



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2024**

Utilização de fungos endofíticos do semiárido baiano como bioagentes inibidores de atividades de *Diplodia maydis*

Kevin de Santana Lima¹; Nathanael Serra Souza²; Leandro Alvarenga Santos³

1. Bolsista – Modalidade PIBIC/FAPESB, Graduando em Eng. Agrônoma, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: kevinlima@gmail.com
2. Graduando em Eng. Agrônoma, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: nathanaelserr Souza@hotmail.com
3. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lasantos@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: fungos endofíticos; microrganismos antagonistas;
microrganismos do semiárido

INTRODUÇÃO

Há diversos fatores que podem ser um empecilho na produção do milho, dentre esses fatores, pode ser citado o espaçamento incorreto no plantio, acidez superficial e subsuperficial e problemas fitossanitários como pragas, plantas daninhas e doenças. Dentre as doenças que pode atingir a cultura do milho destaca-se a podridão branca da espiga, causada pelo fungo *Diplodia maydis*. Esta doença pode reduzir a densidade de espigas, valor nutricional e palatabilidade dos grãos, além de torna-los impróprios para consumo por estarem contaminados por micotoxinas. Os grãos contaminados são chamados de “grãos ardidos” e possuem padrões de tolerância utilizados por cooperativas e agroindústrias, que controla a quantidade de grãos contaminados por lote de milho, o que pode ocasionar na rejeição de uma tonelada de milho por conta de 6% de “grãos ardidos” presentes (EMBRAPA, 2006).

Em contraponto, há também fatores que podem contribuir para um melhor desempenho do cultivo, como os fungos endofíticos, uma importante ferramenta para auxílio na produção vegetal. Os microrganismos endofíticos são aqueles capazes de infectar de forma assintomática e internamente o tecido vegetal, estabelecendo relação simbiótica, excluindo outros microrganismos como micorrizas. Porém, de acordo com a definição proposta por Petrini (1991), ampliando a definição de Carroll (1986), os microrganismos endofíticos podem ser descritos como todos aqueles que vivem pelo uma etapa da sua vida internamente nos tecidos vegetais sem causar danos aparentes ao hospedeiro, incluindo micorrizas e fungos patogênicos. Esses microrganismos realizam associação com as plantas, que fornecem nutrientes e proteção, enquanto os mesmos retribuem fornecendo compostos que podem auxiliar na proteção da planta hospedeira (PEIXOTO NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). Esposito-Polesi (2011) descreve os microrganismos endofíticos como aqueles capazes

de estar presentes em pelo menos uma etapa do ciclo de vida da planta, vivendo dentro da planta e sem causar dano a mesma, estabelecendo uma espécie de relação simbiótica.

Os microrganismos endofíticos são capazes de produzir diversas substâncias, dentre essas substâncias pode-se destacar, principalmente, as ligadas aos fatores de crescimento, além de auxiliar o hospedeiro ao contribuir para indução de resistência às condições de estresse, modificações nas propriedades fisiologias e na produção de fitohormônios (DOS SANTOS et al., 2011).

Em regiões como a do semiárido baiano que conta com uma diversidade de desafios para produção vegetal, à seca se destaca e atua como um importante fator limitante nos cultivos comerciais, limitando o desenvolvimento das culturas. Nesse cenário, são importantes os estudos como de Maia et al. (2020), que apontam o potencial de microrganismos endofíticos na sobrevivência de plantas a condições de estresse salino e de seca, assim como Paz (2009) atesta em seu estudo sobre a potencialidade de microrganismos endofíticos na promoção de crescimento e controle de doenças de plantas.

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi verificar potencial de fungos endofíticos do semiárido baiano frente ao fungo patogênico *Diplodia maydis* na cultura do milho.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento de fungos endofíticos: Amostras de plantas saudáveis do semiárido baiano foram coletadas, separando folhas, caules e raízes. As partes foram lavadas, submersas em álcool 70% (40 s), hipoclorito 1,5% (4 min) e enxaguadas três vezes com água destilada, seguindo Menezes e Silva-Hanlin (1997). Após secagem em papel filtro esterilizado, fragmentos desinfetados foram inoculados em placas de Petri com meio BDA e incubados a $25\pm 2^\circ\text{C}$. Com base em Batista et al. (2018), os isolados obtidos foram repicados, sendo três selecionados para compor os tratamentos.

