

Atividade Antimicrobiana *in vitro* de produto a base de *Saccharomyces boulardii* contra *Phakopsora pachyrhizi*

In vitro Antimicrobial Activity of the basis product of *Saccharomyces boulardii* against *Phakopsora pachyrhizi*

MARINI, Deniele¹. denimarini@hotmail.com; DARTORA, Janaína D¹. janaina_dartora@hotmail.com; KOTZ, Tailene E¹. taileneelisa@hotmail.com; FREIBERGER, Mariângela B¹. maia_bf@yahoo.com.br; PAULETTI, Daiana R¹. daiana_pauletti@hotmail.com; STANGARLIN, José R¹. jrstangarlin@unioeste.br; ¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE

Resumo

A ferrugem asiática causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, é controlada principalmente pela aplicação de fungicidas. Devido ao custo elevado e aos problemas ambientais gerados, tem-se buscado métodos alternativos de controle. O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do produto a base de *Saccharomyces boulardii* sobre a germinação de *P. pachyrhizi*. As concentrações testadas do produto a base de *S. boulardii* foram de 25; 15; 5; 0,5; 0,05; 0,005 mg mL⁻¹, além de água destilada esterilizada e fungicida (azoxystrobin 100 mg i.a.L⁻¹). Dentre os tratamentos o fungicida foi o que teve maior eficiência. Verifica-se que a concentração de 25 mg mL⁻¹ do produto a base de *S. boulardii*, proporcionou maior inibição da germinação, porém esta é estatisticamente semelhante as concentrações de 15; 5 e 0,005 mg mL⁻¹, além da testemunha água. Com base nos resultados observa-se que não houve reduções significativas na germinação de esporos de *P. pachyrhizi* pelo uso do produto a base de *S. boulardii*.

Palavras-chave: Ferrugem asiática, germinação e *Saccharomyces boulardii*

Abstract

The Asian rust caused by the fungus *Phakopsora pachyrhizi*, is mainly controlled by the application of fungicides. Due to the high cost and environmental problems generated, we have sought alternative methods of control. The objective of this study is to evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of the basis of *Saccharomyces boulardii* on the germination of *P. pachyrhizi*. The concentrations tested the basis of *S. boulardii* were 25, 15, 5, 0.5, 0.05, 0.005 mg mL⁻¹ and sterile distilled water and fungicide (azoxystrobin 100 mg i.a.L⁻¹). Among the fungicide treatments was what was most efficiently. It appears that the concentration of 25 mg mL⁻¹ of the basis of *S. boulardii*, provided greater inhibition of germination, but this is statistically similar concentrations of 15, 5 and 0.005 mg mL⁻¹, and a control water. Based on the results it is observed that there were significant reductions in the germination of spores of *P. pachyrhizi* by use of the base product of *S. boulardii*.

Keywords: Asian rust, germination and *Saccharomyces boulardii*

Introdução

A soja (*Glycine max*) uma das principais culturas exploradas no Brasil e com uma participação importante na economia do país, apresenta como entrave para altas produções os problemas fitossanitários. Um dos mais importantes é a doença ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, a infecção por este patógeno causa rápido amarelecimento e queda prematura das folhas, reduzindo o tamanho dos grãos e, conseqüentemente, maior perda do rendimento e da qualidade (EMBRAPA, 2006). O controle desta doença é realizado principalmente pela aplicação de fungicidas. Visto que este método tem um custo elevado e gera problemas ambientais devido ao uso intensivo (SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005), tem-se buscado métodos alternativos de controle para esta doença.

Resumos do VI CBA e II CLAA

O uso de produtos naturais com atividade antimicrobiana direta, apresenta-se como um método alternativo do controle de doenças (STANGARLIN et al., 2008). A levedura *S. boulardii*, isolada de frutas silvestres tropicais, pode ser encontrada na forma liofilizada no medicamento Floratil[®] (Merck) na concentração de 2×10^6 células mg^{-1} . O produto é utilizado como auxiliar na restauração da flora intestinal e possui antagonismo a *Escherichia coli*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp. e *Candida albicans* (Merck, 2007). Alguns trabalhos com preparações da levedura *Saccharomyces cerevisiae* demonstra o potencial antimicrobiano desse gênero (DA SILVA e PASCHOLATI, 1992; STANGARLIN e PASCHOLATI, 1994; MARTINS et al., 1986).

