BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE *Pseudomonas* spp. FRENTE AO FITOPATÓGENO *Sclerotinia sclerotiorum*

Alexia de Oliveira (PIBIC/ /UEPG/FA), Caroline Rosa Silva, Paola Pereira Constantin, Juliane Gabriele Martins, Janaina Emiliano, Flávio Luís Beltrame, Sônia Alvim Veiga Pileggi (Orientador), e-mail: savpileggi@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética.

2.10.00.00-9 Microbiologia; 2.12.02.00-1 Microbiologia Aplicada.

Palavras-Chave: *Controle biológico, antagonismo, mofo-branco.*

Resumo

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é o agente causador do mofo-branco, uma doença que acomete muitas espécies de plantas em todo o mundo, causando grandes prejuízos econômicos. Este fungo pode formar estruturas de resistência, chamadas escleródios, que persistem por anos no solo, até germinarem. Por este motivo, o controle desta doença se torna difícil, fazendo com que as aplicações de fungicidas sejam mais frequentes e em maiores concentrações. O controle biológico tem sido uma boa alternativa ao uso dos agentes químicos. *Pseudomonas* spp. é uma rizobactéria eficaz no controle biológico por produzir metabólitos secundários como antimicrobianos. Este trabalho objetivou a obtenção de extratos de *Pseudomonas* spp., contendo compostos com atividade antifúngica frente a *S. sclerotiorum*, que poderão ser empregados em pesquisas futuras em programas de controle biológico.

Introdução

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é um fungo filamentoso cosmopolita, causador da doença mofo-branco, que é veiculada pelo solo, com uma ampla gama de plantas hospedeiras (BOLTON et al., 2006; KABBAGE et al., 2015). As características da doença são o desenvolvimento de micélio branco, em caule e frutos, e a formação de escleródios. O uso intensivo de fungicidas tem aumentado a frequência e distribuição de isolados fúngicos resistentes. O controle biológico tem sido considerado uma boa alternativa, como demonstram estudos preliminares *in vitro* com *Pseudomonas* sp., eficaz na inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (SAVCHUK e FERNANDO, 2004). O gênero *Pseudomonas* pode suprimir fungos patogênicos e essa capacidade está nos seus metabólitos secundários (GOSWAMI et al., 2015).

Material e Métodos

Foram utilizadas linhagens bacterianas do gênero *Pseudomonas* spp. do Laboratório de Microbiologia Ambiental da UEPG, anteriormente inibidoras da linhagem do fungo *S. sclerotiorum*. Para a obtenção dos extratos bacterianos com o solvente acetato de etila, a bactéria foi inoculada em 250mL de caldo nutriente (CN, peptona 2 g/L, extrato de carne 1,2 g/L), incubando-se a 30ºC no escuro durante 7 dias em aeração constante. A cultura foi centrifugada a 10.000g, a 4ºC, por 20 min., e o sobrenadante transferido para um funil de separação, adicionando-se o acetato de etila na proporção 1:3 (250mL de sobrenadante para 750mL de solvente), por três vezes; a fração orgânica foi concentrada em rotaevaporador até a quase evaporação total. A atividade antifúngica do extrato foi determinada pela técnica de difusão em agar, usando a fração bruta e cada fração separada em CLV, nas concentrações 125, 250, 500, 750 e 1000µg/10µL; como controle foram utilizados discos com apenas solvente acetato de etila; em placas de BDA foram inoculadas ao centro discos de BDA contendo micélio crescido de *S. sclerotiorum* e em extremidades opostas os dois discos de papel filtro estéreis 9mm por placa, um contendo o solvente e o outro 10µL de extrato; o crescimento fúngico foi medido em mm diariamente, em triplicata.

Resultados e Discussão

A linhagem Ps1 do gênero *Pseudomonas* foi testada e os extratos não mostraram inibição antifúngica significativa no crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Nos testes com as concentrações 125µL, 250µL, 750µL e 1000µL observou-se que o fungo cresceu na mesma proporção que a placa de controle; já a concentração de 500µL cresceu menos que a placa de controle, porém não se pode afirmar que essa diferença foi significativa.

Conclusão

Verificou-se que o extrato dos metabólitos secundários da linhagem Ps1 de *Pseudomonas* spp. apresentou inibição, porém estatisticamente não significativa, no crescimento micelial do fungo *S. sclerotiorum*.

Agradecimentos

Ao PIBIC/UEPG/FA, pela bolsa concedida.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

GOSWAMI, D. et al. Antifungal properties of rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* DS9 against *Colletotrichum falcatum*. **Journal of Basic Microbiology**, v. 55, p. 1265-1274, 2015.

KABBAGE, M.; YARDEN, O.; DICKMAN, M. B. Pathogenic attributes of *Sclerotinia sclerotiorum*: Switching from a biotrophic to necrotrophic lifestyle. **Plant Science**, v. 233, p. 53-60, 2015.

SAVCHUK, S.; FERNANDO, W. G. D. Effect of timing of application and population dynamics on the degree of biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by bacterial antagonists. **FEMS Microbiology Ecology**, v- 49, n. 3, p. 379-388, 2004.