizado confronto em placas de Petri com divisória. Após sete dias de crescimento, de cada isolado foi retirado um cilindro de micélio de 6 mm de diâmetro, que foi depositado na extremidade oposta ao cilindro do fitopatógeno, utilizando meio BDA.

Como testemunha, um cilindro de micélio do fitopatógeno foi inoculado isoladamente em uma extremidade da placa. As placas foram vedadas com filme plástico PVC e mantidas em BOD a 25 ± 2 °C por 14 dias.

Os testes foram realizados em triplicata, delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 12, sendo 3 fitopatógenos e 12 fungos endofíticos, totalizando 36 tratamentos. Foram feitas as avaliações do diâmetro das colônias do fitopatógeno com 7 e 14 dias de crescimento. Para determinar a porcentagem de inibição do crescimento do patógeno, mediu-se o diâmetro das colônias, subtraindo-se o diâmetro do disco de micélio inicial (QUIROGA et al., 2001) e calculada de acordo com Edginton et al. (1971), pela fórmula: Porcentagem de inibição (PI%) = (Dc - Dt / Dc) x 100, em que Dc é o diâmetro médio da colônia do patógeno das placas testemunhas (sem antagonista) e Dt é o diâmetro médio da colônia do patógenos frente ao antagonista (isolado endofítico).

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, utilizando o programa estatísticos Assistat 7.6.

Resultados e Discussão

Foram isolados doze representantes de fungos endofíticos originados de partes saudáveis da folha e do segmento da haste do capim citronela e classificados até o nível de gênero após observação dos aspectos macro e micro morfológicos, compara-dos com dados específicos de literatura (Tabela 1).

Tabela 1. Relação de fungos endofíticos isolados de folhas e hastes de *Cymbopogon nardus*. / **Table 1.** Endophytic fungi ratio isolated from leaves and stems of *Cymbopogon Nardus*.

Código	Fungo	Núm. de isolados	Origem
UFT/MB.J1	<i>Trichoderma</i> sp.	2	Disco foliar
UFT/MB.J2	<i>Trichoderma</i> sp.		Disco foliar
UFT/MB.J3	<i>Fusarium</i> sp.	4	Segmento de haste
UFT/MB.J4	<i>Fusarium</i> sp.		Segmento de haste
UFT/MB.J5	<i>Fusarium</i> sp.		Segmento de haste
UFT/MB.J12	<i>Fusarium</i> sp.		Segmento de haste
UFT/MB.J7	<i>Curvularia</i> sp.	3	Disco foliar
UFT/MB.J8	<i>Curvularia</i> sp.		Disco foliar
UFT/MB.J10	<i>Curvularia</i> sp.		Disco foliar
UFT/MB.J11	<i>Bipolaris</i> sp.	1	Disco foliar
UFT/MB.J9	<i>Epicoccum</i> sp.	1	Disco foliar
UFT/MB.J6	<i>Pyricularia</i> sp.	1	Disco foliar

Segundo Souza et al. (2004), não é fácil a identificação completa dos fungos endofíticos, devido à carência de especialistas em taxonomia das diferentes espécies e de conhecimento sobre seus micro habitat, podendo haver, entre eles, muitas espécies desconhecidas.

A taxa de colonização por fungos na planta pode variar de acordo com fatores abióticos e bióticos, distribuição geográfica, idade da planta, condições ecológicas, sazonalidade, altitude, precipitação, entre espécies e tecidos da planta (FAETH; FAGAN, 2002; OKI et al., 2009).

Os testes realizados através do método *in vitro* revelaram o potencial antagonista de alguns fungos endofíticos, por pareamento direto, contra o fitopatógeno *Bipolaris oryzae*, constatado através da sobreposição das colônias dos isolados ou pela formação de um halo de inibição, que reduziram o crescimento micelial do patógeno. No confronto direto, os isolados UFT/MB.J1 e UFT/MB.J2, característicos de *Trichoderma* sp. inibiram em 59,0 e 65,2%, respectivamente, o crescimento micelial do fitopatógeno *Bipolaris oryzae*, aos 14 dias de incubação. Com relação ao confronto por compostos voláteis, a diferença de diâmetro da colônia também se mostrou estatisticamente significativa aos 7 dias de incubação, porém, com menor porcentagem de inibição (Tabela 2).

