

# A hora dos biofungicidas

## Pesquisa contribui para o combate biológico a patógenos agrícolas

CARMO GALLO NETTO  
carmo@reitoria.unicamp.br

Várias culturas agrícolas comercialmente importantes são acometidas por doenças causadas por microrganismos patógenos. São os casos, por exemplo, dos fungos *Puccinia psidii*, que comprometem plantações de eucalipto; *Hemileia vastatrix*, que atacam cafezais; e das bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus*, que prejudicam a citricultura. Doenças causadas por microrganismos patógenos limitam severamente a produtividade agrícola. Especialmente notável é o caso da soja, assolada pelo chamado mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

Para combater esses males são utilizados fungicidas, que constituem fator de risco para os trabalhadores agrícolas, para a população que consome produtos contaminados e que, além de tudo, comprometem o meio ambiente. Em substituição a esses agentes, inúmeros microrganismos vêm sendo cogitados para serem utilizados como biofungicidas de maneira promissora. Nesse contexto, o uso de biofungicidas pode vir a constituir uma alternativa ao uso de fungicidas comerciais. Essa possibilidade tem despertado interesse por envolver um processo em que os efeitos indesejáveis de um organismo patogênico são reduzidos pela ação de outro organismo, que inibe o progresso, infecção e reprodução da doença no hospedeiro, na planta. Trabalho desenvolvido no Instituto de Química (IQ) da Unicamp traz contribuições para essa possibilidade.

O fato desses microrganismos benéficos atuarem por meio da produção de metabólitos secundários com ação antibiótica e antifúngica - caso de enzimas e metabólitos voláteis e não voláteis, é que determina o uso desses fungos como biofungicidas, já que vários desses metabólitos produzidos são tóxicos para os patógenos de plantas, mesmo em baixas concentrações. Em decorrência, os metabólitos voláteis produzidos por microrganismos benéficos, com potencial de controle biológico e seus modos de ação, têm sido cada vez mais estudados devido à sua aplicabilidade na agricultura.

Esclareça-se que as substâncias produzidas no metabolismo de qualquer organismo constituem os metabólitos primários, essenciais à sua vida. Já os metabólitos secundários decorrem do desenvolvimento dos mecanismos de defesa e de ataque dos seres vivos.

Mas, para viabilizar o emprego aventado, é necessário entender o mecanismo envolvido nesse controle biológico, o que demanda e tem suscitado diversos estudos. A exploração do metabolismo desses agentes de biocontrole requer técnicas analíticas avançadas de extração, separação e detecção de substâncias por eles geradas, para que o perfil desse conglomerado seja o mais confiável possível, e compatível com a magnitude das concentrações e da diversidade dos compostos presentes, já que se trata de uma mistura complexa de substâncias de várias classes, como carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, lipídios, vitaminas, fenilpropanóides, terpenóides e alcalóides. Em relação a muitas delas têm-se evidências do envolvimento em processos de controle biológico, o que sugere as suas participações na mediação do mecanismo de defesa de plantas contra a ação de predadores e de doenças.

Em trabalho desenvolvido junto ao Departamento de Química Analítica do Instituto de Química (IQ) da Unicamp, orientado pelo professor Fabio Augusto, a química e pesquisadora Mayra Fontes Furlan empregou técnicas para obter de forma inédita a fração volátil e semi-volátil do metabolismo secundário do fungo do gênero *Myrothecium*, responsável pelo combate ao mofo branco em soja.

### O TRABALHO

O objetivo do trabalho foi avaliar que componentes químicos das frações voláteis e semivoláteis do microrganismo *Myrothecium*, proveniente do semiárido nordestino, têm desempenho de biocontrole sobre o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pois se trata de organismo que atende a esse propósito.

Para tanto, ela utilizou a técnica de Microextração em Fase Sólida (SPME) aliada à de Cromatografia Gasosa Bidimensional abrangente acoplada à Espectrometria de Massas Quadrupolar (GC×GC-QMS). Com o uso dessas técnicas (de extração e separação) e com o auxílio da ferramenta quimiométrica de reconhecimento de padrões chamada Análise de Componentes Principais Multi-modo (MPCA), ela conseguiu avaliar a cinética de produção de voláteis e semivoláteis em função do tempo, identificando inclusive o dia de maior diversidade metabólica do fungo. Com base nessas informações foi possível à pesquisadora identificar vários

compostos químicos que possuem conhecida ação de controle de patógenos, que podem direcionar os estudos em relação aos biofungicidas e sua indução de resistência em plantas.

