

## ARTIGO ORIGINAL

### Diversidade de Fungos Endofíticos em Sementes de Espécies Florestais Nativas na Região Sul do Brasil

Edson José Mazarotto<sup>1</sup> , Álvaro Figueredo dos Santos<sup>2</sup> , Flávia Santos<sup>3</sup> ,  
Géssica Mylena Santana Rêgo<sup>4</sup> , Ida Chapaval Pimentel<sup>5</sup> 

<sup>1</sup>Departamento de Saúde, Centro Universitário de Ensino, Ciência e Tecnologia do Paraná, Curitiba, PR, 81670-430, Brasil; <sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Laboratório de Patologia Florestal, Colombo, PR, 83411-000, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 80035-060, Brasil; <sup>4</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 37203-202, Brasil; <sup>5</sup>Departamento de Patologia Básica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 81531-970, Brasil.

Autor correspondente: Edson José Mazarotto (edmazarotto@gmail.com).

Data de chegada: 15/10/2021. Aceito para publicação em: 05/01/2023

10.1590/0100-5405/257357

#### RESUMO

Mazarotto, E.J.; Santos, A.F.; Santos, F.; Rêgo, G.M.S.; Pimentel, I.C. **Diversidade de Fungos Endofíticos em Sementes de Espécies Florestais Nativas na Região Sul do Brasil.** *Summa Phytopathologica*, v.49, p.1-3, 2023.

O objetivo deste trabalho foi detectar fungos endofíticos associados às sementes de 11 espécies florestais. Dez gêneros de fungos endofíticos foram associados às sementes dessas espécies. Os fungos encontrados

com maior frequência nos lotes de sementes foram *Aspergillus* sp., *Penicillium* e *Fusarium*. Encontrou-se também *Trichoderma* sp. e *Phomopsis* sp.

**Palavras Chave:** Controle Biológico, Bioprospecção, *Phomopsis* sp.

#### ABSTRACT

Mazarotto, E.J.; Santos, A.F.; Santos, F.; Rêgo, G.M.S.; Pimentel, I.C. **Diversity of Endophytic Fungi in Seeds of Native Forest Species in Southern Brazil.** *Summa Phytopathologica*, v.49, p.1-3, 2023.

The objective of the present study was to detect endophytic fungi associated with the seeds of 11 forest species. Ten genera of endophytic fungi were found associated with the seeds of those

species. The most frequent fungi found in the seed lots were *Aspergillus* sp., *Penicillium* and *Fusarium*. *Trichoderma* sp. and *Phomopsis* sp. were also detected.

**Keywords:** Biological control, Bioprospecting, *Phomopsis* sp.

As espécies florestais nativas possuem grande apelo ecológico. Nos últimos anos, houve um aumento na busca de sementes dessas espécies para uso em restauração de florestas e recuperação de áreas degradadas (5). Algumas espécies como caneleira (*Ocotea pulchella* [Nees] Mez), canela-branca (*Ocotea acutifolia* [Nees] Mez), canela-guaicá (*Ocotea puberula* [Rich.] Ness), mandiocão (*Schefflera morototoni* [Aubl.] Maguire et al.), araçá (*Psidium cattleianum* Sabine), pau marfim (*Balfourodendron riedelianum* Engler), louro-pardo (*Cordia trichotoma* [Vell.] Arrab ex Steud), casca d'anta (*Rauvolfia sellowii* Müll. Arg.), louro-mole (*Cordia sellowiana* Cham.), erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.) e peroba rosa (*Aspidosperma polyneuron* Müll. Arg.) apresentam grande importância devido ao seu uso medicinal, industrial e ornamental (6). No entanto, há poucas informações na literatura sobre a associação de fungos com as sementes destas espécies (5).

As sementes florestais podem transportar fungos, que podem ter ação deletéria, especialmente na fase de produção de mudas (5) ou, no caso dos endofíticos, representar uma fonte inexplorada de substâncias bioativas naturais (10). Pesquisas destinadas ao conhecimento de fungos endofíticos em sementes florestais nativas são escassas no Brasil. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar fungos endofíticos associados às sementes de algumas espécies florestais nativas da região Sul do Brasil.

