



**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

## **XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2020**

### **Indução de fitoalexinas por isolados de *Bacillus* spp e *Trichoderma* spp.**

**Nathanael Serra Souza<sup>1</sup>; Leandro Alvarenga Santos<sup>2</sup>**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Agronomia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

[nathanaelserrasouza@hotmail.com](mailto:nathanaelserrasouza@hotmail.com)

2. Orientador, Departamento DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

[leandro.alvarenga.s@hotmail.com](mailto:leandro.alvarenga.s@hotmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** Gliceolina; Controle biológico; Indução de resistência.

### **INTRODUÇÃO**

(a introdução aqui tá a mesma do plano de trabalho)

As fitoalexinas (phyton = planta; alexin = composto repelente) foram descobertas inicialmente no século IX, entretanto estudos sobre caracterização, sua síntese e respostas de defesa em plantas resistentes e suscetíveis a patógenos só começaram a serem publicados no século XX (VIVANCO et al., 2005).

As fitoalexinas são metabólitos secundários sintetizadas pelas plantas, sendo caracterizadas como moléculas de baixa massa molecular e com atividade antimicrobiana, podem acumular-se dentro das células vivas, temporariamente, próximo ou no local dos sítios de infecção, como resposta de defesa das plantas a exposição de patógenos (BRAGA, 2008).

As fitoalexinas são um dos principais mecanismos de defesa das plantas, pois está relacionada com a prevenção de organismos invasores. Várias são as fitoalexinas que foram isoladas como, pisatina em ervilha, gliceolina em soja, faseolina em feijão, flavonóides de arroz, as deoxiantocianidinas em sorgo e milho (JEANDET, 2015). A indução da síntese de fitoalexinas pode ocorrer por ação de agentes bióticos ou abióticos, em que moléculas, denominadas de eliciadores, são capazes de ativar esse mecanismo de resistência (BONALDO et al., 2004). Segundo Pascholati (2011), o principal modo de ação das fitoalexinas está atrelado as alterações na membrana plasmática do patógeno que resulta em perda de eletrólitos, morte celular, perda da integridade estrutural e funcional da membrana.

Dentre os agentes bióticos descritos como produtores de substâncias elicitadoras de fitoalexinas estão fungos do gênero *Trichoderma* (BENÍTEZ et al., 2004) e bactérias do

gênero *Bacillus* (SANGIOGO et al., 2018). O presente projeto objetiva a verificação do potencial de utilização de isolados fúngicos e bacterianos de microrganismos para indução de fitoalexinas em soja.

## **MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA**

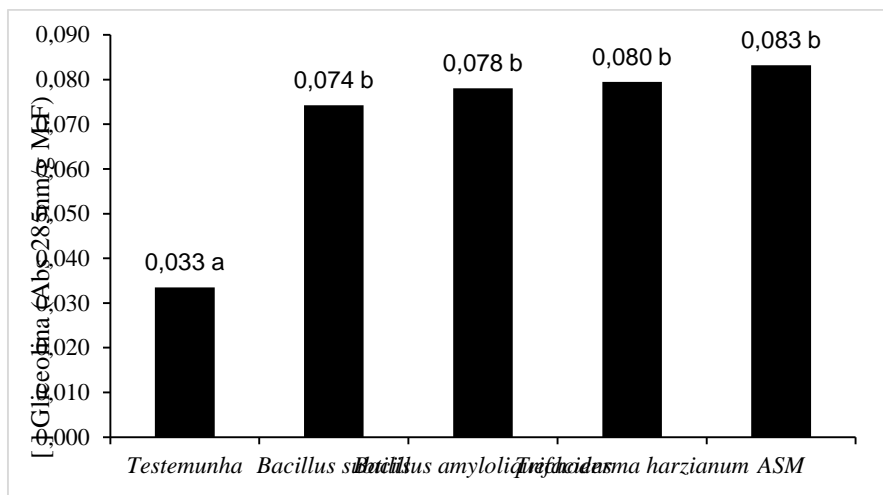
Os isolados de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. foram provenientes dos produtos: Serenade® (*Bacillus subtilis* linhagem QST 713, dosagem de 4 ml p.c /L); Duravel® (*Bacillus amyloliquefaciens* MBI600, dosagem de 4 ml p.c /L); Ecotrich® (*Trichoderma harzianum*, dosagem de 0,5 g p.c /L) e como testemunha positiva utilizou-se o Bion® (Acibenzolar-S-Metílico, dosagem de 0,1 g p.c /L).

