

Prospecção de Atividade Antimicrobiana Biocatalítica em Fungos Endofíticos

Paulo Roberto Aparecido Bueno de Toledo(IC)⁽¹⁾, Helen Cristina Fávero Lisboa (PG)⁽¹⁾, Angela Regina Araújo(PQ)⁽¹⁾, Henrique Celso Trevisan(PQ)⁽¹⁾.

1- NuBBE - Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista (UNESP) C.P. 355 Araraquara-SP CEP 14801-970. paulbuen@grad.iq.unesp.br

Palavras Chave: *fungos, prospecção e biocatálise.*

Introdução

Ao longo do tempo os fungos têm sido importante fonte natural de compostos com atividade biológica. Dentre eles, os fungos endofíticos, microrganismos que vivem nos espaços intercelulares dos tecidos de plantas⁽¹⁾, vêm sendo reconhecidos como potenciais produtores de metabólitos secundários bioativos e de enzimas. Por esta razão, a prospecção para se encontrar novas enzimas é constantemente requerida, juntamente com a escolha e implantação de métodos adequados de prospecção de atividades biocatalíticas. Embora estejam sendo desenvolvidos ensaios mais sofisticados e custosos, que permitem um efetivo "high-throughput", dispõe-se ou pode-se desenvolver testes mais simples e de custo relativamente baixo. Uma opção são os ensaios em placa, que permitem processar um número médio de amostras e se baseiam em técnicas microbiológicas simples⁽²⁾. Dessa maneira este trabalho teve como objetivo a implantação de métodos de prospecção de atividades biocatalíticas e aplicação destes, aos fungos endofíticos.

Resultados e Discussão

Para os ensaios de prospecção de atividade biocatalítica foram selecionados 78 fungos endofitos previamente isolados, atribuindo-se um código a cada linhagem, as quais foram submetidas ao teste de difusão em gel. Foram testados diferentes substratos, específicos para cada atividade enzimática analisada: tributirina e Tween 80 como substrato para lipase e esterase⁽²⁾; óleo de oliva⁽³⁾ para avaliar especificamente a atividade de lipase; pectina para prospecção de pectinase⁽⁴⁾ e caseína como substrato para protease⁽⁴⁾. Nos fungos com atividade esterase e lipase sobre o substrato tributirina houve a formação de um halo incolor ao redor da colônia, devido à liberação de ácido graxo por ação enzimática⁽²⁾. Quando Tween 80 foi utilizado como substrato, e cloreto de cálcio como revelador, ocorreu a formação de um halo opaco ao redor da zona de crescimento, constituído de cristais insolúveis formado pelo complexo de cálcio e ácido oléico liberado durante a catálise de esterase ou lipase⁽²⁾. A atividade de lipase sobre óleo de oliva foi evidenciada utilizando-se a

Rodamina B como revelador, com a presença de um halo fluorescente, resultante da interação do ácido oléico liberado com a Rodamina⁽³⁾. A presença de pectinase e protease foi revelada com brometo de hexadeciltrimetilamônio e ácido tricloroacético, respectivamente, ambos com formação de um halo incolor ao redor da colônia⁽⁴⁾. Dentre os 78 fungos analisados quanto às atividades de lipase, esterase pectinase e protease, 33 apresentaram alguma atividade. Fungos identificados como CB15-4 e CB13-3 apresentaram apenas uma das atividades enzimáticas ensaiadas: pectinase e esterase respectivamente; porém há casos como os fungos MC-1C e CL-05, que apresentaram mais de uma atividade: esterase/lipase e pectinase/protease respectivamente. Destacou-se ainda forte atividade pectinase para o fungo CV-01, protease para RUV-02 e esterase para XIA-04.

Conclusões

Os métodos usados mostraram-se adequados para prospecção de atividades biocatalíticas de lipases, esterases, pectinase e protease. Os resultados obtidos revelaram que vários dos fungos endofíticos como exemplo o MC-1C, CB15-4, CB13-3, CL-05, CV-01, RUV-02 e XIA-04 possuem grande potencial biocatalítico. Outros ensaios e atividade biocatalítica continuam sendo testados e sua aplicação em fungos endofíticos permitirá aumentar o conhecimento deste núcleo de microorganismos pouco explorado.

Agradecimentos

CNPq / PIBIC
BIOTA / FAPESP

¹ANDREWS, J.H.; HIRANO, S.S. Microbial ecology of leaves springer. **1991**

²BUZZINI, P.; MARTINI, A. Journal of Applied Microbiology. **2002**, .93, 1020.

³KOUKER, G.; JAEGER, K.E. Applied and Environmental Microbiology. **1987**, .53, .211.

⁴STRAUSS, M.L.A.; JOLLY, N.P.; LAMBRECHTS, M.G.; VAN RENSBURG, P. Journal of Applied Microbiology. **2001**, 91, 182.