

ESTUDO DE FUNGOS ISOLADOS DA ÁREA DE MINERAÇÃO PARA CONTROLE DE FUNGOS FITOPATÓGENICOS DE SOJA

LIMA, Maria Aparecida Oliveira de¹; ALBINO, Ulisses Brigatto²; SOUSA, Lanniele Drika Carneiro³; SILVA, Sebastião da Cruz⁴

¹Universidade do Sul e Sudeste do Pará, cydaoliveira_@unifesspa.edu.br ; ² Universidade do Sul e Sudeste do Pará, ulisses.albino@unifesspa.edu.br; ³ Universidade do Sul e Sudeste do Pará, lanniele.drika@unifesspa.edu.br ; ⁴ Universidade do Sul e Sudeste do Pará, simotesilva@unifesspa.edu.br.

Eixo Temático: Indústria, Inovação e Infraestrutura

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a produção agrícola no Brasil vem se modernizando e elevando a produção de algumas culturas, sobretudo de grãos. A soja (*Glycine max* L.) é o principal grão produzido no país, contribuindo significativamente para a economia nacional. No ano de 2020, o Brasil alcançou a posição de maior produtor mundial de soja com 135,4 milhões de toneladas, em uma área de 38,5 milhões de hectares (CONAB, 2021).

No entanto, o agronegócio sofre com as doenças causadas por patógenos do solo que ocorrem em diversos sistemas agrícolas, sendo mais frequentes em espécies de plantas cultivadas. Os patógenos estão presentes em grande parte do ciclo-vital do solo, sendo os mais comuns e estudados o *Fusarium solani* e o *Macrophomina phaseolina*, dentre outros (KHAMARI *et al.*, 2018; NOMILA MERLIN *et al.*, 2013).

Embora a utilização de fungicidas sintéticos seja a principal forma de controle de fungos fitopatogênicos, eles podem ser danosos à saúde humana e ao meio ambiente. Sendo assim, o uso de agentes biológicos é uma forma sustentável de controle natural realizado pelos diversos microrganismos (FANTINEL *et al.*, 2018; MASCARIN *et al.*, 2019).

Os fungos isolados de área de mineração têm sido usados em várias aplicações, com êxito, sendo capazes de crescer em vários substratos orgânicos com rápido crescimento em condições extremas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o potencial antagonístico das espécies fúngicas *Aspergillus* sp. (R₂1B₁) e de um isolado da área de mineração R₂2A₃ como agente de biocontrole dos fitopatógenos de soja *Fusarium solani* e *Macrophomina phaseolina*, bem como o crescimento micelial (% inibição).

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nos laboratórios de ensino, orgânica, microbiologia da Faculdade de Química, do Instituto de Ciências Exatas, da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará.

A princípio foram selecionadas quatro linhagens fúngicas isoladas do rejeito de solo de mineração: R₂3B₃; R₂2A₃; R₂1B₁; R₂3A₃ sendo que estão armazenadas na micoteca do Laboratório

Anais da I Feira de Ciências Naturais da UEPA/IFPA-Rural em Marabá: Ciência e Sustentabilidade

de Microbiologia da Faculdade de Química (UNIFESSPA). Os fungos fitopatógenos de soja *F. solani* e *M. phaseolina* foram concedidos pelo Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto, da UENP (Universidade Estadual do Norte do Paraná).

Para o cultivo das linhagens fúngicas, utilizou-se o meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) conforme a metodologia escrita por @BIOLOG (frasco do fabricante), preparado com 60g de batata inglesa, 6 g de dextrose e 5,1 g de ágar com 300mL de água destilada. Imediatamente, o material foi autoclavado por 15 minutos a 120°C em pressão de 1 atm. Após a esterilização, o meio BDA foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro na capela de fluxo laminar preliminarmente esterilizada com lâmpada UV bacteriológica. Após esse procedimento as placas foram mantidas sob armazenamento por um período 24 horas, na incubadora do tipo B.O.D.

Para o pareamento em placas de Petri foi utilizada a metodologia descrita por Cassiolato *et al.* (1997). No centro das placas de Petri, contendo meio BDA, foram inoculados discos de micélio (5 mm) dos isolados de fitopatógenos e dos isolados da área de mineração, com o objetivo de obter matrizes. Após sete dias, os isolados foram repicados em uma placa de Petri em extremidades opostas (1,5 cm de diâmetro da borda da placa) formando uma combinação de dois isolados de fungos fitopatogênicos com dois isolados da área de mineração, durante os sete dias de incubação, sendo acompanhados diariamente com registros de fotografias.

