

Purificação de Metabólitos Ativos Contra *Meloidogyne exigua* Goeldi Produzidos por *Xenorhabdus* sp.

Ney Robson T. Prado (IC)¹, Alexandre S. Nunes (PG)¹, Hudson W. P. Carvalho (IC)¹, Cleber Maximiliano (PG)², Vanessa Andaló (PG)³, Vicente P. Campos (PQ)², Denilson F. Oliveira (PQ)^{1*}.
(denilson@ufla.br)

¹ Departamento de Química-UFLA, ² Departamento de Fitopatologia - UFLA, ³ Departamento de Entomologia - UFLA.

Palavras Chave: Nematóides, bactéria, Purificação.

Introdução

O Brasil destaca-se como um dos principais produtores mundiais de café, com mais 2,99 milhões de hectares plantados¹. Um dos grandes problemas da cafeicultura é o ataque de fitonematóides às raízes do cafeeiro, que chega a causar perdas da ordem de R\$ 1 bilhão por ano³.

Destaca-se aqui *Meloidogyne exigua* Goeldi, que é a espécie mais disseminada nos cafezais brasileiros². Tal parasita é responsável pelo engrossamento anormal dos tecidos radiculares, que promove deficiências nutricionais e consequente queda na produtividade.

Atualmente o controle do referido parasita é feito por produtos de alta toxicidade e baixa eficiência. Com vistas a contribuir para o desenvolvimento de novas substâncias com propriedades nematocidas, buscou-se neste trabalho isolar as substâncias ativas contra nematóides, produzidas pela bactéria *Xenorhabdus* sp., que foi selecionada em estudo anterior, durante o qual se mostrou produtora de substância nematocida⁴.

Resultados e Discussão

Inicialmente, juvenis do nematóide *Steinernema riobrave*, infectados com a entomobactéria *Xenorhabdus* sp., foram colocados com lagatas de *Galleria mellonella*, seu hospedeiro. Ao final de 72 horas, as lagatas mortas foram removidas e armazenadas em câmara de incubação a 25 °C, por um período de 96 horas. Em cada placa de Petri foi colocada uma lagarta de *G. mellonella* infectada com a mencionada entomobactéria. A lagarta foi aberta com um corte longitudinal e, em seguida, foram adicionados 2 mL de água destilada à placa de Petri, que foi fechada e vedada com filme de PVC e colocada em câmara de incubação a 25 °C. Após 96 horas foi recolhido o conteúdo líquido da placa, obtendo-se assim a cultura bacteriana da hemolinfa, diluída em 2 mL de água destilada, que foi filtrada e liofilizada. O resíduo obtido foi sucessivamente lavado com hexano, AcOEt, MeOH e H₂O. Alíquotas das frações obtidas foram solubilizadas em solução aquosa de Tween 80 a 1 % (g/mL), para serem submetidas a teste com juvenis do segundo estágio (J2) de *M. exigua*. Para a realização dos testes, 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

colocaram-se 20 µL de suspensão aquosa contendo aproximadamente 20 J2, 100 µL da solução a ser avaliada e 30 µL de pentabiótico a 3000 ppm (g/mL) em cavidades de 300 µL de placas Elisa. Após 24 horas contaram-se os J2 vivos e mortos. Os experimentos foram realizados com 6 repetições, empregando-se Tween 80 a 1% como testemunha negativa.

A maior taxa de mortalidade de J2 foi observada para a fração metanólica, que foi submetida a fracionamento por cromatografia em coluna de sílica gel, monitorado por testes com J2. A fração mais ativa foi fracionada em resina Amberlite XAD-16, o que permitiu a obtenção de uma única fração ativa. Segundo análise em espectrômetro de massas acoplado a cromatógrafo líquido de alta eficiência por uma interface de ionização do tipo *electrospray*, os principais componentes de tal amostra tinham massas moleculares iguais a 117, 131 e 156. Tais valores parecem corresponder aos aminoácidos valina, leucina (e/ou isoleucina) e histidina, respectivamente. Análise da fração por cromatografia em camada fina com ninidrina como revelador corroborou tal resultado. Ademais, experimentos com substâncias puras, provenientes de fontes comerciais, permitiram observar que os mencionados aminoácidos possuem atividade contra J2 de *M. exigua*. Novos estudos serão realizados para averiguar se a atividade nematocida da fração obtida é realmente devida à presença desses aminoácidos.

Conclusões

O fracionamento dos metabólitos produzidos por *Xenorhabdus* sp., direcionado por testes *in vitro* com J2 de *M. exigua*, permitiu a obtenção de uma fração com atividade nematocida que, segundo análises preliminares, pode ter como componentes principais os aminoácidos valina, histidina, leucina e/ou isoleucina.

¹ Min. da Agricultura, site <http://www.agricultura.gov.br>, consultado em 10 de janeiro de 2006.

² Kimati, H....[et al]. Manual de fitopatologia. 3º Ed., Agron. Ceres, São Paulo, 1997, 197.

³ Santos, J. M. Fatos e efeitos relevantes na história da nematologia do Brasil e principais desafios para o início do novo século. XX Congresso Brasileiro de Nematologia. 2000.

⁴ Trabalho aguardando publicação.