AVALIAÇÃO *IN VITRO* DOS EFEITOS DAS VESÍCULAS EXTRACELULARES DE BIOFILME DE *FUSARIUM OXYSPORUM*

Gabriela Guastala Englerth (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Deisiany Gomes Ferreira (Co-orientadora), Melyssa Fernanda Norman Negri (Orientador). E-mail: ra134487@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Microbiologia/ Biologia e Fisiologia dos Microrganismos/ Micologia.

Palavras-chave: *Candida albicans*; Virulência; Levedura.

RESUMO

Fusarium oxysporum é um agente patogênico relevante na agronomia e na saúde humana, podendo causar infecções superficiais a sistêmicas em indivíduos suscetíveis. Atuantes na comunicação celular do biofilme fúngico, as vesículas extracelulares (VEs) são nanopartículas ativas no transporte de compostos biológicos. Diante disso, o objetivo do estudo foi avaliar o impacto das VEs do biofilme de *F. oxysporum* sobre *F. oxysporum* e *C. albicans*. Foi realizada a extração de vesículas do biofilme de 48 h de *F. oxysporum*, e analisou-se a influência dessas VEs sobre o crescimento de *F. oxysporum* e sobre as células de *F. oxysporum* e de *Candida albica*ns. Os resultados indicaram que as VEs têm influência direta sobre o crescimento de *F. oxysporum e* sobre a morfologia de *C. albicans*.

INTRODUÇÃO

Fusarium oxysporum vem sendo estudado em diversos campos, como a agronomia, por ser um fitopatógeno de grande impacto na produção agrícola (SOUZA et al., 2008). Na saúde humana, é responsável pela fusariose humana, variando de micoses superficiais, como onicomicoses, a micoses sistêmicas em indivíduos imunocomprometidos (FERREIRA, NEGRI, 2025).

As vesículas extracelulares (VEs) vem sendo mais estudadas devido à sua participação direta na comunicação entre as células do biofilme fúngico (REIS et al., 2019). VEs são cruciais na patogênese, facilitando a difusão e evasão do sistema imune, atuando significativamente na regulação da morfogênese de levedura para hifa e na consolidação do biofilme de *Candida albicans* (PIRAINE et al., 2026). Sendo assim, esse estudo visa avaliar os efeitos de VEs em contato com *F. oxysporum e C. albicans.*

MATERIAIS E MÉTODOS

Isolado
Foi utilizado *F. oxysporum* (CMRP2925), depositado nas Coleções microbianas do Paraná Network-TAX on-line .

Formação de biofilme e extração de vesículas extracelulares
Para a formação do biofilme, o protocolo foi realizado conforme Ferreira *et al*. (2025), com algumas modificações. Utilizamos um inóculo de 1 x 10^7 conídios/10 mL em garrafas de cultura celular, sob agitação a 120 rpm por 48 h a 30 °C. O processo de isolamento de VEs provenientes do sobrenadante e da matriz do biofilme foi realizado conforme Ferreira *et al.* (2025).

Análise da influência das VEs sobre o crescimento de F. oxysporum
Seguiu-se o protocolo de Montaug et al. (2025), com modificações. Foi realizada uma suspensão de 1 x 10^3 conídios/mL, em contato com 250 µg/mL de VEs extraídas do sobrenadante e da matriz do biofilme de *F. oxysporum*. O controle positivo foi realizado somente com o fungo em meio RPMI, e o controle negativo foi o meio RPMI. Cultivado a 25 °C em placas de SDA, em duplicata. Por fim, o crescimento micelial foi quantificado pela medição do diâmetro e do aspecto das colônias após 14 dias.

Análise da influência das VEs sobre a morfologia da célula fúngica
A avaliação das alterações morfológicas causadas pelas VEs (do sobrenadante e da matriz do biofilme de *F. oxysporum*) sobre *F. oxysporum* e *C. albicans* foi realizada conforme Montaug et al. (2025), com algumas modificações. Foi preparado um inóculo na concentração de 1x10^3 conídios/mL em RPMI e, em seguida, foi incubado com 250 µg/mL de VEs durante 24 h. A análise microscópica consistiu na visualização e quantificação dos macroconídios, microconídios e hifas em *F. oxysporum,* e dos conídios, hifas e brotamentos em *C. albicans*. Os dados foram submetidos à análise estatística One-way Anova e considerados significativos com $p < 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As colônias em contato com VEs apresentaram aspecto diferente em relação ao controle. Essa diferença é observada principalmente no 14º dia de incubação (figura 1). Independende da origem das VEs (sobrenadante ou matriz) foi observado perda da coloração arroxeada, começando pelo centro e estendendo-se às bordas (figura 1: 2A e 2B; 3A e 3B), em comparação com o controle (figura 1: 1A e 1B). Isso pode estar relacionado à ação inibitória das VEs na formação do tubo germinativo, atuando na regulação das fases iniciais do crescimento fúngico (MONTAUNG et al., 2025). Além do mais, há conhecimento de que essas estruturas extracelulares podem ter influências no crescimento e na morfologia até o 14º dia de incubação

(MONTAUG et al., 2025), sendo possíveis inibidores do crescimento micelial de *F. oxysporum*.

