

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA
AGR99006 - DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Gian Carlos Gonçalves
00303039**

*“Isolamento de microrganismos endofíticos de sementes e grãos de trigo para o controle biológico de *Fusarium graminearum* na Embrapa Trigo em Passo Fundo - RS”*

PORTO ALEGRE, julho de 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA

Isolamento de microrganismos endofíticos de sementes e grãos de trigo para o controle biológico de *Fusarium graminearum* na Embrapa Trigo em Passo Fundo - RS

Gian Carlos Gonçalves
00303039

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Engenheiro Agrônomo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisor de campo do Estágio: Dr. Anderson Ferreira

Orientador Acadêmico do Estágio: Prof^ª. Dr^ª. Amanda Posselt Martins

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Prof^ª. Renata Pereira da Cruz - Depto. de Plantas de Lavoura (Coordenadora)

Prof. Aldo Merotto - Depto. de Plantas de Lavoura

Prof. Alexandre de Mello Kessler - Depto. de Zootecnia

Prof. Clesio Gianello - Depto. de Solos

Prof. José Antônio Martinelli - Depto. de Fitossanidade

Prof. Pedro Selbach - Depto. de Solos

Prof. Roberto Luis Weiler - Depto. de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia

Prof. Sérgio Luiz Valente Tomasini - Depto. de Horticultura e Silvicultura

PORTO ALEGRE, julho de 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por me possibilitar chegar até aqui.

Agradeço aos meus pais, Nilson e Elza, por toda ajuda durante a trajetória da graduação, seja ela emocional ou financeira, e por sempre acreditarem em mim e me apoiarem em todas as decisões tomadas. Da mesma forma, agradeço aos meus irmãos, Giovane, Evandro e Edeimar, minhas cunhadas, sobrinhos e amigos, pelo carinho e apoio.

Agradeço aos amigos que fiz durante a graduação, principalmente a Aline, Bruna, Evelyn, Felipe, Isadora e Jerusa, por toda a ajuda e pelos momentos de felicidades compartilhados, sem vocês a caminhada teria sido muito mais árdua.

Agradeço ao Professor Claudimar e ao Professor Getulio, que me orientaram durante as bolsas de iniciação científicas e monitorias.

Agradeço ao Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa Agrônômica (CEAGRO/DDPA/SEAPI), por toda experiência obtida, principalmente à minha orientadora, a pesquisadora Dr^a. Raquel Paz da Silva.

Agradeço à Embrapa Trigo de Passo Fundo-RS pela oportunidade de realizar meu estágio. Agradeço ao meu orientador Dr. Anderson Ferreira por me aceitar como estagiário e conferir a mim o trabalho executado. Agradeço ao pessoal que conheci, principalmente aos colegas do Laboratório de Fitopatologia, em especial a Claudia e o Volmar por me ajudarem na realização das atividades e pelos momentos de alegrias. Sem vocês, não teria conseguido.

Agradeço à Professora Amanda por aceitar o desafio de me orientar no estágio e na elaboração do TCC. Obrigado por me ajudar nos desafios encontrados pelo caminho, por nunca desistir e sempre me orientar da melhor forma possível.

Agradeço à UFRGS, em especial à Faculdade de Agronomia, pela oportunidade de realizar o curso nesta instituição. Tenho e terei sempre orgulho de dizer que estudei em uma universidade pública e de qualidade.

Enfim, agradeço a todos que de uma forma ou de outra me ajudaram nesta caminhada difícil, porém muito gratificante. Sinto-me orgulhoso por chegar até aqui e pela pessoa que me tornei. Obrigado pelas oportunidades e pelo conhecimento obtido. Gratidão pelas experiências vividas.

RESUMO

O estágio foi realizado nas dependências da Embrapa Trigo, em Passo Fundo - RS, durante o período de 13 de junho a 21 de outubro de 2022. O principal objetivo foi atuar na busca por microrganismos endofíticos de grãos e sementes de trigo para controle biológico de *Fusarium graminearum*, agente etiológico de giberela, além de vivenciar a rotina de um centro de pesquisa e acompanhar outras atividades realizadas. Durante o tempo de estágio, foram desenvolvidos experimentos que objetivavam a busca por conhecimento da ecologia microbiana de trigo, bem como adequações para a metodologia utilizada. Ao final, foram obtidos resultados promissores no controle da giberela, sendo necessário a continuação dos estudos, além da agregação de conhecimentos e experiências laboratoriais próprias.

Palavras-chave: controle biológico, *Gibberella zeae*, ecologia microbiana.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Mapa da localização da região de Passo Fundo-RS.....	8
Figura 2 – Processo de assepsia e disposição em caixas Gerbox. A) Recipientes contendo etanol 70%, hipoclorito de sódio 2%, álcool 70% e água destilada e autoclavada. B) Enxague em água destilada e autoclavada. C) Disposição das sementes nas caixas Gerbox. D) 5 sementes dispostas.....	14
Figura 3 – Processo de trituração das sementes de trigo e espalhamento do material em placa de Petri. A) Almofariz e pistilo utilizados para triturar. B) Alça de Drigalski para espalhar o material.....	15
Figura 4 – Estádios fenológicos de grãos de trigo, de acordo com a escala de Zadoks. A) Escala 7. B) Escala 8. C) Escala 9.....	17
Figura 5 – Preparo do material para isolamento de microrganismos de grãos de trigo. A) Coleta de grãos em espigas de trigo. B) Trituração do material. C) Almofariz e pistilo usados para trituração. D) Pipetagem da solução em placas de Petri.....	18
Figura 6 – Preparo dos bioensaios. A) Disposição do isolado bacteriano na extremidade da placa. B) Colocação de um fragmento de <i>F. graminearum</i> na outra extremidade. C) Crescimento do isolado de fungo após 48 horas. D) Crescimento bacteriano após 48 horas.....	19
Figura 7 – Etapas da instalação do experimento. A) Aplicação de fungicida em folhas. B) Pincel utilizado para aplicar a solução de fungicida. C) Inoculação de <i>P. grisea</i> em folhas. D) Inoculação de <i>P. griseae</i> em espigas.....	20
Figura 8 – Experimentos de resistência em soja. A) Introdução do macerado de micélio de <i>P. sojae</i> na haste de soja. B) Palitos introduzidos na haste das plantas. C) Colocação da camada de micélio no substrato. D) Sementes de linhagem de soja para cultivo.....	21
Figura 9 – Comparação de resultados do teste de assepsia. A) Placas de Petri com meio de cultura NA com fungicida, com assepsia. B) Placas de Petri com meio de cultura NA com fungicida, sem assepsia. C) Placas de Petri com meio de cultura BDA com bactericida, com assepsia. D) Placas de Petri com meio de cultura BDA com bactericida, sem assepsia.....	23
Figura 10 – Comparação de placas de Petri com isolados bacterianos crescidos em meio de cultivo com e sem benomyl. A) Meio de cultura com benomyl inibiu o crescimento na placa da direita. B) Meio de cultura com benomyl diminuiu o crescimento na placa da direita. C) Meio de cultura sem benomyl promoveu o crescimento na placa da direita.....	23

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	7
2. CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO DE PASSO FUNDO-RS	8
2.1 ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS.....	8
2.2 ASPECTOS EDAFOCLIMÁTICOS	8
3. CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA EMBRAPA TRIGO	9
4. REFERENCIAL TEÓRICO	10
4.1 TRIGO.....	10
4.2 GIBERELA DO TRIGO	10
4.3 MANEJO VISANDO AO CONTROLE	12
5. ATIVIDADES REALIZADAS	13
5.1 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE SEMENTES DE TRIGO	13
5.2 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE GRÃOS DE TRIGO - TESTE DE ASSEPSIA.....	15
5.3 TESTE DE MEIO DE CULTURA NUTRIENTE-ÁGAR, COM E SEM BENOMYL....	16
5.4 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE GRÃO DE TRIGO.....	16
5.5 ARMAZENAMENTO DOS ISOLADOS DE BACTÉRIAS E FUNGOS	18
5.6 BIOENSAIOS COM OS ISOLADOS ENDOFÍTICOS.....	19
5.7 OUTRAS ATIVIDADES	19
5.7.1 Laboratório de Solos	19
5.7.2 Laboratório de Biotecnologia.....	20
5.7.3 Experimentos com Brusone.....	20
5.7.4 Verificação da viabilidade do bioinsumo <i>Trichoderma</i> sp. produzido <i>on farm</i>	20
5.7.5 Experimentos de resistência de <i>Phytophthora sojae</i> em soja	21
5.7.6 Atividades rotineiras de laboratório	21
5.7.7 Participação em eventos.....	21
6. DISCUSSÃO	22
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
REFERÊNCIAS	26
APÊNDICE 1	32
APÊNDICE 2	33

1. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de trigo na safra 2021/2022 foi de 7,7 milhões de toneladas, aproximadamente, sendo o consumo interno no ano de 2022 na ordem de 12,3 milhões de toneladas (CONAB, 2022a). O Rio Grande do Sul (RS) produziu cerca de 45% desse montante, se destacando no mercado nacional, que continua a crescer devido ao melhoramento genético, possibilitando o cultivo em várias regiões (IBGE, 2021b).

Porém, devido às condições meteorológicas, muitas doenças acometem a produção de trigo, causando prejuízos econômicos significativos, como é o caso da giberela. O controle desta doença ainda é um desafio para a cultura do trigo, pois não se tem cultivares resistentes e a aplicação de fungicidas é ineficiente por conta da dificuldade de atingir diretamente o agente etiológico (FERNANDES; TIBOLA, 2011; SANTANA *et al.*, 2014; MACHADO, 2016; SANTANA *et al.*, 2020). Por essa razão, a busca por novos métodos de controle é necessária. Nesse sentido, o conhecimento da ecologia microbiana endofítica é fundamental para o entendimento dos microrganismos presentes e sua importância, através da identificação e caracterização como organismos benéficos, fitopatógenos e/ou agentes controladores (AZEVEDO *et al.*, 2000).

