

Atividade Antagonística de Bactérias Endofíticas Isoladas de Folhas de *Sapindus saponaria* L. (SAPINDACEAE) Contra o Fitopatógeno *Didymella bryoniae*

Andressa Domingos Polli¹, Adriana Garcia¹, Caroline Menicoze dos Santos¹, Sandro Augusto Rhoden¹, Julio Cesar Polonio¹, João Lúcio de Azevedo¹, João Alencar Pamphile¹

¹Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular
CEP 87.020-900 Maringá – Paraná - E-mail: andressa_polli@hotmail.com

RESUMO

Microrganismos endofíticos são aqueles que colonizam o interior das plantas, sem causar danos ou doenças, conferindo vantagens ao hospedeiro, protegendo-o contra insetos e moléstias, podendo produzir substâncias de interesse biotecnológico. Sapindus saponaria L. é uma árvore conhecida como sabão-de-soldado. Preparações desta planta são utilizadas na medicina popular como calmante, diurético, expectorante, contra a tosse e outros. O objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antagonista in vitro de quatro bactérias endofíticas isoladas de S. saponaria contra o fitopatógeno Didymella bryoniae. Disco de 6mm do fitopatógeno foi inoculado no centro da placa de Petri, e posteriormente inoculado o endofítico com duas estrias equidistantes. No controle foi inoculado somente o fitopatógeno no centro da placa. O crescimento micelial foi aferido utilizando o programa imageJ 1.46r. Os Im's foram: 8,3% (isol.69), 8,6% (isol.72), 19,2% (isol.79) e 36,6% (isol.129). Futuros estudos são necessários para evidenciar o real potencial no controle deste fitopatógeno.

Palavras-chave: Bactérias endofíticas, antagonismo, *Sapindus saponaria*, *Didymella bryoniae*, biotecnologia.

INTRODUÇÃO

Microrganismos endofíticos ou endófitos são fungos ou bactérias que colonizam o interior de tecidos ou órgãos vegetais das plantas podendo colonizar essa planta em todo o seu período de vida ou apenas parte do seu ciclo, sem causar danos ou doenças nas plantas, contrariamente manifestam algumas vantagens ao hospedeiro, protegendo-o contra o ataque de insetos e moléstias, apresentando modificações fisiológicas, havendo produção de substâncias de interesse biotecnológico¹.

Fungos fitopatogênicos, são os principais responsáveis por perdas consideráveis em culturas economicamente importantes além de estar associados à indução do apodrecimento de frutas e verduras pós-colheita, diminuindo o conteúdo nutricional e aproveitamento destes alimentos².

O fitopatógeno *Didymella bryoniae* causa o crestamento gomoso do caule, sendo uma das mais importantes doenças da melancia (*Citrullus lanatus*). O controle de doenças causadas por fitopatógenos é dificultado pela complexidade do ambiente, onde o controle químico tem

sua eficiência prejudicada, além de ser prejudicial à microbiota benéfica e os resíduos que permanecem no ambiente³.

Sapindus saponaria L. pertence à família Sapindaceae, é uma árvore conhecida popularmente como sabão-de-soldado, saboeira, sabão-de-macaco, pau-de-sabão, saboneiteiro, fruta-de-sabão, sabonete, jequitiguacu (RS), salta-martim, guiti, jequiri (PA), fruta-de-sabão (MG). No Brasil ocorre do Pará ao Rio Grande do Sul^{4,5}.

Na medicina popular, a casca a raiz e o fruto são utilizados como calmante, adstringente, diurético, expectorante, tônico, depurativo do sangue e contra a tosse. Seus frutos são ainda utilizados no combate à úlcera, feridas e inflamações na pele. Algumas espécies estão sendo pesquisadas como fontes de saponinas para uso cosmético, devido a suas propriedades tensoativas, como também para uso farmacológico, pois esses compostos, classificados como triterpenóides apresentam atividade antiulcerativa e antineoplásica⁶.

Bactérias e fungos endofíticos de plantas medicinais ou com propriedades terapêuticas estão sendo cada vez mais estudados a partir de pressupostos de sua interação com a planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antagonística *in vitro* de quatro linhagens de bactérias endofíticas isoladas de folhas *S. saponaria* contra o fungo fitopatógeno *Didymella bryoniae*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização do teste foram utilizadas quatro linhagens de bactérias endofíticas isoladas folhas de *S. saponaria* (Isolados: 69, 72, 79 e 129) e o fitopatógeno *D. bryoniae*.

