



BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE FOLHAS DE *Trichilia elegans* E SEU POTENCIAL ANTAGÔNICO NO CONTROLE DO FITOPATÓGENO *Sphaceloma* sp.

Andressa Domingos Polli¹; Sandro Augusto Rhoden²; Adriana Garcia³; Julio Cesar Polonio⁴; Caroline Menicoze dos Santos⁵; João Alencar Pamphile⁶

RESUMO: Microrganismos endofíticos são fungos ou bactérias que colonizam o interior de tecidos ou órgãos vegetais das plantas, sem causar danos ou doenças nas plantas, contrariamente manifestam algumas vantagens ao hospedeiro, protegendo-o contra o ataque de insetos e moléstias. Durante o processo de colonização da planta pelo endófito, ocorre a ativação do sistema de defesa da planta, causando um aumento da resistência desta contra patógenos. O caupi (*Vigna unguiculata* L.) é uma cultura importante em diversas regiões tropicais e subtropicais. A sarna do caupi ocorre em praticamente todos os estados brasileiros produtores desta leguminosa e é causada pelo fungo *Sphaceloma* sp. (pertence à família Moniliaceae), anamorfo de *Elsinoe phaseoli*. A planta medicinal *Trichilia elegans* A. Juss. pertence a família Meliaceae, sendo que algumas plantas deste gênero são utilizadas no Brasil na medicina popular para o tratamento de reumatismo, malária, para provocar vômito e também possui caráter purgativo. O objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antagonística *in vitro* de bactérias endofíticas isoladas de folhas de *Trichilia elegans* contra o fitopatógeno *Sphaceloma* sp. Para realização do teste foram utilizadas quatro linhagens de bactérias endofíticas isoladas de folhas de *Trichilia elegans* (Isolados: 76, 79, 83 e 84) e o fitopatógeno *Sphaceloma* sp. Em relação às bactérias endofíticas isoladas das folhas de *Trichilia elegans*, os índices de antagonismo (Im) foram de: 6,64% (isol. 76), 7,65% (isol. 79) e 31,6% (isol. 84) já o isolado 83 não apresentou inibição. Futuros estudos são necessários para evidenciar o real potencial no controle deste fitopatógeno.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico; Microrganismos endofíticos; *Sphaceloma* sp; *Trichilia elegans*.

1. INTRODUÇÃO

Microrganismos endofíticos ou endófitos são fungos ou bactérias que colonizam o interior de tecidos ou órgãos vegetais das plantas podendo ser desde folhas, caule, raiz.

¹ Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia - Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá-Paraná. Bolsista PIBITI/UEM. e-mail: andressa_polli@hotmail.com

² Doutorando do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada – Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: sandro_ar@hotmail.com

³ Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada – Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: adrianagarcia.biologa@gmail.com

⁴ Acadêmico do curso de Tecnologia em Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: julioc_polonio@hotmail.com

⁵ Biomédica e Estagiária do Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. E-mail: carolinemenicoze@hotmail.com

⁶ Orientador Professor Doutor do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: prof.pamphile@gmail.com

Podem colonizar a planta em todo o seu período de vida ou apenas em parte do seu ciclo, sem causar danos ou doenças nas plantas, contrariamente podendo manifestar algumas vantagens ao hospedeiro, protegendo-o contra o ataque de insetos e moléstias, apresentando modificações fisiológicas, havendo produção de substâncias de interesse biotecnológico (Azevedo, 2002).

Durante o processo de colonização da planta pelo endófito, ocorre a ativação do sistema de defesa da planta, causando um aumento da resistência desta contra patógenos (Paz et al., 2007). Os endófitos podem controlar os fungos patogênicos pela competição por nutrientes e produção de substâncias antibióticas, uma vez que eles ocupam o mesmo nicho, podendo também parasitar o patógeno ou mesmo induzir a planta a desenvolver resistência às doenças (Saikkonen et al., 1998; Maccheroni et al., 2004).