Assim, o desafio para encontrar um novo controle para a giberela em trigo foi o tema do estágio, realizado na Embrapa Trigo, em Passo Fundo - RS, entre 13 de junho e 21 de outubro de 2022, totalizando 540 horas. A unidade está localizada na região norte do RS, a qual se destaca pela produção de trigo, sendo fundamental para a pesquisa agropecuária do país. A importância da pesquisa para uma agricultura mais sustentável, aliada à motivação de fazer pesquisa, foram os tópicos decisivos para a escolha do estágio, contando com a experiência prévia em bolsas de iniciação científica em laboratórios.

Dessa forma, os objetivos principais do estágio foram: 1) atuar na busca por microrganismos endofíticos de grãos, em diferentes estádios de maturação, e sementes de trigo; e 2) fazer a purificação e armazenagem, além de acompanhamento de experimentos de biocontrole dos microrganismos contra *Fusarium graminearum*, agente etiológico da giberela. Somando-se a isso, também houve o acompanhamento da instituição de pesquisa e o auxílio em outras atividades.

2. CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO DE PASSO FUNDO-RS

2.1 ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS

Localizado no norte do RS, na mesorregião Noroeste Rio-grandense, Passo Fundo é o município de referência para a região (Figura 1), com uma população estimada de 206 mil habitantes, aproximadamente, e com área total de 784 km² (IBGE, 2021a). Conforme a Associação Comercial, Industrial, de Serviços e Agronegócio de Passo Fundo (ACISA, [2019]), a base econômica do município se relaciona aos setores de agropecuária, comércio e serviços, destacando-se como polo de referência para educação e saúde. A renda per capita é na ordem de 49 mil reais (IBGE, 2021a). Em 2018, a área plantada foi de, aproximadamente, 47 mil hectares, sendo 86% da área cultivada com soja, e destaque para pecuária com a criação de 12 mil cabeças de gado (SEBRAE, 2019).

Figura 1 - Mapa da localização da região de Passo Fundo-RS.



Fonte: ABREU (2006).

2.2 ASPECTOS EDAFOCLIMÁTICOS

De acordo com a classificação de Köppen, o município se enquadra no clima subtropical úmido (Cfa), com verões quentes e chuvas distribuídas durante o ano. Quanto ao relevo, Passo Fundo possui, de modo geral, colinas suaves e arredondadas (“coxilhas”), esculpidas em rochas vulcânicas básicas da Formação Serra Geral (PASSO FUNDO, 2009). A vegetação predominante é aquela pertencente à Floresta Ombrófila Mista, mais conhecida como mata de araucária, com áreas que se misturam a savanas. Segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SiBCS), a maioria dos solos da região são classificados como Latossolo Vermelho, caracterizados como solos profundos, bem drenados, porosos e de coloração avermelhada. São

solos naturalmente ácidos, que com as práticas de calagem e adubação apresentam alto potencial para produção agropecuária (EMBRAPA, 2018).

3. CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA EMBRAPA TRIGO

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) foi criada em 1973, pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com o intuito de desenvolver tecnologias para a agricultura e a pecuária nacional. Através dos princípios de excelência na pesquisa, eficiência e qualidade da produção, sustentabilidade ambiental, aspectos sociais e parcerias, a Embrapa busca garantir a segurança alimentar e melhorias no mercado de alimentos, fibras e energia (EMBRAPA, [2017a]).

Dentre as 47 unidades descentralizadas, a Embrapa Trigo foi criada em 1974, em Passo Fundo-RS, por ser um centro de grande relevância na região de produção do trigo. A unidade é responsável pela geração, adaptação e difusão de tecnologias mediante trabalhos de pesquisa na área tritícola. Busca inovações para o aumento da rentabilidade de modo sustentável e preservando os recursos naturais e a biodiversidade. Os projetos de pesquisa estão divididos em três núcleos: Núcleo de Melhoramento e Biotecnologia, Núcleo de Manejo e Nutrição de Plantas e Núcleo de Proteção de Plantas.

A Embrapa Trigo possui uma infraestrutura composta por quinze casas de vegetação, quatro blocos de telados, além de dez laboratórios de diversas áreas e um Banco Ativo de Germoplasma (BAG), que contém materiais genéticos de trigo, cevada, aveia, triticales e centeio. Além disso, possui dois campos experimentais: um junto à sede em Passo Fundo-RS e outro na cidade de Coxilha-RS, contando também com o Núcleo Avançado de Pesquisa e Transferência de Tecnologia para Trigo Tropical, em Uberaba-MG (EMBRAPA, [2017b]).

O Laboratório de Fitopatologia conta com quatro pesquisadores diretos, duas analistas, um auxiliar de laboratório, um técnico agrícola e um assistente de campo, além de uma equipe geral de suporte para as casas de vegetação e campo. Composto o grupo, o laboratório contava com dois estagiários, uma bolsista de iniciação científica e dois alunos de pós-graduação.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) pertence à família Poaceae, originária de cruzamentos de espécies silvestres, endêmica da região próxima aos rios Tigre e Eufrates, na Ásia, entre 10 e 15 mil anos a.C. Chegou no Brasil em 1534, na capitania de São Vicente. Porém, o clima quente dificultou o seu desenvolvimento, voltando a ser cultivado no século XVIII no Rio Grande do Sul, seguido por uma dizimação dos trigais no século seguinte. Contudo, no início do século XX, o trigo voltou a se expandir pelo RS, juntamente com áreas do Paraná (PR), onde se concentram as maiores produções atualmente (SCHEEREN; CASTRO; CAIERÃO, 2015; ABITRIGO, 2019; CONAB, 2017).

Na safra 2020/2021, a produção mundial de trigo foi de 774,55 milhões de toneladas, com as maiores produções localizadas na União Europeia, seguida por China, Índia, Rússia, Estados Unidos e Ucrânia (USDA, 2022). O Brasil fica na posição de décimo sexto maior produtor, com uma produção estimada para a safra 2022/2023 acima de 9,5 milhões de toneladas, porém ainda necessitando de importação para suprir a demanda interna (CONAB, 2022b).

A produção de trigo na região sul do Brasil corresponde a mais de 90% da produção nacional (CONAB, 2022a). No entanto, há uma tendência significativa de expansão das áreas de cultivo para as demais regiões do país. Por conta de questões históricas de implantação e condições climáticas, a expressividade do trigo pode ser justificada nos estados do RS e do PR (SOUZA; VIEIRA FILHO, 2020). São mais de 2,7 milhões de hectares de área plantada desta cultura, chegando a uma produtividade média de 3.320 kg/ha no estado (CONAB, 2022b).

4.2 GIBERELA DO TRIGO

Devido às condições ambientais, o trigo na região sul pode ser afetado por diversas doenças, que vão acarretar perdas econômicas. Doenças causadas por vírus, bactérias e principalmente por fungos são destacadas para esta cultura. Para doenças viróticas, pode-se citar o nanismo-amarelo (*Barley yellow dwarf virus*) e o mosaico-comum (*Wheat stripe mosaic virus*); enquanto para as bacterioses, a estria-bacteriana (*Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*) e a queima da folha (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) são as mais comuns. As doenças fúngicas são os principais problemas fitopatológicos para a cultura, se destacando diversas, como o mal do pé (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*), oídio (*Blumeria graminis*

f. sp. *tritici*), ferrugem da folha (*Puccinia triticina*), mancha-amarela (*Drechslera tritici-repentis*), mancha-marrom (*Bipolaris sorokiniana*), brusone (*Pyricularia oryzae*) e giberela (*Fusarium graminearum*) (LAU *et al.*, 2020).

As enfermidades causadas por fungos podem ser encontradas desde o início do desenvolvimento até o espigamento, devido às condições climáticas e predisposição do hospedeiro. As condições favoráveis para as diversas doenças fúngicas são distintas, logo, devido à amplitude da meteorologia do sul, pelo menos uma das doenças é detectada na safra. Precipitações, temperatura e umidade, ao longo das suas variações, são condições para que os patógenos se desenvolvam nas lavouras de trigo, causando perdas de produtividade e qualidade. Os danos são variáveis, devido às condições do ambiente e eficiência da medida de controle empregada (PICININI; FERNANDES, 1995; LAU *et al.*, 2020).

A giberela é a principal doença fúngica que ocorre nos trigais do sul do país, de acordo com Lima (2020), afetando as espigas e os grãos de trigo. É causada pelo fungo *Gibberella zae* (Schw.) Petch. Na forma assexuada seu anamorfo é *Fusarium graminearum* Schw. Períodos de chuvas prolongados, com mais de 48 horas ininterruptas, e temperaturas entre 20 e 25 °C, são condições ideais para o desenvolvimento da doença na lavoura. Em épocas mais secas, como em anos de *La Niña*, a giberela não é problema para áreas tritícolas do sul; porém, em anos de *El Niño*, a temperatura e a pluviosidade acima da média favorecem a ocorrência. Esta doença ataca a planta a partir da espiga. Logo, períodos de primavera com chuvas e temperaturas mais elevadas, coincidem com a presença de giberela no espigamento do trigo (LIMA, 2004; LIMA, 2020).