Um disco de 6mm de diâmetro do fitopatógeno *D. bryoniae*, crescido durante sete dias, foi inoculado no centro da placa de Petri contendo meio BDA, em seguida as bactérias endofíticas, crescidas durante 24 horas em caldo LB (Luria-Bertani), com auxílio da alça de platina foi realizada uma estria em cada lado da placa a uma distância de dois centímetros da borda, sendo o diâmetro total da placa de 9 cm.

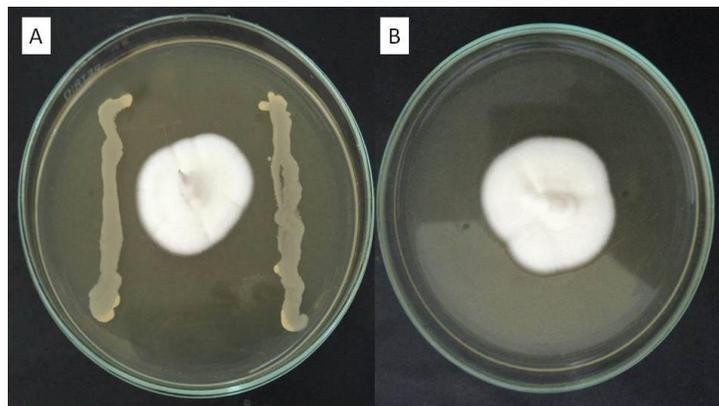
No controle foi inoculado somente o fitopatógeno. Todos os testes foram realizados em triplicata. O índice de inibição da bactéria endofítica foi avaliado utilizando o programa imageJ 1.46r, pela aferição de área do fitopatógeno em comparação com a área do controle, de acordo com a fórmula: $Im\% = 100 - (MT/MC) \times 100$, onde $Im\%$ = Índice de inibição em porcentagem do crescimento micelial, MT = Média da área da triplicata aferida para o tratamento em cm^2 , e MC = Média da área da triplicata aferida para o controle em cm^2 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inúmeros estudos sobre a interação das plantas e bactérias endofíticas estão sendo desenvolvidos, determinando assim as diferentes funções desses microrganismos no interior das plantas, podendo atuar no controle biológico de inúmeras doenças e na promoção do crescimento vegetal^{7,8,9}.

Em relação às bactérias endofíticas isoladas das folhas de *S. saponaria*, os índices de antagonismo (Im) foram de: 8,3% (isol. 69), 8,6% (isol. 72), 19,2% (isol. 79) e 36,6% (isol. 129). Estes estudos iniciais demonstram que, das bactérias endofíticas avaliadas, o isolado 129 (Figura 1) apresentou o maior índice de inibição, sugerindo assim que esses isolados podem ser promissores no controle de *D. bryoniae*.

Figura 1. Teste de antagonismo das bactérias endofíticas isoladas de *S. saponaria*. (A) Linhagem 129 contra o fitopatógeno *D. bryoniae*, (B) controle somente com o fitopatógeno.



CONCLUSÕES

Estes resultados demonstram que as bactérias endofíticas isoladas de *S. saponaria* inibem *in vitro* o crescimento do fitopatógeno em diferentes porcentagens, sendo que estudos ainda se fazem necessários para determinar a melhor forma de aplicação de microrganismos no controle deste fitopatógeno.

REFERÊNCIAS

- (1) AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI, W. J.; ARAÚJO, W. L.; PEREIRA, J. O. Microrganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Biotecnologia: Avanços na agricultura e na agroindústria**, Caxias do Sul: EDUCS, p. 233-268, 2002.
- (2) RAY, R. C.; RAVI, V. Post harvest spoilage of sweet potato in tropics and control measures.. **Critical Reviews on Food Science and Nutrition**. v. 45, n. 7-8, p. 623-644, 2005.
- (3) SANTOS, G. R.; CAFÉ-FILHO, A. C.; REIS, A. Resistência de *Didymella bryoniae* a fungicidas no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. v. 31, n. 5, 2006.
- (4) ALBIERO, A. L. M.; BACCHI, E. M.; MOURÃO, K. S. M. Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 549-560, 2001.
- (5) LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**. v.1, 4. ed. São Paulo: Editora Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2004.
- (6) ALBIERO, A. L. M.; BACCHI, E. M.; MOURÃO, K. S. M. Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 549-560, 2001.
- (7) HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 895-914, 1997.
- (8) PEIXOTO-NETO P.A.S, AZEVEDO J. L, Araújo W. L. Microrganismos endofíticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v. 29, p. 62-76, 2002.
- (9) ARAÚJO, W. L.; LIMA, A. O. S; AZEVEDO, J. L.; MARCON, J.; KUKLINSKYSOBRAL, J.; LACAVA, P.T. **Manual: Isolamento de Microrganismos Endofíticos**. Piracicaba: USP, 2002.