

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE PLANTAS DA CAATINGA CONTRA BACTÉRIAS PATOGÊNICAS AO HOMEM

Ivania Maria de Oliveira Pires¹; Laura Mesquita Paiva²

¹Estudante do Curso de Ciências Biológicas / Ambientais - CCB - UFPE; E-mail: ivania_m.oliveira@hotmail.com, ²Docente/pesquisador do Depto de Micologia Prof. Chaves Batista - CCB - UFPE. E-mail: mesquitapaiva@terra.com.br

Sumário: O potencial biotecnológico de fungos endofíticos tem sido amplamente verificado em todo o mundo. Este estudo teve como objetivo verificar o potencial antibacteriano de fungos endofíticos isolados dos cactos *Pilosocereus gounellei* da floresta tropical seca brasileira (Caatinga) contra bactérias patogênicas ao homem. O teste em meio sólido foi realizado com 30 endófitos, e oito demonstraram atividade contra pelo menos uma bactéria patogênica ao homem, com destaque para *Aspergillus fumigatus* que inibiu duas das cinco bactérias e *Penicilium restrictum* que apresentou o maior halo (22 mm) de inibição. *Enterococcus faecalis* (UFPEDA138) foi inibida por cinco dos 30 endófitos testados. Os endófitos não apresentaram atividade no teste com o extrato bruto. Os resultados aqui obtidos demonstram que endófitos isolados de cactos crescendo na Caatinga possuem potencial para produção de compostos com ação antibacteriana.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana; endófitos; potencial biotecnológico.

INTRODUÇÃO

Petrini (1991) considera os endófitos como aqueles microrganismos que têm associações com as plantas sem causar-lhes danos aparentes. Uma grande importância dos fungos endofíticos é a capacidade de produzir compostos biotecnológicos, tais como enzimas (Bezerra *et al.* 2012), substâncias antitumorais (Chandra 2012) e antimicrobianas (Bezerra *et al.* 2015). Além de conhecer a importância econômica, o estudo de fungos endofíticos tem contribuído para o conhecimento da diversidade deste grupo, e novas espécies têm sido relatadas com capacidade de produzir metabólitos extracelulares biologicamente ativos (Sun *et al.* 2008). São conhecidos seis estudos da associação de fungos endofíticos com cactos. O primeiro de Fisher *et al.* (1994) que estudaram em regiões da Austrália a associação de fungos endofíticos com *Opuntia stricta*; o segundo no Arizona por Suryanarayanan *et al.* (2005) que estudaram a associação de fungos endofíticos com 21 espécies de cactos; o terceiro e quarto no Brasil, onde Bezerra *et al.* (2012, 2013) verificaram a composição endofítica fúngica de *Opuntia ficus-indica* e *Cereus jamacaru* em regiões da floresta tropical seca brasileira (Caatinga); o quinto em que Silva-Hughes *et al.* (2015) verificaram a comunidade e o potencial antifúngico de endófitos do cacto medicinal *Opuntia humifusa* nos Estados Unidos; e o sexto também no Brasil onde Freire *et al.* (2015) estudaram a composição de fungos endofíticos de *O. ficus-indica* sadia e colonizada pelo inseto *Dactylopius opuntiae*. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano de fungos endofíticos de plantas da Caatinga contra bactérias patogênicas ao homem.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de 30 fungos endofíticos isolados de *Pilosocereus gounellei* crescendo na Caatinga foram obtidas a partir de projetos de mestrado e doutorado do Programa de Pós-

Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco. Culturas de bactérias patogênicas ao homem foram fornecidas pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (*Staphylococcus aureus* UFPEDA02, *Mycobacterium smegmatis* UFPEDA71, *Enterococcus faecalis* UFPEDA 138, *Escherichia coli* UFPEDA 224 e *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416). A atividade antimicrobiana foi realizada em meio sólido, onde os fungos foram cultivados em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) por sete dias. Após o seu crescimento foram suspensos em ‘Tween 80’ e cultivados em forma de “tapete” em placas Petri contendo 20 mL de BDA, incubadas a temperatura de 28 ± 2 °C por sete dias. Após este período, com o auxílio de um furador, foram retirados discos de 6 mm de diâmetro dos fungos. Foram preparadas suspensões de cada micro-organismo teste em solução fisiológica, e utilizado 100 µL para semeio no meio de cultura Ágar Nutriente (AN) contido em placa de Petri. Após o semeio, os discos de 6 mm com os fungos foram utilizados. O procedimento foi realizado em triplicata e as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Os antibióticos Tobramicina e Norfloxacin foram utilizados para comparação dos resultados obtidos. Após o teste em meio sólido foi verificada a atividade antimicrobiana do extrato bruto dos fungos que apresentaram melhor resultado seguindo metodologia descrita por Siqueira et al. (2011). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, empregando-se o teste F, em delineamento inteiramente casualizado. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, para a análise foi utilizado o programa Assistat 7.7 beta (Silva & Azevedo 2009).