Neste contexto o presente trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* contra *P. pachyrhizi*, pelo produto a base de *S. boulardii* em diferentes concentrações.

Metodologia

O presente trabalho foi realizado na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Cândido Rondon. A atividade antimicrobiana foi avaliada microscopicamente 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 μL da suspensão de esporos (1×10^4 uredósporos/ mL) e outra de 50 μL dos tratamentos selecionados: produto a base de *S. boulardii* (Floratil[®]) nas concentrações de 25; 15; 5; 0,5; 0,05; 0,005 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%. Essas 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.

Resultados e discussões

De acordo com a Tabela 1, o fungicida foi o tratamento que demonstrou maior eficiência em relação aos demais, onde apenas 6,25 % dos esporos de *P. pachyrhizi* germinaram. Verifica-se que dentre os tratamentos com o produto a base de *S. boulardii*, a concentração de 25 mg mL^{-1} , proporcionou maior inibição da germinação, porém esta é estatisticamente semelhante as concentrações de 15; 5 e 0,005 mg mL^{-1} , além da testemunha água. Observa-se também que a testemunha água e as concentrações 15; 5; 0,5; 0,05 e 0,005 mg mL^{-1} do produto a base de *S. boulardii* foram estatisticamente iguais.

TABELA 1. Efeito de Floratil[®] (Merck) na germinação *in vitro* de *Phakopsora pachyrhizi*

TRATAMENTO	%GERMINAÇÃO
Água	87,00 bc
Fungicida (azoxystrobin 100 mg i.a. L^{-1})	6,25a
Floratil 25 mg mL^{-1}	75,25 b
Floratil 15 mg mL^{-1}	86,25 bc
Floratil 5 mg mL^{-1}	86,75 bc
Floratil 0,5 mg mL^{-1}	90,00 c
Floratil 0,05 mg mL^{-1}	93,75 c
Floratil 0,005 mg mL^{-1}	85,50 bc
DMS	13,70
CV (%)	7,66

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

Resumos do VI CBA e II CLAA

Apesar de não ser possível verificar diferença estatística relevante entre as concentrações do produto a base de *S. boulardii*, a medida em que se aumenta a concentração do mesmo, tem-se uma tendência de maior inibição na germinação de uredósporos de *P. pachyrhizi*. O gênero *Saccharomyces* possui atividade antimicrobiana, como constatado no trabalho de Da Silva e Pascholati (1992), testaram células e também o filtrado de cultivo de *S. cerevisiae*, e obtiveram como resultado a inibição da germinação de esporos e da formação de apressórios de *Colletotrichum graminicola*. Schulz et al. (2008), verificaram o potencial indutor de produtos a base de *S. boulardii* para ensaios com indução de resistência em sorgo e soja.

Conclusões

Nas concentrações testadas do produto a base de *Saccharomyces boulardii* não houve reduções significativas da germinação de esporos de *P. pachyrhizi*.

Referências

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.

EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja – Paraná – 2007. Londrina: Embrapa Soja, 2006. 217p.

MARTINS, E.M.F. et al. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat-treatment. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 11, p. 899-909, 1986.

MERCK. Floratil[®] - *Saccharomyces boulardii*-17 liofilizado. 2007.

SCHULZ, D. G. et al. Influência do tempo de cultivo de *Saccharomyces boulardii* na indução de fitoalexina em sorgo e soja. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 31., 2008, Campinas. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 34, 2008.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S. et al. (Eds.). *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 125-133.

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*, Passo Fundo, v. 16, p. 265-304, 2008.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 20, p.16-21, 1994.