Na espiga, os sintomas de giberela são de fácil identificação, pois são pontos localizados em uma ou mais espiguetas, que podem progredir para o restante da espiga (PICININI; FERNANDES, 1995). As espiguetas apresentam cor esbranquiçada ou cor de palha, além do desvio da direção normal das aristas. Os grãos atacados são chochos, enrugados, de coloração branco-rosada a pardo-clara. Sinais como coloração salmão em espiguetas verdes, em decorrência da produção de macroconídios de *F. graminearum* ou a formação de pontuações escuras em resíduos vegetais mortos, que são os peritécios de *G. zae*, são característicos de giberela (LIMA, 2004). Ainda, de acordo com Lima (2004), alguns sintomas de brusone (*Pyricularia oryzae* (Cooke) Sacc) são confundíveis com o de giberela, principalmente quando a espiga toda de trigo é afetada, pois para brusone, a partir do ponto de infecção, o restante da espiga fica de coloração esbranquiçada.

Os grãos de trigo afetados por giberela geram reduções na produtividade de grãos, pois estes são eliminados, em grande parte, no momento da colheita junto com a palha. Além da perda de quantidade, a qualidade dos grãos também pode ser afetada, podendo levar à produção de micotoxinas, principalmente do tipo desoxinivalenol, influenciando na qualidade dos derivados do trigo (FERNANDES; TIBOLA, 2011; LAU *et al.*, 2011; LIMA, 2020).

4.3 MANEJO VISANDO AO CONTROLE

As medidas de controle da giberela não são 100% eficazes, além do fato de que não existem cultivares com resistência completa para esta doença (REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2020). A adoção de um conjunto de práticas para o controle se faz necessária para reduzir as perdas pela doença, porém são de pouca eficiência: rotação de culturas e tratamento de sementes são ineficazes, assim como resistência genética, época de semeadura e tratamento com fungicidas (LIMA, 2020).

O controle químico é a alternativa principal para diminuir a doença no campo. No entanto, mesmo com aplicações de fungicidas a giberela é capaz de produzir micotoxinas no trigo, devido à sua presença significativa sobretudo em períodos favoráveis (LIMA, 2020). Fatores como a desuniformidade na emergência de espigas e anteras nas plantas de trigo e na distribuição das gotas da pulverização com fungicida e atraso de aplicação do fungicida por condições meteorológicas desfavoráveis são justificativas para a baixa eficácia do controle químico em campo (DEUNER *et al.*, 2011; SPOLTI; DEL PONTE, 2013). Dentre os ingredientes ativos dos fungicidas, destacam-se trifloxistrobina, proclorazoxolol, carbendazim e bixafen, que apresentam as melhores respostas no controle de giberela (SANTANA *et al.*, 2021; 2022).

O controle biológico pode ser uma opção diante da ineficiência dos demais manejos de controle para as doenças. Dentre os biocontroladores mais utilizados na pesquisa e a campo, destacam-se os fungos dos gêneros *Trichoderma* e *Gliocladium*, e os gêneros de bactérias como *Bacillus* e *Pseudomonas* (ZUCCHI; MELO, 2009; GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000). Na cultura do trigo, já são relatados diversos manejos consolidados de pragas com antagonistas biológicos, enquanto para doenças são poucos relatos (SALVADORI; PEREIRA; VOSS, 2006).

Um antagonista biológico deve apresentar características de biocontrolador, como eficiência em baixas concentrações, genética estável, habilidade em sobreviver em condições

adversas, baixa exigência nutricional, tolerância aos agrotóxicos, compatibilidade com controles físicos e químicos, não ser patogênico ao ser humano, possibilidade de armazenamento, além de outros. Porém, é necessário saber a natureza do patógeno a ser controlado, pois o antagonista poderá se demonstrar controlador *in vitro* e a campo não, devido ao hospedeiro não ser colonizado (ZUCCHI; MELO, 2009; GRIGOLETTI JUNIOR; SANTOS; AUER, 2000; BETTIOL, 1991).

De acordo com o relato de Reis (1989), bactérias do gênero *Pseudomonas*, que foram isoladas da rizosfera natural de trigo, mostraram ser promissoras na supressão de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, causadora do mal-do-pé em trigo. Microrganismos endofíticos podem atuar como controladores de pragas e doenças, assim como beneficiadores de crescimento vegetal (AZEVEDO *et al.*, 2000). Segundo Sala *et al.* (2005; 2007; 2008), bactérias diazotróficas endofíticas isoladas de trigo, podem ser benéficas, de forma individual ou interagindo com outros microrganismos, no crescimento vegetal, no acúmulo de nitrogênio na planta e na produtividade.

Dessa forma, o isolamento de microrganismos endofíticos de grãos e sementes de trigo que compõem as comunidades microbianas, assim como a sua caracterização, são fundamentais na busca de isolados candidatos a controladores de doenças, como a giberela em trigo.

5. ATIVIDADES REALIZADAS

As atividades desenvolvidas durante a execução do estágio foram realizadas nas dependências da Embrapa Trigo, em grande parte no Laboratório de Fitopatologia, sendo visitados outros laboratórios também, como o Laboratório de Solo e o Laboratório de Biotecnologia. Além disso, eram efetuados acompanhamentos de experimentos em casas de vegetação. Ressalta-se que a metodologia abaixo relatada possui uma sequência, em função da obtenção de resultados, por meio de testes para adequar a metodologia final.

5.1 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE SEMENTES DE TRIGO

Para realizar o isolamento de microrganismos endofíticos de sementes de trigo, foram utilizados quatro materiais genéticos distintos, denominados de T1, T2, T3 e T4, oriundos do BAG da Embrapa Trigo. O isolamento foi realizado com três repetições, em duas etapas: pré-germinação das sementes e o isolamento de fato.

Em câmara de fluxo laminar, as sementes passaram por assepsia, sendo 1 min em etanol 70%, seguido por 2 min em hipoclorito de sódio 2%, em seguida 1 min em álcool 70%, novamente, e por fim dois enxagues em água destilada e autoclavada (Figura 2A e Figura 2B). Foram coletados 2 mL da água do segundo enxágue em microtubos, de cada tratamento, para ser utilizada como tratamento controle de assepsia. Utilizaram-se 25 sementes em cada tratamento. Em seguida, as sementes foram colocadas em placas Gerbox com papel mata borrão previamente hidratado, sendo dispostas 5 sementes por placa, totalizando 5 placas Gerbox em cada tratamento (Figura 2C e Figura 2D). As placas estavam esterilizadas em formol, e momentos antes da instalação, foram colocadas sob luz ultravioleta. As placas de Gerbox foram colocadas em sala de incubação, com temperatura de 24 °C e fotoperíodo de 12 horas, por quatro dias.

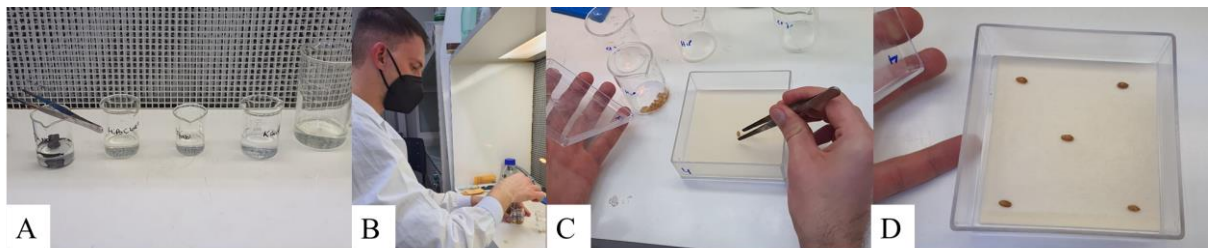


Figura 2 – Processo de assepsia e disposição em caixas Gerbox. A) Recipientes contendo etanol 70%, hipoclorito de sódio 2%, álcool 70% e água destilada e autoclavada. B) Enxague em água destilada e autoclavada. C) Disposição das sementes nas caixas Gerbox. D) 5 sementes dispostas. Fonte: O autor.

Com a água de enxágue coletada, foi montado o tratamento de controle. Para isso, utilizou-se três placas de Petri contendo meio de cultura NA (Nutriente-Ágar com fungicida benomyl) e três placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar com bactericida estreptomina). Foram pipetados 100 µL da água de enxague em cada placa de Petri, sendo espalhado com o auxílio de uma alça de Drigalski. Posteriormente, as placas foram levadas para sala de incubação também, sendo avaliadas 48 horas depois.

Após quatro dias, as sementes de trigo foram retiradas da sala de incubação e foram levadas para a câmara de fluxo para seguir com o processo de isolamento. Utilizando uma balança de precisão máxima de 250 g e mínima de 10 mg, pesou-se 7 sementes de cada tratamento, excluindo as que apresentavam algum crescimento microbiano, e para o processo de trituração foi utilizado pistilo e almofariz, adicionando uma solução na proporção 1:9 (p/v) do material vegetal sobre a solução PBS (Phosphate-buffered saline - solução salina utilizada para fazer diluições de materiais) (Figura 3A). Após a homogeneização do material triturado, foram realizadas diluições seriadas: a diluição 10^{-1} consiste no material triturado no almofariz, a diluição 10^{-2} consiste na solução de 100 µL da diluição 10^{-1} em 900 µL de solução PBS, e a

diluição 10^{-3} consiste na solução de 100 μL da diluição 10^{-2} em 900 μL de solução PBS. Para montagem do experimento, em cada diluição foram realizadas três repetições (I, II e III), em dois meios de cultura, citados anteriormente (NA com fungicida e BDA com bactericida), pipetando-se 100 μL de material em cada placa de Petri e espalhando com auxílio de uma alça de Drigalski (Figura 3B), totalizando 18 placas por tratamento. Após 72 horas, foi realizada a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC), conforme metodologia de Azevedo *et al.* (2014), de bactérias ou fungos que cresceram nas placas, e através da visualização, foram purificados os microrganismos que se encontravam isolados nas placas. Para purificação, buscou-se coletar fragmentos das colônias que estavam de maneira isolada na placa, evitando que fosse coletado mais de um isolado, e colocados em placas contendo meio de cultura para o crescimento de cada organismo purificado.