Sphaceloma sp., anamorfo de *Elsinoe phaseoli* (Kimati et al., 1997), que pertence à classe Deuteromycetes, ordem Moniliales, família Moniliaceae, é um fungo que acomete diversas culturas, como por exemplo o caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). O caupi é uma cultura importante em diversas regiões tropicais e subtropicais, onde é utilizado, principalmente, como alimento básico de elevado valor protéico pelas populações de baixa renda. No Brasil, esta leguminosa é conhecida como feijão macassar, feijão-de-corda, feijão-fradinho, feijão-de-praia, feijão-miúdo e muitos outros nomes, dependendo do local onde é cultivada. A sarna do caupi, causada pelo *Sphaceloma* sp., ocorre em praticamente todos os estados brasileiros produtores desta leguminosa, e provoca redução da área fotossintética, abortamento de flores e vagens novas e formação irregular de grãos, podendo causar perda total da produção.

Trichilia elegans A. Juss. pertence a família Meliaceae, sendo este gênero com cerca de 70 espécies distribuídas ao longo da região tropical americana. Nos remanescentes florestais e nas regiões próximas a Maringá, Paraná, Brasil, três espécies de *Trichilia* podem ser encontradas: *T. catigua* A. Juss (catiguá), *T. pallida* Sw. (baga-de-morcego) e a *T. elegans* A. Juss. (pau-de-ervilha-cachuá). Estas espécies possuem uma ampla distribuição, no Sul e na América Central, sendo *T. elegans* mais abundante no Sul do Brasil (Souza et al., 2001). Algumas plantas do gênero *Trichilia* são utilizadas no Brasil na medicina popular para o tratamento de reumatismo, malária, para provocar vômito e também possui caráter purgativo (Garcez et al., 1996).

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade antagonística *in vitro* de bactérias endofíticas isoladas de folhas de *Trichilia elegans* contra o fitopatógeno *Sphaceloma* sp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para realização do teste foram utilizadas quatro linhagens de bactérias endofíticas isoladas de folhas de *Trichilia elegans* (Isolados: 76, 79, 83 e 84) e o fitopatógeno *Sphaceloma* sp.

Um disco de 6mm do fitopatógeno *Sphaceloma* sp. foi inoculado no centro da placa de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Após o crescimento das bactérias endofíticas em meio TSB (Trypticase Soy Broth), foi realizada uma estria em cada lado da placa a uma distância de dois centímetros e meio do fitopatógeno, sendo o diâmetro total da placa de 8,7 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 .

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de fungicidas, comumente utilizada no controle de fitopatógenos, é altamente tóxica ao homem e ao meio ambiente, e ainda pode perder sua efetividade pela seleção de resistência desses patógenos ao pesticida, por isso a busca de novas alternativas para evitar este tipo de doença deve ser valorizada (Liu et al., 2001).

Os mecanismos pelos quais o controle biológico atua incluem a indução de resistência da planta, a competição por nutrientes e a produção de metabólitos secundários (Guetsky et al., 2002).

Em relação às bactérias endofíticas isoladas das folhas de *Trichillia elegans*, os índices de antagonismo (Im%) foram de: 6,64% (isol. 76), 7,65% (isol. 79) e 31,6% (isol. 84), já o isolado 83 não apresentou inibição. Estes estudos iniciais demonstram que, das bactérias endofíticas avaliadas, o isolado 84 (Figura 1) apresentou o maior índice de inibição, sugerindo assim que esses isolados podem ser promissores no controle do fitopatógeno *Sphaceloma* sp.

Estes estudos se mostram importantes já que os microrganismos endofíticos, da mesma forma que os fitopatógenos, apresentam a capacidade de penetrar na planta e se disseminar sistemicamente no hospedeiro (Araújo et al., 2002). Podem assim, controlar os fungos patogênicos pela competição por nutrientes e produção de substâncias antibióticas, podendo também parasitar o patógeno, ou mesmo induzir a planta a desenvolver resistência às doenças, pois ocupam o mesmo nicho que os patógenos (Saikkonen et al., 1998).