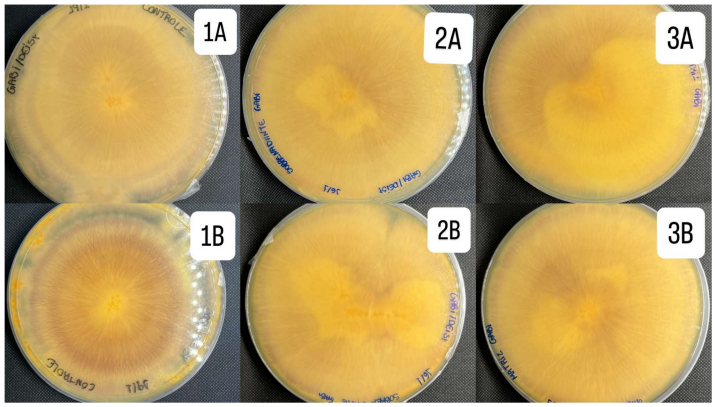


Figura 1 - Análise macroscópica da colônia de *Fusarium oxysporum* em contato com as vesículas extracelulares (VEs) após 14 dias de incubação. 1A e 1B: controle com 14 dias. 2A e 2B: inóculo com VEs do sobrenadante. 3A e 3B: Inóculo com VEs da matriz.

Em relação à análise microscópica, *C. albicans* em contato com as VEs, apresentou significamente ($p < 0,05$) maior produção de hifas e brotamento (figura 2). Esse aumento de estruturas pode estar relacionado com uma das principais funções das VEs, que é a troca de informações, crescimento, transições morfológicas e virulência (PIRAINE et al., 2026). Com isso, novas informações obtidas pelas VEs do biofilme de *F. oxysporum* mostram-se como possíveis indutores do crescimento de *C. albicans*. Além do mais, VEs também podem transportar proteínas, hormônios e lipídeos, os quais podem também servir de fonte de crescimento e desenvolvimento para a levedura (PIRAINE et al., 2026).



Figura 2 - Análise microscópica de brotamento (A) e hifas (B) de *Candida albicans* após contato com as vesículas extracelulares (VEs) da matriz e sobrenadante do biofilme de *Fusarium oxysporum* .* *significativo p<0,05*

Já no fungo filamentoso, não houve mudanças estatisticamente significativas ao entrar em contato com as vesículas.

CONCLUSÕES

As VEs do biofilme de 48 h do fungo *F. oxysporum* possuem uma influência moduladora na formação e crescimento da levedura *C. albicans* e no crescimento de *F. oxysporum.*

AGRADECIMENTOS

CNPq, Universidade Estadual de Maringá e grupo de pesquisa OneMyco.

REFERÊNCIAS

FERREIRA, D.G.; NEGRI M. In vivo and in vitro pathogenicity of Fusarium oxysporum and its biofilm components. **Braz J Microbiol**, 2025. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12095825/#CR3. Acesso em 21 de Agosto de 2026.

MOTAUNG, T. E et al. Harnessing exogenous membrane vesicles for studying Fusarium circinatum and its biofilm communities. **Microbial Pathogenesis** 200 (2025) 107368. Disponível em: <Microbial Pathogenesis | Journal | ScienceDirect.com by Elsevier> Acesso em 21 de Agosto de 2026.

PIRAINE, R.E.A et al. Fungal extracellular vesicles mediate conserved cross-species communication and immunomodulation. **mBio**. 2026. Disponivel em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12977587/. Acesso em 25/08/2026

REIS, F.C.G et al. A Novel Protocol for the Isolation of Fungal Extracellular Vesicles Reveals the Participation of a Putative Scramblase in Polysaccharide Export and Capsule Construction in *Cryptococcus gattii.* **mShepere** v. 4, n 2, 2019. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/msphere.00080-19. Acesso em 21 de Agosto de 2026.

SOUZA, E. D.T et al. Fusarium wilt incidence and common bean yield according to the preceding crop and the soil tillage system. **Scielo Brasil**, 2012. Disponivel em: https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000800002. Acesso em 25/08/2026.