



ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE *Trichilia elegans* (MELIACEAE) CONTRA O FITOPATÓGENO *Colletotrichum* sp.

Caroline Menicoze dos Santos¹; Sandro Augusto Rhoden²; Adriana Garcia³; Julio Cesar Polonio⁴; Andressa Domingos Polli⁵; João Alencar Pamphile⁶

RESUMO: Microrganismos endofíticos ou endófitos são bactérias ou fungos que habitam o interior dos tecidos vegetais, sem causar danos ao seu hospedeiro, ao contrário, podem beneficiar a planta de diversas formas, seja produzindo substâncias que atuam no metabolismo da planta ou conferindo resistência desta contra fitopatógenos. Estudos pressupõem que endófitos que habitam plantas com propriedades terapêuticas possuam potencial de biocontrole de fitopatógenos. A planta *Trichilia elegans* A. Juss. pertence a família Meliaceae, atualmente utilizada na medicina popular para o tratamento de reumatismo, malária, para provocar vômito e também por possuir caráter purgativo. O gênero de fungo *Colletotrichum* compreende fungos fitopatogênicos que causam a Antracnose em diversas culturas economicamente importantes. Objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antagonística de seis bactérias endofíticas isoladas de *T. elegans* com o fitopatógeno *Colletotrichum* sp.. Para esta análise um disco de 6mm de diâmetro do fitopatógeno foi inoculado no centro da placa de Petri, contendo meio BDA, e posteriormente inoculada a bactéria endofítica com duas estrias equidistantes do fitopatógeno. No controle foi inoculado somente o fitopatógeno no centro da placa. A inibição do crescimento micelial (Im%), foi aferido utilizando programa imageJ 1.46r, de acordo com a fórmula: $Im\% = 100 - (MT/MC) \times 100$. Os Im's foram: 38,4% (isol. 37), 10,5% (isol. 40), 5,2% (isol. 48), 13,4% (isol. 52), 13,6% (isol. 53) e 5,1% (isol. 54). As bactérias endofíticas isoladas de *T. elegans* foram promissoras em diferentes porcentagens na inibição do fitopatógeno *Colletotrichum* sp., porém maiores estudos são necessários para avaliar o real potencial de controle biológico destas bactérias contra este fitopatógeno.

PALAVRAS-CHAVE: Antagonismo; Bactérias endofíticas; *Colletotrichum* sp.; Controle biológico; *Trichilia elegans*.

1. INTRODUÇÃO

Microrganismos endofíticos ou endófitos são bactérias ou fungos que habitam o interior dos tecidos vegetais, sem causar danos ao seu hospedeiro, vivendo em equilíbrio

¹ Biomédica e Estagiária do Laboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM-Maringá, Paraná e-mail: carolinemenicoze@hotmail.com

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 Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: andressa_polli@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

químico com planta (Azevedo et al., 2002). Os microrganismos endofíticos podem beneficiar a planta de diversas formas, seja produzindo substâncias que irão atuar no metabolismo da planta ou conferindo resistência desta contra fitopatógenos, uma vez que se encontram no mesmo nicho, competindo por nutrientes e produzindo substâncias antimicrobianas (Maccheroni et al., 2004; Paz et al., 2007; Kaneko et al., 2010). Bactérias e fungos endofíticos de plantas medicinais ou com propriedades terapêuticas estão sendo cada vez mais estudados a partir de pressupostos de que sua interação com a planta produza novas substâncias bioativas e que os endófitos possuam potencial de biocontrole de fitopatógenos.

O presente estudo utilizou bactérias endofíticas isoladas de *Trichilia elegans* A. Juss. que pertence a família Meliaceae, sendo que este gênero possui 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). Algumas plantas do gênero *Trichilia* são utilizadas no Brasil na medicina popular para o tratamento de reumatismo, malária, para provocar vômito e também por possuir caráter purgativo (Garcez et al., 1996).

O gênero *Colletotrichum* compreende um grupo de fungos filamentosos que podem ser saprofíticos ou fitopatogênicos. Estes últimos são encontrados principalmente em regiões tropicais e subtropicais e são causadores de doenças economicamente importantes, conhecidas como Antracnoses, que acometem diversos hospedeiros trazendo grandes prejuízos para produtores de culturas de interesse econômico (Menezes, 2006).

O objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antagonística *in vitro* de seis linhagens de bactérias endofíticas isoladas de folhas *T. elegans* com o fungo fitopatógeno *Colletotrichum* sp..

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a avaliação da atividade antagonística foram utilizadas seis linhagens de bactérias endofíticas isoladas folhas de *T. elegans* (Isolados: 37, 40, 48, 52, 53 e 54) e o fitopatógeno *Colletotrichum* sp.

As bactérias endofíticas foram previamente repicadas em meio TSB (Trypticase Soy Broth) e incubadas em B.O.D. à 28°C por 24hrs.

Para o teste de antagonismo, um disco de 6mm de diâmetro do fitopatógeno *Colletotrichum* sp. foi inoculado no centro da placa de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Posteriormente foram inoculadas as bactérias endofíticas com duas estrias paralelas, sendo cada uma delas á dois centímetros e meio do fitopatógeno, onde o diâmetro total da placa era 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 percentual do crescimento micelial do fitopatógeno, 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

Atualmente a estratégia mais utilizada no controle de fitopatógenos é o uso de produtos químicos (fungicidas) aplicados frequentemente em culturas. No entanto, o uso indiscriminado dos fungicidas pode desequilibrar as interações existentes entre os microrganismos no interior da planta e até agravar a doença, ou então selecionar linhagens resistentes do patógeno ao longo do tempo (Heaney et al., 2000).