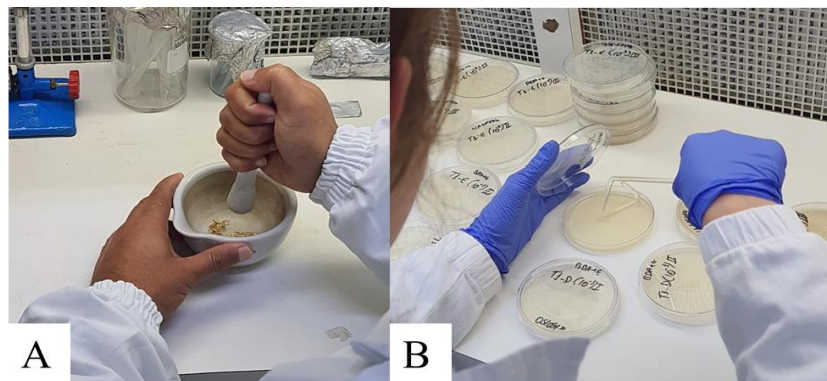


Figura 3 – Processo de trituração das sementes de trigo e espalhamento do material em placa de Petri. A) Almofariz e pistilo utilizados para triturar. B) Alça de Drigalski para espalhar o material. Fonte: O autor.

Destaca-se que os meios de cultura utilizados foram escolhidos por meio da preferência por cada grupo de microrganismo, onde fungos têm desenvolvimento superior em meio de cultura BDA, sendo adicionado bactericida ao meio para inibir o crescimento de bactérias, e as bactérias têm preferência de crescimento em meio de cultura NA, adicionando-se fungicida para inibir o crescimento de fungos.

5.2 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE GRÃOS DE TRIGO - TESTE DE ASSEPSIA

Para verificar possíveis interferências no processo de assepsia, realizou-se um experimento testando o processo, utilizando-se grãos de trigo. Os mesmos quatro materiais genéticos de trigo utilizados no isolamento de sementes de trigo, advindos do BAG, estavam sendo cultivados em casa de vegetação, para serem utilizados nos experimentos de isolamentos de grãos de trigo.

Dessa forma, foram coletadas duas espigas de trigo do T1, que estavam no estágio 7 de desenvolvimento, segundo a escala fenológica de Zadoks *et al.* (1974). Em câmara de fluxo laminar, foram separados 10 grãos de cada espiga para cada tratamento (com assepsia ou sem assepsia), pesados e calculou-se o volume de PBS. Para o tratamento com assepsia, procedeu-se da seguinte forma: 10 segundos em etanol 70%, seguido por 10 segundos em hipoclorito de sódio 2%, em seguida 10 segundos em álcool 70%, novamente, e por fim dois enxagues em água destilada autoclavada (1 minuto cada). Para o tratamento sem assepsia, realizou-se somente dois enxagues em água destilada e autoclavada. Em ambos os casos, coletou-se 2 mL da água do segundo enxágue para verificar o controle da assepsia.

Seguiu-se para o processo de trituração, com a solução PBS calculada em função do peso [proporção 1:9 (p/v)], não sendo realizada as demais diluições. Em seguida, pipetou-se 100 µL do material triturado e homogêneo em três placas de Petri contendo meio de cultura NA com fungicida e três placas de Petri contendo meio de cultura BDA com bactericida. Fez-se o mesmo processo para a água de enxágue coletada, e posteriormente todas as placas foram levadas para sala de incubação, sendo avaliadas e descartadas após 20 dias de instalação.

5.3 TESTE DE MEIO DE CULTURA NUTRIENTE-ÁGAR, COM E SEM BENOMYL

Devido à observação de problemas no crescimento dos isolados de bactérias, tanto dos isolados de sementes de trigo quanto de uma coleção de bactérias existentes no laboratório, fez-se um teste em meio de cultura NA com e sem fungicida (benomyl). Neste caso, cresceu-se os isolados bacterianos em meio de cultura NA líquido, sem benomyl, por 48 horas. Em seguida, pipetou-se 100 µL, do material crescido, em placas de Petri contendo meio de cultura NA com fungicida e sem fungicida, uma de cada, e avaliou-se em 48 horas.

5.4 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE GRÃO DE TRIGO

Como citado anteriormente, os quatro materiais genéticos utilizados nos experimentos estavam sendo cultivados em casa de vegetação. A parte principal do experimento é o isolamento de microrganismos endofíticos de grãos de trigo, em três estádios fenológicos diferentes (7, 8 e 9, de acordo com a escala de Zadoks, exemplificado na Figura 4) dos 4 materiais genéticos. Logo, eram feitas visitas frequentes à casa de vegetação para observação dos estádios fenológicos das plantas de trigo, para realização do isolamento no período adequado.

Os quatro materiais genéticos continuaram com a mesma denominação (T1, T2, T3 e T4), sendo realizados três isolamentos por tratamentos com a seguinte denominação para as três repetições utilizadas: J, K e L para o isolamento em estágio 7; L, M e N para isolamento em estágio 8; e G, H e I para isolamento em estágio 9.



Figura 4 - Estádios fenológicos de grãos de trigo, de acordo com a escala de Zadoks. A) Escala 7. B) Escala 8. C) Escala 9. Fonte: O autor.

Para os isolamentos nos estádios 7 e 8, em casa de vegetação, foram coletadas 3 espigas por cada repetição (letras). No laboratório, foram coletados 10 grãos por espiga, totalizando 30 grãos para cada repetição (Figura 5A). Estes grãos foram pesados, e posteriormente feito o cálculo da solução de PBS, na mesma proporção citada no item 5.1 (1:9). Já em câmara de fluxo, os grãos passavam por processo de assepsia da seguinte forma: 10 segundos em etanol 70%, seguido por 10 segundos em hipoclorito de sódio 2%, em seguida 10 segundos em álcool 70%, novamente, e por fim dois enxagues em água destilada autoclavada (1 minuto cada). Eram coletados 2 mL da água do segundo enxágue para compor o tratamento testemunha.

Já para os isolamentos no estágio 9, foram coletadas 3 espigas por repetição. Em laboratório, coletava-se 10 grãos por espiga e estes foram submetidos à duas etapas: pré-germinação dos grãos e o isolamento de fato, de acordo com a metodologia citada no item 5.1

Após a assepsia ou pré-germinação, os grãos foram triturados com o auxílio de um pistilo e almofariz, com o volume de PBS previamente calculado (Figura 5B e Figura 5C). Após a homogeneização do material triturado, foram realizadas diluições seriadas, como citado no item 5.1. Em cada diluição foram realizadas três repetições (I, II e III), utilizando o meio de cultura BDA sem o bactericida e o NA sem o fungicida. Em cada placa de Petri foram pipetados 100 μ L da solução de cada diluição (Figura 5D), espalhando com o auxílio da alça de Drigalski. A água do segundo enxágue também foi pipetada para as placas de Petri contendo os dois tipos de meios, e em seguida todas as placas eram levadas para sala de incubação. As placas permaneceram por 20 dias, posteriormente foi realizado a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias e fungos, e feito a purificação dos microrganismos.

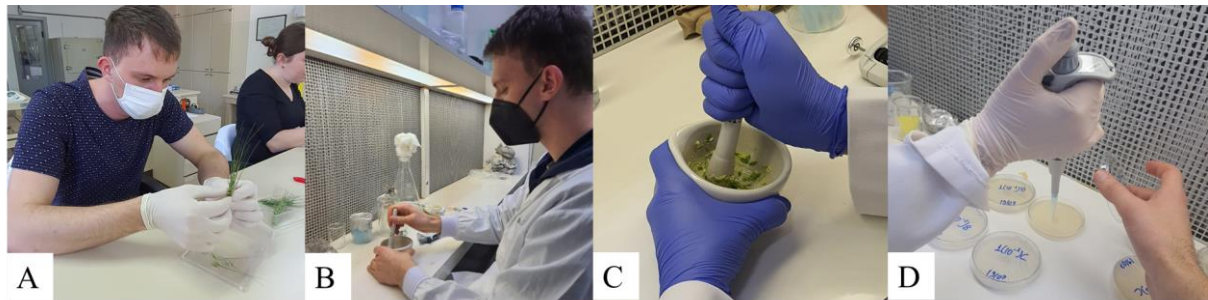


Figura 5 – Preparo do material para isolamento de microrganismos de grãos de trigo. A) Coleta de grãos em espigas de trigo. B) Trituração do material. C) Almofariz e pistilo usados para trituração. D) Pipetagem da solução em placas de Petri. Fonte: O autor.

Importante destacar que foram feitos quatro isolamentos, antes do resultado do teste relatado no item 5.3. Por isso, a denominação com as letras do alfabeto não está em ordem, devido aos dois isolamentos feito no T1 e T2, em estágio 7, denominado as repetições de A, B e C; e aos outros 2 isolamentos realizados em T1 e T2 também, em estágio 8, denominado as repetições de D, E e F.

5.5 ARMAZENAMENTO DOS ISOLADOS DE BACTÉRIAS E FUNGOS

Após a purificação, os microrganismos foram armazenados em diferentes métodos, para assegurar a sua viabilidade no tempo. Os isolados de fungos foram crescidos em meio de cultura BDA, e posteriormente colocados fragmentos do meio de cultura, contendo o fungo, em microtubos com água destilada e autoclavada, duas repetições em cada isolado, sendo registrados e armazenados em geladeira. Outra forma de armazenamento foi por meio de tubos contendo meio de cultura BDA inclinado. O fungo foi crescido no próprio tubo, vedado com uma bucha de algodão, em duas repetições, registrado, e mantido em sala de incubação. Quando atingiu o crescimento necessário, fez-se a vedação do algodão com papel parafilm e colocado na geladeira para armazenar.