Para determinação da fitoalexina da soja (gliceolina), sementes de soja foram semeadas em areia esterilizada e mantidas em casa de-vegetação em bandejas de isopor de 128 células. Dez dias após a semeadura, os cotilédones foram destacados das plântulas, lavados em água destilada, enxugados e cortados em secção aproximada de 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro a partir da superfície inferior. Posteriormente, os cotilédones cortados foram colocados em placa de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada estéril.

Após aplicou-se sobre cada cotilédone uma alíquota de 75µL de cada tratamento (suspensão de esporos ou células bacterianas de isolados de CCMB a serem definidos). As placas de Petri foram mantidas no escuro a 25° C. Após 20 horas, os cotilédones foram transferidos para erlenmeyers de 125 mL contendo 15 mL de água destilada esterilizada e deixados em agitação por 1 h para extração da fitoalexina formada (Bonaldo et al., 2004). A absorbância foi determinada a 285nm em espectrofotômetro (Ayers et al., 1976). Os dados coletados foram submetidos a teste de normalidade, análise de variância e posterior teste de comparação de médias Scott Knott, utilizando o programa estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2014)

## **RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO**

Entre os isolados avaliados todos induziram a produção de fitoalexina gliceolina em tecido de cotilédones da soja. As médias dos isolados de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum*, não apresentaram diferença significativa das médias do produto registrado como indutor de resistência Acibenzolar-S-Metílico, os mesmos diferiram significativamente da testemunha absoluta (Figura 1).



**Figura 1. Indução de gliceolina extraído de cotilédones de soja por isolados microbianos e indutor de resistência comercial Acibenzolar-S-Metílico.**

As fitoalexinas são metabólitos secundários, com características antimicrobiana, de baixo peso molecular que as plantas utilizam como resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos, onde tem a capacidade de impedir ou reduzir a atividade de fitopatógenos. O mecanismo de ação das fitoalexinas sobre fungos, de forma mais ampla, inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos afetam a germinação e alongação do tubo germinativo e redução ou inibição do crescimento micelial. No caso da soja, a fitoalexina gliceolina mostra-se importante na interação dessa leguminosa com fitopatógenos. (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000). A indução da síntese de fitoalexinas pode ocorrer por ação de agentes bióticos ou abióticos (BONALDO et al., 2004), como observado nos resultados obtidos no qual os agente biológicos testado induziram a síntese de gliceolina.

Diversos trabalhos comprovam a efetividade de agentes bióticos na indução de fitoalexinas. Segundo Arruda et al. (2012), extratos aquosos fúngicos foram capazes de induzir a produção de fitoalexinas na soja, como por exemplo, *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* e *Pycnoporus sanguineus*, onde observou-se que o aumento de fitoalexinas se deu por consequência do maior aumento da concentração dos extratos aquosos fúngicos. De maneira semelhante, Stangarlin (2010) evidenciou o potencial na indução de fitoalexinas por parte da levedura *Saccharomyces boulardii*, obtendo valores de absorvância semelhantes aos encontrados no trabalho de Arruda et al. (2012) e no presente trabalho.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

A partir dos resultados obtidos evidencia-se que todos microrganismos testados: *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum*, possuem potencial de indução na produção de fitoalexinas da soja.

## REFERÊNCIAS

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A.C. Biocontrol, mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, Madrid, v.7, n.4, p.249-260, 2004.

BONALDO, S. M., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESMANN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus* citriodora. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128-34, 2004.

BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. (Ed.). *Interação Planta Patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular*, FEALQ, Piracicaba, cap.9, p.305-346, 2008.

JEANDET, P. Phytoalexins: current progress and future prospects. *Molecules*, Basel, v.20, n.2, 2770-2774, 2015.

PASCHOLATI, S. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. Agronômica Ceres, São Paulo, 4.ed, v.1, p.593-636, 2011.

SANGIOGO, Maurício et al. Foliar spraying with bacterial biocontrol agents for the control of common bacterial blight of bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 10, p. 1101-1108, 2018.

VIVANCO, J. M.; COSIO, E.; LOYOLA-VARGAS, V. M.; FLORES, H. E. Mecanismos químicos de defesa en las plantas. *Investigación y Ciencia*, Barcelona, v.341, n.2, p.68-75, 2005.