Tem sido relatado que alguns patógenos, inclusive do gênero *Colletotrichum*, tem apresentando resistência a alguns dos princípios ativos destes produtos químicos. Alguns estudos também apontam que o controle químico de doenças como a Antracnose pode ter baixa eficiência devido a algumas condições ambientais que favorecem o seu estabelecimento no hospedeiro (Haddad et al., 2003).

Sendo assim, alternativas como o controle biológico destes patógenos tem sido cada vez mais estudadas, uma vez que diminui esses efeitos, tanto em relação à seleção de linhagens resistentes como em relação ao equilíbrio ecológico (Newton et al., 2010).

As bactérias endofíticas colonizam o mesmo nicho dos fitopatógenos, o que as tornam potenciais agentes de biocontrole por meio de diversos mecanismos (Azevedo et al., 2002; Berg et al., 2004).

Em relação às bactérias endofíticas isoladas das folhas de *T. elegans*, os índices de antagonismo (Im%) foram de: 38,4% (isol. 37), 10,5% (isol. 40), 5,2% (isol. 48), 13,4% (isol. 52), 13,6% (isol. 53) e 5,1% (isol. 54). Estes estudos iniciais demonstram que, das bactérias endofíticas avaliadas, o isolado 37 (Figura 1) apresentou o maior índice de inibição, sugerindo assim que esses isolados podem ser promissores no controle de *Colletotrichum* sp..

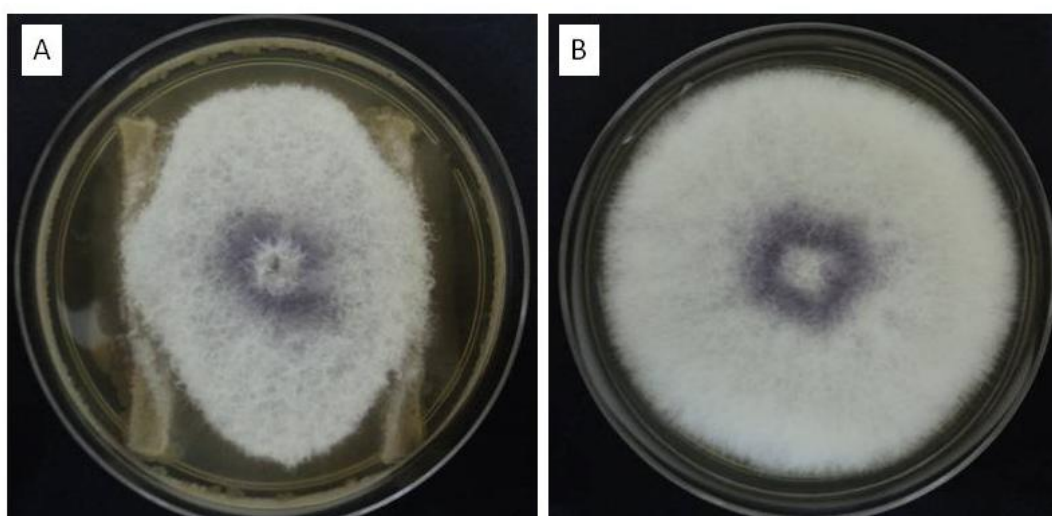


Figura 1: Atividade antagonística da bactéria endofítica (37) isolada de *T. elegans* contra o fitopatógeno *Colletotrichum* sp. (A); controle somente com o fitopatógeno (B).

4. CONCLUSÃO

A análise dos resultados mostra que as bactérias endofíticas isoladas de *T. elegans* foram promissoras em diferentes porcentagens na inibição do fitopatógeno *Colletotrichum* sp., porém maiores estudos são necessários para avaliar o real potencial de controle biológico, como uma efetiva forma de inocular esta bactérias em culturas que apresentam o gênero *Colletotrichum* sp. como fitopatógeno.

5. REFERÊNCIAS

- 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.
- BERG, G.; KRECHEL, A.; DITZ, M.; SIKORA, R. A.; ULRICH, A.; HALLMANN, J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 51, p. 215-229, 2004.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; RODRIGUES, E. D.; POTT, V. J.; ROQUE, N. F. Secoprotolimonoïds from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*. **Phytochemistry**, v.42, n. 5, p.1399-1403,1996.
- HADDAD, F.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Avaliação de fungicidas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 435-437, 2003.
- HEANEY, S. P.; HALL, A. A.; DAVIES, S. A.; OLAYA, G. Resistance to fungicides in the Qol-STAR cross-resistance group: current perspectives. The **BCPC Conference: Pest & Disease**, Brighton, v. 2, p. 755-762, 2000.
- KANEKO, T., MINAMISAWA, K., ISAWA, T., NAKATSUKASA, H., MITSUI, H., KAWAHARADA, Y., NAKAMURA, Y., WATANABE, A., KAWASHIMA, K., ONO, A., SHIMIZU, Y., TAKAHASHI, C., MINAMI, C., FUJISHIRO, T., KOHARA, M., KATOH, M., NAKAZAKI, N., NAKAYAMA, S., YAMADA, M., TABATA, S., SATO, S. Complete genomic structure of the cultivated rice endophyte *Azospirillum* sp. B510. **DNA Research**, v.17, n.1, p. 37-50, 2010.
- 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.
- MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 3, p.170-179, 2006.
- NEWTON, A. C.; GRAVOUIL, C.; FOUNTAINE, J. M. Managing the ecology of foliar pathogens: ecological tolerance in crops. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 157, p. 343-359, 2010.
- 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.