Tabela 2. Média do confronto direto e do confronto por compostos voláteis de fungos endofíticos com o patógeno *Bipolaris oryzae*. / **Table 2.** Average of direct confrontation and volatile compounds confrontation of endophytic fungi with the pathogen *Bipolaris oryzae*.

Tratamentos	Confronto direto				Confronto por compostos voláteis			
	7 dias		14 dias		7 dias		14 dias	
	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²
Testemunha	28,0 a	-	70,0 a	-	36,0 a	-	52,0 b	-
UFT/MB.J1	22,7 b	19,0	28,7 b	59,0	30,3 c	15,8	48,7 b	6,4
UFT/MB.J2	23,3 b	16,7	24,3 b	65,2	33,3 b	7,4	48,3 b	7,1
UFT/MB.J3	27,7 a	1,2	63,7 a	9,0	34,3 a	4,6	70,0 a	0,0
UFT/MB.J4	26,3 a	6,0	53,7 a	23,3	35,3 a	1,9	70,0 a	0,0
UFT/MB.J5	27,7 a	1,2	70,0 a	0,0	36,7 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J6	27,3 a	2,4	64,0 a	8,6	35,7 a	0,9	70,0 a	0,0
UFT/MB.J7	28,0 a	0,0	61,7 a	11,9	36,3 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J8	26,0 a	7,1	70,0 a	0,0	36,0 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J9	27,7 a	1,2	70,0 a	0,0	37,0 a	0,0	59,0 b	0,0
UFT/MB.J10	28,3 a	0,0	70,0 a	0,0	36,0 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J11	25,0 b	10,7	70,0 a	0,0	36,0 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J12	28,0 a	0,0	70,0 a	0,0	36,0 a	0,0	70,0 a	0,0
CV(%) ³	4,7		11,7		3,2		15,5	

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. ²PI = Porcentagem de inibição do crescimento micelial, ³CV = Coeficiente de variação.

Para o confronto direto contra o patógeno *Curvularia lunata*, os isolados endofíticos UFT/MB.J1, UFT/MB.J2, UFT/MB.J4 e UFT/MB.J6 foram superiores em relação a testemunha aos 14 dias de incubação. Novamente os isolados UFT/MB.J1 e UFT/MB.J2 (*Trichoderma* sp.), obtiveram maior porcentagem de inibição 68,8 e 59,9%, respectivamente, seguido dos isolados UFT/MB.J4 (*Fusarium* sp.), com 37,6% de inibição e UFT/MB.J6 (*Pyricularia* sp.), com 30,2% de inibição (Tabela 3).

Os resultados do confronto por metabólitos voláteis na tabela 3 mostram que os isolados UFT/MB.J2, UFT/MB.J3 e UFT/MB.J4 apresentaram diferenças estatisticamente superiores em relação a testemunha aos 14 dias de incubação, sendo que, os isolados UFT/MB.J3 e UFT/MB.J4 (*Fusarium* sp.), obtiveram maior porcentagem de inibição do patógeno, com 31,0 e 33,3% de inibição, respectivamente, seguido do isolado UFT/MB.J2 com 18,1% de inibição.

Tabela 3. Média do confronto direto e do confronto por compostos voláteis de fungos endofíticos com o patógeno *Curvularia lunata*. / **Table 3.** Average of direct confrontation and volatile compounds confrontation of endophytic fungi with the pathogen *Curvularia lunata*.