Já os isolados de bactérias foram armazenados em três métodos. No primeiro método, cresceu-se os isolados em tubos de meio de cultura NA líquido, por 48 horas, e em seguida foram pipetados 900 μ L do meio contendo as bactérias para um microtubo, contendo 900 μ L de glicerol 60%, sendo realizadas duas repetições, registrados e armazenados em freezer a -20 °C. Outro método consiste no crescimento dos isolados em tubos de rosca com meio de cultura NA sólido, inclinado, por 48 horas e posteriormente foi preenchido o tubo até 1 cm acima do meio de cultura com óleo mineral 100%, seguido para armazenagem em geladeira, com duas repetições cada e registrados. O terceiro método baseia-se no crescimento dos isolados de bactérias também em tubos com meio de cultura NA inclinado, porém vedados com buchas de

algodão, sendo estes registrados, com duas repetições, crescidos em 48 horas e posteriormente vedados com papel parafilm e colocados na geladeira.

5.6 BIOENSAIOS COM OS ISOLADOS ENDOFÍTICOS

Com os isolados registrados e armazenados, montava-se o teste de biocontrole contra *F. graminearum*. Para este experimento, foram utilizadas duas repetições, em placas de BDA sem bactericida. Inicialmente, colocava-se o isolado, seja ele fungo ou bactéria, em uma extremidade da placa (Figura 6A), distante 1 cm da borda, e deixava-os crescer por 48 horas, em sala de incubação (Figura 6C e Figura 5D). Decorrido o tempo, colocava-se um fragmento de *F. graminearum* no lado oposto da placa de Petri (Figura 6B), distante 1 cm da borda, e ambas voltavam para sala de incubação. O tempo de duração foi observado através da placa controle, onde é posto para crescer um fragmento de *F. graminearum* sozinho, e quando completasse o crescimento na placa, o teste deveria ser encerrado. Durante o período de incubação, as placas eram fotografadas e ao final foi feito o registro se o antagonismo foi positivo ou negativo, e fotografado novamente.

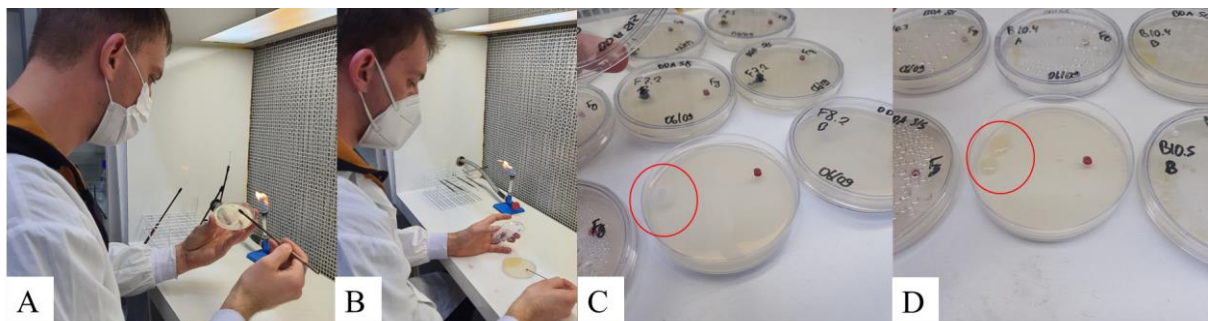


Figura 6 – Preparo dos bioensaios. A) Disposição do isolado bacteriano na extremidade da placa. B) Colocação de um fragmento de *F. graminearum* na outra extremidade. C) Crescimento do isolado de fungo após 48 horas. D) Crescimento bacteriano após 48 horas. Fonte: O autor.

5.7 OUTRAS ATIVIDADES

5.7.1 Laboratório de Solos

Além das atividades realizadas no Laboratório de Fitopatologia, foi feito o acompanhamento de análises de solos, no Laboratório de Solos da unidade. Foram acompanhadas as etapas de destilação e titulação para análise de nitrogênio total, nitrato e amônio de acordo com Tedesco *et al.* (1995), além do preparo de amostras para as análises, e leitura de micronutrientes segundo as normas da CQFS-RS/SC (2016). Para ambas as atividades, foi utilizado vestimentas adequadas pela periculosidade dos reagentes, sempre com a presença de um funcionário do laboratório.

5.7.2 Laboratório de Biotecnologia

No Laboratório de Biotecnologia, foram acompanhados os processos de extração de DNA de bactérias e PCR, com tentativas e ajustes no método. Neste laboratório, além das atividades acompanhadas, foi realizado um treinamento de segurança em laboratório, visto que se utiliza reagentes tóxicos e OGM (Organismos Geneticamente Modificados).

5.7.3 Experimentos com Brusone

No laboratório, além da pesquisa com *F. graminearum*, trabalhava-se com *Pyricularia grisea*, que causa a doença chamada de Brusone em trigo. Foi realizado o acompanhamento e auxílio em experimentos que testaram o deslocamento de fungicidas em folhas e espigas de trigo. Além do auxílio na produção de inóculos de *P. grisea* (Figura 7).

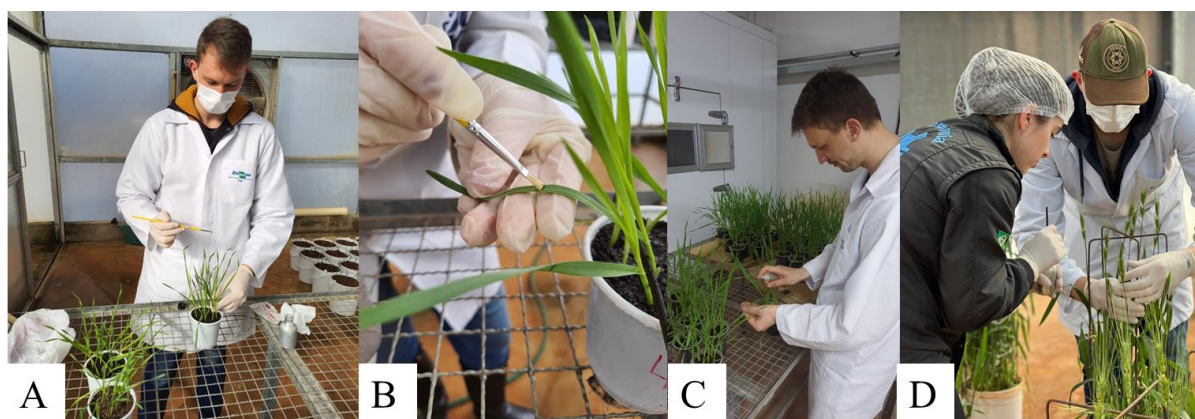


Figura 7 – Etapas da instalação do experimento. A) Aplicação de fungicida em folhas. B) Pincel utilizado para aplicar a solução de fungicida. C) Inoculação de *P. grisea* em folhas. D) Inoculação de *P. grisea* em espigas.

Fonte: O autor.

5.7.4 Verificação da viabilidade do bioinsumo *Trichoderma* sp. produzido *on farm*

No Laboratório de Fitopatologia, foi instalado um experimento que testou a viabilidade do bioinsumo a base de *Trichoderma* sp., que é produzido na propriedade de um produtor rural da região. Neste teste, havia cinco tratamentos, sendo eles: 1) água utilizada para produção, 2) 48 horas de incubação de *Trichoderma*, 3) inóculo utilizado para multiplicação, 4) 96 horas de inoculação de *Trichoderma*, 5) 196 horas de incubação de *Trichoderma*. Nos tratamentos 2, 4 e 5, foram realizadas cinco diluições seriadas, onde a diluição 10^{-1} consiste na solução de 100 μL do material recebido em 900 μL de água destilada e autoclavada, a diluição 10^{-2} consiste na solução de 100 μL da diluição 10^{-1} em 900 μL de água destilada e autoclavada, e assim por diante; no tratamento 1, não foi realizado nenhuma diluição; e no tratamento 3 foram realizadas três diluições seriadas. Foram pipetados 100 μL de cada diluição de cada tratamento em placas

de Petri, com dois meios de cultura (BDA e NA), em uma única repetição. Estas placas foram levadas para sala de incubação, sendo avaliadas no período de 20 dias, o número de UFC.

5.7.5 Experimentos de resistência de *Phytophthora sojae* em soja

A soja é uma das outras culturas estudadas na Embrapa Trigo, devido a sua importância, principalmente para estudos de resistência à doenças. Foi acompanhando a instalação de experimentos que testaram a resistência de genes para a podridão radicular de *P. sojae* em soja. Foram acompanhados os processos de preparo do inóculo, inoculação e visualização de resultados. Os testes realizados foram: resistência completa através do teste do palito (Figura 8B), utilizada para seleção de genótipos de soja resistentes; resistência completa através do teste de injeção: as linhagens de soja são inoculadas através de introdução de macerado de micélio na haste da planta (Figura 8A); e resistência parcial através do método da camada de micélio em substrato para cultivo (Figura 8C e Figura 8D) (COSTAMILAN; CLEBSCH, 2016).



Figura 8 – Experimentos de resistência em soja. A) Introdução do macerado de micélio de *P. sojae* na haste de soja. B) Palitos introduzidos na haste das plantas. C) Colocação da camada de micélio no substrato. D) Sementes de linhagem de soja para cultivo. Fonte: O autor.

5.7.6 Atividades rotineiras de laboratório

Foi realizado o auxílio em atividades laboratoriais, desde a organização de vidrarias, preparos de meio de cultura (BDA e NA), de soluções (álcool 70%, PBS e entre outros), além da esterilização de materiais. Somando-se a isso, foram produzidos diversos protocolos de atividades que foram realizadas no laboratório. Ainda, foram realizadas manutenções de coleções existentes e armazenadas no laboratório.

