

FUNGOS ENDOFÍTICOS ENCONTRADOS EM FOLHAS DE MELANCIA (*Citrullus lanatus*) CULTIVADA NA REGIÃO SEMIÁRIDA EM PERNAMBUCO

Oliver de Souza Vieira^{1*}; Rejane Maria Ferreira da Silva¹; Cristina Maria de Souza Motta¹; José Luiz Bezerra²
Gladstone Alves da Silva¹

¹Universidade Federal de Pernambuco; ²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
*oliver.s.vieira30@gmail.com

INTRODUÇÃO

Os fungos endofíticos habitam o interior do tecido vegetal sem causar danos ao hospedeiro e sem desenvolver estruturas que emergem da planta. Esses dois organismos possuem uma relação mutualística na qual, em troca da proteção e do fornecimento de nutrientes, o fungo promove melhorias à planta hospedeira a partir da produção de metabólitos secundários. Esses metabólitos podem aumentar a tolerância da planta contra fatores estressantes oriundos da herbivoria e patógenos, bem como a resistência a salinidade, metais pesados e outros estresses abióticos (YAN et al., 2019). A melancia (*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum. & Nakai) é um vegetal de grande importância econômica (YANG et al., 2018), sendo o Nordeste a região do Brasil com maior produção nacional (IBGE, 2017). Seu fruto é saboroso e possui propriedades nutricionais, sendo também utilizado como diurético (LEÃO et al., 2006; BASTOS et al., 2008). O objetivo deste trabalho foi conhecer os fungos endofíticos associados às folhas de melancia cultivada na região do semiárido nordestino, em Pernambuco. Conhecer a riqueza desses fungos é importante pois pode contribuir com a compreensão do papel ecológico desses organismos.

METODOLOGIA

As coletas foram realizadas em três áreas de cultivo do vegetal localizadas no município de Petrolândia. As folhas foram levadas para o Laboratório I do departamento de Micologia da UFPE. As folhas foram lavadas e imersas em etanol 70% por 30 segundos, em hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo) por 1 minuto e 30 segundos e lavadas três vezes em água destilada esterilizada (ARAÚJO et al., 2002, modificado). Após a desinfestação das folhas, foram retirados oito fragmentos de 2,5 x 2,5 mm, esses fragmentos foram colocados em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (100 µg/mL). O controle de eficiência da desinfestação foi confirmado pela distribuição de 1mL da última água de lavagem em placas de Petri com o mesmo meio de cultura. As colônias fúngicas foram isoladas, purificadas e identificadas utilizando caracterização morfológica, baseada em literatura especializada (DOMSCH et al. 2007; SEIFERT et al., 2011), e análise molecular. A extração do material genômico foi realizada conforme Góes-Neto et al. (2005). Os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes (dNTPs, cloreto de magnésio, Taq DNA polimerase e tampão de reação) foram os mesmos descritos por Oliveira et al. (2014). Para a amplificação das regiões ITS do rDNA, foram utilizados os primers ITS1 e ITS4 (WHITE et al., 1990). Os produtos de amplificação foram purificados e encaminhados para a plataforma multiusuária de sequenciamento de DNA do Centro de Biológicas UFPE. As sequências obtidas tiveram sua identidade comparada com as sequências depositadas na plataforma Genbank, por meio da ferramenta BLASTn. A frequência relativa foi calculada segundo Bezerra et al. (2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos duzentos e cinquenta e sete isolados de fungos endofíticos associados a folhas de melancia, distribuídos em quinze gêneros e trinta e três espécies (Tabela 1). *Dothideomycetes* foi a classe de fungos com maior representação no trabalho. Representantes de *Dothideomycetes* estão entre os fungos mais encontrados como endófitos de diversos vegetais (Arnold, 2007). Os gêneros com maior relevância no estudo foram *Alternaria* e *Cladosporium* e as espécies mais frequentes foram *Alternaria* sp. (42,02%), *Cladosporium* sp. (11,28%) e *Candida parapsilosis* (9,73%). Representantes dos gêneros *Alternaria* e *Cladosporium* são comumente relatados como endofíticos em diversas plantas (Bensch et al., 2012; Woudenberg et al., 2013). Esses fungos são capazes de produzir metabólitos secundários que podem auxiliar no desenvolvimento do vegetal, melhorando seu crescimento e aumentando sua tolerância a fatores estressantes, fornecendo melhor resistência contra a herbivoria e ação de agentes patogênicos (De Silva, 2017).

