### UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

### Coordenador geral

Prof. Dr. Celso João Rubin Filho



#### Comissão Científica

Profa. Dra. Maria Auxiliadora Milaneze-Gutierre Prof. Dr. Celso João Rubin Filho Profa. Dra. Liliana Rodrigues Prof. Dr. Werner Camargo Antunes

### **Apoio**









#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

#### AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA DE ENDÓFITOS DE Trichilia elegans A.JUSS CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Mariana Sanches Santos, Sandro Augusto Rhoden, Maria Carolina dos Santos e Silva, Aretusa Cristina Felber, João Alencar Pamphile

Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá. Maringá (PR), CEP 87020-900. e-mail: <u>mari\_sanches\_s@hotmail.com</u>

Microrganismos endofíticos, principalmente bactérias e fungos, habitam o interior das plantas. Os endófitos colonizam os tecidos sadios de partes aéreas da planta, não causando, aparentemente, danos a planta. O gênero Trichilia P.Browne (Meliaceae) possui 230 espécies conhecidas, e ocorre em matas semideciduas, possuindo ampla dispersão no Brasil. Algumas plantas deste gênero são utilizadas no país na medicina popular. Este trabalho tem como objetivo principal a avaliação da atividade antagonística de isolados endofíticos foliares de T. elegans contra o fungo fitopatogênico Fusarium sp. Foram utilizados três fungos endofíticos previamente isolados de T. elegans pertencentes ao estoque do Laboratório de Biotecnologia Microbiana – UEM. A técnica de Cultura Pareada: os fungos endofíticos e o fitopatógeno foram repicados e inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e posteriormente, foram incubados a 28°C por sete dias. Após esse período, retiraram-se fragmentos de 6mm² de cada um dos fungos endofíticos e do fitopatógeno que foram inoculados em placa de Petri em pólos opostos, mantendo uma distância de 2cm entre os dois fungos testados. Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 28°C por 7 dias. O Índice de Antagonismo (AI) foi calculado para todas as linhagens endofíticas testadas de acordo com a fórmula: AI = (RM-rm)/RMx100. A análise das interações endófito-fitopatógeno foi baseada na escala de Badalyan de acordo com três tipos de interações: A, B e C. O fungo endofítico 2-1 apresentou índice de antagonismo numa média de 61%, enquanto que a média do endofítico 2-42 foi de 55% e do endofítico 3-19-1.1 foi de 59%, acontecendo, nos três casos, interações do tipo A. Pode-se concluir que os endófitos 2-1 e 3-19-1.1 apresentam potencial biotecnológico no controle de *Fusarium* sp.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

### BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS FOLIARES DA PLANTA Abutilon striatum CONTRA Alternaria alternata E Colletotrichum sp.

Angélica Albuquerque Tomilhero Frias, Amanda dos Santos Burin, Nayara Faila, Tiago Tognolli de Almeida, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:angelicafrias16@hotmail.com">angelicafrias16@hotmail.com</a>

Microrganismos endofíticos, fungos e bactérias, são encontrados no interior de plantas, em tecidos e órgãos, de folhas e raízes, sem causar danos em seus hospedeiros. Exercem importantes funções, protegendo contra a ação de herbívoros, atuando no controle de microrganismos fitopatogênicos e insetos. O gênero Abutilon descreve inúmeras espécies de plantas, pertencentes à família Malvaceae, muito utilizada na ornamentação em todo o mundo e na indústria têxtil. O objetivo deste trabalho foi verificar o potencial biotecnológico de endófitos presentes em folhas de A. striatum no controle dos fitopatógenos Alternaria alternata e Colletotrichum sp.. Foram utilizados três endófitos para a realização da Cultura Pareada: o fungo endofítico isolado e o fitopatógeno a ser testado, foram inoculados em placas com BDA em pólos opostos, equidistantes de 2cm. Cada combinação de endófito/patógeno foi realizada em triplicata, bem como os controles negativos, onde o primeiro controle tinha apenas o fitopatógeno em um pólo da placa e o segundo, com o fitopatógeno nos dois pólos. As placas foram incubadas a 28° C por 7 dias. A caracterização do efeito do endófito sobre o crescimento da colônia do fitopatógeno foi realizada observando-se o antagonismo, de acordo com a escala de Badalyan. Os isolados testados apresentaram interação do tipo A = "deadlock" com contato micelial. Os isolados 23, 25 e 02 contendo o fitopatógeno *Alternaria alternata* apresentaram índice de antagonismos na média de 71,68%, 71,32% e 69,31%, respectivamente, enquanto o índice de antagonismo do Colletotrichum sp. foi, em média, de 76,69%, 73,24% e 69,61%, respectivamente. Pode-se concluir que fungos endofíticos isolados de folhas de Abutilon striatum apresentam potencial biotecnológico no controle dos fitopatógenos de Alternaria alternata e Colletotrichum sp.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

#### ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FRAGMENTOS FOLIARES DE Abutilon striatum (MALVACEAE): ESTUDO PRELIMINAR

Angélica Albuquerque Tomilhero Frias, Amanda dos Santos Burin, Nayara Faila, Aretusa Cristina Felber, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:angelicafrias16@hotmail.com">angelicafrias16@hotmail.com</a>

Microrganismos endofíticos são fungos e bactérias que habitam o interior de plantas, sem causar danos às mesmas. As interações entre endófito e planta podem ser simbióticas, neutras ou antagônicas. Dentro do gênero Abutilon, pertencente à família Malvaceae, estão inclusos grande número de plantas ornamentais, as quais possuem importância para agricultura, sendo utilizadas no controle de insetos. O presente estudo teve por objetivo verificar a presença de fungos endofíticos em estruturas foliares de A. striatum. Folhas desta planta foram coletadas no campus sede da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, sendo inicialmente lavadas com água corrente, água destilada, solução detergente Tween 80, e novamente água destilada. Na sequência, as folhas foram desinfetadas superficialmente com: álcool 70% a 1 minuto, hipoclorito de sódio 3% a 3 minutos, álcool 70% a 30 segundos e enxaguadas em água destilada esterilizada. Foram cortados 25 fragmentos de folha de 0,5 cm<sup>2</sup> e colocados em 5 placas de Petri, contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) suplementado com tetraciclina, e um controle foi realizado com a água do último enxágue, e incubados por 7 dias em estufa a 28° C. A frequência de isolamento obtida foi de 100%. A ausência de microrganismos nas placas de controle negativo indica que o processo de desinfecção da superfície do tecido vegetal foi suficiente. Este resultado indica a existência de fungos endofíticos na planta A. striatum.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

### ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FOLHA DE Coffea arabica L. (RUBIACEAE) VARIEDADE IAPAR-59

#### Vagner Alexandre Bongiorno, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá-UEM, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:vagnerbongiorno@gmail.com">vagnerbongiorno@gmail.com</a>

O café é um produto agrícola estratégico para o país e as pesquisas com a planta são fundamentais para o aumento da produção e a qualidade da bebida. Porém, ainda é baixo o número de publicações relativas aos endófitos extraídos de cafeeiros. Nas plantas há uma variedade de microrganismos, geralmente fungos e bactérias. Porém, dessa variedade, são denominados endofíticos apenas aqueles que não causam danos ao hospedeiro. Neste trabalho, o objetivo foi conhecer a comunidade de fungos endofíticos presentes no interior de tecidos foliares de Coffea arabica L. variedade IAPAR-59, de uma lavoura de café orgânico. A espécie C. arabica apresenta inúmeras variedades, devido aos programas de melhoramento genético. O cafeeiro IAPAR-59 é um desses produtos, e foi desenvolvido especialmente para altas densidades de plantio, além de apresentar resistência à ferrugem. Para a extração dos fungos foi utilizada a técnica de isolamento por fragmentação. As folhas coletadas, aleatoriamente, de uma lavoura na região oeste do Paraná foram lavadas em água corrente e solução detergente Tween 80. Em seguida, foram enxaguadas em água destilada estéril e desinfetadas superficialmente com: álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 3% (4 minutos), álcool 70% (30 segundos) e enxaguadas, novamente, em água destilada esterilizada. Foram cortados 500 fragmentos das folhas com 0,3 cm<sup>2</sup> cada, aproximadamente, e colocados em 100 placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) suplementado com tetraciclina e incubados por 7 dias em B.O.D. a 28° C. Uma alíquota da água do último enxágüe foi, igualmente, incubado em meio BDA para avaliar a eficiência do processo de desinfecção. Após o período de incubação, 78 fragmentos das folhas apresentaram crescimento de fungos. A ausência de microrganismos no controle indicou eficiência no processo de desinfecção superficial das folhas. Este resultado indica a existência de fungos endofíticos em C. arabica variedade IAPAR-59.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

#### INFLUÊNCIA DOS MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS Arsenicum album E Sulphur SOBRE A COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR DE Calendula officinalis L.

