



Ação nematocida *in vitro* combinada de proteases de *Pleurotus djamor* e da papaína sobre *Panagrellus sp.*

Nivia K. L. Sales (G)^{1*}, Adriane T. Silva (PG)¹, Ana C. Silva (PG)¹, Amanda C. Alves (PG)¹, Débora C. T. Souza (PG)¹, Dyessa P. Ferreira (G)¹, Leonardo O. Barqueta (G)¹, Eustáquio S. Dias (PQ)², Filipe E. F. Soares (PQ)¹

¹ Departamento de Química, Laboratório de Biotecnologia e Bioquímica Aplicada, Universidade Federal de Lavras

² Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras

nivia.sales@estudante.ufla.br*

RESUMO

RESUMO – Nematóides são responsáveis por grandes prejuízos na agricultura e pecuária, exigindo alternativas sustentáveis para seu controle. Este trabalho avaliou a atividade nematocida das proteases de *Pleurotus djamor* e da papaína, isoladas e combinadas, sobre *Panagrellus sp.*, além da estabilidade enzimática das formulações. As enzimas foram obtidas por fermentação em meio sólido e sua atividade determinada por ensaio caseinolítico. No ensaio de 2 horas, a papaína e a combinação com *P. djamor* reduziram significativamente o número de nematóides em 38% e 29%, respectivamente, enquanto as proteases de *P. djamor* isolado não apresentaram efeito significativo. Após 24 horas, todos os tratamentos reduziram significativamente o número de nematóides em relação ao controle, sendo a papaína o mais eficaz (73%), estatisticamente superior a *P. djamor* (40%) e à combinação (32%). Os resultados confirmam o potencial da papaína como agente biológico no manejo de nematóides e destacam a importância de avaliar a compatibilidade enzimática em formulações conjuntas.

Palavras-chave: nematóides, *Pleurotus djamor*, papaína, controle biológico, enzimas proteolíticas

Introdução

Nematóides causam grandes prejuízos na agricultura e pecuária. O uso de bioinsumos, como fungos do gênero *Pleurotus*, que produzem toxinas e proteases com ação nematocida, surge como alternativa sustentável. A papaína, enzima obtida da *Carica papaya*, também possui efeito nematocida comprovado. A avaliação da combinação entre *P. djamor* e papaína se justifica pelo fato de ambas apresentarem atividade nematocida individualmente, sendo necessário investigar seu uso conjunto para o desenvolvimento de formulações biológicas mais eficazes. Este trabalho avaliou a atividade nematocida dessas proteases, isoladas e combinadas, contra *Panagrellus sp.*

Experimental

Obtenção dos microrganismos e ensaios biológicos.

O isolado de *P. djamor* foi obtido da Coleção de Culturas Fúngicas do Departamento de Biologia da UFLA. O fungo foi cultivado em meio BDA (2% m/v) e empregado na produção de proteases por fermentação em meio sólido por 14 dias. As enzimas foram extraídas com água destilada na proporção 1:5 (m/v), sob agitação, seguidas de filtração e centrifugação. A papaína foi adquirida comercialmente. A atividade proteolítica foi determinada pelo ensaio caseinolítico, utilizando curva padrão de tirosina. O ensaio nematocida foi realizado utilizando *Panagrellus sp.*, com quatro grupos experimentais: G1 (grupo controle), G2 (grupo tratado com extrato de *P. djamor*), G3 (grupo tratado com papaína a 1% m/v) e G4 (grupo tratado com extrato de *P. djamor* + papaína a 1% m/v).

Cada grupo experimental teve 8 repetições. As contagens dos nematóides vivos foram realizadas após períodos de incubação de 2 e 24 horas a 28°C, com auxílio de microscópio. Os dados obtidos foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA), com níveis de significância de 1% e 5%. Para comparar as médias entre os grupos, foi aplicado o teste de Tukey nos mesmos níveis. Além disso, a eficácia dos tratamentos foi expressa como percentual de redução no número de juvenis de *Panagrellus sp.* em relação ao controle, calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{Redução} = \frac{\bar{x}_{\text{controle}} - \bar{x}_{\text{tratamento}}}{\bar{x}_{\text{controle}}}$$