Tratamentos	Confronto direto				Confronto por compostos voláteis			
	7 dias		14 dias		7 dias		14 dias	
	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²
Testemunha	26,3 a	-	67,3 a	-	31,0 a	-	70,0 a	-
UFT/MB.J1	21,0 b	20,2	21,0 c	68,8	25,3 b	18,3	70,0 a	0,0
UFT/MB.J2	24,0 a	8,9	27,0 c	59,9	25,0 b	19,4	57,3 b	18,1
UFT/MB.J3	22,0 b	16,5	55,0 a	18,3	32,3 a	0,0	48,3 b	31,0
UFT/MB.J4	21,0 b	20,2	42,0 b	37,6	31,7 a	0,0	46,7 b	33,3
UFT/MB.J5	26,0 a	1,3	58,3 a	13,4	32,3 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J6	21,3 b	19,0	47,0 b	30,2	33,3 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J7	22,3 b	15,2	60,0 a	10,9	31,0 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J8	21,7 b	17,7	70,0 a	0,0	33,0 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J9	21,3 b	19,0	59,0 a	12,4	33,3 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J10	23,7 b	10,1	70,0 a	0,0	32,3 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J11	26,0 a	1,3	70,0 a	0,0	32,7 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J12	25,7 a	2,5	59,3 a	11,9	34,3 a	0,0	70,0 a	0,0
CV(%) ³	6,2		18,3		4,7		14,9	

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. ²PI = Porcentagem de inibição do crescimento micelial, ³CV = Coeficiente de variação.

Para o confronto direto contra o *Fusarium oxysporum*, os isolados UFT/MB.J1, J2, J4, J7, J9, J10, J11 e J12, aos 14 dias de incubação, foram superiores em relação a testemunha, sendo que os isolados UFT/MB.J1, UFT/MB.J2 (*Trichoderma* sp.), e UFT/MB.J12 (*Fusarium* sp.), obtiveram maiores porcentagens de inibição do patógeno de

59,3, 70,0 e 56,0%, respectivamente. Com relação ao confronto por compostos voláteis, apresentaram diferenças estatisticamente superiores os isolados UFT/MB.J5 (*Fusarium* sp.), e UFT/MB.J6 (*Pyricularia* sp.), com 46,7 e 54,1% de inibição, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Média do confronto direto e do confronto por compostos voláteis de fungos endofíticos com o patógeno *Fusarium oxysporum*. / **Table 4.** Average of direct confrontation and volatile compounds confrontation of endophytic fungi with the pathogen *Fusarium oxysporum*.

Tratamentos	Confronto direto				Confronto por compostos voláteis			
	7 dias		14 dias		7 dias		14 dias	
	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²	Diâmetro da colônia (mm) ¹	PI (%) ²
Testemunha	44,0 a	-	50,0 a	-	13,0 b	-	40,7 b	-
UFT/MB.J1	20,7 c	53,0	20,3 b	59,3	36,0 a	0,0	58,0 a	0,0
UFT/MB.J2	14,7 c	66,7	15,0 b	70,0	34,7 a	0,0	59,0 a	0,0
UFT/MB.J3	37,7 a	14,4	53,0 a	0,0	29,7 a	0,0	47,0 a	0,0
UFT/MB.J4	25,0 b	43,2	29,0 b	42,0	28,0 a	0,0	53,0 a	0,0
UFT/MB.J5	30,0 b	31,8	39,3 a	21,3	11,7 b	10,2	21,7 b	46,7
UFT/MB.J6	31,0 b	29,6	47,0 a	6,0	12,3 b	5,2	18,7 b	54,1
UFT/MB.J7	27,0 b	38,6	33,0 b	34,0	30,3 a	0,0	56,3 a	0,0
UFT/MB.J8	43,7 a	0,8	51,0 a	0,0	20,0 b	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J9	25,3 b	42,4	31,0 b	38,0	36,7 a	0,0	51,0 a	0,0
UFT/MB.J10	31,3 b	28,8	35,3 b	29,3	34,3 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J11	24,7 b	43,9	28,3 b	43,3	44,7 a	0,0	70,0 a	0,0
UFT/MB.J12	20,7 c	53,0	22,0 b	56,0	36,0 a	0,0	56,7 a	0,0
CV(%) ³	16,7		24,0		24,1		34,6	

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. ²PI = Porcentagem de inibição do crescimento micelial, ³CV = Coeficiente de variação.