#### Josy Fraccaro de Marins, Luana Gabriela Batista, Márian Bozzo de Oliveira Pinto, Anielen Cássia Tormena Cavazin

Universidade Estadual de Maringá/DBI. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <u>luanagabriela09@hotmail.com</u>

A homeopatia é a ciência e a arte de curar. É ciência por possuir conjunto de conhecimentos organizado e metodologia próprios. Segundo Samuel Hahnemann são quatro os princípios fundamentais da homeopatia: lei dos semelhantes, experimentação em organismo sadio, doses mínimas e medicamento único. No presente trabalho foi avaliada a influência dos medicamentos homeopáticos Arsenicum album e Sulphur sobre a colonização micorrízica arbuscular de Calendula officinalis L. Para avaliação teve-se como base um tratamento controle, oito tratamentos preparados com medicamentos dinamizados (6cH, 12<sub>CH</sub>, 18<sub>CH</sub> e 30<sub>CH</sub>) e oito tratamentos diluídos. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação na Universidade Estadual de Maringá (UEM). Cento e seis dias após a emergência das plântulas foi realizada a coleta das raízes, as quais foram submetidas à clarificação (KOH 10%), acidificação (HCl 5%) e coloração com azul de tripano. Posteriormente, foi realizada análise quantitativa de colonização radical por meio da técnica da placa riscada. Analisando-se os resultados, contatou-se que as amostras de raízes de plantas tratadas com Arsenicum album 6<sub>CH</sub> e 12<sub>CH</sub> e *Sulphur* 6<sub>CH</sub> apresentaram porcentagens de colonização significativamente diferentes das plantas controle; no primeiro tratamento o desenvolvimento micorrízico foi menor, enquanto que nas plantas tratadas com Sulphur 6<sub>CH.</sub> a colonização foi maior. Nos outros tratamentos não foram verificadas diferenças significativas.

Apoio: Capes, CNPq.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

## AVALIAÇÃO ANTAGONÍSTICA, IN VITRO, DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FRAGMENTOS CAULINARES DE Abutilon striatum CONTRA FITOPATÓGENOS Alternaria alternata E Colletotrichum sp.

Cristiane Bredow, Giselle Cristina dos Santos, Nahyara Wandscheer, Maria Carolina dos Santos e Silva, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:gisellecrsantos@gmail.com">gisellecrsantos@gmail.com</a>

Microrganismos endofíticos são fungos e bactérias que residem internamente nos tecidos das plantas, sem causar aparentemente, nenhum dano a seus hospedeiros. A planta Abutilon striatum, popularmente conhecida como lanterna chinesa, é um arbusto ornamental, que possui atividade inibidora a determinados vírus fitopatogênicos. O fitopatógeno Alternaria alternata é causador da 'mancha de alternaria, que é caracterizada pela produção de manchas e necrose foliar. O Colletotrichum sp. é o agente causador da Antracnose, doença que pode ocasionar grandes perdas, em nível de campo e em pós-colheita, sobre diversas culturas e seus produtos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biotecnológico de fungos endofíticos isolados de caule de Abutilon striatum no controle dos fitopatógenos Alternaria alternata e Colletotrichum sp. Foram utilizados dois endófitos para a realização da Cultura Pareada. Nesta técnica utilizaram-se placas de Petri contendo meio BDA, e para a inoculação do endofítico isolado e os fitopatógenos a serem testados, os fungos foram colocados em pólos opostos equidistantes em 2cm. Os testes foram realizados em triplicata, e as placas foram incubadas à 28°C durante sete dias. A caracterização do efeito do endófito sobre o crescimento da colônia do fitopatógeno foi realizada observando-se o índice de antagonismo (AI = (RMrm)/RMx100), de acordo com a escala de Badalyan. Os isolados apresentaram interação do tipo "A", "deadlock" com contato micelial, com ambos os fitopatógenos. Os isolados 02 e 07 apresentaram Índice médio de Antagonismo contra Colletotrichum sp. de 66% e 70%, respectivamente; enquanto que com Alternaria alternata as médias foram de 52% e 56%, respectivamente. Pode-se concluir que os fungos endofíticos presentes no caule de Abutilon striatum possuem potencial biotecnológico para o controle de Alternaria alternata e Colletotrichum sp.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

## ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FRAGMENTOS CAULINARES DE Abutilon striatum (MALVACEAE): ESTUDO PRELIMINAR

Cristiane Bredow, Giselle Cristina dos Santos, Nahyara Wandscheer, Tiago Tognolli de Almeida, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, nº. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:gisellecrsantos@gmail.com">gisellecrsantos@gmail.com</a>