RESULTADOS

No presente estudo, 30 endófitos foram testados em meio sólido e oito apresentaram atividade antimicrobiana contra uma ou mais bactérias patogênicas ao homem, com halos de inibição variando de 10,0 a 22 mm. Estes endófitos são pertencentes aos gêneros *Penicillium* (3 táxons), *Aspergillus* (1), *Fusarium* (1), *Acremonium* (2) e *Cladosporium* (1) (Tabela 1). Os fungos endofíticos testados não apresentaram resultado no teste da capacidade antimicrobiana do extrato bruto (Tabela 1).

Tabela 1: Atividade antimicrobiana (mm) de fungos endofíticos isolados de *Pilosocereus gounellei* crescendo na Caatinga contra bactérias patogênicas ao homem

Fungos endofíticos	Cacto	Micro-organismo teste (UFPEDA)*				
		Halo de inibição (mm)				
		02	224	416	71	138
<i>A. furmigatus</i>	<i>P. gounellei</i> ^a	0d			0 c	20,0 a
<i>Acremonium</i> sp.	<i>P. gounellei</i> ^a	10,0c			0 c	0
<i>Acremonium</i> sp.1	<i>P. gounellei</i> ^a	0d			0 c	22,0 a
<i>Cladosporium</i> sp.	<i>P. gounellei</i> ^a	10,0c			0 c	06,6 ab
<i>Fusarium</i> sp.	<i>P. gounellei</i> ^a	0d			0 c	13,6 ab
<i>P. citinum</i>	<i>P. gounellei</i> ^a	0d			0 c	15,0 ab
<i>P. janthinellum</i>	<i>P. gounellei</i> ^a	0d			11,6 b	0
<i>P. restrictum</i>	<i>P. gounellei</i> ^a	0d			15,6 a	0

Norfloxacina ^b	20,0 b	12,0 b	0 b
Tobramicina ^b	32,0 a	10,0 b	21,0 a

Micro-organismos teste: UFPEDA 02 – *S. aureus*; UFPEDA 224 – *E. coli*; UFPEDA 416 – *P. aeruginosa*; UFPEDA 71 – *M. smegmatis* ; UFPEDA 138 – *E. faecalis*; bAntibióticos utilizados para comparação dos halos obtidos: Tobramicina e Norfloxacina. . * Os dados foram submetidos à análise de variância, e as letras minúsculas significam que os dados diferiram estatisticamente um do outro.

DISCUSSÃO

Este estudo mostrou que fungos endofíticos do gênero *Penicillium* apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias *E. faecalis* e *S. enteritidis* (Tabela 1). Cui *et al.* (2008) estudando culturas de *Penicillium* isoladas de *Acrostichum aureum*, identificaram dois novos peptídeos cíclicos com ação antimicrobiana contra *S. aureus*. Semelhante aos isolados de *Penicillium*, o gênero *Aspergillus* apresenta posição destacada por produzir uma grande variedade de metabólitos tanto primários quanto secundários, incluindo aminoácidos, antibióticos e pigmentos (Houbraken *et al.*, 2014). O endófito *Aspergillus fumigatus* se destacou como o isolado que inibiu o maior número de bactérias, duas (*E. faecalis* e *E. coli*) das cinco e *Penicilium restrictum* obteve os maiores halos, com 22 mm (Tabela 1). O gênero *Fusarium* apresentou atividade contra a bactéria *E. coli*. Cui *et al.* (2011) em estudo de atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de partes medicinais de *Aquilaria sinensis*, verificaram que espécies do gênero *Fusarium* apresentaram atividade contra *E. coli*. O gênero *Cladosporium* apresentou atividade contra a bactéria *E. faecalis* (Tabela 1). Chareprasert *et al.* (2010) verificaram que *Cladosporium* sp. isolado de *Thespesia populneoides*, inibiu bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Nenhum dos fungos testados apresentou atividade contra as bactérias *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Os fungos endofíticos isolados do cacto *P. gounellei* que demonstraram melhor atividade no teste em meio sólido foram selecionados para a avaliação do potencial antibacteriano do extrato bruto. Após sete dias de cultivo o extrato foi testado e não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana. Siqueira *et al.* (2011) verificaram o potencial antagônico de fungos endofíticos da planta medicinal *Lippia sidoides* e obtiveram extrato de 11 endófitos com atividade antimicrobiana.