Os testes realizados demonstram grande potencial inibidor dos isolados de *Trichoderma* UFT/MB.J1 e UFT/MB.J2, frente aos patógenos *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata* e *Bipolaris oryzae*. Durante o confronto por compostos voláteis, estes isolados de *Trichoderma* atravessaram a divisória da placa de Petri e colonizaram o micélio do patógeno *Curvularia lunata* podendo caracterizar uma ação parasitária dos isolados (Figura 1). Estudos genômicos recentes apontam que mais de 1100 estirpes de *Trichoderma* spp., obtidas a partir de 75 espécies, são capazes de desempenhar atividade microparasítica contra diferentes fitopatógenos (SILVA et al., 2015). Essa atividade parasitária e outros mecanismos de ação como produção de antibióticos voláteis e não-voláteis, competição por espaço e nutrientes e atividade enzimática hidrolítica tornam os fungos do gênero *Trichoderma* potentes no controle de fitopatógenos e na promoção do crescimento vegetal (MACHADO et al., 2012; BRITO et al., 2014).

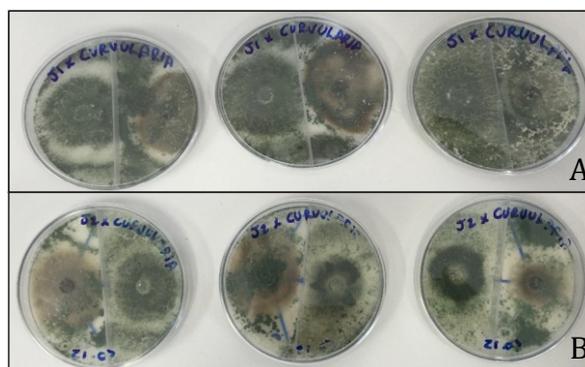


Figura 1. Colonização do micélio do patógeno *Curvularia lunata* pelos isolado de *Trichoderma* sp. (A: UFT/MB.J1 e B: UFT/MB.J2), durante o confronto por compostos voláteis. / **Figure 1.** Colonization of the pathogen mycelium *Curvularia lunata* by isolated of *Trichoderma* sp. (A: UFT/MB.J1 and B: UFT/MB.J2), during the volatile compounds confrontation.

Pires et al. (2015) ao avaliar a atividade antibacteriana de fungos endofíticos isolados de cactos da Caatinga, verificaram que linhagens de *Trichoderma* sp. apresentaram atividade antibiótica contra microrganismos de importância clínica como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enteritidis* através da formação de halos de inibição variando de 8-20 mm.

São diversos os estudos que evidenciam a eficiência da *Trichoderma* no biocontrole de plantas (BONETT et al., 2015; DE AGUIAR et al., 2015; SILVA et al., 2015; JUNGES et al., 2016), sendo assim cada vez maior o aparecimento de produtos à base de *Trichoderma*, com a capacidade de reduzir a incidência do tombamento de plantas e doenças ocasionadas por patógenos do solo. Porém, a utilização destes produtos no mercado mundial ainda é tímida perante a utilização dos agrotóxicos (POMELLA; RIBEIRO, 2009).

Com relação a presença de fungos endofíticos em plantas medicinais, Mussi-Dias et al. (2012) obtiveram um isolado de *Trichoderma* sp. UENF/CF 81 a partir da planta erva doce (*Foeniculum vulgare*), e um isolado de *Fusarium* sp. UENF/CF 66 do capim-limão (*Cymbopogon citratus*), a mesma análise foi realizada na citronela no qual foi isolado o fungo da antracnose (*Colletotrichum* sp. UENF/CF 80), o que não foi encontrado no presente estudo. Bezerra et al. (2015) ao analisar endófitos da planta medicinal pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), obtiveram uma frequência de 7,4% isolados de *Trichoderma piluliferum*.

Já o isolado endofítico *Fusarium* sp. UFT/MB.J4 demonstrou efeito inibidor contra o patógeno *Curvularia lunata* (Tabela 3) e frente ao patógeno de mesmo gênero *Fusarium oxysporum*, o que também pôde ser observado no isolado *Fusarium* sp. UFT/MB.J12 (Tabela 4). A presença endofítica do gênero *Fusarium* deve ser considerada, pois existem estudos no controle de espécies deste gênero por serem potenciais produtoras de micotoxinas causadoras de danos em diversas espécies vegetais (MUSSI-DIAS et al., 2012; HOFFMANN et al., 2015).