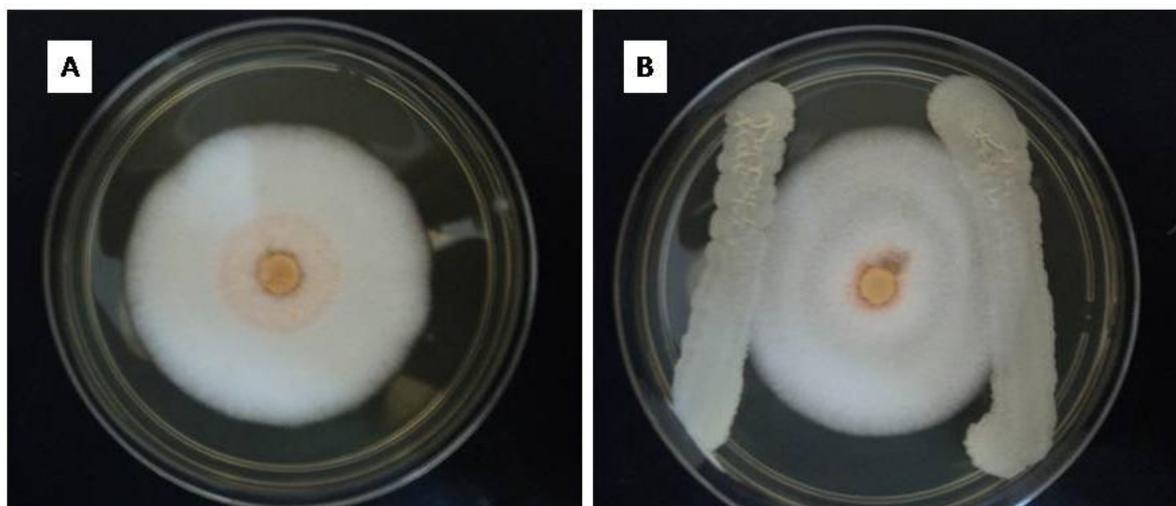


Figura 1: Atividade antagonística da Bactéria endofítica isolada de folhas de *T. elegans*. (A) Controle somente com o fitopatógeno *Sphaceloma* sp. (B) Bactéria endofítica (Isol.84) com o fitopatógeno *Sphaceloma* sp.

4. CONCLUSÃO

A análise dos resultados demonstrou que as bactérias endofíticas isoladas de *T.elegans* foram promissoras em diferentes porcentagens na inibição do fitopatógeno

Sphaceloma sp. Outros estudos são necessários para avaliar o real potencial de controle biológico destas bactérias contra este fitopatógeno.

5 .REFERÊNCIAS

ARAÚJO, W. L.; LIMA, A. O. S.; AZEVEDO, J. L.; MARCON, J.; SOBRAL, J. K.; LACAVA, P. T. **Manual: Isolamento de Microrganismos Endofíticos**. 1ª ed. São Paulo: CALQ. 2002.

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.). **Biociência: Avanços na agricultura e na agroindústria**, Caxias do Sul: EDUCS, p. 233-268, 2002.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; RODRIGUES, E. D.; POTT, V. J.; ROQUE, N. F. Secoprotolimonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 5, p.1399-1403, 1996.

GUETSKY, R., SHTIENBERG, D., ELAD, Y., FISCHER, E., DINNOR, A. Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. **Phytopathology**, v. 92, n. 9, p. 976-985, 2002.

KIMATI, H. L.; AMORIM, A.; BERGAMIN FILHO, L. E. A.; CAMARGO, J. A. M. **Manual de Fitopatologia – Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas**. 3ª ed. Universidade de São Paulo: Agronômica Ceres, 1997.

LIU, C. H.; ZOU, W. X.; LU, H.; TAN, R. X. Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi. **Journal of Biotechnology**, v. 88, p. 277-282, 2001.

MACCHERONI, W. J.; ARAÚJO, W. L.; LIMA, A. O. S. Ecologia: habitat e interações fúngicas com plantas, animais, fungos e bactérias. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: Uma introdução à Biologia, Bioquímica e Biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 2004.

PAZ, Z.; BURDMAN, S.; GERSON, U.; SZTEJNBERG, A. Antagonistic effects of the endophytic fungus *Meira geulakonigii* on the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 2570-2579, 2007.

SAIKKONEN, K.; FAETH, S. H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T. J. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, n. 29, p. 319-343, 1998.

SOUZA, L. A. D.; MOSCHETA, S.I; MOURÃO, S. M. K; SILVÉRIO, A. Morphology and Anatomy of the Flowers of *Trichilia catigua* A. Juss., *T. elegans* A. Juss. and *T. pallida* Sw. (Meliaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 44, p. 383-394, 2001.