Os microrganismos fazem parte da imensa diversidade biológica pouco conhecida pelo homem. Destes, uma parcela habita o interior das plantas, e são chamados organismos endofíticos. Apesar de habitarem o interior das plantas, estes organismos não causam prejuízos ao seu hospedeiro, ao contrário, são benéficos. Muitos endófitos são especialmente úteis na agricultura, na indústria farmacêutica e alimentícia, inibindo pragas, produzindo metabólitos primários e secundários de interesse farmacêutico. A planta Abutilon striatum, também conhecida como lanterna chinesa, pertencente à família Malvaceae e possui atividade inibidora para diversos vírus patogênicos, sem que a planta seja prejudicada durante o processo. Esta especificidade desperta interesse para estudos que demonstrem se estes efeitos vêm da planta em si, ou de um possível endofítico dela. Este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de fungos endofíticos em fragmentos do caule de A. striatum. A planta foi coletada nos campus sede da UEM-PR, e em seguida os ramos caulinares foram lavados com água corrente, lavados com tween 80 e enxaguados com água destilada. Estes foram desinfetados superficialmente com álcool 70%, por um minuto, seguido por lavagem com hipoclorito de sódio por dois minutos, álcool 70% por 30 segundos e lavagem com água destilada autoclavada. A partir disto os caules foram seccionados e seus fragmentos colocados em meio completo, em placas de Petri, e levados à estufa a 28°C por quatro dias. Após o período de incubação, avaliou-se a presença ou não de fungos endofíticos. Os fragmentos caulinares apresentaram crescimentos fúngicos, neste caso o processo de desinfecção foi eficiente, pois o controle estava livre de microrganismos. A frequência de isolamento foi de 67%. Pode-se então concluir que há presença de fungos endofíticos em caules de A. striatum.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

# ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA PLANTA Hibiscus rosa-sinensis (MALVACEAE) CONTRA Alternaria alternata E Colletotrichum sp.

Marcia Marlise Pedroso, Lilian Ferreira Nakasugui, Aretusa Cristina Felber, Tiago Tognolli de Almeida, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:mmpedroso7@hotmail.com">mmpedroso7@hotmail.com</a>

O Hibiscus pertence à família Malvaceae e possui ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrado nos trópicos, subtrópicos e regiões temperadas. No Brasil, algumas espécies do gênero possuem importância econômica, como produtoras de fibras têxteis, ornamentais, fornecedoras de madeira e são utilizadas na medicina popular. Hibiscus rosa-sinensis é conhecida vulgarmente por papoula, hibisco ou graxa-de-estudante. Os fungos endofíticos vivem no interior das plantas colonizando os tecidos sadios de caule, folhas, flores e raízes sem causar dano ao seu hospedeiro, podendo produzir compostos biologicamente ativos, antibióticos, fungicidas e herbicidas. Os fungos endofíticos diferem dos epífitos, que vivem na superfície dos vegetais, e dos fitopatógenos, que lhes causam doenças. O presente trabalho teve como objetivo verificar a atividade antagonística de endófitos de *H. rosa-sinensis* contra fungos fitopatógenos. Para este estudo foram utilizados 4 fungos endofíticos da espécie supracitada e dois patógenos: Colletotrichum sp. e Alternaria alternata. Para a realização da técnica de Cultura Pareada, foram retirados fragmentos de 6mm<sup>2</sup> das colônias, de cada um dos fungos endofíticos e do fitopatógeno, que foram inoculados em placa de Petri em pólos opostos, com equidistância de 2cm entre os dois fungos testados. Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 28°C por 7 dias. O Índice de Antagonismo [AI = (RMrm)/RMx100] foi calculado para todas as linhagens endofíticas testadas. A análise das interações endófito-fitopatógeno foi baseada na escala de Badalyan. Com ambos os fitopatógenos, os isolados apresentaram interação do tipo "A", "deadlock" com contato micelial. Os isolados F3, F5, F7 e F8 apresentaram Índice de Antagonismo contra A. alternata entre 51% e 60%; enquanto que contra Colletotrichum sp. o apresentou entre 65% e 74%. Pode-se concluir que os fungos endofíticos presentes no caule de H. rosa-sinensis possuem potencial biotecnológico para o controle de A. alternata e Colletotrichum sp.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

#### ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FRAGMENTOS FOLIARES DE Hibiscus rosa-sinensis (MALVACEAE): ESTUDOS PRELIMINARES

Lilian Ferreira Nakasugui, Marcia Marlise Pedroso, Maria Carolina dos Santos e Silva, Tiago Tognolli de Almeida, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, nº. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:lyliannn@hotmail.com">lyliannn@hotmail.com</a>

