

Atividade de protease durante a interação entre *Cladosporium* sp. e os principais patógenos fúngicos do arroz

Amanda Abdallah Chaibub¹, Thatyenne Pereira de Sousa², Leila Garcês de Araujo³, Marta Cristina Corsi de Filippi⁴

O arroz é afetado por diversas doenças durante seu desenvolvimento, dentre elas a brusone (*Magnaporthe oryzae*); mancha parda (*Cochliobolus miyabeanus*); queima da bainha (*Rhizoctonia solani*); escaldadura (*Monographella albescens*); e podridão da bainha (*Sarocladium oryzae*). Por causar perdas na produtividade de até 100% da cultura, o controle das doenças fúngicas é realizado através da aplicação de fungicidas, muitas vezes abusiva, colocando em risco a qualidade do produto, o meio ambiente e a segurança alimentar. *Cladosporium* sp. é um gênero de fungo habitante natural do filoplano do arroz e de outras espécies vegetais e já foi relatado como agente de controle biológico para diversas pragas e doenças. O papel da protease no controle biológico de fungos patogênicos já foi demonstrado e também supõe-se que possa ser importante na capacidade saprofítica e competitiva de isolados potenciais. O objetivo do trabalho foi quantificar a atividade de protease durante a interação entre este agente biológico (*Cladosporium* sp.) e os principais patógenos fúngicos do arroz. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com três repetições e vinte tratamentos que consistiram no cultivo dos cinco patógenos (*M. oryzae*; *C. miyabeanus*; *R. solani*; *M. albescens* e *S. oryzae*) com quatro isolados de *Cladosporium* sp. (C1, C5G, C11G e C24). Os dados foram analisados por análise de variância no programa SPSS (versão 18.0) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A detecção da atividade de protease foi realizada a partir do cultivo em meio sólido BDA por sete dias dos quatro isolados de *Cladosporium* sp. que mais se destacaram em ensaios anteriores (dados não mostrados), posteriormente obteve-se 1 mL de uma suspensão a 10^6 conídios mL⁻¹ e estas foram inoculadas em 25 mL de meio mínimo TLE, suplementado com a parede celular macerada e liofilizada (0,5%) dos patógenos, como fonte de carbono e nitrogênio. Durante o cultivo do *Cladosporium* sp. neste meio de cultura, foram realizadas coletas às 24h, 48h, 72h e 96h após a incubação. A atividade de protease foi determinada usando azocaseína como substrato e a quantificação da enzima determinada em espectrofotômetro a 450 nm. Observou-se que todos os isolados testados em algum dos momentos da coleta apresentaram atividade. O isolado C1 destacou-se quando cultivado com a parede de *M. oryzae* às 24h, 48h e 72h (0,021 U mg⁻¹), com a parede de *S. oryzae* às 96h (0,008 U mg⁻¹) e com *R. solani* às 72h (0,016 U mg⁻¹) e 96h (0,016 U mg⁻¹). Com o isolado C5G, a maior atividade de protease foi quando cultivado com a parede de *S. oryzae* (0,012 U mg⁻¹) às 24h e 48h. O isolado C11G destacou-se quando cultivado com a parede de *M. albescens* às 72h (0,011 U mg⁻¹) e com a parede de *R. solani* às 24h e 48h (0,005 U mg⁻¹). A maior atividade de protease pelo isolado C24 ocorreu quando cultivado com a parede de *C. miyabeanus* às 24h, 48h (0,064 U mg⁻¹) e às 96h (0,005 U mg⁻¹); também destacando-se às 96h na presença da parede de *M. oryzae* (0,01 U mg⁻¹). Houve produção de protease pelos isolados de *Cladosporium* sp., quando em contato com a parede dos patógenos, mostrando que pode este bioagente ser utilizado e estudado como um agente biológico em potencial, sendo que um comum processo de antagonismo envolve a degradação da parede celular do patógeno por enzimas líticas produzidas pelo antagonista e, tem sido afirmado que as enzimas líticas e os genes que as codificam podem ser úteis para produzir microrganismos transgênicos com maior capacidade antagonista e o desenvolvimento de plantas transgênicas com resistência elevada aos agentes patogênicos.

¹ Bióloga, Estudante de Pós-graduação em Fitopatologia (Doutorado), Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF, amandachaibub@gmail.com

² Engenheira-agrônoma, estudante de Pós-graduação em Fitossanidade (Doutorado), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, thatyane_@hotmail.com

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, lellagarcesaraujo@embrapa.br

⁴ Engenheira-agrônoma, Ph.D. em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, cristina.filippi@embrapa.br