Resultados e Discussão

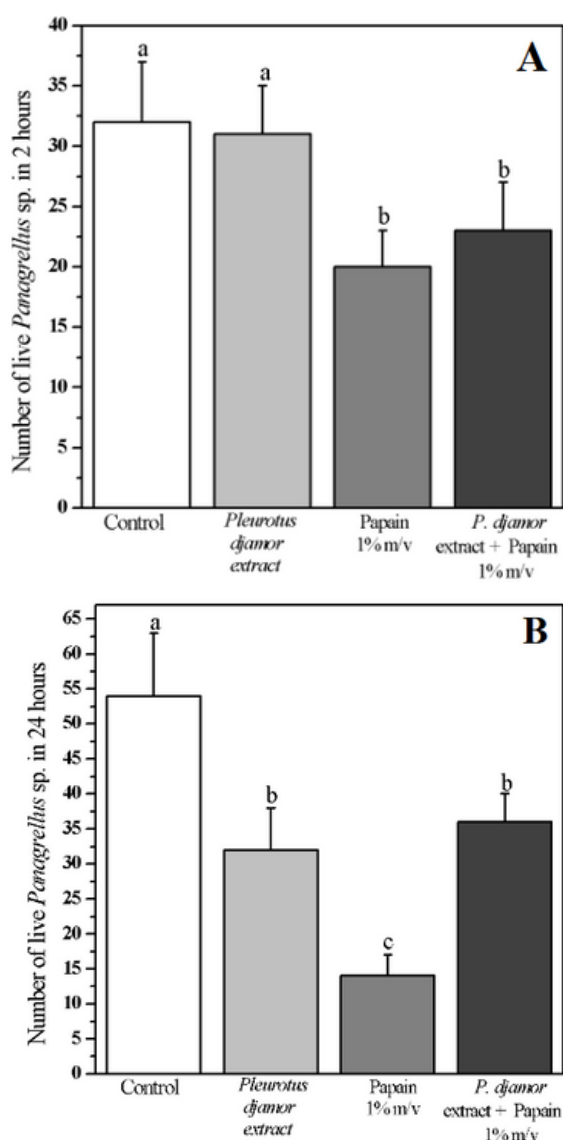
No ensaio com 2 horas de exposição, o grupo G1 foi comparado aos grupos G2, G3 e G4. Os grupos G3 e G4 apresentaram redução significativa no número de *Panagrellus sp.* em relação ao G1 ($p < 0,01$), com percentuais de redução de 38% e 29%, respectivamente (Figura 1A). No entanto, não houve diferença estatística entre G3 e G4 ($p > 0,05$), indicando que a combinação das enzimas não resultou em efeito adicional. O grupo G2 não apresentou diferença significativa em relação ao G1 ($p > 0,05$), demonstrando que, nesse intervalo de tempo, o extrato de *P. djamor* isolado ainda não promoveu efeito nematocida relevante.



Conclusões

Após 24 horas, todos os tratamentos (G2, G3 e G4) apresentaram redução significativa no número de nematoides em comparação ao grupo controle G1 ($p < 0,01$). O grupo G3 foi o mais eficaz, com 73% de redução, sendo estatisticamente superior aos grupos G2 (40%) e G4 (32%) ($p < 0,01$) (Figura 1B). Por outro lado, G2 e G4 não diferiram entre si ($p > 0,05$), evidenciando que a combinação com *P. djamor* não aumentou a eficácia da papaína.

Gráfico 1. Número de nematoides vivos (*Panagrellus sp.*) após 2 horas (A) e 24 horas (B) de exposição aos tratamentos: controle (G1), *P. djamor* (G2), papaína 1% m/v (G3) e combinação de *P. djamor* + papaína 1% m/v (G4).



Grupos indicados com a mesma letra não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Grupos com letras diferentes apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$).

A papaína demonstrou ser o tratamento mais eficaz no controle de *Panagrellus sp.*, com redução significativa do número de nematoides em 24 horas. As proteases de *P. djamor* também apresentaram atividade nematicida significativa, embora com menor efeito comparado à papaína. A combinação das duas enzimas resultou em redução intermediária do número de nematoides, indicando um possível efeito aditivo sob as condições experimentais. Esses achados reforçam o potencial da papaína como agente promissor em formulações biológicas e apontam para a necessidade de investigações complementares sobre o uso conjunto de diferentes fontes enzimáticas no manejo de nematoides.

Agradecimentos



Referências

- Braga, F. R.; Soares, F. E. F.; Giuberti, T. Z.; Lopes, A. D. C. G.; Lacerda, T.; Hollanda Ayupe, T.; Araújo, J. V., *Veterinary Parasitology*, **2015**, 212(3-4), 214-218.
- Castro, H. L. B.; Alves, J. C. D. S.; Gladenucci, J.; Marucci, R. C.; Soares, F. E. D. F., *Agriculture*, **2023**, 13(6), 1119.
- Legorreta-Castañeda, A. J.; Guerra-Sánchez, G.; García-Gutiérrez, K.; Olicón-Hernández, D. R., *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **2024**, 71(3), 536-552.
- López-Otín, C.; Bond, J. S., *Journal of Biological Chemistry*, **2008**, 283(45), 30433-30437.
- Ma, N.; Lv, H.; Boamah, S.; Zhang, S.; Xu, B., *Genes*, **2024**, 15(11), 1437.
- Njom, V. S.; Winks, T.; Diallo, O.; Lowe, A.; Behnke, J.; Dickman, M. J.; Duce, I.; Johnstone, I.; Buttle, D. J., *Parasites & Vectors*, **2021**, 14, 302.
- Silva-López, R. E. D., *Química Nova*, **2010**, 33, 1541-1548.