



## **Efeito dos metabólitos de *Photorhabdus* sp. na germinação de conídios de *Fusarium solani***

**Danielle Davi Rodrigues Gondim<sup>1</sup> (danielledrg@ufu.br); Jéssyca Gonçalves Duarte<sup>1</sup>; Natacha Salvador da Cunha<sup>1</sup>; Vanessa Andaló<sup>1</sup>; Bruno Sérgio Vieira<sup>1</sup>; Ana Carolina Silva Siquieroli<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, MG;

<sup>2</sup> Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, MG.

**RESUMO:** A fusariose tem causado sérios prejuízos em viveiros florestais e o controle biológico vem sendo uma alternativa promissora para seu controle. Em razão disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos metabólitos de *Photorhabdus* sp. sobre a germinação de conídios de *Fusarium solani*. Juvenis infectantes (JIs) de *Heterohabditis amazonensis* MC01 foram utilizados no isolamento da bactéria que foi cultivada em caldo nutriente por 36 horas em concentrações de 100%, 75%, 50%, 25%. Em seguida, foram adicionados a essas culturas 20 g de ágar/litro de meio e as mesmas foram autoclavadas (120 °C por 20 minutos). Os meios de cultura contendo os metabólitos nas diferentes concentrações foram vertidos em placas de Petri e a elas foram adicionados 100 µl de uma suspensão com  $2 \times 10^4$  conídios/mL. A avaliação foi realizada com 12 horas de incubação sendo contabilizados 100 conídios de cada tratamento, com 50% de comprimento de tubo germinativo. O experimento foi realizado com delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os resultados obtidos demonstraram que *Photorhabdus* é eficiente no controle de *Fusarium solani* e pode ser uma alternativa viável para o controle deste patógeno em condições de viveiro.

**Palavras-chave:** biocontrole, metabólitos secundários, fusariose.

### **INTRODUÇÃO**

O gênero *Fusarium* é um grupo vasto de fungos de solo, de difícil controle, que afetam mudas florestais em viveiros, provocando sintomas de pré e pós-emergência como a diminuição da germinação de sementes de coníferas, podridão de raiz e colo, murcha vascular e tombamento (MILANESI et al., 2013; WALKER et al., 2016).

Devido ao fato de patógenos deste gênero causar doenças que minimizam a produtividade florestal, ocasionando perdas econômicas significativas, têm-se buscado



controles pertinentes desses fungos em viveiros florestais. Nesse contexto, o controle biológico se apresenta como uma alternativa para o manejo.

Bactérias entomopatogênicas do gênero *Photorhabdu* spp. tornam-se atraentes para o controle de fitopatógenos, uma vez que produzem metabólitos secundários promissores no controle de fungos, como os derivados de estilbeno, antraquinona, genistina, furano e fenol (ELEFThERIANOS et al., 2007; CHALABAEV et al., 2008).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos metabólitos de *Photorhabdus* sobre a germinação de conídios de *Fusarium solani*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Juvenis infectantes (JI) pertencentes a espécie *Heterorhabditis amazonensis* MC01, provenientes do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, foram utilizados para o isolamento de *Photorhabdus* sp. Os JIs foram lavados com hipoclorito de sódio 1,5% (v/v) para esterilizar o seu exterior, posteriormente lavados em água estéril e colocados sobre placas de Petri contendo meio ágar nutriente (ágar; extrato de levedura; peptona e cloreto de sódio). Após incubação de aproximadamente 72 horas os JI morreram e permitiram a proliferação das bactérias com a formação de colônias isoladas.

Para avaliar o efeito dos metabólitos produzidos do isolado de *Photorhabdus* sp. na germinação de conídios de *F. solani*, pertencente à coleção de fungos do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFU, Campus Monte Carmelo, foi utilizado o extrato da bactéria cultivada em caldo-nutriente por 36 horas, nas concentrações de 100%; 75%; 50% e 25%. Em seguida, foi adicionado a essas culturas 20 g de ágar/litro de meio e as mesmas foram autoclavadas (120 °C por 20 minutos). Os meios de cultura contendo os metabólitos nas diferentes concentrações foram vertidos em placas de Petri de 9 cm. A testemunha consistiu de placas contendo apenas meio de cultura, sem adição dos metabólitos.

Posteriormente, foram preparadas suspensões de conídios dos fungos em concentrações ajustadas para  $2 \times 10^4$  conídios/mL. Alíquotas de 100 µl dessa suspensão foram pipetadas nas placas contendo o meio de cultura com os metabólitos. As placas foram mantidas em B.O.D., com fotoperíodo de 12 h, a  $25 \pm 2^\circ$  por 12 horas, sendo quatro tratamentos (100%; 75%; 50% e 25% de extrato) e um controle (0% de extrato).

