

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA SECREÇÃO CUTÂNEA DE *Phyllomedusa iheringii* EM ESPÉCIMES FÚNGICAS DO GÊNERO *Colletotrichum*

Andriéli Bacega, bolsista Pró-IC, discente de graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel
Yuri Correia Barreto, mestre em Ciências Biológicas pelo PPGCB, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel
Eduarda Nunes Palomeque, discente de graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel
Rafael Londero de Oliveira, discente de graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel
Lucia Helena do Canto Vinade, docente, Universidade Federal do Pampa
Velci Queiróz de Souza, docente, Universidade Federal do Pampa

andrielibacega.aluno@unipampa.edu.br

A antracnose é uma doença provocada por fungos do gênero *Colletotrichum*, comumente encontrados em regiões tropicais e subtropicais, tornou-se conhecida por afetar diversos cultivos e causar podridão em diferentes partes da planta, levando à diminuição na produção de grãos e frutos. Uma cultura que vem sendo bastante prejudicada com fungos fitopatogênicos é a de noz-pecã (*Carya illinoensis*), que se destaca comercialmente no estado no Rio Grande do Sul, sendo o responsável por mais de 70% da produção nacional da noz-pecã, contendo sete mil hectares cultivados. Por conta disso, faz-se necessário estudos sobre o desenvolvimento do fungo e por fungicidas capazes de combater a antracnose e outras doenças de origem fúngicas, gerando crescimento e prosperidade no manejo. A utilização em larga escala de agroquímicos comerciais é apontada, em diversos estudos, como contribuidores na diminuição da população de polinizadores, causando toxicidade ao afetar o sistema nervoso desses insetos. Além disso, a contaminação de corpos hídricos e outras plantas também é associada a estes fungicidas. Uma alternativa para reverter esse cenário é o uso de compostos de origem natural, conhecidos por terem propriedades antimicrobianas. Um exemplo conhecido é o veneno de anuros, o qual é secretado nas glândulas paratoides e/ou pele desses animais com a função de manutenção da umidade e pH da pele (os protegendo contra o crescimento de microrganismos que possam prejudicá-los), além de conter substâncias tóxicas, como peptídeos ativos, alcaloides e esteroides. Os anuros da família *Phyllomedusidae* são conhecidos na natureza pelos efeitos fisiológicos que a secreção cutânea causa quando em contato com a pele, tendo mais de 42 espécies conhecidas até então, que se distribuem por todo o país. A *Phyllomedusa iheringii* é uma espécie de perereca exclusivamente encontrada no Bioma Pampa e ainda não foram desenvolvidos estudos relacionados aos efeitos da secreção cutânea em modelos biológicos fúngicos, apenas dados em relação a características filogenéticas da espécie. O veneno dos exemplares de *Phyllomedusidae* é composto por vários ativos peptídicos com uma vasta linha de aplicações, incluindo ações antiparasitárias, antimicrobianas, inseticidas e antitumorais. O objetivo desse trabalho foi testar o potencial antimicrobiano de uma dose concentrada do veneno do anuro gênero *Phyllomedusa iheringii* contra diferentes espécies de fungos patogênicos causadores de antracnose coletados de cultivares de noz-pecã. Os espécimes de *P. iheringii* adultos (n = 12 - machos e fêmeas) foram obtidos na região de São Sepé e Santa Maria, RS, Brasil e a coleta da secreção cutânea foi realizada por compressão manual do corpo do animal e

estímulo elétrico pulsado (6 V; 4 ms; 50 Hz). A secreção foi lavada com água deionizada e então, liofilizada. As quatro espécies do gênero *Colletotrichum* foram coletados em cultivares de noz-pecã (*Carya illinoensis*) em diferentes cidades do estado do RS, *C. nymphaeae* (SAJ2) em São Jorge, *C. kahawae* (PIB1) em Pinto Bandeira, *C. fiorinae* (SAS) em São Sepe e *C. karstii* (FAR2) em Farroupilha. Os fungos foram mantidos em ambiente controlado a 25 °C, em placas de Petri e nutridos com meio BDA, realizando repicagens contínuas. A ação antimicrobiana do veneno foi avaliada através do teste de disco-difusão em meio BDA, baseado em protocolo já estabelecido, com adaptações. Discos de papel filtro 6 mm de diâmetros esterilizados foram embebidos com 10 μ da amostra (veneno bruto liofilizado ressuspendido em água miliQ) na concentração de 12 mg/mL. Quatro discos de papel filtro foram posicionados equidistantes na placa com meio solidificado, e em seguida, inserido o disco de micélio de aproximadamente 8 mm de diâmetro, originado na repicagem, no centro da placa. As placas controle foram embebidas com 10 μ de água miliQ. Em seguida, todas as placas foram lacradas com parafilme e incubadas em câmara BOD, escuro a ± 25 °C por sete dias. Por conta da disposição dos discos de papel filtro, houve notáveis modificações morfológicas na distribuição micelial dos fungos na placa de Petri, porém, o veneno incorporado não surtiu efeito contra a parede celular do micélio, onde pode-se observar o seu crescimento sob o disco. As propriedades antimicrobianas contidas na secreção cutânea, mesmo em alta concentração, não foram capazes de promover um efeito fungistático ou fungicida no organismo alvo, sendo necessários maiores estudos em relação a viabilidade dos compostos proteicos antimicrobianos na amostra liofilizada, além de novos testes abordando diferentes doses do composto. A realização destes experimentos propusera uma nova possibilidade do uso dos compostos secretados de anuros a fim de solucionar problemas ambientais e econômicos de forma sustentável, explorando os potenciais biotecnológicos para o desenvolvimento de novos produtos, substituindo agroquímicos agressivos e aprimorando a técnica utilizada.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERGS, PROPPI e UNIPAMPA.

Palavras-chave: Fitopatogênico; Antracnose; Anuro; Veneno; Disco-difusão.