

Resumos do VI CBA e II CLAA

de doenças têm levado à procura de métodos alternativos de controle, o qual inclui o controle biológico, a indução de resistência em plantas Bettiol (1991) e o uso de produtos naturais com atividade antimicrobiana direta (STANGARLIN ; KUHN.; SCHWAN-ESTRADA, 2008).

Diversos trabalhos mostram o potencial da flora brasileira no controle de fitopatógenos através da ação antifúngica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos (SCHWAN-ESTRADA et al., 1997). A levedura *Saccharomyces boulardii* isolada de frutas silvestres tropicais, pode ser encontrada na forma liofilizada no medicamento Floratil[®] (Merck), produto utilizado como auxiliar na restauração da flora intestinal. Até o momento não há relatos do uso de *S. boulardii* para controle de doenças em plantas. Considerando a importância da doença e do controle alternativo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana das células e do filtrado de *S. boulardii* sobre a germinação de esporos de *P. pachyrhizi*.

Metodologia

O ensaio foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) *Campus* de Marechal Cândido Rondon – PR

Para obtenção de células *S. boulardii* foi utilizado o produto comercial Floratil[®] (Merck). Para tanto, 100 mg do produto foram colocados em 100 mL de água destilada esterilizada e a partir dessa suspensão, foi feito o isolamento em meio de cultivo YEPG sólido. As placas foram incubadas no escuro a 36 °C. Já o filtrado de cultura de *S. boulardii* foi obtido a partir da repicagem das células para meio líquido YEPG, o mesmo foi mantido em agitação durante 3 dias (150 rpm) e no escuro a 36 °C. Foram utilizados frascos erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultivo, já autoclavado a 110 °C e 1 atm por 15 min. Cada frasco recebeu 100 μ L de suspensão de células contendo 1×10^5 células mL⁻¹. Após esse período, os meios foram filtrados assepticamente em papel Whatman nº 41, obtendo-se dessa forma, o filtrado bruto da cultura e as células da levedura.

A atividade antimicrobiana foi avaliada pela inibição da germinação de uredósporos de *P. pachyrhizi*. Os esporos do fungo foram obtidos de plantas de soja doadoras de inóculo, mantidas em casa-de-vegetação. Para o teste de inibição de germinação de esporos, uma alíquota de 50 μ L da suspensão de esporos (1×10^4 uredósporos/mL) e outra de 50 μ L dos tratamentos selecionados: filtrado nas concentrações de 0,01; 0,1; 1; 5; 10; e 20%, e células nas concentrações de 0,005; 0,05; 0,5; 5; 15 e 25 mg mL⁻¹, além de água destilada esterilizada e fungicida (azoxystrobin 100 mg i.a. L⁻¹), foram aplicados sobre placa de Petri contendo uma fina camada de ágar-água 1%. Estas placas foram incubadas a 23°C em escuro, sendo a porcentagem de germinação determinada após 10h, através da contagem do número de esporos germinados e não germinados após o emprego de azul algodão de lactofenol (para paralisar a germinação) e observação ao microscópio óptico.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância ao nível de 0,05 de probabilidade. Dados em porcentagem foram submetidos à transformação por raiz quadrada de $x + 0,5$.

Resultados e discussões

De acordo com a Tabela 1 verificou-se resposta significativa dos diferentes tratamentos no processo de inibição da germinação dos esporos de *Phakopsora pachyrhizi*. O tratamento com fungicida foi o que melhor inibiu a germinação de esporos (8,5% de germinação). Já entre os tratamentos que utilizaram células de *S. boulardii* observa-se que na maior concentração de células, 25 mg/ml, houve maior eficiência no controle da germinação dos esporos (26,5% de germinação), seguido pelo tratamento com 15 mg/ml (45,5% de germinação). Os demais

Resumos do VI CBA e II CLAA

tratamentos não apresentaram um controle expressivo da germinação dos esporos.

Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações de células de *S. bouldarii* sobre a germinação de esporos de *P. phachyrhizi*.

