



Estudo do metabolismo secundário de fungos fitopatogênicos de citros

Rodrigo S. Ribeiro*, Taícia P. Fill

Resumo

Metabólitos secundários são compostos que não são essenciais ao desenvolvimento ou reprodução do organismo sendo, portanto, um resultado da adaptação deste micro-organismo. Estudos preliminares de derreplicação via LC-MS evidenciaram a produção de metabólitos secundários comuns aos diferentes fitopatógenos de citros (*Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* e *Geothricum candidum*). Tais metabólitos foram purificados e caracterizados no presente trabalho. Assim, verificam-se a produção de dicetopiperazinas e alguns alcaloides triptoquivalínicos.

Palavras-chave:

Penicillium digitatum, citros, metabólitos bioativos

Introdução

O Brasil é o maior produtor e exportador de citros no mundo e, portanto, a citricultura representa uma importante parcela da economia brasileira. Devido ao seu elevado teor de água e da complexa composição de nutrientes, os citrinos são suscetíveis a uma série de doenças que causam prejuízos significativos ao setor, em especial as doenças no pós-colheita e armazenamento dos frutos. As doenças pós-colheita mais comuns e mais graves são as podridões causadas, pelos fungos *Penicillium digitatum* e *Penicillium italicum*. A porcentagem de frutos cítricos com podridões que ocorrem em uma safra varia de 3 a 6%¹, entretanto, sob condições favoráveis aos fitopatógenos perdas consideráveis no pós-colheita podem ocorrer, atingindo 50% no período de comercialização de laranja².

As pesquisas envolvendo os fitopatógenos pós-colheita de citros focam principalmente no tratamento dos sintomas da infecção, entretanto as bases moleculares da infecção ainda não são estudadas, assim como, as vias metabólicas e os metabólitos secundários produzidos *in vivo* pelos fitopatógenos. Dessa maneira, se torna imprescindível, portanto o estudo detalhado das interações que ocorrem entre os fitopatógenos e o seu hospedeiro citros.

Resultados e Discussão

Inicialmente, foram realizados estudos preliminares de derreplicação dos três microorganismos fitopatógenos. Para isso, os fungos foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Agar) e após 7 dias de cultivo, os extratos foram obtidos a partir da extração com acetato de etila e submetidos à análises via HPLC-HRMS (cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução). As análises indicaram alguns metabólitos secundários produzidos pelas três espécies de fitopatógenos estudadas, conforme observado na Figura 1.

Os três micro-organismos foram cultivados em larga escala em meio de cultura otimizado e os extratos contendo os metabólitos de interesse foram obtidos. Os estudos de purificação foram iniciados utilizando técnicas de cromatografia líquida clássica e HPLC em escala preparativa.

Alguns compostos puderam ser isolados e caracterizados por espectrometria de massas, entre estes, diferentes dicetopiperazinas e alguns alcaloides triptoquivalínicos, como as triptoquialaninas A e B

(produzidas por *P. digitatum*). As estruturas moleculares dos compostos purificados são indicadas abaixo.

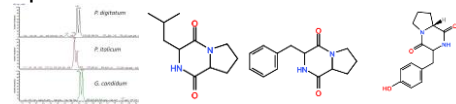


Figura 1. A) Cromatograma de íons extraídos m/z 211 para os três fungos em estudo respectivamente. B) Estrutura molecular da dicetopiperazina Ciclo(L-leucil-L-prolil), L-fenilalanil-L-prolil e L-prolil-L-tirosil respectivamente.

Nota-se pelo cromatograma A da Figura 1 um íon com m/z 211 produzidos pelos 3 diferentes fitopatógenos. A partir do espectro de massas para tal composto obtém-se uma massa exata de 211,1443 sugerindo a produção da dicetopiperazina Ciclo(L-leucil-L-prolil) anexada na Figura 1 B acima. Outras dicetopiperazinas também foram detectadas e são comuns aos 3 micro-organismos, tais como Ciclo (L-fenilalanil-L-prolil) da Figura 1 C de m/z 245 e o ciclo (L-prolil-L-tirosil) (Figura 1 D). Outros compostos detectados nos extratos do fungo *P. digitatum* são as triptoquialaninas A e B:

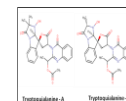


Figura 2. A) Estrutura do alcalóide Triptoquialanina A. B) Estrutura do alcalóide Triptoquialanina B.

Tais resultados evidenciam a habilidade de diferentes fitopatógenos produzirem metabólitos a partir de vias metabólicas semelhantes. Próximas etapas incluirão a separação escalonada para escala preparativa dos outros metabólitos detectados e o estudo da fitotoxicidade dos metabólitos isolados.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos anteriormente pode-se observar que o estudo das interações patógeno e planta são viáveis à partir do estudo minucioso do metabolismo secundário. É possível observar que existem metabólitos secundários em comum produzidos pelas três espécies de fungos fitopatógenos, indicando vias metabólicas em comum.

Agradecimentos



¹Palou L, Usall J, Pons J, Cerdà MC, V *Micoflora em ceïnas Intrales citrícolas de Tarragona*. Revista Investigación Agraria: Production Protección Vegetal 16:447-462.

²Eckert JW (1993) Post-harvest diseases of citrus fruits. Agriculture Outlook 54:225-232. Eckert JW, Eaks IL (1989) Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: Reuter W, Calavan EC, Carman GE (Eds.) The Citrus Industry. Vol. 5. Berkeley. University of California Press.