5.7.7 Participação em eventos

Durante o período de estágio, ocorreu, no dia 13 de setembro, a XVII Mostra de Iniciação Científica e XIV Mostra de Pós-graduação da Embrapa Trigo, onde foi submetido um trabalho, em forma de resumo, com a ajuda do Pesquisador Anderson Ferreira e da Pesquisadora Maria Imaculada Pontes Moreira Lima, além da analista do laboratório Cláudia Cristina

Clebsch, a ser publicado posteriormente (ver Apêndice 1). Além disso, acompanhou-se as apresentações dos trabalhos escolhidos.

Somando-se a isso, palestras e treinamentos foram realizados na unidade, contando com a participação de estudantes, bolsistas e estagiários. Os temas abordados tem relação com o uso de bioinsumos, biotecnologia no melhoramento de trigo e doenças (giberela).

6. DISCUSSÃO

O controle químico faz parte do manejo integrado da giberela, porém mesmo com resultados de experimentos que testam os fungicidas, a eficiência deste método é baixa (SANTANA *et al.*, 2021, 2022). Por isso, a busca por novas alternativas de controle é fundamental. A utilização de microrganismos endofíticos para estudo de suas características, e possíveis usos, estão sendo relatados cada vez mais na literatura, como prevê Sala *et al.* (2005), sobre a presença de isolados bacterianos em trigo.

De acordo com Okunishi *et al.* (2005), no estudo sobre a ecologia microbiana de sementes de *Oryza sativa*, mesma família botânica do trigo, foram obtidas informações sobre a quantidade de UFC de microrganismos endofíticos. Este experimento serviu como base introdutória para a realização de adequações na metodologia utilizada nos isolamentos de microrganismos endofíticos, através de observações feitas pelos autores do trabalho. Quanto aos dados referentes às UFCs, tanto do isolamento em sementes quanto em grãos, realizados no período do estágio, a análise estatística não foi concluída até o final deste trabalho de conclusão, dessa forma, estas informações não serão analisadas.

Por consequência, viu-se a necessidade de testar a assepsia dos grãos e sementes de trigo, uma vez que o álcool e/ou o hipoclorito poderiam estar causando interferências. O uso destes produtos nestes casos pode matar os microrganismos presentes nos materiais vegetais, se não forem feitos testes que comprovem a eficácia. Da mesma forma, a assepsia é importante para não haver problemas nos resultados, pois os microrganismos que se buscam são os endofíticos, ou seja, que estão dentro do material vegetal, e não aqueles que estão presentes na superfície. Como resultados deste experimento, comprovou-se que a assepsia não interfere na sobrevivência dos microrganismos endofíticos presentes nos grãos de trigo, o que possibilita afirmar que a realização da assepsia antes do processo de isolamento é fundamental e deve ser realizada (Figura 9).

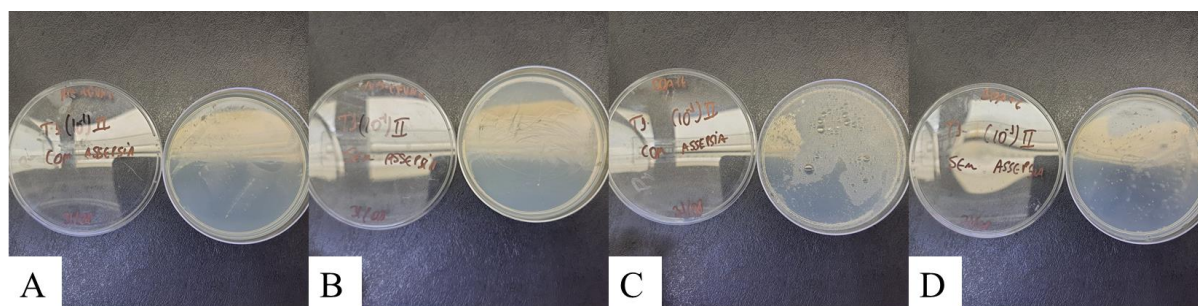


Figura 9 – Comparação de resultados do teste de assepsia. A) Placas de Petri com meio de cultura NA com fungicida, com assepsia. B) Placas de Petri com meio de cultura NA com fungicida, sem assepsia. C) Placas de Petri com meio de cultura BDA com bactericida, com assepsia. D) Placas de Petri com meio de cultura BDA com bactericida, sem assepsia. Fonte: O autor.

O teste para verificar a possível interferência do fungicida benomyl no meio de cultura NA, foi realizado visto que, por uma sequência de dias realizando esgotamentos ou simplesmente colocando bactérias isoladas para crescer, percebeu-se que havia algo interferindo no crescimento das bactérias. E por conta da diminuição do material original, levando a uma possível perda de isolados, viu-se a necessidade de testar. Assim, como resultado do experimento, constatou-se que o fungicida estava interferindo no desenvolvimento das bactérias, seja inibindo o crescimento ou diminuindo o mesmo, como pode ser visto na Figura 10. Na literatura, vários autores (RAY, 1983; ELSLAHI *et al.*, 2014) relatam que, dependendo da dose em que o fungicida benomyl for utilizado e das espécies de bactérias utilizadas, pode haver uma interferência e até mesmo uma inibição no crescimento. Assim, o resultado serviu para ser aplicado na metodologia de isolamentos de microrganismos, visto que possíveis microrganismos não puderam se desenvolver no experimento realizado em sementes, pois o meio de cultura NA continha benomyl.

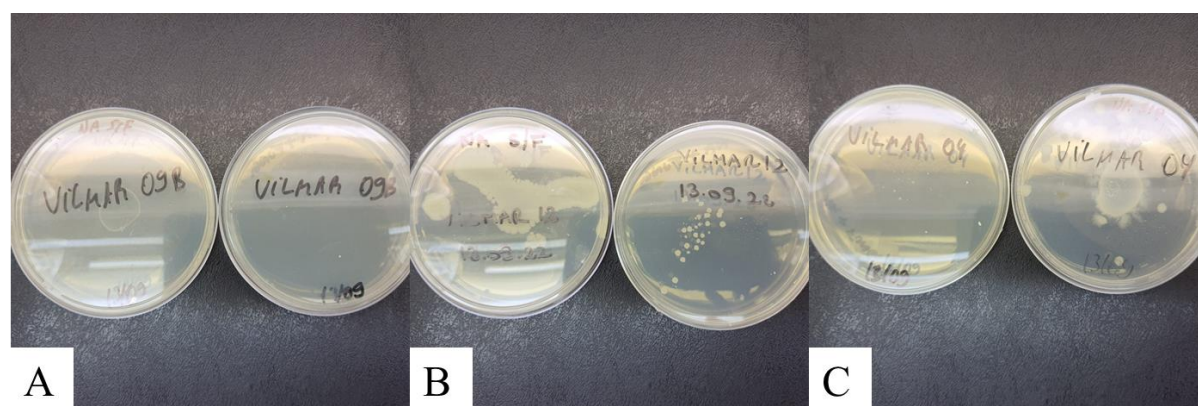


Figura 10 – Comparação de placas de Petri com isolados bacterianos crescidos em meio de cultivo com e sem benomyl. A) Meio de cultura com benomyl inibiu o crescimento na placa da direita. B) Meio de cultura com benomyl diminuiu o crescimento na placa da direita. C) Meio de cultura sem benomyl promoveu o crescimento na placa da direita. Fonte: O autor.

A importância de se armazenar uma coleção de microrganismos está relacionada ao quanto significativo é este processo, ou seja, um banco de recursos genéticos pode ser um centro de referência para estudos futuros, como por exemplo a coleção de isolados de *Magnaporthe*

oryzae da Embrapa Arroz e Feijão (CORTÊS *et al.*, 2010). Da mesma forma, o armazenamento dos microrganismos isolados do trigo é fundamental, já que quando armazenados, os estudos das espécies podem ser efetuados, sem correr o risco de perder material. Além disso, os vários métodos utilizados promovem maior eficiência no processo de armazenamento, e estes só foram possíveis por meio da experiência dos profissionais do laboratório e dos estagiários.

Ao total, foram isolados 123 microrganismos, sendo 49% fungos e 51% bactérias, estando registrados e armazenados no Laboratório de Fitopatologia. Dentre o total de isolados endofíticos obtidos, 7% obtiveram resultados positivos para o antagonismo com *F. graminearum*, entre fungos e bactérias, como pode ser observado em algumas imagens no Apêndice 2, demonstrando alguns resultados dos bioensaios. O uso de microrganismos endofíticos em controle biológico é relatado em diversas literaturas científicas, com resultados promissores, como é descrito por Silva (2015) sobre a obtenção de isolados endofíticos de guaranazeiro no controle biológico de *Colletotrichum* spp. Segundo Benchimol *et al.* (2000), bactérias endofíticas de pimenta-do-reino reduzem a mortalidade causada por *Fusarium solani*, e *Methylobacterium radiotolerans* controla o fungo fitopatogênico. Já em cacau, dentre os fungos endofíticos isolados, *Gliocladium catenulatum* reduziu em 70% a incidência de *Crinipellis pernicioso*, agente etiológico da vassoura-de-bruxa (RUBINI *et al.*, 2005).