CONCLUSÕES

Fungos endofíticos dos cactos *P. gounellei* apresentam potencial para utilização em processos biotecnológicos envolvendo a produção de compostos contra bactérias patogênicas ao homem. Futuros estudos são necessários para verificação dos compostos ativos produzidos por estes fungos e entendimento da relação simbiótica deles com espécies de cactos crescendo na Caatinga. O endófito *A. fumigatus* se destacou como o isolado que inibiu o maior número de bactérias e *P. restrictum* obteve os maiores halos. Nenhum dos fungos apresentou atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*. O extrato bruto para a avaliação do potencial antibacteriano foi testado e não apresentou nenhuma atividade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelo auxílio financeiro. Estendemos nossos agradecimentos aos estudantes do Laboratório de Citologia e Genética de Fungos, Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista /UFPE.

REFERÊNCIAS

1. Bezerra JDP, Santos MGS, Svedese VM, Lima DMM, Fernandes MJS, Paiva LM, Souza-Motta CM. 2012a. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 28:1989-1995.
2. Bezerra JDP, Santos MGS, Barbosa RN, Svedese VM, Lima DMM, Fernandes MJS, Paiva LM, Almeida-Cortez JS, Souza-Motta CM. 2013. Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study. *Symbiosis*.
3. Bezerra JDP, Nascimento CCF, Barbosa RN, Silva DCV, Svedese VM, Silva-Nogueira EB, Gomes BS, Paiva LM, Souza-Motta CM. 2015 Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. **Brazilian Journal of Microbiology**.
4. Chareprasert S., Piapukiew J., Whalley A.J. S., Sihanonth P. 2010. Endophytic fungi from mangrove plant species of Thailand: their antimicrobial and anticancer potentials. **Bot Mar**, v.53, p555–564.
5. Cui J-L, Guo S-X, Xiao P-G. 2011. Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of *Aquilaria sinensis*. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)**, 12(5):385-392.
6. Cui, H.B., Mei, W.L., Miao, C.D., Lin, H.P., Hong, K., Dai, H.F. (2008). Antibacterial constituents from the endophytic fungus *Penicillium* sp.0935030 of mangrove plant *Acrostichum aureum*. **Chemical Journal of Chinese Universities**, 33: 407–10.
7. Fisher PJ, Sutton BC, Petrini LE, Petrini O. 1994. Fungal endophytes from *Opuntia stricta*: a first report. **Nova Hedwigia**, 59:195–200.
8. Houbraken J, de Vries RP, Samson RA. 2014. Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. **Advances in Applied Microbiology**, 86:199-249. doi: 10.1016/B978-0-12-800262-9.00004-4.
9. Jin-Long C, Shun-Xing G, Pei-Gen X. 2011 Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of *Aquilaria sinensis*. **J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)** 12, (5):385-392.
10. Petrini O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews J, Hirano SS (eds) *Microbial Ecology of Leaves*. **Springer-Verlag New York**, 179-197.
11. Ribeiro IATA, Silva APS, Santos IP, Oliveira WCR, Correia JMM, Cavalcanti MS. 2013. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato metanólico do fungo endofítico *Aspergillus niger* isolado de *Morinda citrifolia*. In: **65ª Reunião Anual da SBPC**.
12. Silva-Hughesa AF, Wedgeb DE, Cantrellb CL, Carvalho CR, Pan Z, Moraes RM, Mado LV, Luiz H. 2015. Rosa Diversity and antifungal activity of the endophytic fungi associated with the native medicinal cactus *Opuntia humifusa* (Cactaceae) from the United States. **Microbiological Research**, 2015.
13. Silva FAS, Azevedo CAV. 2009. Principal components analysis in the software Assistat – Statistical Assistance. In *World Congress on Computers in Agriculture.*, **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, 7.
14. Siqueira VM, Conti R, Araújo JM, Souza-Motta CM. 2011. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. **Symbiosis** 53:89-95
15. Sun JQ, Guo L-D, Zang W, Ping WX, Chi DF. 2008. Diversity and ecological distribution of endophytic fungi associated with medicinal plants. **Science in China Series C** 51:751-759.
16. Suryanarayanan TS, Wittlinger SK, Faeth SH. 2005. Endophytic fungi associated with cacti in Arizona. **Mycological Research** 109:635–639.