Os microrganismos endófitos são representados, principalmente, por fungos e bactérias que habitam o interior de diversas plantas, sem causar danos às mesmas. Estes microrganismos podem ser isolados de diferentes tecidos provenientes da raiz, caule, folhas e flores. Hibiscus rosa-sinensis é um arbusto pertencente à família Malvaceae, sendo conhecido popularmente por papoula. hibisco ou graxa-de-estudante. O gênero Hibiscus tem ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrado nos trópicos, subtrópicos e regiões temperadas. Algumas de suas espécies possuem importância econômica, como produtoras de fibras têxteis, ornamentais, utilizadas na urbanização e paisagismo, são fornecedoras de madeira e podem ser utilizadas na medicina popular. O objetivo deste trabalho foi isolar fungos endofíticos de folhas de hibisco. As amostras vegetais, para a análise, foram coletadas na Universidade Estadual de Maringá e lavadas superficialmente em água corrente, colocadas em solução de Tween, e logo depois, lavadas com água destilada. Feito isso, foram colocadas por um minuto no álcool 70%, transferidas para a solução de hipoclorito de sódio a 3% por três minutos, e colocadas novamente em álcool 70% durante trinta segundos sendo, posteriormente, enxaguadas em água destilada autoclavada. Logo após a desinfecção, foram cortados oito fragmentos de folha e colocados em quatro placas de Petri, contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) suplementado com tetraciclina e incubados por 7 dias em BOD a 28°C. O controle foi feito utilizando-se a água da última lavagem, ficando assim com um total de cinco placas. Após o período de incubação, estimou-se a frequência de isolamento, que resultou no valor de 62,5%, demonstrando que do total de oito fragmentos, cinco apresentaram endofíticos. O controle indicou ausência de microrganismos, demonstrando que o processo de desinfecção superficial foi eficiente. Este resultado indica a presença de fungos endofíticos foliares em H. rosa-sinensis.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

# ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS CAULINARES E FOLIARES DA PLANTA Calliandra brevipes (LEGUMINOSAE) CONTRA Alternaria alternata E Colletotrichum sp.

Verci Alves de Oliveira Junior, Rafael Renato Brondani Moreira, Elisa Unaya, Lurian Tomadon de Lima, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: junior-ao@hotmail.com

Microrganismos endofíticos são fungos e bactérias que habitam o interior de plantas, sem causar danos às mesmas. As interações entre endófito e planta podem ser simbióticas, neutras ou antagônicas. Muitos endófitos são especialmente úteis na agricultura, na indústria farmacêutica e alimentícia: eles inibem pragas, produzem metabólitos primários e secundários de interesse farmacêutico. Calliandra brevipes Benth. é uma espécie pertencente à família Leguminosae, nativa no Brasil. É muito utilizada como planta ornamental e em sistemas agroflorestais. Na cultura indígena, é usada contra a insônia. Os fungos endofíticos habitam o interior dos tecidos aéreos de seus hospedeiros, pelo menos durante uma fase do seu próprio ciclo de vida. O presente trabalho teve como objetivo verificar a atividade antagonística de endófitos de C. brevipes contra os fungos fitopatógenos Colletotrichum sp. e Alternaria alternata. Foram utilizados 4 fungos endofíticos na técnica de Cultura Pareada, para a qual foram retirados fragmentos de 6mm<sup>2</sup> das colônias de cada um dos fungos endofíticos e fitopatógenos, inoculados em placa de Petri em pólos opostos, mantendo uma distância de 2cm entre os dois fungos testados. Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 28°C por 7 dias. O Índice de Antagonismo [AI = (RM-rm)/RMx100] foi calculado para todas as linhagens endofíticas testadas. A análise das interações endófito-fitopatógeno foi baseada na escala de Badalyan. Os isolados apresentaram interação do tipo "A" "deadlock" com contato micelial, com ambos os fitopatógenos. Os isolados F1, F2, C1 e C3 apresentaram Índice de Antagonismo contra o Colletotrichum sp., numa média de 73,9%, 78,6%, 69,2% e 69,9%, respectivamente. Enquanto com *Alternaria* alternata na média foi de 65,9%, 63,5%, 60,6% e 64,4%, respectivamente. Pode-se concluir que os fungos endofíticos presentes no caule de C. brevipes possuem potencial biotecnológico para o controle de A. alternata e Colletotrichum sp.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FRAGMENTOS FOLIARES E CAULINARES DE Calliandra brevipes (LEGUMINOSAE): ESTUDO PRELIMINAR

#### Elisa Unaya, Verci Alves de Oliveira Junior, Lurian Tomadon de Lima, Rafael Renato Brondani Moreira, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: junior-ao@hotmail.com

