

# CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS PRODUZIDOS POR ACTINOMICETOS PARA O BIOCONTROLE DE *Bipolaris sorokiniana*

Elisandra Minotto<sup>1</sup>, Ana Elisa Ballarini<sup>1</sup>, Diego Defferrari<sup>2</sup>,  
Sueli Teresinha Van Der Sand<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Micologia Ambiental, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS, Brasil. <sup>2</sup> Laboratório de Instrumentação e Dinâmica Molecular, Departamento de Físico-química, Instituto de Química Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre RS, Brasil.

## INTRODUÇÃO

De acordo com dados da Companhia Nacional de Abastecimento, a produção brasileira para a safra de trigo, em 2013/2014, deverá alcançar 5,798 milhões de toneladas (CONAB, 2014). Considerado a importância do trigo (*Triticum aestivum* L.) na base alimentar humana, é de interesse agrícola evitar fatores que possam causar danos ou redução de produtividade. O fitopatógeno *Bipolaris sorokiniana*, responsável pela mancha marrom, pode atingir até 80% da produção causando enormes perdas econômicas.

Para controle do patógeno se faz uso de fungicidas, mas a busca de alternativas menos agressivas ao ecossistema e economicamente viáveis ao produtor se fazem necessárias, entre elas, o controle biológico. Novas descobertas de antifúngicos com emprego na agricultura tem apontado com sucesso o uso de actinomicetos. O gênero *Streptomyces* tem se mostrado muito promissor, devido a diversidade na produção de metabólitos secundários bioativos e que podem ser utilizados como agentes de controle biológico de fitopatógenos.

## OBJETIVO

O objetivo do presente estudo visa buscar uma alternativa de controle biológico com o uso de actinomicetos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### ORIGEM DOS MICRORGANISMOS

Foram empregados 27 isolados fúngicos polispóricos, originando 72 culturas monospóricas de *B. sorokiniana* no ensaio de virulência, obtidas de sementes e tecidos de trigo de diferentes regiões do Brasil, fornecidas pela EMBRAPA – Passo Fundo, RS, Brasil.

### PREPARAÇÃO DO INÓCULO FÚNGICO

Os isolados de *B. sorokiniana* foram incubados de 10 a 15 dias a 26°C em caldo de cenoura, vegetais e ágar. O inóculo foi padronizado com 5mL de solução salina (0,85%) e Tween 80 (0,1%) por raspagem dos esporos da placa de Petri e ajuste de concentração a 10<sup>6</sup> esporos/mL.

### CURVA DE PRODUÇÃO DE METABÓLITOS

Isolados 6(2), 6(4) e R18(6) foram inoculados em frascos Erlenmeyer com 50mL de caldo amido caseína com incubação de 168h e agitação constante. Após, as culturas foram centrifugadas, caracterizando o extrato centrifugado.

### EXTRAÇÃO DE METABÓLITO

O extrato centrifugado foi submetido a extrações líquido-líquido com diferentes solventes e posterior evaporação dos solventes e ressuspensão em tampão PBS, caracterizando o extrato bruto.

### CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DOS COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NO EXTRATO BRUTO

Os isolados 6(2), 6(4) e R18(6) foram selecionados devido sua ampla atividade antifúngica contra *B. sorokiniana* e produção de inúmeros metabólitos de origem fisiológica e enzimática

necessários a um microrganismo biocontrolador. Para realizar a caracterização parcial dos compostos bioativos, o extrato bruto foi submetido a testes de estabilidade frente a diferentes temperaturas, pHs, proteases e concentrações de EDTA.

### CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA E AUTOBIOGRAFIA

A cromatografia foi realizada em sílica com as amostras do extrato bruto e centrifugada, usando diferentes solventes e revelando com luz UV e revelação química com anisaldeído sulfúrico e ninidrina. Fez-se autobiografia nas placas que foram reveladas pelo método físico, depositando-as no fundo de placas de Petri e vertendo sobre elas uma fina camada de meio de cultivo BDA com posterior semeadura dos esporos do fitopatógeno, afim de observar a presença ou ausência de inibição nas bandas.

## RESULTADOS

Com 72h de crescimento, observou-se a máxima atividade antifúngica para o isolado 6(2) e para os isolados 6(4) e R18(6) após 96 e 168h, respectivamente. Pode-se inferir que o aumento de biomassa não apresenta relação direta com o aumento da produção de metabólitos e atividade antimicrobiana. Quanto à temperatura, o isolado R18(6) mostrou-se mais estável ao calor, mantendo 70% da atividade após incubação de 1h a 80°C, quando comparado aos demais. Quando exposto a 100°C por 10 min, 60% de sua atividade ainda foi detectada.

Apenas proteinase K e tripsina apresentaram reduções de atividade significativas (27% e 28%, respectivamente), a 4°C. Isto pode indicar a presença de uma molécula de natureza proteica mais específica ou diferentes moléculas ativas, sendo parte destas, sensíveis às proteases.

Atividade residual superior a 71% foi observada para os extratos centrifugados após tratamento com EDTA, indicando a existência de íons metálicos no extrato que podem influenciar no processo de purificação dos compostos, devido a presença de cargas. Por fim, a ação antifúngica foi confirmada pela autobiografia nas placas cromatográficas.

## DISCUSSÃO

O avanço nas pesquisas de substâncias com atividade antimicrobiana é um campo que merece atenção especial, pois incentivam as buscas por métodos eficazes de controle de infecções. O papel das substâncias produzidas por esses isolados de *Streptomyces* está em especulação e seguem-se estudos para caracterizar e purificar os compostos antifúngicos produzidos pelas espécies.

## REFERÊNCIAS

MINOTTO, E. Caracterização de compostos produzidos por actinomicetos para o biocontrole de *Bipolaris sorokiniana*. 2014. 177 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2014.