



## **Screening DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE FOLHAS DE *Sapindus saponaria* L. (SAPINDACEAE) SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO INORGÂNICO**

*Adriana Garcia*<sup>1</sup>; *Andressa Domingos Polli*<sup>2</sup>; *Sandro Augusto Rhoden*<sup>3</sup>; *Caroline Menicoze dos Santos*<sup>4</sup>; *João Lucio de Azevedo*<sup>5</sup>; *João Alencar Pamphile*<sup>6</sup>

**RESUMO:** Microrganismos endofíticos são fungos ou bactérias que colonizam o interior de tecidos ou órgãos vegetais das plantas podendo ser desde folhas, caule, raiz, podem ainda 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, com a produção de substâncias de interesse biotecnológico. *Sapindus saponaria* L. pertence à família Sapindaceae, é uma árvore conhecida popularmente como sabão-de-soldado, saboeira entre outros. No Brasil ocorre do Pará ao Rio Grande do Sul. 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. Devido à diminuição de fontes naturais de fósforo utilizados na fertilização dos solos agrícola, novas alternativas vêm sendo investigadas, destacando-se os solubilizadores de fosfatos, os microrganismos são essenciais no ciclo do fósforo, pois podem disponibilizar o mesmo para as plantas por meio da solubilização de fosfato insolúvel. O objetivo neste trabalho foi selecionar bactérias endofíticas, isoladas de folhas de *S. saponaria*, que solubilizem fosfato inorgânico. Neste *screening* das 96 bactérias avaliadas para solubilização de fosfato inorgânico *in vitro* aproximadamente 67% apresentaram resultados positivos. Esses resultados demonstram a capacidade de bactérias endofíticas isoladas de folhas de *S. saponaria* de solubilizar fosfato inorgânico, maiores estudos são necessários visando sua aplicabilidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bactérias endofíticas; Biotecnologia; Fosfato inorgânico; *Sapindus saponaria*.

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada – Universidade Estadual de Maringá, UEM – Maringá, Paraná. Bolsista CAPES. e-mail: adriana.garcia.biologa@gmail.com

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: andressa\_polli@hotmail.com

<sup>3</sup> Doutorando do Programa de Pós Graduação em Biologia Comparada – Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: sandro\_ar@hotmail.com

<sup>4</sup> 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

<sup>5</sup> Professor Doutor e Pesquisador visitante do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, UEM. e-mail: jlazevedo@usp.br

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

## 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. Podem 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 biotecnológico (Azevedo et al., 2002).

Dentre as substâncias de interesse, está a capacidade dos microrganismos solubilizarem fósforo (P) em meio de cultura pura, e quando isso ocorre, em meio de cultura sólido contendo fosfato de cálcio, há formação de uma zona de clarificação ao redor da colônia (halo), correspondente à acidificação do meio e dissolução do fósforo (Kang et al., 2002).

Dentre os microrganismos, se destacam os provenientes de plantas medicinais ou com propriedades terapêuticas, que estão sendo cada vez mais analisadas a partir de pressupostos de sua interação com microrganismos endofíticos, os quais têm apresentado diversos benefícios como produtores de antibióticos, metabólitos secundários de interesse farmacológico (Pilleggi, 2002), já que muitas substâncias extraídas das plantas foram encontradas nos endofíticos que elas albergam (Azevedo et al., 2002).

Os microrganismos estudados no presente trabalho são provenientes endofíticos da *Sapindus saponaria* L. (Figura 1), que pertencente à família Sapindaceae, é uma árvore conhecida popularmente como sabão-de-soldado, saboeira, sabão-de-macaco, pau-de-sabão, saboneiteiro, fruta-de-sabão, sabonete, jequitiguaçu (RS), salta-martim, guiti, jequiri (PA), fruta-de-sabão (MG). No Brasil ocorre do Pará ao Rio Grande do Sul (Albiero et al., 2001; Lorenzi, 2004).

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 antineoplásica (Albiero et al., 2001).

Devido a importância da *Sapindus saponaria*, como planta medicinal e dos microrganismos na busca de compostos bioativo, objetivo neste trabalho foi selecionar bactérias endofíticas, isoladas de folhas de *S. saponaria*, que solubilizem fosfato inorgânico.



Figura 1: *Sapindus saponaria* L. (Foto Universidade Estadual de Maringá – UEM).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas para este trabalho 96 linhagens de bactérias endofíticas isoladas de folhas de *Sapindus saponaria*.

Foi realizado um *screening* para selecionar bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico. As linhagens foram previamente repicadas em meio TSB (Trypticase Soy Broth), em placa de 96 poços e incubadas em B.O.D. por 48 horas a 28°C.

Posteriormente, as 96 linhagens foram repicadas em uma placa de 15 cm de diâmetro com meio de fosfato insolúvel e então incubada por 48h a 28°C. Após esse período, a solubilização de fosfato foi visualizada pela presença de halo ao redor das colônias capazes de solubilizar fosfato (Verma et al., 2001). O teste foi realizado em triplicata.