TABELA 1 – FUNGOS ENDOFÍTICOS ENCONTRADOS EM FOLHAS DE MELANCIA (*C. lanatus*)

Espécies de fungos endofíticos	Número de isolados	Frequência relativa (Fr%)
<i>Alternaria</i> sp.	108	42,02
<i>Amesia nigricolor</i>	3	1,17
<i>Annulohypoxyton</i> sp.	1	0,39
<i>Aspergillus austroafricanus</i>	19	7,39
<i>Aspergillus sydowii</i>	6	2,33
<i>Aureobasidium melanogenum</i>	4	1,56
<i>Aureobasidium</i> sp.	4	1,56
<i>Candida parapsilosis</i>	25	9,73
<i>Cladosporium</i> sp.	29	11,28
<i>Cryptococcus albidus</i>	2	0,78
<i>Curvularia brachyspora</i>	2	0,78

<i>Curvularia caricaepapayae</i>	2	0,78
<i>Curvularia spicifera</i>	2	0,78
<i>Curvularia subpapendorffii</i>	2	0,78
<i>Dirkmeia churashimaensis</i>	20	7,78
<i>Ectophoma</i> sp.	1	0,39
<i>Epicoccum</i> sp.	1	0,39
<i>Exserohilum rostratum</i>	4	1,56
<i>Hypoxyton monticulosum</i>	1	0,39
<i>Myrmecridium schulzeri</i>	1	0,39
<i>Nigrospora</i> sp.	3	1,17
<i>Papillotrema laurentii</i>	5	1,95
<i>Papillotrema</i> sp.	1	0,39
<i>Perenniporia centrali-africana</i>	1	0,39
<i>Periconia macrospinosa</i>	1	0,39
<i>Periconia</i> sp.	1	0,39
<i>Pleurotus djamor</i>	1	0,39
<i>Preussia citrullina</i>	1	0,39
<i>Preussia</i> sp.	1	0,39
<i>Pseudozyma</i> sp.	1	0,39
<i>Rhodotorula</i> sp.	1	0,39
<i>Simplicillium filiforme</i>	2	0,78
<i>Talaromyces aurantia</i>	1	0,39
TOTAL	257	

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no estudo sugerem que as folhas de melancia (*Citrullus lanatus*) apresentam elevada riqueza de fungos endofíticos, com grande número de espécies raras. Além disso, o conhecimento sobre a ocorrência desses organismos é importante, pois pode contribuir com a compreensão do seu papel ecológico e servir de subsídio para futuros trabalhos.

Fomento

FACEPE/CNPQ.

Palavras-chave: Fungos endofíticos; Melancia; Semiárido

Referências

- ARAÚJO WL, Manual: isolamento de microrganismos endofíticos. ESALQ, Piracicaba, p 86, 2002.
- ARNOLD, A. Elizabeth. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. **Fungal biology reviews**, v. 21, n. 2-3, p. 51-66, 2007.
- BASTOS, Francisco Gleyber Cartaxo et al. Efeitos de espaçamentos entre plantas na cultura da melancia na Chapada do Apodi, Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 2, p. 240-244, 2008.
- BENSCH, Konstanze et al. The genus cladosporium. **Studies in mycology**, v. 72, p. 1-401, 2012
- BEZERRA, J.D.P et al. Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study. *Symbiosis*, 60:53–63, 2013.
- DE SILVA, Dilani D. et al. Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 3, p. 155-168, 2017.
- DOMSCH KH, GAMS W, ANDERSON T.H. Compendium of soil fungi. v1. Academic press, London, 1980.
- GÓES-NETO, A., LOGUERCIO-LEITE, C., GUERRERO, R.T. DNA extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas* 18: 19–32, 2005.
- IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. Produção agrícola municipal 2016. Rio de Janeiro, 2017

LEAO, Dalfran Samleo Sampaio; PEIXOTO, Jose Ricardo; VIEIRA, Jairo Vidal. Teor de licopeno e de sólidos solúveis totais em oito cultivares de melancia. 2006.

OLIVEIRA, R., et al. Endophytic fungal diversity in coffee leaves (*Coffea arabica*) cultivated using organic and conventional crop management systems. *Mycosphere*, 5: 523-530, 2014).

SEIFERT, Keith A.; GAMS, W. The genera of Hyphomycetes—2011 update. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 27, n. 1, p. 119-129, 2011.

WHITE T.J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, Gelfand MA, Sninsky DH, White JJ, Eds TJ (eds) PCR protocols. A guide to methods and applications. Academic Press, pp 315–322, 1990.

WOUDENBERG, J. H. C. et al. *Alternaria* redefined. **Studies in mycology**, v. 75, n. 1, p. 171-212, 2013.

YAN, Lu et al. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, p. 3327-3340, 2019.

YANG, Xiaozhen et al. Identification and expression analyses of WRKY genes reveal their involvement in growth and abiotic stress response in watermelon (*Citrullus lanatus*). **PloS one**, v. 13, n. 1, p. e0191308, 2018.