

Isolamento e caracterização de fungos fitopatogênicos a partir de tecidos vegetais

Raissa Alves Dorneles^{*1}, Kaiane de Oliveira Barbosa Pires¹, Liliane Martins de Brito², Emerson Luiz Lapolli², Josy Alvarenga Carvalho Gardin², Ricardo de Araújo²

^{*1}Discente do Ensino Médio Integrado do Curso de Agropecuária do Instituto Federal Catarinense, Campus Videira – Videira/SC. E-mail: henriquerigo1709@gmail.com;

²Docentes do Instituto Federal Catarinense, Campus Videira – Videira/SC.

Resumo: Na agricultura, os fungos assumem importância diversa, como na alimentação humana, no crescimento dos vegetais, na sanidade das plantas e animais ou no combate de pragas agrícolas, como alternativa ao uso de agrotóxicos. Contudo, são os fungos fitopatogênicos responsáveis por doenças que causam grandes perdas agrícolas. O objetivo deste estudo foi analisar as características morfológicas, o crescimento micelial e a esporulação no meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) de diferentes fungos fitopatogênicos isolados de tecidos foliares de videiras e nespereiras, identificando-os utilizando chaves de classificação.

Palavras-chave: fungos, fitopatologia, microrganismos.

Title (Isolation and characterization of phytopathogenic fungi from plant tissues)

Abstract: In agriculture, fungi assume different importance, such as in human food, in the growth of vegetables, in the health of plants and animals or in the fight against agricultural pests, as an alternative to the use of pesticides. However, phytopathogenic fungi are responsible for diseases that cause great agricultural losses. The aim of this study was to analyze the morphological characteristics, mycelial growth and sporulation on potato-dextrose-agar (BDA) culture medium of different phytopathogenic fungi isolated from leaf tissues of grapevines and medlar trees, identifying them using classification keys.

Key words: fungi, phytopathology, microorganisms.

Introdução

Os fungos são organismos heterotróficos unicelulares ou pluricelulares, estes últimos caracterizados pela formação de estruturas filamentosas, as hifas, que constituem o micélio. Na fase reprodutiva, o micélio forma estruturas assexuadas e/ou sexuadas que originam os esporos, principais responsáveis pela propagação das espécies. Vivendo nos mais diversos ambientes, dos trópicos às regiões árticas e antárticas, muitos fungos são tão pequenos que só podem ser observados ao microscópio, enquanto vários outros são capazes de formar estruturas visíveis a olho nu e facilmente reconhecíveis (FORZZA *et al.*, 2010).

Para os autores, os fungos apresentam nutrição heterotrófica, principalmente por absorção; estágio vegetativo sobre o substrato ou no interior dele, com micélio tipicamente não móvel (estádios reprodutivos móveis podem ocorrer); paredes celulares usualmente contendo glucanas e quitina; eucariotos, uni ou multinucleados; ciclo de vida simples ou mais usualmente complexo; reprodução sexual (cariogamia e meiose) e/ou parassexual (cariogamia seguida de aneuploidia) e/ou assexual (divisão nuclear mitótica) podem estar presentes; propágulos formados por esporos microscópicos produzidos em grande número; esporocarpos microscópicos ou macroscópicos e com formas características constituídos por pseudotecidos; muito frequentes em ambientes terrestres ou de água doce e menos frequentes em ambientes marinhos; saprofitos, simbioses ou parasitas; cosmopolitas (AZEVEDO, 2010).

No entanto, os microrganismos denominados fitopatogênicos, diante de estresses bióticos e abióticos, tornam-se patógenos e causam doenças nas plantas por meio de distúrbios em seu metabolismo celular. Realizar isolamentos de fungos prejudiciais às plantas de videiras presentes nas folhas com manchas foliares, identificando-os utilizando chaves de classificação.

Material e Métodos

Nos estudos, os fungos foram isolados a partir de tecidos foliares de videiras e nespereiras que apresentaram sintomas típicos de doenças fúngicas. As folhas foram desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 2,5 %, enxaguadas com água destilada autoclavada e cortadas em três pedaços de forma triangular, para a triplicata dos experimentos. Após desinfestação, os tecidos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), na câmara de fluxo laminar, e incubados à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), por 12 horas de escuro / 12 horas de claro, na estufa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD).

Sete dias após o isolamento, as colônias foram repicadas em BDA e obtidas as colônias monospóricas. A caracterização morfológica e identificação dos fungos foi realizada com base na cor, tipo da colônia, na observação das hifas, em sua organização formando os micélios, nas estruturas reprodutivas, nos tipos e tamanhos de esporos (conídios, que são esporos assexuados), sendo utilizadas chaves taxonômicas e literaturas especializadas para descrição e identificação das estruturas. Para a avaliação do crescimento micelial e da esporulação foi utilizado o meio de cultivo BDA em lâminas, observáveis em microscópio óptico. Os estudos foram conduzidos no Laboratório de microscopia e química do Instituto Federal Catarinense Campus Videira.