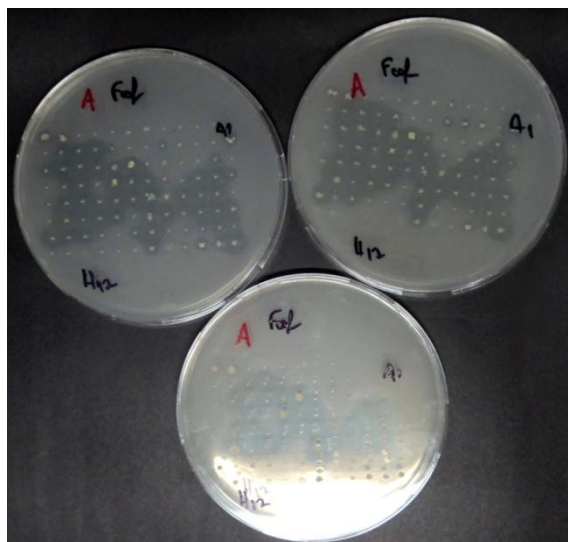
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fósforo exerce papel importante no metabolismo vegetal, participando da fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, transferência de genes e reprodução (Stauffer e Sulewski, 2004).

Devido à diminuição de fontes naturais de fósforo, que é um macronutriente limitante para o crescimento da planta sendo utilizado na fertilização dos solos agrícolas, novas alternativas vêm sendo investigadas, destacando-se os microrganismos solubilizadores de fosfatos. Estes são essenciais no ciclo do fósforo, pois podem disponibilizar o mesmo para as plantas por meio da solubilização de fosfato insolúvel (Malboobi, et al., 2009).

Neste *screening* das 96 bactérias avaliadas para solubilização de fosfato inorgânico *in vitro*, aproximadamente 67% apresentaram halo ao redor das colônias. Estudos posteriores serão realizados com cada bactéria positiva em placas separadas para avaliar o índice de solubilização (IS).

Neste sentido busca-se selecionar e caracterizar isolados bacterianos que expressem características como solubilização de fosfato. Essa bioprospecção é decorrente do enorme potencial desses microrganismos que podem intervir positivamente no desenvolvimento das plantas, por isso, diversos trabalhos buscam avaliar a capacidade de bactérias que fixem nitrogênio e solubilizem fosfato inorgânico visando o possível uso da biotecnologia microbiana e aplicabilidade nos sistemas de produções agrícolas (Taurian et al., 2010; Compant et al., 2010).



**Figura 1:** Bactérias endofíticas isoladas de folhas de *S. saponaria* solubilizadoras de fosfato (presença de halo ao redor das colônias).

#### 4 CONCLUSÃO

Bactérias endofíticas isoladas de folhas de *Sapindus saponaria* foram capazes de solubilizar fosfato inorgânico *in vitro*. Estes estudos iniciais norteiam futuros estudos na forma de estabelecer parâmetros na utilização destas bactérias como promissoras solubilizadoras de fosfato inorgânico, que podem ser utilizadas nas culturas de soja, cana, trigo, cana-de-açúcar, etc.

#### REFERÊNCIAS

- 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.
- AZEVEDO, J. L.; MACCHEORI, 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.
- COMPANT, S; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth promoting bacteria in the rhizo – and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 30, p. 669-678, may. 2010.
- KANG, S.C.; HÁ, C. G.; LEE, T. G.; MAHESHWARI, D. K. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus *Fomitopsis* sp. PS 102. **Current Science**, v. 82, p. 439-442, 2002.
- 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.

MALBOOBI, M. A.; OWLIA, P.; BEHBAHANI, M.; SAROKHANI, E.; MORADI, S.; YAKHCHALI, B.; DELJOU, A.; HERAVI, K. M. Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. Oxford, v. 25, p. 1471-1477, 2009.

PILEGGI, M.; RAIMAN, M. P.; MICHELI, A.; BEATRIZ, S.; BOBATO, V. Ação Antimicrobiana e interação endofítica em *Symphytum officinale* L. Publicatio UEPG **Biological and Health Sciences**, v. 8 n.1, p. 47-55, 2002.

STAUFFER, M.D.; SULEWSKI, G. Fósforo-Essencial para vida. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba-SP, 726p. 2004.

TAURIAN, T.; ANZUAY, M. S.; ANGELINI, J. G.; TONELLI, M. L.; LUDUEÑA, L.; PENA, D.; IBÁÑEZ, F.; FABRA, A. Phosphate-solubilizing peanut associated bacteria: screening for plant growth-promoting activities. **Plant Soil**, The Hague, v. 329, p. 421–431, Apr. 2010.

VERMA, S. C.; LADHA, J. K.; TRIPATHI, A. K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, v. 91, p. 127-141, 2001.