Obtenção de extratos fúngicos: Três isolados fúngicos endofíticos do semiárido (L1-UEFS, L2-UEFS e Trc-UEFS) foram cultivados em meio BDA a 25°C . Após crescimento, cinco discos de micélio de cada isolado foram transferidos para 250 mL de meio líquido, incubados por 7 dias a 25°C e 125 rpm. O conteúdo foi filtrado, separando a parte sólida (estruturas fúngicas) da líquida (metabólitos). A parte sólida foi macerada com álcool etílico (5 mL/g), reidratada com água (5 mL/g) e centrifugada (5000 rpm, 10 min), obtendo-se o extrato bruto fúngico (EBF). A fração líquida foi denominada extrato bruto do meio de cultivo (EBMC).

Inibição do crescimento micelial e esporulação: Os extratos fúngicos (EBF e EBMC) dos isolados (L1-UEFS, L2-UEFS e Trc-UEFS) foram incorporados ao meio BDA na concentração de 5%. Os controles consistiram em BDA sem extratos e BDA + 5% de meio líquido (extrato de levedura). Após solidificação do meio, discos de micélio de *Diplodia maydis* foram adicionados ao centro das placas. O experimento foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Após medir o diâmetro das colônias, 5 mL de água destilada foram adicionados às placas, e as colônias foram raspadas com uma alça de Drigalsky esterilizada. A suspensão de esporos foi corada com azul de metileno a 1%.

Avaliações: O diâmetro das colônias foi medido diariamente com um paquímetro até o

controle atingir as bordas da placa de Petri. O Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) foi calculado como $\sum(D - D_a)/N$, onde D é o diâmetro atual, D_a o anterior e N o número de dias. A esporulação foi avaliada adicionando a suspensão de esporos à câmara de Neubauer, com contagem em microscópio óptico.

Análise Estatística: A análise de variância foi realizada no programa SISVAR® 4.0. Variáveis significativas no teste F foram comparadas pelo teste Scott-Knott. Cálculos e gráficos foram feitos no Microsoft Excel®.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

Houve diferença estatística para o Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), a análise do gráfico (Figura 1) permite inferir que o tratamento EBMC L1 foi o que apresentou a maior velocidade de crescimento micelial, obtendo o valor de 2,4, um valor estatisticamente semelhante ao de EBMC L2 que obteve 2,3. O tratamento controle com adição de Meio Líquido (extrato de levedura) obteve um valor intermediário de 2,0, enquanto os demais tratamentos (EBF L1, EBF L2, EBF Tr e EBMC Tr) obtiveram índices menores e muito próximos de 1,4, 1,5, 1,5, 1,6, bem como a Testemunha que obteve o valor de 1,8, considerado assim um valor estatisticamente semelhante aos demais tratamentos com baixos índices.

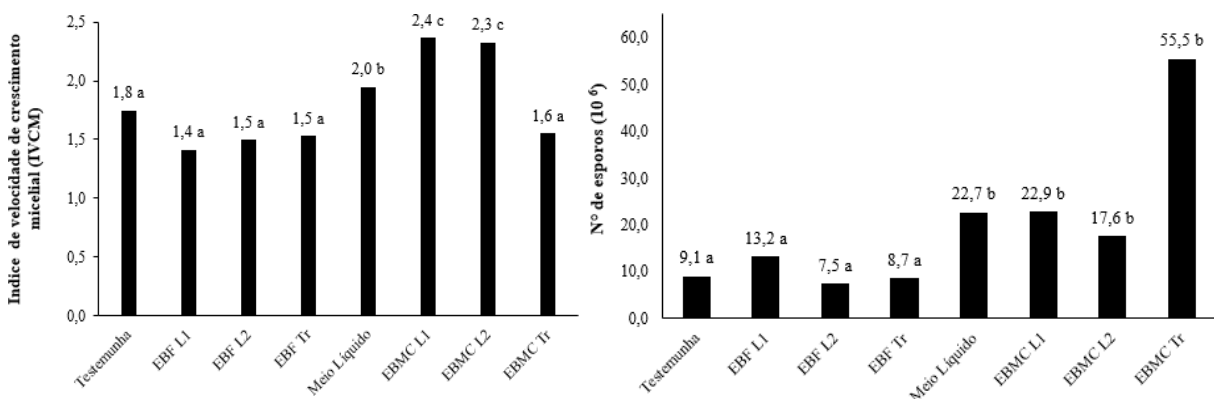


Figura: (A) Índice de velocidade de crescimento micelial do fungo *Diplodia maydis* em meios de cultura com extratos brutos dos fungos endofíticos (EBF) e extrato bruto do meio de cultivo de fungos endofíticos (EBMC). **(B)** Número de esporos por colônia do fungo *Diplodia maydis* produzidos em meios de cultura com extratos brutos dos fungos endofíticos (EBF) e extrato bruto do meio de cultivo de fungos endofíticos (EBMC).

