

## BIOATIVOS ANTIMICROBIANOS PRODUZIDOS POR FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS A PLANTAS DO SEMIÁRIDO

Lívia Ribeiro da Silva<sup>1</sup>, Adrielle de Melo Cezar Almeida Canabarro<sup>1</sup>, Maize Mariana Brandão do Nascimento<sup>1</sup>, Evely Vitória Oliveira de Jesus<sup>1</sup>, Tania Marta Carvalho dos Santos<sup>1</sup>, Irvin Lucena Melo<sup>1</sup>, Arthur Costa Pereira Santiago de Almeida<sup>1</sup>, João Manoel da Silva<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade federal de Alagoas, Rio Largo. E-mail: ribeirlivia1508@gmail.com; adriellcanabarro@hotmail.com; maizebrandao@gmail.com; vitoriaevely61@gmail.com; tmcs@ceca.ufal.br; jm.agro@hotmail.com; irvin.lucena@gmail.com; arthurc995@gmail.com.

**RESUMO:** A crescente necessidade de encontrar alternativas para fazer frente às resistências de certos microorganismos a compostos já existentes no mercado tem atraído a pesquisa de bioprospecção de fungos endofíticos como fontes de bioativos. Esses compostos podem se apresentar como tóxicos e/ou mortais para outros microorganismos, além de possuírem atividades hormonais, antibióticas, antifúngicas e antiparasitárias. Objetivou-se verificar a produção de bioativos por fungos endofíticos associados a plantas do Semiárido alagoano. Foram isolados fungos de Barauna (*Schinopsis brasiliensis*), Quixabeira (*Bumelia sertorum* Mart.), Juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.), Bonome (*Maytenus rigida* Mart), Aroeira-Vermelha (*Schinus terebinthifolius*), Pau-Ferro (*Caesalpinia ferrea*), Pereiro (*Aspidosperma pyrifolium*), Angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina*), Imburana (*Commiphora leptophloeos*), e Umbuzeiro (*Spondias tuberosa*). Os isolamentos, foram realizados pelo método das diluições seriadas e semeadura em meio de Martin, e posterior purificação em meio mineral. O potencial antagônico foi testado contra *Escherichia coli* 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853 e *Staphylococcus aureus* 25923. Foi averiguado a eficiência antagônica de 80% dos isolados testados.

**Palavras chave:** micro-organismos, antibióticos, metabólitos secundários,

## BIOACTIVES ANTIMICROBIAL PRODUCED BY ENDOPHYTE FUNGI ASSOCIATED TO PLANTS FROM SEMIARID

**ABSTRACT:** The growing necessity to find alternatives to front of the resistance of certain microorganisms to compounds that already exist in the market, has attracted the research of bioprospection of endophytic fungi as sources of bioactive. These compounds may present as toxic and / or deadly to other microorganisms, besides having hormonal, antibiotic, antifungal and antiparasitic activities. The objective of this study was to verify the production of bioactive by endophytic fungi associated with plants from the Alagoan Semi-arid region. These Fungi were isolated from Baraúna (*Schinopsis brasiliensis*), Quixabeira (*Bumelia sertorum* Mart.), Juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.), Bonôme (*Maytenus rigida* Mart), Arueira-Veremilha (*Schinus terebinthifolius*), Pau-Ferro (*Caesalpinia ferrea*), Pereiro (*Aspidosperma pyrifolium*), Angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina*), Imburana (*Commiphora leptophloeos*) e Umbuzeiro (*Spondias tuberosa*). The Isolations, formed by the method of serial dilutions and sowing in the Martin medium, and subsequent purification in mineral medium. The antagonistic efficiency of 80% of the isolates tested was detected.

**Keywords:** microorganisms, antibiotics, secondary metabolites,

## INTRODUÇÃO

A demanda por novos agentes antimicrobianos e agentes agroquímicos que sejam efetivos no controle de doenças infecciosas em plantas e animais, incluindo o homem, é cada vez mais crescente. As plantas superiores constituem uma das fontes mais

importantes de produtos naturais, contribuindo de modo significativo para o fornecimento de novos metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado devido às suas aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos e agroquímicos (BRAZ-FILHO, 2010).

Uma parcela dos microrganismos, principalmente bactérias e fungos, habita o interior das plantas. São os endófitos que, segundo Petrini (1991), colonizam os tecidos sadios de partes aéreas da planta, em algum tempo do seu ciclo de vida, sem lhe causar danos aparentes. Recentemente, esses fungos têm despertado o interesse da comunidade científica, especialmente por seus potenciais na produção de metabólitos secundários de interesse econômico.

Os endófitos são potencialmente úteis na agropecuária e na indústria, particularmente na alimentícia e farmacêutica. Podem ser utilizados como agentes inibidores de pragas e patógenos (VOLKSCH et al., 1992; HALLMANN; SIKORA, 1996) e como fontes de metabólitos primários (STAMFORD et al., 1998) e secundários de interesse como o taxol, poderoso anticancerígeno (STIERLE; STROBEL; STIERLE, 1993; WANG et al., 2000), a cryptocandina, lipopeptídeo antimicótico (STROBEL et al., 1999) e diversos outros antibióticos.