Quanto às demais atividades relatadas, o acompanhamento foi fundamental para o entendimento da rotina de um centro de pesquisa, além de proporcionar uma aquisição de conhecimentos sobre a área agrônômica. Seja no Laboratório de Solos, acompanhando as atividades, ou no Laboratório de Biotecnologia, auxiliando na busca pela metodologia adequada para extração de DNA e PCR, por meio de conhecimentos prévios. Nos experimentos de Brusone, foi possível a verificação do modo de ação dos fungicidas testados e a sua eficiência, agregando conhecimentos. Já no trabalho sobre a viabilidade do insumo feito a partir de *Trichoderma* sp., produzido *on farm*, teve-se como resultado a presença de grande número de microrganismos nas placas avaliadas, sendo que a concentração de UFC de *Trichoderma* estava baixa. Quanto à resistência de *Phytophthora sojae*, a metodologia de Costamilan e Clebsch (2016), aplicada para verificar a resistência, é deveras interessante, trazendo resultados importantes para o melhoramento genético da soja. Nestes experimentos, foi possível entender como acontece o processo de escolha de materiais melhorados e resistentes para obtenção de novas cultivares.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio curricular é a oportunidade para pôr em prática todo o conhecimento que foi adquirido durante o período da graduação, além de ser o momento para adquirir aprendizados fora do âmbito da Universidade, que vão agregar na formação profissional. Realizar o estágio em uma instituição pública de pesquisa, como a Embrapa, é poder participar da ciência que conduz a agricultura do país. Porém, é também poder vivenciar os desafios que são impostos para a pesquisa brasileira, através do descaso e da desvalorização financeira e social.

A busca por novas alternativas de controle do agente etiológico da giberela é uma necessidade na cultura do trigo, visto a importância da adoção do manejo integrado de doenças. Apesar dos dados não estarem divulgados, a ecologia microbiana encontrada nos grãos e sementes de trigo, aliada aos testes de bioensaios, dão indícios que o controle biológico pode se tornar uma realidade na triticultura brasileira. Porém, é necessário que os trabalhos não parem, que sejam feitas as adequações na metodologia dos experimentos, que se apliquem novos testes aos isolados promissores, e que se faça a identificação dos microrganismos.

O estágio na Embrapa Trigo, além de permitir atuar em experimentos, possibilitou participar de eventos científicos, cursos técnicos e palestras. Isso teve como resultados a obtenção de conhecimentos acerca de conteúdos de fitopatologia, além da possibilidade de publicação de um resumo sobre o experimento de isolamento de microrganismos endofíticos de sementes de trigo.

Além da contribuição na formação profissional de Engenheiro Agrônomo, o estágio proporcionou o crescimento pessoal perante os desafios encontrados. A comunicação entre as pessoas é fundamental para criar relações no ambiente de convívio e, perante os entraves, é necessário manter a calma e aplicar os conhecimentos para a resolução dos problemas. Dessa forma, muito mais do que adquirir conhecimento, o estágio possibilitou a aquisição de habilidades para comunicação e experiência em gestão de pessoas, sendo de extrema importância para trabalhos em equipes e para a tomada de decisões.

REFERÊNCIAS

- ABITRIGO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO TRIGO. **História do trigo**. São Paulo: ABITRIGO, 2019. Disponível em: <https://www.abitrigo.com.br/conhecimento/historia-do-trigo/>. Acesso em: 10 jan. 2023.
- ABREU, R. L. Map locator of Rio Grande do Sul's Passo Fundo city. *In*: WIKIPEDIA. [San Francisco, CA: Wikimedia Foundation], 2006. Disponível em: https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:RioGrandedoSul_Municip_PassoFundo.svg#/media/Ficheiro:RioGrandedoSul_Municip_PassoFundo.svg. Acesso em: 24 jun. 2023.
- ACISA - ASSOCIAÇÃO COMERCIAL, INDUSTRIAL, DE SERVIÇOS E AGRONEGÓCIO. **Passo Fundo**. Passo Fundo: ACISA, [2019]. Disponível em: <https://www.acisa.org.br/passo-fundo/>. Acesso em: 10 jan. 2023.
- AZEVEDO, J. L. *et al.* Isolamento de micro-organismos endofíticos. *In*: ARAÚJO, W. L. *et al.* **Micro-organismos endofíticos: aspectos teóricos e práticos de isolamento e caracterização**. Santarém: UFOPA, 2014. p. 143-153.
- AZEVEDO, J. L. *et al.* Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 3, n. 1, 2000. Disponível em: <https://www.scielo.cl/pdf/ejb/v3n1/a04.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2023.
- BENCHIMOL, R. L. *et al.* Controle da fusariose em plantas de pimenta-do-reino com bactérias endofíticas: sobrevivência e respostas morfofisiológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 7, p. 1343-1348, 2000. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/gHFhtJZmsLVtDpWVsLvVVrS/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 24 jun. 2023.
- BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388 p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/10080>. Acesso em: 24 jun. 2023.
- CQFS-RS/SC - COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. [S.l.]: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Núcleo Regional Sul, 2016.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **AgroConab: dezembro/2021 - janeiro/2022**. Brasília, DF: CONAB, dez. 2022a. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 10 jan. 2023.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra 2022/23: sétimo levantamento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos**, Brasília, DF, v. 10, n. 3, p. 1-82, 2022b. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/16714_d7a4ad363319050e2bce9b695cf7bb09. Acesso em: 24 jun. 2023.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **A cultura do trigo**. Brasília, DF: CONAB, 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/uploads/arquivos/17_04_25_11_40_00_a_cultura_do_trigo_versao_digital_final.pdf. Acesso em: 10 jan. 2023.

CORTÊS, M. V. C. B. *et al.* **A coleção de isolados de *Magnaporthe oryzae* da Embrapa Arroz e Feijão: uma micoteca para uso na pesquisa com brusone**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2010. (Documentos, 259). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/878087/1/doc259.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2023.

COSTAMILAN, L. M.; CLEBSCH, C. C. **Técnicas utilizadas para estudos com *Phytophthora sojae* na Embrapa Trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2016. (Documentos Online, 163). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151335/1/ID43845-2016DO163.pdf>. Acesso em: 10 de jan. 2022.

DEUNER, C. C. *et al.* Fungicidas indicados pela pesquisa, momento da aplicação e eficiência do controle da giberela na cultura do trigo. *In*: REIS, E. M. (ed.). **Seminário sobre giberela em cereais de inverno: coletânea de trabalhos**. Passo Fundo: Berthier, 2011. p. 215-234.

ELSLAHI, R. H. *et al.* Comparative study of the fungicide Benomyl toxicity on some plant growth promoting bacteria and some fungi in pure cultures. **Interdisciplinary Toxicology**, Warsaw, v. 7, p. 12-16, 2014. Disponível em: <https://sciendo.com/pdf/10.2478/intox-2014-0002>. Acesso em: 24 jun. 2023.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sobre a Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa, [2017a]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/sobre-a-embrapa>. Acesso em: 10 jan. 2023.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Apresentação**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, [2017b]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/trigo/apresentacao>. Acesso em: 24 jun. 2023.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. São Paulo: Embrapa Solos, 2018. 356 p.

FERNANDES, J. M. C.; TIBOLA, C. S. Os perigos e prejuízos da giberela. **A Granja**, Porto Alegre, v. 67, n. 750, p. 53-55, 2011. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/903726>. Acesso em: 10 jan. 2023.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 155-165, jun./dez. 2000. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/280493>. Acesso em: 24 jun. 2023.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Panorama cidades**: Passo Fundo. Rio de Janeiro: IBGE, 2021a. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/passo-fundo/panorama>. Acesso em: 10 jan. 2023.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção de trigo**: Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro: IBGE, 2021b. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/trigo/rs>. Acesso em: 10 jan. 2023.

LAU, D. *et al.* **Principais doenças do trigo no sul do Brasil**: diagnóstico e manejo. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2020. 45 p. (Comunicado Técnico Online, 375). Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1129989/principais-doencas-do-trigo-no-sul-do-brasil-diagnostico-e-manejo>. Acesso em: 10 jan. 2023.

LAU, D. *et al.* Doenças de trigo no Brasil. *In*: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. (ed.). **Trigo no Brasil**: bases para produção competitiva e sustentável. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. p. 283-324. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/932377>. Acesso em: 24 jun. 2023.

LIMA, M. I. P. M. Giberela. *In*: LAU, D. *et al.* **Principais doenças do trigo no sul do Brasil**: diagnóstico e manejo. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2020. (Comunicado Técnico Online, 375). p. 36-39. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1129989/principais-doencas-do-trigo-no-sul-do-brasil-diagnostico-e-manejo>. Acesso em: 10 jan. 2023.

LIMA, M. I. P. M. **Giberela ou brusone?** Orientações para a identificação correta dessas enfermidades em trigo e em cevada. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2004. 32 p. (Documentos Online, 40). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do40.pdf. Acesso em: 10 jan. 2023.

MACHADO, F. J. **Giberela do trigo**: resistência a fungicidas e metanálise da eficácia do controle químico. 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/8377/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2023.

OKUNISHI, S. *et al.* Bacterial flora of endophytes in the maturing seed of cultivated rice (*Oryza sativa*). **Microbes and Environments**, [Tagajo], v. 20, n. 3. p. 168-177, 2005. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsme2/20/3/20_3_168/_article/-char/ja/. Acesso em: 24 jun. 2023.

PASSO FUNDO. Prefeitura Municipal. **Relatório de Avaliação Ambiental (RAA) do Programa de Desenvolvimento Integrado do Município de Passo Fundo (PRODIN)**. Passo Fundo, 2009. Disponível em: http://site02.pmpf.rs.gov.br/servicos/geral/multimedia/RELATORIO_AVALIACAO_AMBIENTAL_PRODIN.pdf. Acesso em: 10 jan. 2023.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. **Doenças em cereais de inverno**: aspectos epidemiológicos e controle. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1995. 57 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/817757>. Acesso em: 10 jan. 2023.

RAY, C. R. Toxicity of the pesticides hexachlorocyclohexane and benomyl to nitrifying bacteria in flooded autoclaved soil and in culture media. **Environmental Pollution. Series A: Ecological and Biological**, London, v. 32, n. 4, p. 147-155, 1983. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0143147183900478?via%3Dihub>. Acesso em: 24 jun. 2023.