Diante dos resultados obtidos pode-se afirmar que nenhum dos tratamentos com extratos brutos (fúngicos e do meio de cultivo) de fungos endofíticos testados inibiram o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Diplodia maydis*.

Entre os valores encontrados para o número de esporos (Figura 2), verifica-se que o tratamento EBMC Tr teve a maior esporulação, com o valor de 55,5, ademais, apresentou um número estatisticamente semelhante aos tratamentos EBMC L1, EBMC L2 e Meio Líquido, com valores 22,9, 17,6, 22,7, respectivamente. Os tratamentos EBF L1, EBF L2, EBF Tr e a Testemunha obtiveram baixa esporulação.

Diante dos resultados obtidos pode-se afirmar que nenhum dos tratamentos com extratos bruto (fúngicos e do meio de cultivo) de fungos endofíticos testados inibiram a

esporulação do fungo fitopatogênico *Diplodia maydis*.

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que os extratos brutos de fungos endofíticos testados embora não tenham apresentados efeitos inibitórios sobre o patógeno, podem ter apresentado efeito de hormese. O efeito hormese inicialmente foi caracterizado como uso de substâncias tóxicas, em doses baixas que por meio de estresse fisiológico estimula o desenvolvimento vegetal. Embora inicialmente descrito como um efeito ocorrido em vegetais, outros trabalhos já identificaram o efeito hormese em fungos fitopatogênicos, como verificado por VERSARI et.al (2021) descrevendo o efeito hormese na utilização em baixas dosagens de fungicidas no crescimento micelial contra o fitopatôgeno *Corynespora cassiicola* in vitro.

A alta taxa de esporulação do tratamento EBMC Tr sugere que a dose de 5% do extrato pode ter estressado o patógeno de modo que o mesmo tenha intensificado a sua esporulação visando a perpetuação da espécie. Embora o efeito hormese demonstre que em maiores dosagens os extratos brutos fúngicos testado possam apresentar atividades inibitórias desejadas, verifica-se a baixa viabilidade operacional e econômica de prosseguimento de testes com doses elevadas.

CONCLUSÕES

Os extratos brutos de fungos endofíticos isolados em plantas do semiárido não se mostraram eficientes na concentração de 5% na inibição do crescimento micelial e da esporulação do fitopatôgeno *Diplodia maydis*.

REFERÊNCIAS

- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. **In vitro antagonism of Trichoderma species against six fungal plant pathogens.** *Phytopathology, Saint Paul*, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- DOS SANTOS, T. T.; VARAVALLLO, M. A.. **Application endophytic microorganisms in agriculture and production of substances of economic interest.** *Biological and Health Sciences*, v. 32, n. 2, p. 199-212, 2011.
- ESPOSITO-POLESI, N. P.. **Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas.** *Revista Brasileira de Biociências*, v. 9, n. 4, p. 533-533, 2011.
- MAIA, V. R. O.; DE OLIVEIRA, J. A. D. S.; GOLIAS, H. C.; PAMPHILE, J. A.; POLONIO, J. C. **Fungos endofíticos como promotores de resistência a estresse hídrico e salino: o caso do Piriformospora indica.** *Brazilian Applied Science Review*, v. 4, n. 2, p. 621-633, 2020.
- PAZ, I. C. P. **Bactérias endofíticas de eucalípto e potencial uso no controle de doenças e promoção de crescimento de mudas em viveiros florestais.** *Tese (Doutorado) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.* 114p, 2009.
- PEIXOTO-NETO, P.A.S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. **Microrganismos endofíticos.** *Biotechnology Ciência e Desenvolvimento, Brasília*, n.29, p.62-77, 2002.
- PINTO, N.F.J.A. **Podridão Branca da Espiga do Milho,** *Embrapa, Minas Gerais*, p.1-2, 2006.
- VERSARI, L. R.; WRUCK, DSM; LOPES, I. **Eficácia de fungicidas na inibição do crescimento micelial de Corynespora cassiicola in vitro, isolados de plantas de soja e algodão.** 2021.