TRATAMENTO	%GERMINAÇÃO
Água	67,25* d
Fungicida (Amistar 200 mg/L pc)	8,50 a
Células S. b 25 mg/ml	26,50 b
Células S. b 15 mg/ml	45,50 c
Células S. b 5 mg/ml	66,25 d
Células S. b 0,5 mg/ml	80,75 d
Células S. b 0,05 mg/ml	81,00 d
Células S. b 0,005 mg/ml	79,75 d
DMS	17,08
CV (%)	12,81

* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade.

Observando-se a Tabela 2, verifica-se significância dos diferentes tratamentos no controle da germinação de esporos de *P. phachyrhizi*. O fungicida novamente apresentou maior controle da germinação de esporos (6,25% de germinação). Entre os filtrados, o de maior concentração de *S. bouldarii* (20%) proporcionou menor germinação de esporos (60,25% de germinação), e as demais concentrações do filtrado apresentaram-se semelhantes e menos eficientes na inibição. A testemunha (água) foi o tratamento que apresentou maior germinação de esporos (87% de germinação).

Tabela 2. Efeito de diferentes concentrações de filtrado de *S. bouldarii* sobre a germinação de esporos de *P. phachyrhizi*.

TRATAMENTO	%GERMINAÇÃO
Água	87,00 c
Fungicida (Amistar 200 mg/L pc)	6,25 a
Filtrado S. b 20%	60,25 b
Filtrado S. b 10%	71,75 bc
Filtrado S. b 5%	73,25 bc
Filtrado S. b 1%	70,75 bc
Filtrado S. b 0,1%	73,00 bc
Filtrado S. b 0,01%	73,00 bc
DMS	18,42
CV (%)	12,21

* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade.

Células e também o filtrado de cultivo de *S. cerevisiae*, inibiram a germinação de esporos e a formação de apressórios de *Colletotrichum graminicola* e protegeram plantas de milho contra o patógeno (DA SILVA, PASCHOLATI, 1992). Resultados semelhantes com preparações da levedura foram encontrados por Stangarlin, Pascholati (1994) na interação milho x *Exserohilum turcicum*, os quais reforçam a antibiose como um modo de ação importante de *S. cerevisiae*. Martins et al. (1986) aplicaram o filtrado de cultivo de *S. cerevisiae* em folhas de café (*Coffea arabica* L.), 72 h antes da inoculação com *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., agente causal da ferrugem, e obtiveram indução da resistência ao patógeno. Tais trabalhos confirmam a potencial

Resumos do VI CBA e II CLAA

atividade antimicrobiana do gênero *Saccharomyces*, como também constatado no presente trabalho.

Conclusões

Os resultados demonstram que a maior concentração de células de *S. boulardii* apresentou-se mais eficiente no controle da germinação de esporos de *P. phachyrhizi*. Quanto ao filtrado, o uso do mesmo nas concentrações testadas não se mostrou eficiente na inibição da germinação dos esporos de *P. phachyrhizi*.

Referências

- BETTIOL, W. (Ed.). Controle Biológico de Doenças de Plantas. Jaguariúna. EMBRAPA-CNPDA. 1991.
- DA SILVA, S. R.; PASCHOLATI, S. F. *Saccharomyces cerevisiae* protects maize plants, under greenhouse conditions, against *Colletotrichum graminicola*. *Journal of Plant Disease and Protection*, v. 99, p. 159-167, 1992.
- GHINI, R.; KIMATI, H. *Resistência de Fungos a Fungicidas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.
- MARTINS, E. M. F. et al. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat-treatment. *Fitopatologia Brasileira*, v. 11, p. 899-909, 1986.
- STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. *Summa Phytopathologica*, n. 20, p. 16-21, 1994.
- STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 16, p. 265-304, 2008.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. et al. Efeito do extrato bruto de plantas medicinais na indução de fitoalexinas em soja e sorgo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 22, p. 346, 1997. Resumo.
- YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M. *Ferrugem da soja: Phakopsora phachyrhizi* Sydow. Londrina: Embrapa soja, 2002. Folder.