As sementes de espécies florestais utilizadas neste trabalho foram obtidas junto ao Banco de Sementes da Embrapa Florestas e UTFPR – Campus Dois Vizinhos. As sementes foram coletadas nos estados do Paraná e Santa Catarina, entre os anos de 2014 e 2015, processadas e mantidas em câmara fria. Foram analisados 20 lotes de sementes das seguintes espécies: caneleira (n=1), canela-branca (n=1), canela-guaicá

**Tabela 1.** Incidência (%) de fungos endofíticos em sementes de espécies florestais nativas em 2017.

Fungo/Espécie florestal	Incidência (%)											
	Araçá	Canela-Branca	Canela-Guaicá	Caneleira	Casca D'anta	Erva Mate	Louro-pardo	Louro mole	Mandiocão	Pau Marfim	Peroba Rosa	
<i>Alternaria</i> sp.	0	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	
<i>Aspergillus</i> sp.	3	1	43,75	1	0	0	22	1	1	0	2,5	
<i>Bipolaris</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
<i>Chaetomium</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	
<i>Fusarium</i> sp.	0	4	1,5	0	1	3	5	0	0	8	2,6	
<i>Penicillium</i> sp.	0	13	18	1	2	5	2	0	0	0	5,7	
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	
<i>Phomopsis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31,6	
<i>Rhizopus</i> sp.	0	0	0	0	0	17	4	0	0	0	1	
<i>Trichoderma</i> sp.	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	

(n=1), mandiocão (n=1), araçá (n=1), pau marfim (n=1), louro-pardo (n=1), casca d'anta (n=1), louro-mole (n=1), erva mate (n=1) e peroba rosa (n=10). Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Patologia Florestal da Embrapa Florestas, Colombo-PR.

Para isolamento dos fungos endofíticos empregou-se o método descrito por Araújo et al. (1): a) lavagem das sementes em água corrente; b) imersão das sementes em álcool 70% por 1 min; c) imersão das sementes em hipoclorito de sódio 1% por 4 min; d) imersão das sementes em solução de álcool 70% por 30 s; e) enxágue das sementes por duas vezes em água ultrapurificada esterilizada. Então, as sementes foram plaqueadas em meio BDA (HiMedia®), cinco sementes por placa, totalizando 100 sementes de cada lote (5). As placas foram incubadas em câmara BOD a 20 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz/escuro, por 7 dias. Após este período, lâminas foram preparadas com lactoglicérol azul de algodão, e as estruturas observadas em microscópio foram comparadas com as descrições de Barnett e Hunter (11) para identificação em nível de gênero.

Foram encontrados dez gêneros de fungos endofíticos associados às sementes de espécies florestais nativas (Tabela 1). Os fungos encontrados com maior frequência nos lotes avaliados foram *Aspergillus* sp., em 72,7% dos lotes, *Penicillium* sp. com 63,6% e *Fusarium* sp. com 63,6%.

As maiores incidências dos fungos foram: *Aspergillus* sp. (43,75%) em canela-guaicá e louro-pardo (22%), *Phomopsis* sp. apenas em sementes de peroba rosa com incidência de 31,6%, seguido por *Penicillium* sp. (18%) em canela-guaicá e *Rhizopus* sp. (17%) em erva mate. Em sementes de louro-pardo e peroba rosa foi encontrado *Trichoderma* sp. com incidência de 1% e *Pestalotiopsis* em 0,1% das sementes de peroba rosa.

De acordo com Strobel et al. (9), o nicho ocupado pelos microrganismos e sua interação com o hospedeiro é o que os diferencia entre endofítico, epifítico e fitopatogênico, não existindo um limite claro que separe estes grupos, mas sim, um gradiente entre eles. Azevedo & Araújo (2) definem como microrganismos endofíticos, todos aqueles cultiváveis ou não, que habitam o interior dos tecidos vegetais, sem causar prejuízo ao hospedeiro, e que não desenvolvem estruturas externas visíveis. Considerando esta associação mutualística, surgiu a hipótese de que os endófitos podem exercer efeitos benéficos nos seus hospedeiros, como indução de resistência a pragas e doenças, promoção de crescimento e produção de metabólitos que podem atuar no controle

biológico de doenças (8).