Nas avaliações foram contados 100 conídios de cada tratamento, sendo considerados como conídios germinados somente aqueles que apresentaram comprimento do tubo germinativo correspondente a 50% ou mais do comprimento.



Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, considerando-se cada placa uma unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ). As médias foram comparadas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa estatístico SISVAR 5.6.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar a taxa de germinação de conídios de *F. solani* sobre os metabólitos de *Photorhabdus* sp., constatou-se que com 12 horas de incubação houve diferença significativa entre o controle e o tratamento na concentração de 100% (Tabela 1).

**Tabela 1.** Avaliação do efeito dos metabólitos de *Photorhabdus* sp. cultivada por 36 horas em caldo nutriente, sobre a germinação dos conídios de *F. solani* (média±DP), após doze horas de incubação.

Tratamento (%)	Médias (mL)
100	190.5±6.2 a1
75	316.1±6.2 a1a2
50	380.5±17.53 a1a2
25	390.5±18.39 a1a2
Controle	525.5±47.56 a2
Média <sup>1</sup>	319.4
C.V. (%) <sup>2</sup>	33.92

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância. <sup>1</sup> Média geral da germinação de conídios de *F. solani* sobre o efeito dos metabólitos de *Photorhabdus* sp., após doze horas de incubação. <sup>2</sup> Coeficiente de variação (%).

Os resultados do presente estudo com doze horas de incubação indicam o potencial patogênico dos metabólitos produzidos pela bactéria entomopatogênica contra *F. solani*, podendo ser utilizado como bio-fungicida natural contra fungos fitopatogênicos.

De acordo com Orozco et al. (2018) *Photorhabdus* sp. produz toxinas (Tc e Mcf) e metabólitos secundários (antimicrobianos, antraquinona,  $\beta$ -lactama carbapenêmico, 2-isopropil-5-(3-fenil-oxiranyl)-benzeno-1,3-diol e 3,5-dihidroxi-4-isopropil-estilbeno). Acredita-se que esses compostos são responsáveis pela inibição de agentes patogênicos fúngicos de plantas como *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Sclerotinia* e *Phytophthora*.



## CONCLUSÕES

Os metabólitos produzidos por *Photorhabdus* sp. demonstraram serem eficientes no controle de *F. solani* e pode ser uma alternativa viável para o controle deste patógeno em viveiros florestais.

## REFERÊNCIAS

CHALABAEV, S.; TURLIN, E.; BAY, S.; GANNEAU, C.; BRITO-FRAVALLO, E.; CHARLES, J. F.; DANCHIN, A.; BIVILLE, F. Cinnamic Acid, an Autoinducer of Its Own Biosynthesis, Is Processed via Hca Enzymes in *Photorhabdus luminescens*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 6, p.1717-1725, 1 fev. 2008.

ELEFThERIANOS, I.; BOUNDY, S.; JOYCE, S. A.; ASLAM, S.; MARSHALL, J. W.; COX, R. J.; SIMPSON, T. J.; CLARKE, D. J.; FFRENCH-CONSTANT, R. H.; REYNOLDS, S. E. An antibiotic produced by an insect-pathogenic bacterium suppresses host defenses through phenoloxidase inhibition. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 7, p.2419-2424, 6 fev. 2007.

MILANESI, P. M.; BLUME, E.; ANTONIOLI, Z. I.; MUNIZ, M. F. B.; SANTOS, R. F. dos; FINGER, G.; DURIGON, M. R. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Rev. de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 36, n. 3, p.347-356, jul. 2013.

OROZCO, J. G. C.; LEITE, L. G.; CUSTÓDIO, B. C.; SILVA, R. S. A. da; CASTELIANI, A. G. B.; TRAVAGLINI, R. V. Inhibition of symbiote fungus of the leaf cutter ant *Atta sexdens* by secondary metabolites from the bacterium *Xenorhabdus szentirmaii* associated with entomopathogenic nematodes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 85, p.1-1, 14 nov. 2018.

WALKER, C.; MACIEL, C. G.; MILANESI, P. M.; MUNIZ, M. F. B.; MEZZOMO, R.; POLLET, C. S. Caracterização Morfológica, Molecular e Patogenicidade de *Fusarium acuminatum* e *Fusarium verticillioides* a *Cordia americana*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p.463-473, 20 jun. 2016.