VII EAITI 2017 Encontro Anual de Iniciação Tecnológica e Inovação
Universidade Estadual de Ponta Grossa | 09 e 10 de novembro de 2017

# POTENCIAL ANTAGONISTA DE LEVEDURAS ISOLADAS DE SOLO E DE MILHO NO BIOCONTROLE DO FUNGO *ASPERGILLUS OCHRACEUS*.

Ana Beatriz de Almeida Gomes (PIBITI/CNPq /Universidade Estadual de Londrina), Danielle Cardoso Gimenes (Doutorado em Biotecnologia/CAPES/Universidade Estadual de Londrina), Elisabete Yurie Sataqaue Ono (Orientadora), eysono@uel.br

Universidade Estadual de Londrina/Departamento de Bioquímica e Biotecnologia.

**Bioquímica dos microrganismos**

Palavras Chave: *Aspergillus ochraceus, leveduras, biocontrole, Ocratoxina A, café.*

## Resumo

Neste trabalho foi analisado o antagonismo de leveduras isoladas de solo e milho contra 3 cepas de *A. ochraceus*. Entre as leveduras analisadas, cinco isolados apresentaram potencial antagonista não associado ao fator "killer", sendo a antibiose, que é caracterizada como a produção de compostos extracelulares bioativos, o mecanismo de ação predominante.

## Introdução

Alguns fungos filamentosos produzem metabólitos secundários tóxicos, as micotoxinas, que podem contaminar grãos e cereais, principalmente em países de clima tropical. As mais frequentes em alimentos são aflatoxinas, ocratoxina A (OTA), tricotecenos, fumonisinas e zearalenona. Um dos principais fungos produtores de OTA é o *Aspergillus ochraceus* que contamina principalmente grãos de café, cacau e uvas.

As leveduras apresentam características que as tornam promissoras para utilização como agentes de biocontrole e como um método alternativo vantajoso, cujo mecanismo baseia-se na competição por nutrientes, antibiose e no fator "killer"[1].

## Material e Métodos

Foram utilizadas 3 cepas do fungo *A. ochraceus*, que foram cultivadas em ágar batata dextrose (BDA) a 25ºC e o inóculo padronizado em $10^6$ esporos/mL. As características antagônicas foram avaliadas utilizando 28 leveduras, isoladas de solo, milho verde e gérmen de milho.

O nível de sensibilidade destas cepas à ação das leveduras foi analisado por meio de uma triagem preliminar *in vitro*, onde foram selecionadas as leveduras que apresentaram potencial de inibição. Cinco isolados de leveduras com características antagônicas foram selecionados, padronizados em $10^6$ e $10^7$ UFC/mL e semeados em profundidade em ágar YPD. Estas placas foram inoculadas no centro com discos de ágar contendo esporos de *A. ochraceus* e foi calculada a taxa de inibição do crescimento fúngico através da equação:

$$\text{Taxa de inibição (\%)} = \frac{D_0 - Dn}{D_0} x\ 100\%$$

Do = diâmetro da colônia controle (mm) e Dn = diâmetro da colônia do tratamento (mm).

Para o teste do fator Killer, as leveduras antagonistas foram inoculadas com leveduras padrão sensíveis ao fator killer e observada a formação de halo de inibição.

## Resultados Obtidos

Cinco dos 28 isolados de leveduras apresentaram algum tipo de antagonismo às 3 cepas de *A. ochraceus* analisadas. A principal ação antagonista foi a antibiose, caracterizada pela formação de uma zona clara ao redor das colônias de leveduras sem o desenvolvimento de massa celular.

As leveduras foram capazes de inibir, satisfatoriamente, o crescimento de *A. ochraceus* com taxa de inibição entre 60-100% variando entre espécies de leveduras e cepas fúngicas analisadas, sendo que a maior ação antagonista foi observada quando as leveduras foram inoculadas na concentração de $10^7$ UFC/mL para todos os tratamentos.

A ação antagônica por antibiose, considerada predominante, e as altas taxas de inibição do crescimento fúngico indicam que o efeito antagonista apresentado por essas leveduras é possivelmente devido à produção de compostos extracelulares bioativos, mas não associado ao fator Killer.

## Conclusão

As leveduras isoladas de solo e milho apresentaram potencial antagônico às três cepas de *A. ochraceus* analisadas. A atividade antagônica predominante dessas leveduras é possivelmente devido à produção de compostos extracelulares bioativos com propriedades antifúngicas. A aplicação desta técnica de biocontrole utilizando leveduras é especialmente interessante para a redução da contaminação por *A. ochraceus*, uma vez que o estado do Paraná é grande produtor e exportador de café e a minimização de fungos filamentosos potencialmente toxigênicos e de micotoxinas é condição prioritária para que o café brasileiro assuma o primeiro lugar nas exportações dessa commodity.

## Agradecimentos

Fundação Araucária, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa de iniciação científica, doutorado e produtividade.

[1] Coelho, A.R.; Nóbrega, G.M.A.; Pagnocca, F.C.; Hoffmann, F.L.; Harada, K.; Hirooka, E.Y. Evaluation of potential antagonistism in yeasts, seeking biocontrol of spoilage by *Penicillium expansum.* **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1879-1892, 2011.