Afim de avaliar o efeito de substâncias voláteis no controle de fitopatógenos de soja, utilizou o método de placas sobrepostas, conforme Baker (1999). Discos de micélio (5 mm de diâmetro) de cada um dos fitopatógenos foram repicados no centro da placa de Petri de 9 cm contendo meio de cultura BDA em paralelo, discos de micélios das linhagens fúngicas de rejeitos de mineração *Aspergillus* e R22A3 posteriormente as placas foram abertas em condições estéril, em seguidas as placas contendo os fitopatógenos e isolados de mineração foram sobrepostos e vedados com papel filme PVC.

A avaliação do potencial antagonista dos fungos de mineração em relação ao fitopatógenos de soja foi realizada 24 horas após a inoculação dos micélios, utilizando uma lâmina quadriculada de área conhecida (grid). O grid foi criado a partir de uma adaptação da câmara de Neubauer. A lâmina tem 10 cm x10 cm de acrílica, cada quadrado tem 5 mm de lado, logo a área é 25 mm², a cada quatro quadrados se tem 1 cm² de área. Sendo assim, a área de um quadrado de 1cm² é calculada através da fórmula: % inibição = [(confrontamento)/controle] x 100, % inibição: = [(crCvoláteis) /crcontrole] x 100, onde: crCvoláteis = crescimento radial compostos voláteis; crcontrole = crescimento radial controle.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as análises, verificou-se que os isolados de *Aspergillus* inibiram cerca de 71,3% do *M. phaseolina*, enquanto o R22A3 apresentou de 76,11%. No entretanto, para o *F. solani* o *Aspergillus* e R22A3 inibiram 67,8%. De acordo com Lana *et al.* (2016) a inibição do crescimento micelial acima

Anais da I Feira de Ciências Naturais da UEPA/IFPA-Rural em Marabá: Ciência e Sustentabilidade

de 50% demonstra seu potencial como agente de biocontrole. Em função desse resultado, os microrganismos foram selecionados para cultivo líquido e obtenção de extratos.

Segundo Chargas Junior *et al.* (2018) verificou-se que após as medições os isolados *Aspergillus* (R₂1B₁) inibiram cerca 72,64% *F. solani*, enquanto R₂2A₃ apresentou 72,2% do *F. solani*. Dessa forma, assim como phaseolina o *Aspergillus* e R₂2A₃ produzem compostos voláteis, mas somente o *F. solani* é sensível a exposição deles. Isso poderá ocorrer dependendo da atividade de defesa desempenhada pelos inibidores e estrutura física e química das isolados.

CONCLUSÕES

No teste de pareamento de culturas *in vitro*, os fungos fitopatógenos *F. solani* e *M. phaseolina*, frente aos isolados *Aspergillus* e R₂2A₃ mostraram mecanismos capazes de inibir o crescimento micelial dos mesmos. Os isolados *Aspergillus* e R₂2A₃ inibiram, respectivamente 71,3 % e 76,11% do *M. phaseolina*. Já para o *F. solani* o percentual de inibição foi de 67,8% micelial. Para o teste de metabólitos voláteis, os isolados *Aspergillus* e R₂2A₃ apresentaram maior inibição para o fungo *F. solani* de 72,64% e 72,2%, entretanto para o *M. phaseolina* não apresentaram sensibilidade aos compostos voláteis visto que ambos produzem compostos voláteis. Dessa forma, os resultados encontrados neste estudo estimulam, além da realização dos testes laboratoriais, mais estudos desses isolados, a fim de verificar sua eficácia no controle *in vivo* de doenças em plantas.

REFERÊNCIAS

- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Handbook of Biological Control**. San Francisco. Elsevier, p. 778-782. 1999.
- CHAGAS JUNIOR, A. F. *et al.* Ação de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas-TO, v. 4, n. 2, 2018
- CONAB – COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras>.
- CASSIOLATO, A. M. R. *et al.* Ação de mutantes de *Trichoderma harzianum* na formação, germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* e sobrevivência de plantas de alface. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 34-38, 1997.
- FANTINEL, V. S. *et al.* Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Revista Ciência Agrícola**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 43, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.28998/rca.v16i3.4818>.
- KHAMARI, B. *et al.* Adaptability of *Macrophomina phaseolina*, the incident of stem and root rot disease of sesame to different regime of temperature, pH and light period. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. 761–766, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.712.094>.
- LANA, M.C.; FEY, R.; FRANDOLOSO, J.F.; RICHART, A.; FONTANIVA, S. **Análise química de solo e tecido vegetal: práticas de laboratório**. 2da ed. UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, 2016. 153p.

Anais da I Feira de Ciências Naturais da UEPA/IFPA-Rural em Marabá: Ciência e Sustentabilidade

NOMILA MERLIN, J. et al. Optimization of growth and bioactive metabolite production: *Fusarium solani*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 98–103, 2013.

VIEIRA, B. S. et al. Potencial antagonístico de *Bacillus subtilis* (BSV-05) contra os patógenos radiculares do feijoeiro: *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*. **Ciência Agrícola**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 59–66, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.28998/rca.v14i1.2333>