Microrganismos endofíticos são fungos e bactérias que habitam o interior de plantas, sem causar danos às mesmas. Muitos endófitos são especialmente úteis na agricultura, na indústria farmacêutica e alimentícia: eles inibem pragas, produzem metabólitos primários e secundários de interesse farmacêutico. Calliandra brevipes Benth., é uma espécie pertencente à família Leguminosae, nativa no Brasil. É muito utilizada como planta ornamental e em sistemas agroflorestais. Na cultura indígena, é usada contra a insônia. Os fungos endofíticos habitam o interior dos tecidos aéreos de seus hospedeiros, pelo menos durante uma fase do seu próprio ciclo de vida. O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da existência de endófitos em C. brevipes. Foram coletados segmentos do caule e das folhas desta planta no campus sede da Universidade Estadual de Maringá, e em seguida, foram obtidos fragmentos com aproximadamente 2cm, os quais foram lavados com água corrente, em seguida com Tween 80, prosseguindo o enxágue com água destilada. A desinfecção foi feita com álcool 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio 3% por 3 minutos, álcool 70% por 30 segundos, e enxáque com água destilada autoclavada. Os fragmentos foram inoculados em placa de Petri contendo meio completo com tetraciclina (dois por placa), incubados durante sete dias em BOD a 28°C. A placa controle foi realizada com 100µl de água destilada da última lavagem da desinfeccção. Foi observada a colonização por fungos endofíticos nos segmentos de folha e caule de C. brevipes, pela presença de crescimento fúngico. A frequência de isolamento obtida foi de 100%. A ausência de microrganismos nas placas de controle negativo indica que o processo de desinfecção da superfície do tecido vegetal foi suficiente. Este resultado indica a existência de fungos endofíticos colonizando as folhas e o caule de C. brevipes.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

## AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FRAGMENTOS FOLIARES DE *Michelia champaca* (MAGNOLIACEAE): ESTUDOS PRELIMINARES

Mauricio Pires de Pontes, Marcos Aurélio Borges Manfio, Gustavo de Almeida Caron, Maria Carolina dos Santos e Silva, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, nº. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:mauricioppontes@hotmail.com">mauricioppontes@hotmail.com</a>

Microrganismos endofíticos são principalmente fungos e bactérias que vivem no interior de plantas, habitando, de modo geral, suas partes aéreas, sem causar aparentemente dano a seus hospedeiros. Os endófitos adentram as plantas por aberturas naturais e feridas, sendo que uma das portas de entrada são as raízes. As interações endófito/planta ainda não são muito bem compreendidas, mas podem ser simbióticas, neutras ou antagônicas. Os endófitos são potencialmente úteis na agricultura e na indústria, particularmente na alimentícia e farmacêutica. Dentre as espécies de interesse pesquisadas, devido ao seu potencial medicinal, encontramos a Magnólia-amarela (Michelia champaca), pertencente à família Magnoliaceae, popularmente empregada no combate a infecções de garganta, como tônico, estimulante e diurético, e o óleo das sementes contra dores articulares e reumatismo. O objetivo deste trabalho foi verificar a presença de fungos endofíticos na folha da *M. champaca*. Foram utilizados fragmentos foliares, os quais foram submetidos a um processo de desinfecção superficial, utilizando água corrente e solução de Tween 80, água destilada autoclavada, álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 3% (3 minutos), álcool 70% (30 segundos) e, por fim, enxágue em água destilada autoclavada, a gual foi usada para o controle negativo. As folhas foram cortadas em fragmentos de 0.5 cm. Os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA suplementado com tetraciclina e incubados a 28° C por 7 dias. Foi observada a colonização por fungos endofíticos em folhas de M. champaca, pela presença de crescimento fúngico em diferentes fragmentos. De 57 fragmentos foliares analisados, 37 apresentaram crescimento fúngico, sendo assim a frequência de isolamento obtida de 64,9%. A ausência de microrganismos nas placas de controle negativo indica que o processo de desinfecção da superfície do tecido vegetal foi efetiva. Este resultado indica a existência de fungos endofíticos foliares em M. champaca.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

#### IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA DE FUNGO ENDOFÍTICO DE Piper hipidum CONTRA OS FITOPATÓGENOS Colletotrichum sp. E Alternaria alternata

Raiani Nascimento Alberto, Ravely Casarotti Orlandelli, João Lúcio de Azevedo, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:raiani\_na@hotmail.com">raiani\_na@hotmail.com</a>

geralmente Microrganismos endofíticos, fungos bactérias, vivem sistematicamente no interior das plantas, sem causar aparentemente danos a seus hospedeiros. Distinguem-se dos fungos patogênicos (que causam doencas em plantas) e dos fungos epifíticos (que vivem na superfície dos vegetais). Fungos como Alternaria alternata e Colletotrichum sp. causam doenças em plantas como a antracnose, que causa podridão em frutos com lesões em forma de depressões circulares, respectivamente. O objetivo desse trabalho foi fazer a identificação molecular de um fungo isolado de Piper hispidum (Piperaceae) e a avaliação da atividade antagonística de seus metabólitos. Foi amplificado o rDNA empregando os primers ITS1 e ITS4. Estes amplificados foram utilizados no sequenciamento com o primer ITS1 e analisados no MEGABACE. As sequências foram editadas no BioEdit e empregadas no Blast do NCBI. Repicaram-se as linhagens dos fitopatógenos e endofíticos em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, em posição oposta. Com uma homologia de semelhança de 97%, o fungo G02-02 foi identificado como Guignardia mangiferae. O fungo endofítico apresentou índices de antagonismo e interações competitivas de 4,07% - B para A. alternata, e 11,56% - B para Colletrotrichum sp. Os resultados indicam que alguns fungos endofíticos isolados de P. hipidum apresentam potencial biotecnológico no controle de A. alternata e Colletotrichum sp.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

# IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA DE FUNGO ENDOFÍTICO DE Piper hipidum CONTRA OS FITOPATÓGENOS Guinardia citricarpa E Moniliophthora perniciosa

#### Raiani Nascimento Alberto, Ravely Casarotti Orlandelli, Tiago Tognolli, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:raiani\_na@hotmail.com">raiani\_na@hotmail.com</a>

Fungos endofíticos ou endófitos são microrganismos que habitam o interior de órgãos e tecidos vegetais, sem causar danos. Muitos microrganismos endofíticos são associados à produção de substâncias com atividades antifúngicas. Podem produzir substâncias antagônicas e realizar competição com fitopatógenos por nutrientes, e exercerem parasitismo sobre os mesmos. Fungos como Guinardia citricarpa e Moniliophthora perniciosa causam doenças em plantas como a vassoura-de-bruxa, que causa queda acentuada na produção, provocando o desenvolvimento anormal, seguido de morte, das partes infectadas. O objetivo desse trabalho foi fazer a identificação molecular de um fungo isolado de Piper hispidum (Piperaceae) e a avaliação da atividade antagonística de seus metabólitos totais. Foi amplificado o rDNA empregando os primers ITS1 e ITS4. Estes amplificados foram utilizados no sequenciamento com o primer ITS1 e analisados no MEGABACE. As sequências foram editadas no BioEdit e empregadas no Blast do NCBI. Repicaram-se as linhagens dos fitopatógenos e endofíticos em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, em posição oposta. O fungo endofítico G14-86, com 99% de similaridade, foi identificado como Alternaria tenuissima, apresentando índices de antagonismo e interações competitivas de 24,05% - A, para G. citricarpa; e 28,14% - A, para M. perniciosa. Os resultados indicam que alguns fungos endofíticos isolados de P. hipidum apresentam potencial biotecnológico no controle de G. citricarpa e M. perniciosa.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

## BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FOLHAS DE Michelia champaca (MAGNOLIACEAE) COM ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA IN VITRO CONTRA FITOPATÓGENOS

Gustavo de Almeida Caron, Mauricio Pires de Pontes, Marcos Aurélio Borges Manfio, Maria Carolina dos Santos e Silva, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, nº. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:gustavo\_caron@hotmail.com">gustavo\_caron@hotmail.com</a>

Endófitos são fungos que habitam o interior de plantas sem causar doenças. A magnólia-amarela, Michelia champaca (Magnoliaceae) é empregada no combate a infecções de garganta, como tônico, estimulante, diurético, e o óleo de suas sementes é utilizado contra dores articulares e reumatismo. Alternaria alternata é um fitopatógeno causador da podridão em várias culturas, como manga, tomate e leguminosas. O Colletotrichum sp. é o agente causador da antracnose, doença esta que pode ocasionar grandes perdas, em nível de campo, e em póscolheita sobre diversas culturas e seus produtos. O objetivo deste trabalho foi verificar o potencial dos isolados endofíticos de M. champaca no controle dos fitopatógenos A. alternata e Colletotrichum sp.. Foram utilizados 4 endófitos para a realização da Cultura Pareada. Nesta técnica utilizarm-se placas de Petri contendo meio BDA, e os endófitos isolados e os fitopatógenos a serem testados, foram inoculados em pólos opostos, equidistantes de 2 cm. Os testes foram realizados em triplicata, e as placas foram incubadas a 28°C durante sete dias. A caracterização do efeito do endófito sobre o crescimento da colônia do fitopatógeno foi realizada observando-se o índice de antagonismo AI = (RMrm)/RMx100, de acordo com a escala de Badalyan. A maioria dos isolados apresentaram interação do tipo "A", "deadlock" com contato micelial, contra os dois fitopatógenos. O isolado mag37 contra o patógeno Colletotrichum sp, apresentou interação do tipo "CA1", "deadlock" com sobreposição parcial após contato micelial. O Índice de Antagonismo dos endófitos em relação ao fitopatógeno Colletotrichum sp. esteve entre 62% a 72%, já em relação ao fitopatógeno Alternaria esteve em torno de 70%. Pode-se concluir que fungos endofíticos, presentes em folhas de M. champaca, possuem potencial biotecnológico para o controle de Colletotrichum sp. e A. alternata.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

#### ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA PLANTA Delonix regia (FABACEAE) CONTRA Alternaria alternata E Colletotrichum sp.