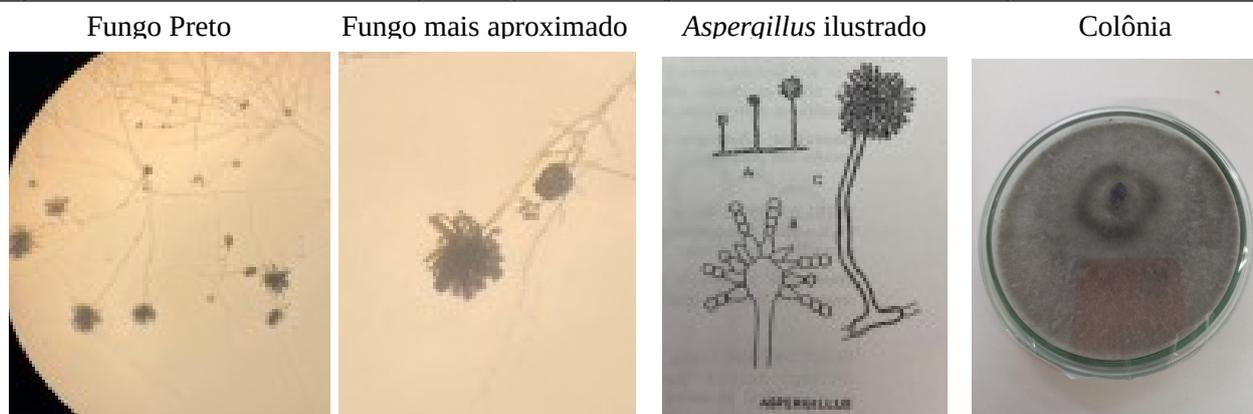
Resultados e Discussão

Após sete dias na incubadora BOD, e do procedimento de isolamento, foi possível observar o crescimento micelial de fungos e colônias de bactérias oriundos dos tecidos foliares com manchas necróticas. Em algumas situações, também foi possível observar focos de contaminação, ocorridos durante o manuseio do material e visíveis após a incubação. Com a repicagem e a separação dos microrganismos, através da obtenção de culturas monospóricas, foram obtidas oito colônias diferentes de fungos. Apesar das bactérias não serem relatadas neste estudo, foi observado que determinadas bactérias tornavam o crescimento fúngico limitado, indicando uma possível linha de estudo sobre antibiose.

Estas colônias apresentaram caracterizações diferentes, com coloração variando do branco, amarelo, rosa, cinza claro até cores mais escuras como marrom e preto. A textura e o crescimento também foram diferentes, com crescimento de 0,9 cm, para o fungo com colônia marrom escura, até 8 cm de diâmetro, para o fungo com colônia cinza escura/preta, após sete dias na incubadora BOD.

Após sete dias, a colônia do fungo cinza apresentou crescimento de 7,3 cm de diâmetro, com forma circular, aspecto algodinoso do micélio e, no verso, coloração rosa no centro e mais escura nas bordas. Já a colônia de aspecto branco, apresentou crescimento menor, de 2 cm de diâmetro, com forma circular, aspecto pulverulento e verso amarelo creme. A colônia do fungo amarelo teve um crescimento de 4,2 cm de diâmetro, no mesmo período, com aspecto aveludado do micélio e verso alaranjado. Outras colônias foram observadas e analisadas, porém não se encontram aqui descritas.

Figura 1. Análise das estruturas fúngicas vegetativas e reprodutivas da colônia do fungo cinza.



Das colônias obtidas, foram realizadas lâminas para posterior observação das estruturas fúngicas, desde as hifas às estruturas reprodutivas, com esporos. Com a análise das estruturas no microscópio, constatou-se que apenas o fungo com colônia de coloração acinzentada chegou a esporular no período estudado, os demais precisariam mais tempo ou condições diferentes para a esporulação. O fungo que produziu esporos, apresentou hifas septadas, com conidióforos eretos, simples, tem fiálides no ápice, fialósporos globosos unicelulares. Nela foi possível identificar que o fungo que mais se encaixava foi o *Aspergillus* sp., através da comparação com o livro *Illustrated genera of imperfect fungi* de Barnett e Hunter (1972) (Figura 1).

Conclusão

Utilizando a técnica de desinfestação e isolamento de microrganismos a partir de tecidos vegetais foi possível obter fungos e bactérias endofíticas. O crescimento e as características das colônias dos fungos isolados foram diferentes entre si, porém apenas o fungo com colônia de coloração acinzentada chegou a esporular no período estudado, os demais possivelmente precisariam mais tempo ou condições diferentes para a esporulação. Apesar das bactérias não serem relatadas neste estudo, foi possível observar atividade de antibiose entre os microrganismos.

Referências bibliográficas

AZEVEDO, J.L. **Fungos** - Uma Introdução À Biologia, Bioquímica e Biotecnologia. Editora: EDUCS, 2ª Edição, 2010.

BARNETT, H. L.; B. B. HUNTER. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Fourth Edition, Illustrated, 1998. 240 p.

FORZZA, R. C. (org.). *et al.* **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**, volume 2 / [organização Rafaela Campostrini Forzza... et al.]. - Rio de Janeiro : Andrea Jakobsson Estúdio : Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

2.v. : il.