O uso de metabólitos bioativos obtidos a partir de fungos endofíticos apresenta inúmeras vantagens, quando comparado com a extração dessas substâncias diretamente das plantas, entre elas reduzir a necessidade de coletar plantas de crescimento lento e possivelmente raras, mas também auxiliar na preservação da biodiversidade do ambiente natural. Diante do exposto, objetivou-se: prospectar fungos endofíticos associado a plantas do Semiárido visando selecionar aqueles com atividade antimicrobiana contra patógenos de interesse agrônômico e de importância clínica na produção animal.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas as folhas mais jovens de

cada espécie, armazenadas em sacos plásticos e refrigeradas até o momento da desinfestação. Para desinfecção, as amostras sadias de tecidos vegetais foram lavadas sequencialmente com etanol 70% (30 segundos), hipoclorito de sódio 3% (3 minutos), etanol 70% (30 segundos) e duas vezes com água destilada esterilizada (6 minutos). A eficiência da desinfecção do material vegetal foi avaliada pelo plaqueamento em meio batata-dextrose-agar (BDA), alíquotas da água utilizada na última lavagem do material vegetal e pelo pressionamento dos fragmentos desinfestados sobre o meio de cultura.

As amostras vegetais desinfetadas superficialmente foram cortadas em fragmentos pequenos de 1x1 cm<sup>2</sup> distribuídos na superfície dos meios de Martin sem rosa bengala. As placas inoculadas foram incubadas em temperatura ambiente até o crescimento dos fungos serem visíveis. Como **microrganismos-teste foram utilizadas as bactérias contra *Escherichia coli* 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853 e *Staphylococcus aureus* 25923. O teste primário foi realizado em "bloco de gelose". Para o bioensaio de difusão, discos de papel de 6 mm de diâmetro forma embebidos em 20 mL do líquido fermentado e depois de secos colocados na superfície de meios semeados com os micro-organismos testes.**

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

**Dos fragmentos foliares foi possível isolar 10 amostras de fungos endofíticos, no teste de bloco de gelose,** foi verificada a eficiência antagônica de Barauna, Quixabeira, Bonome, Pau-Ferro, Pereiro e Angico-vermelho (Tabela 1), O isolado obtido de Barauna apresentou o melhor resultado para as bactérias testadas.

**Tabela 1** - Medidas dos halos de inibição de fungos endofíticos frente a bactérias patogênicas para o teste de bloco de gelose em meio Mineral

Plantas/Bactérias	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aureus</i>
Barauna(fg)	4,5 mm	4,7 mm	5,1 mm
Quixabeira(fg)	1,5 mm	5,3 mm	4,7 mm
Quixabeira(met)	1,1 mm	---	---
Bonome(fg)	2,5 mm	5,0 mm	5,8 mm
Pau-Ferro(met)	----	1,0 mm	2,5mm
Pereiro(met)	0,8 mm	---	2,5mm
Angico-vermelho(me)	---	3,4 mm	---

Com relação aos discos de difusão verificou-se maior inibição com o extrato de, Quixabeira frente a *E. coli* (Tabela 2), enquanto que o extrato de Pau-Ferro

apresentou bioativos antagonicos as três bactérias testadas.

**Tabela 2** - Medidas dos halos de inibição de fungos endofíticos frente a bactérias patogênicas para o teste de difusão em disco

Plantas/Bactérias	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aureus</i>
Quixabeira(fg)	0,3 mm	---	0,8 mm
Quixabeira(met)	1,1 mm	---	---
Bonome(fg)	0,6 mm	---	1,0 mm
Pau-Ferro(met)	0,5 mm	1,0 mm	0,9 mm
Pereiro(met)	0,8 mm	---	1,0 mm

As bactérias usadas no presente trabalho, também são importantes, pois afetam diretamente na saúde e economia mundial. Estas, são comumente encontradas com agentes de infecções humanas e são tratadas com antibióticos que nem sempre exercem sua função adequadamente devido a utilização inadequada e em excesso Nos microrganismos em geral, é sabido que os mesmos sofrem processos contínuos de mutação, e por tal motivo um fator preponderante para levar-se em conta é a resistência destes microrganismos ao uso contínuo, em muitos momentos indiscriminado de antibióticos. Por esta razão, a escolha dos microrganismos foi fundamental para o procedimento deste trabalho.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho confirmam o potencial de fungos endofíticos isolados de plantas do Semiárido alagoano como produtores de compostos com atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, **2010**, 1, 229-239.

VOLKSCH, B.; ULLRICH, M.; FRITSCH, W. Identification and population dynamics of bacteria in leaf spots of soybean. *Microbial Ecology*, **1992**, 3, 305-311.

HALLMANN, J.; SIKORA, R. A. Toxicity of Fungal Endophyte Secondary Metabolites to Plant Parasitic Nematodes and SoilBorne Plant Pathogenic Fungi. *European Journal of Plant Pathology*, **1996**, 2, 155-1626.

PETRINI, O. *Fungal endophyte of tree leaves*. In: ANDREWS, J.; HIRANO, S. S. (Eds). *Microbial Ecology of Leaves*. New York: Springer Verlag. **1991**. pp.179-197.

STIERLE, A.; STROBEL, G.; STIERLE, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, **199**, 5105, 214-214.

STROBEL, G. A.; MILLER, R. V.; MARTINEZ-MILLER, C.; CONDRON, M. M.; TELOW, D. B.; HESS, W. M. Cryptocandin, a potent antimycotic from the Endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Microbiology*, **1999**, 8, p. 417-423.

WANG, J.; LI, G.; LU, H.; ZHENG, Z.; HUANG, Y.; SU, W. Taxol from *Tubercularia* sp. strain TF5, an endophytic fungus of *Taxus mairei*. *FEMS Microbiology Letters*, **2000**, 3, 249-253.

STAMFORD, T. L. M.; ARAUJO, J. M.; STAMFORD, N. P. Enzymatic activity of isolated microorganisms (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **1998**, 18, 382-385.