REIS, E. M. Possibilidade de controle biológico do mal-do-pé de trigo. *In*: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 3., 1989, Piracicaba: **Anais**. Piracicaba: ESALQ, FEALQ, 1989. p. 49-56. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/203672/1/Melo-Anais.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2023.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 13., 2020, Passo Fundo. **Informações técnicas para trigo e triticales**: safra 2020. Passo Fundo: Biotrigo Genética, 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/214730/1/informacoestecnicasparatrigoetriticalesafra2020-1592946148.pdf>. Acesso em: 10 de janeiro de 2023.

RUBINI, M. R. *et al.* Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom disease. **International Journal of Biological Sciences**, Lake Haven, v. 1, n. 1, p. 24-33, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1140355/>. Acesso em: 24 jun. 2023.

SALA, V. M. R. *et al.* Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1099-1106, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/kW5q3JZ5cpntnrdS3hhcHtQ/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. S.; SILVEIRA, A. P. D. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, p. 1593-1600, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/8DQKByjzgpnmqnbPwGzQdzSM/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SALA, V. M. R. *et al.* Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 29, p. 345-352, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/XbnDVbYcGj4VRfv4rWZWQPH/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. S.; VOSS, M. Controle biológico de pragas do trigo. *In*: PINTO, A. S. *et al.* **Controle biológico de pragas**: na prática. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 55-63. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/127844/1/SP-15388.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2023.

SANTANA, F. M. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de giberela do trigo**: resultados dos ensaios cooperativos, safra 2020. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2022. 22 p. (Circular Técnica, 74). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1146813/1/Circular-Tecnica-74-online.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SANTANA, F. M. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de giberela do trigo:** resultados dos ensaios cooperativos - safra 2019. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2021. 19 p. (Circular Técnica, 62). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/221447/1/CircTec-62-online.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2022.

SANTANA, F. M. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de giberela do trigo:** resultados dos ensaios cooperativos - safra 2018. Passo Fundo: Embrapa Trigo, jun. 2020. 20 p. (Circular técnica, 52). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/215108/1/CirTec52-Flavio.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SANTANA, F. M. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de giberela em trigo:** resultados dos ensaios cooperativos - safra 2012. Passo Fundo: Embrapa Trigo, fev. 2014. 6 p. (Comunicado técnico online, 336). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/102481/1/embrapa-trigo.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2023.

SCHEEREN, P. L.; CASTRO, R. L.; CAIERÃO, E. Botânica, morfologia e descrição fenotípica. *In*: BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. **Trigo:** do plantio à colheita. Viçosa, MG: Editora UFV, 2015. cap. 2, p. 35-55. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1022686>. Acesso em: 24 jun. 2023.

SEBRAE - SERVIÇO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Perfil das cidades gaúchas:** Passo Fundo. Porto Alegre: SEBRAE/RS, 2019. Disponível em: https://datasebrae.com.br/municipios/rs/Perfil_Cidades_Gauchas-Passo_Fundo.pdf. Acesso em: 10 jan. 2023.

SILVA, M. C. S. **Bioprospecção e caracterização de microrganismos endofíticos de isolados de sementes de guaranazeiro e o controle da antracnose (*Colletotrichum spp.*).** 2015. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64133/tde-05052015-095919/pt-br.php>. Acesso em: 24 jun. 2023.

SOUZA, R. G.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Produção de trigo no Brasil:** indicadores regionais e políticas públicas. Rio de Janeiro: IPEA, 2020. 41 p. (Texto para Discussão). Disponível em: https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/10315/1/td_2608.pdf. Acesso em: 24 jun. 2023.

SPOLTI, P.; DEL PONTE, E. M. Agressividade diferencial de espécies do complexo *Fusarium graminearum* em interação com o fungicida tebuconazole na redução do rendimento de trigo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 9, p. 1569–1575, set. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000900006>. Acesso em: 10 jan. 2023.

TEDESCO, M. J. *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 1995. (Boletim técnico, 5).

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service. **Area, yield and production of wheat**. Washington, DC: USDA, 2022. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads>. Acesso em: 10 jan. 2023.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, Oxford, v. 14, p. 415–421, 1974. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>. Acesso em: 24 jun. 2023.

ZUCCHI, T. D.; MELO, I. S. Controle biológico de fungos aflatoxigênicos. *In*: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. cap. 5, p. 71-84. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/579993/controlo-biologico-de-fungos-aflatoxigenicos>. Acesso em: 24 jun. 2023.

APÊNDICE 1 – Resumo submetido no XVII Mostra de Iniciação Científica e XIV Mostra de Pós-graduação da Embrapa Trigo, online, 13 set. 2022.

Prospecção de microrganismos endofíticos de sementes de trigo para o controle biológico de *Fusarium graminearum*

Gian Carlos Gonçalves⁽¹⁾, Maria Imaculada Pontes Moreira Lima⁽²⁾; Cláudia Cristina Clebsch⁽³⁾ e Anderson Ferreira⁽⁴⁾

⁽¹⁾Acadêmico do curso de Agronomia - UFRGS. Estagiário de graduação. ⁽²⁾Pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. ⁽³⁾Analista da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. ⁽⁴⁾Pesquisador da Embrapa Trigo, orientador, Passo Fundo, RS.

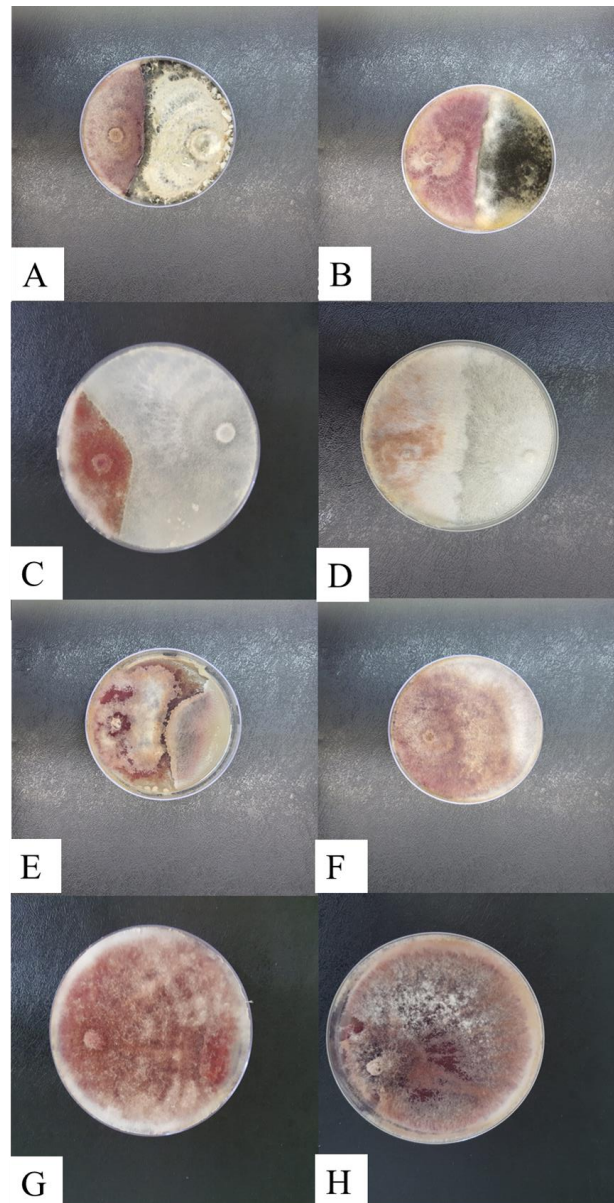
Resumo – A giberela, causada pelo fungo *Fusarium graminearum*, é uma das principais doenças do trigo na região sul do Brasil. O manejo é feito com controle cultural, genético e químico. No entanto, há necessidade de formas alternativas, como o controle biológico. O objetivo foi isolar microrganismos endofíticos de sementes de trigo antagonicos a *F. graminearum*. Sementes de quatro cultivares de trigo: Trigo BR18-Terena, BRS Guamirim, BRS 179 e Frontana foram desinfestadas com etanol 70%, hipoclorito de sódio (1%) seguido de duas lavagens em água autoclavada. A água da última lavagem foi utilizada como controle da desinfestação. As sementes germinaram em caixa Gerbox e foram trituradas e diluídas em tampão fosfato 1:9 (p/v). Diluições seriadas foram aplicadas em placas de Petri com Ágar Nutriente+fungicida e Batata Dextrose Ágar+antibiótico, com 3 repetições, incubadas a 24 °C. Após 72 horas, foi avaliado o número de unidades formadoras de colônias (UFC) e realizado bioensaio de antagonismo com cultura pareada. A cultivar BRS 179 foi a que apresentou maior número de UFC de fungos por grama de tecido ($8,7 \times 10^3$); e a Frontana apresentou o menor (0). Já, para bactérias, não houve UFC contabilizadas, pelo não aparecimento ou pelo número excessivo de colônias. No antagonismo não foi observado um controle por halo de inibição, somente um isolado bacteriano com ação de parasitismo sobre *F. graminearum* e um fúngico com competição por espaço e nutrientes na placa. O presente trabalho continua em andamento e novos ensaios serão feitos para avaliar potencial uso *in vivo*.

Termos para indexação: ecologia microbiana, antagonismo, giberela

Apoio: Embrapa

APÊNDICE 2 - Imagens demonstrativas dos bioensaios realizados em placas de Petri.

Do lado esquerdo das imagens estão posicionados os fragmentos crescidos de *F. graminearum*, e do lado direito o desenvolvimento dos isolados. Nas imagens A, B, C e D estão demonstrados os testes feitos com fungos, enquanto que nas imagens E, F e G estão os testes feitos com bactérias, e na imagem H está uma placa com somente *F. graminearum* (controle).



Fonte: O autor.