Mayra enfatiza que o ponto forte do trabalho foi a aplicação da ferramenta estatística aplicada à cromatografia, pois na cromatografia bidimensional abrangente, apesar de vários trabalhos publicados, existem ainda pontos de melhoria na utilização da estatística multivariada, chamada de quimiometria, e acrescenta: “Para os dados de origem biológica, em especial no caso do estudo de fungos, não existe ainda muita aplicação desse recurso. Agora pode-se contar com os trabalhos desenvolvidos aqui no nosso departamento. Trata-se de um campo relativamente novo que exigiu a superação de uma série de dificuldades. Esse acabou sendo o grande diferencial do nosso trabalho”.

O estudo desenvolvido se inseriu no projeto “Bioprospecção de fungos no PP-BIO/semiárido nordestino para o controle de doenças infecciosas em plantas: indução de resistência”, da Fapesp, que por sua vez fez parte de um projeto maior, o SISBIOTA, apoiado pela Fapesp e CNPq, coordenado pelo professor Sérgio Florentino Pascholati, da ESALQ/USP, que teve como objetivo analisar a possível indução de resistência, desenvolvimento de bioprodutos alicidores de resistência em plantas e o uso de fungos sapróbios, em especial os provindos do semiárido do nordeste brasileiro, já disponíveis na Coleção de Microrganismos da Bahia.

Nessa rede, de que faziam parte pesquisadores de várias universidades brasileiras, de Norte a Sul, foram realizados ensaios biológicos para avaliar o potencial de controle de doenças decorrentes de microrganismos presentes em plantas, através da utilização de microrganismos benéficos e, também, para a caracterização química de metabólitos voláteis, semivoláteis e não voláteis que se mostravam eficientes nesses combates. A propósito a autora esclarece: “No meu mestrado eu estudei o fungo do gênero *Myrothecium sp.*, enquanto outras pessoas trabalharam com outros voláteis. Passei a trabalhar com esse microrganismo depois que os ensaios biológicos realizados por pesquisadores do grupo constaram a sua viabilidade de uso no biocontrole”.

### DETALHES

Através da cromatografia gasosa bidimensional abrangente Mayra determinou a emissão de substâncias voláteis e semivoláteis pelo fungo estudado, procurando detectar quais delas poderiam matar o fungo não desejado, manifestando-se, dessa forma,

ativas como controladoras biológicas. Realizando essa avaliação durante uma semana, ela determinou o dia em que esse fungo apresentava maior atividade. A partir daí ela precisou identificar quais dessas substâncias provinham do próprio fungo ou se originavam do meio de cultura. Para a resolução dessa complexidade foi necessário a utilização da quimiometria.

Determinadas essas substâncias, a pesquisadora localizou na literatura quais delas teriam condições de exercer biocontrole, identificando algumas que poderiam ser utilizadas no controle da doença. Mas esses achados precisam ser mais testados através de maior número de ensaios biológicos a partir dos compostos identificados.

Com efeito, a ideia dos pesquisadores envolvidos no grupo era utilizar esse fungo na aspersão na lavoura. Mas, para que isso possa ser viabilizado comercialmente, há necessidade de estudar como se dá esse controle biológico para que se possa determinar qual a melhor forma de utilizá-lo no combate à doença.

Mayra enfatiza que na verdade o foco do trabalho não foi o fungo em si, mas o uso das técnicas já mencionadas para o estudo de amostras complexas, como as provenientes de fungos: “Com as técnicas que utilizei consegui extrair, separar e identificar os compostos de um material biológico, processo a princípio bastante complexo. Elas me permitiram identificar o dia de maior atividade biológica do fungo, em que estão presentes mais metabólitos a serem explorados e ainda isolar os que efetivamente provinham do fungo e não do meio de cultura. Depois de identificá-los, pude cotejá-los com a literatura especializada para localizar os possíveis compostos químicos que teriam atividade de controle biológico. O plus foi descobrir que os compostos que identifiquei realmente apresentam histórico de biocontrole. Foram alguns passos de um caminho mais longo a ser percorrido”.

### Publicação

**Dissertação:** “Estudos dos metabólitos voláteis de fungos inibidores de fitopatógenos em plantas por HS-SPME e GC×GC-QMS”

**Autora:** Mayra Fontes Furlan

**Orientador:** Fabio Augusto

**Unidade:** Instituto de Química (IQ)

Foto: Antonio Scarpinelli



O orientador, professor Fabio Augusto, e a química Mayra Fontes Furlan, autora da dissertação: determinando a emissão de substâncias voláteis