Essa possível produção de metabólitos por algumas espécies de *Fusarium* pode ser notada no isolado UFT/MB.J5 que, mesmo não inibindo o crescimento do patógeno, formou um halo inibitório que impediu a aproximação e a sobreposição do patógeno frente ao isolado (Figura 2). Este endófito conseguiu inibir de forma significativa, através do confronto por compostos voláteis, apenas o crescimento do patógeno *Fusarium oxysporum*, assim como o isolado de *Pyricularia* sp. UFT/MB.J6 (Tabela 4).

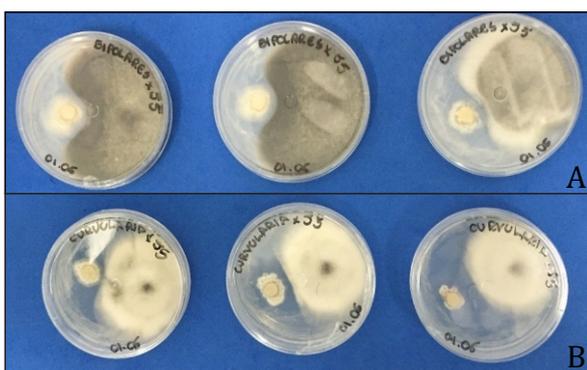


Figura 2. Halo de inibição formado pelo isolado *Fusarium* sp. UFT/MB.J5 frente aos patógenos *Bipolaris oryzae* (A) e *Curvularia lunata* (B). / **Figure 2.** Inhibition halo formed by isolated *Fusarium* sp. UFT/MB.J5 front of pathogens *Bipolaris oryzae* (A) and *Curvularia lunata* (B).

Pimentel et al. (2006) ao pesquisar fungos endofíticos em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) puderam isolar espécies de *Fusarium* sp. ocorrendo endofiticamente a uma frequência maior em folhas velhas, o contrário pode ser observado neste estudo, no qual os isolados de *Fusarium* sp. foram encontrados no segmento da haste, ou seja, parte considerada jovem do capim citronela.

O gênero *Fusarium* apresenta fungos de alta patogenicidade a diversas espécies de plantas, no entanto pode ser evidenciado sua utilização no controle do crescimento de plantas daninhas, como foi observado por Oliveira (2015) em trabalho com fungos associados a

sementes de plantas daninhas do cerrado onde esse gênero isolado de *Tridax procumbens* (erva-de-touro) foi patogênico a sua hospedeira, provocando sintomas de murcha.

Aprofundamento nos estudos se faz necessário afim de identificar as espécies endófitas encontradas e testá-las em experimentos de campo como biocontroles de plantas. Estudos que evidenciem propriedades antimicrobianas destes endófitos contra microrganismos patogênicos ao homem também são válidos na busca de novos antibióticos.

Conclusão

Entre os endofíticos obtidos de capim citronela, os isolados pertencentes aos gêneros *Trichoderma* sp. apresentaram antagonismo, tanto pelo confronto direto quanto por metabólitos voláteis, contra os fitopatógenos *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata* e *Fusarium oxysporum*.