Pesquisas destinadas ao isolamento de fungos endofíticos de tecidos vegetais ainda são recentes; entretanto, vem ganhando atenção nos últimos 20 anos (2, 9, 10). Alguns dos fungos endofíticos encontrados neste trabalho, como *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp. e *Phomopsis* sp., têm sido relatados por vários autores com potencial para diferentes usos (3, 7, 8). Sbravatti et al. (7) citaram *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp., isolados como endófitos de folhas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage, como agentes potenciais no controle biológico de *Botrytis cinerea*, agente causal de mofo-cinza em mudas de eucalipto. Espécies de *Phomopsis* têm recebido destaque nos estudos de bioprospecção de substâncias bioativas (3, 10). Corrado & Rodrigues (3) obtiveram isolados endofíticos de *Phomopsis* sp. de folhas de *Aspidosperma tomentosum* Mart. & Zucc. e pecíolos de *Spondias mombin* L., constatando que os extratos miceliais deste fungo inibiram o crescimento de bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Mazarotto et al. (12) recentemente, detectaram uma alta incidência de *Phomopsis* sp. como endofítico e epifítico em sementes de *A. polyneuron*. Os microrganismos endofíticos representam uma reserva ainda inexplorada de estruturas químicas únicas, geradas pelas relações co-evolutivas entre hospedeiro-endófito. Assim sendo, existem grandes possibilidades de se encontrar novos metabólitos secundários com atividades biológicas relevantes em microrganismos endofíticos (2, 4, 10).

Este trabalho relata a diversidade de fungos endofíticos associados às sementes florestais nativas e evidencia a importância do conhecimento destas espécies em pesquisas na busca por novos metabólitos bioativos com aplicabilidade na agricultura e biotecnologia.

## REFERÊNCIAS

- Araújo, W. L.; Lima, A. O. S.; Azevedo, J. L.; Marcon, J.; Kublincky-Sobral, J.; Lacava, P. T. **Manual: isolamento de microrganismos endofíticos**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2002. 86 p.
- Azevedo, J. L.; Araújo, W. L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: Ganguli, B. N.; Deshmukh, S. K. (Eds.). **Fungi: multifaceted microbes**. New Delhi: Anamaya Publishers, 2007, p.189-207.
- Corrado, M.; Rodrigues, K.F. Antimicrobial evaluation of fungal extracts produced by endophytic strains of *Phomopsis* sp. **Journal of Basic Microbiology**, Jena, v.44, n.2, p.157-160, 2004.

4. Gunatilaka, L.A.A. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity and implications of their occurrence. **Journal of Natural Products**, Washington, v.69, n.3, p.509-526, 2006.
5. Santos, A. F. dos; Parisi, J. J. D.; Menten, J. O. M. **Patologia de Sementes Florestais**. Colombo: Embrapa - CNPF, 2011. 236p.
6. Sarmento, M.B.; Villela, F.A. Sementes de espécies florestais nativas do Sul do Brasil. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.20, n.1/2, p.39-44, 2010.
7. Sbravatti Júnior, J. A.; Auer, C. G.; Pimentel, I. C.; Santos, A. F.; Schultz, B. Seleção in vitro de fungos endofíticos para o controle biológico de *Botrytis cinerea* em *Eucalyptus benthamii*. **Floresta, Curitiba**, v. 43, n. 1, p.145-152, 2013.
8. Silva, H. S. A.; Bettioli, W. Microrganismos endofíticos como agentes de biocontrole da ferrugem do cafeeiro e de promoção de crescimento. In: Bettioli, W.; Morandi, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. São Paulo, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p.276 - 287.
9. Strobel, G.; Daisy, B.; Castillo, U.; Harper, J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, Washington, v.67, n.2, p. 257-268, 2004.
10. Chapla, V. M., Biasetto, C. R., Araújo, A. R. Fungos endofíticos: uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v.5, n.3, p.421-437, 2013.
11. Barnett, H. L.; Hunter, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3ªed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1972, 241p.
12. Mazarotto, E. J., Pimentel, I. C., Abreu, D. C. A., & Santos, A. F. Association of Fusarium and Phomopsis with peroba rosa seeds. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v.26, p.1-7, 2019.

Editor associado para este artigo: Sérgio Florentino Pascholatti