Francielle Jamille Peternelli dos Santos, Solange Gerardelli, Mariana Raniel, Maria Carolina dos Santos e Silva, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:solgerardeli@hotmail.com">solgerardeli@hotmail.com</a>

Delonix regia, conhecida como flamboyant, é uma árvore florífera originária da ilha de Madagascar e considerada uma das mais bela do mundo, devido a sua floração abundante e a cor intensa de suas flores, sendo muito usada para paisagismo. Os microorganismos endofíticos, em geral, são fungos e bactérias, que durante seu ciclo de vida invadem os tecidos das plantas, habitando caule e folhas, mas sem causar danos a elas. Atualmente estes microorganismos possuem grande importância biotecnológica para o desenvolvimento de antibióticos, toxinas e metabólitos farmacológicos. O objetivo deste trabalho foi verificar o potencial biotecnológico de endófitos presentes em folhas de *Delonix* regia no controle dos fitopatógenos Colletotrichum sp. e Alternaria alternata. Foram utilizados cinco endófitos para a realização da Cultura Pareada. Nesta técnica, placas de Petri com meio de cultura BDA foram inoculadas com: o fungo endofítico isolado e o fitopatógeno a ser testado, em pólos opostos, mantendo distância de 2cm. O teste foi realizado em triplicata, bem como os controles negativos: o primeiro apenas com o fitopatógeno em um pólo da placa e o segundo, com o fitopatógeno nos dois pólos. As placas foram incubadas a 28°C por 7 dias. A análise do antagonismo foi realizada de acordo com a escala de Badalyan. Os isolados apresentaram interação do tipo "A", "deadlock" com contato micelial, com ambos os fitopatógenos. Os isolados F7, F8, C1, C2 e C4 apresentaram Índice de Antagonismo contra o Colletotrichum sp., na média entre 52% e 66%. Enquanto que com A. alternata a média permaneceu entre 49% e 69%. Pode-se concluir que os fungos endofíticos presentes no caule e na folha de Delonix regia possuem potencial biotecnológico para o controle de Colletotrichum sp. e A. alternata.



#### Resumos de Trabalhos Científicos Área Temática: Microbiologia

## ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE FRAGMENTOS FOLIARES E CAULINARES DE *Delonix regia* (FABACEAE): ESTUDO PRELIMINAR

Francielle Jamille Peternelli dos Santos, Solange Gerardelli, Mariana Raniel, Aretusa Cristina Felber, João Alencar Pamphile

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biologia Celular e Genética. Av. Colombo, n. 5790, Maringá (PR), CEP: 87020-900. e-mail: <a href="mailto:solgerardeli@hotmail.com">solgerardeli@hotmail.com</a>

Os microorganismos endofíticos em geral são fungos e bactérias, que durante seu ciclo de vida invadem os tecidos das plantas habitando no interior do caule e das folhas, mas sem causar-lhes danos. Atualmente, estes microorganismos possuem grande importância biotecnológica para o desenvolvimento de antibióticos, toxinas e metabólitos farmacológicos. A planta *Delonix regia* (Fabaceae), conhecida como flamboyant, é uma árvore florífera originária da ilha de Madagascar e considerada uma das mais belas do mundo, devido a sua floração abundante e a cor intensa de suas flores, sendo muito usada para paisagismo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de fungos endofíticos em folhas e caules de *D. regia*. Folhas e seguimentos de ramos foram utilizados coletados no campus sede da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, e submetidos a um processo de desinfecção superficial utilizando água corrente, solução detergente Tween 80 e água destilada autoclavada. Em seguida, as folhas e os ramos foram imersos em álcool 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio 3% por 2 minutos, álcool 70% por 30 segundos e enxaguadas com água destilada. O controle negativo foi realizado pelo uso da água destilada autoclavada do último enxágue. As folhas e os seguimentos caulinares foram cortados em fragmentos de 0,5 cm, os quais foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) suplementado com tetraciclina e incubados a 28°C por 7 dias. Foi observada a colonização por fungos endofíticos na folha e no caule de D. regia, pela presença de crescimento fúngico em diferentes fragmentos. A frequência de isolamentos foliares foi de 33,33%, e caulinares de 75%. A ausência de microrganismos nas placas de controle negativo indica que o processo de desinfecção da superfície do tecido vegetal foi suficiente. Este resultado indica a existência de fungos endofíticos foliares e caulinares na planta *D. regia*.