Referências Bibliográficas

- AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. **Fungi: Multifaceted Microbes**, p. 189-207, 2007.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- BEZERRA, J. D.; NASCIMENTO, C. C. F.; BARBOSA, R. N.; DA SILVA, D. C. V.; SVEDESE, V. M.; SILVA-NOGUEIRA, E. B.; GOMES, B. S.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTTA, C. M. Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 49-57, 2015.
- BONETT, L. P.; DE SOUZA HURMANN, E. M.; JÚNIOR, M. C. P.; ROSA, T. B.; SOARES, J. L. Biocontrole in Vitro de *Colletotrichum musae* por Isolados de *Trichoderma* spp. **Uniciências**, v. 17, n. 1, p. 5-10, 2015.
- BRITO, J. P. C.; RAMADA, M. H.; DE MAGALHÃES, M. T.; SILVA, L. P.; ULHOA, C. J. Peptaibols from *Trichoderma asperellum* TR356 strain isolated from Brazilian soil. **Springer Plus**, v. 3, n. 1, p. 600-610, 2014.
- CASTRO, H. G.; BARBOSA, L. C. A.; LEAL, T. C. A. B.; SOUZA, C. M.; NAZARENO, A. C. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 4, p. 55-61, 2007.
- DE AGUIAR, A. R.; AGUIAR, D.; TEDESCO, S. B.; DA SILVA, A. C. F. Efeito de metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp. sobre o índice mitótico em células das pontas de raízes de *Allium cepa*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, p. 934-940, 2015.
- EDGINTON, L. V.; KNEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v. 62, n. 7, p. 42-44, 1971.
- 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.
- HANLIN, R. T.; MENEZES, M. **Gêneros ilustrados de ascomicetos**. Recife: Imprensa da Universidade Federal de Pernambuco, 1996. 274 p.
- HOFFMANN, C. A.; CHAGAS, L. F. B.; SILVA, D. P. da; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SHEIDT, G. N. Potencial de antagonismo de isolados de *Trichoderma* sp. contra os isolados de *Fusarium* sp., in vitro. **Revista Verde**, v. 10, n. 1, p. 236-242, 2015.
- JUNGES, E.; MUNIZ, M. F.; MEZZOMO, R.; BASTOS, B.; MACHADO, R. T. *Trichoderma* spp. in the Production of Seedling of Forest Species. **Floresta e Ambiente**, (AHEAD), 2016.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, R. F.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O Fungo e o Bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MALLOZZI, M. A. B.; CORRÊA, B. **Fungos toxigênicos e micotoxinas**. São Paulo: Instituto Biológico, 1998. 26p. (Boletim Técnico, n.12).
- MARIANO, R. L. R. Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógenos de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 1, p. 369-409, 1993.
- MOREIRA, C. G. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 4, p. 332-337, 2008.
- MUSSI-DIAS, V.; ARAÚJO, A. C. O.; SILVEIRA, S. F.; ROCABADO, J. M. A.; ARAÚJO, K. L. Fungos endofíticos associados a plantas medicinais. **Revista brasileira plantas medicinais**, v. 14, n. 2, p. 261-266, 2012.
- OKI, Y.; SOARES, N.; BELMIRO, M. S.; CÔRREA JUNIOR, A.; FERNANDES, G. W. The influence of the endophytic fungi on the herbivores from *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Neotropical Biology and Conservation**, v. 4, n. 2, p. 83-88, 2009.
- OLIVEIRA, E. F. **Etiologia, patogenicidade e caracterização molecular de fungos associados a Sementes de plantas daninhas do cerrado**. 83f. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Tocantins, 2015.

- PEREIRA, J. O.; AZEVEDO, J. L.; PETRINI, O. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: a first report. **Mycologia**, v. 85, p. 362-364, 1993.
- PIMENTEL, I.C.; KUCZKOWSKI, F. R.; CHIME, M. A.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Fungos endofíticos em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Floresta**, v. 36, n. 1, 2006.
- PIRES, I. M. O.; SILVA, A. V.; SANTOS, M. G. S.; BEZERRA, J. D. P.; BARBOSA, R. N.; SILVA, D. C. V.; SVEDESE, V. M.; SOUZA-MOTTA, C. M.; PAIVA, L. M. Potencial antibacteriano de fungos endofíticos de cactos da caatinga, uma floresta tropical seca no nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, v. 9, n. 2, p. 155-161, 2015.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente, p. 239-244, 2009.
- QUIROGA, E. N.; SAMPIETRO, A. R.; VATTUONE, M. Screening antifungal activities of selected medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 89 - 96, 2001.
- ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 19, n. 8, p. 827-37, 2006.
- SILVA, G. B. P.; HECKLER, L. I.; DOS SANTOS, R. F.; DURIGON, M. R.; BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 4, p. 33-42, 2015.
- SIVANESAN, A. **The bitunicate ascomycetes and their anamorphs**. J. Cramer, 1984.
- SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; ASTOLFI FILHO, S.; BELÉM PINHEIRO, M. L.; SARQUIS, M. I. D. M.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Benth. **Acta amazônica**, v. 34, n. 2, p.185-95, 2004.