

## Perfil metabólico do fungo endofítico *Phomopsis cassiae* em função do tempo de cultivo.

Henrique Celso Trevisan\*<sup>1</sup> (PQ), Ângela Regina Araujo<sup>1</sup> (PQ), Ângela Pinheiro Martins<sup>1</sup> (IC), Lisinéia Zanardi<sup>1</sup> (ME), Vanderlan da Silva Bolzani<sup>1</sup>(PQ), Geraldo Humberto Silva (PQ)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UNESP, Instituto de Química, Rua Francisco Degni, s/n, Araraquara, SP, Brasil, 14800-900, e-mail: [trevisan@iq.unesp.br](mailto:trevisan@iq.unesp.br)

Palavras Chave: fungos endofíticos, *Phomopsis cassiae*, metabólitos

### Introdução

Fungos endofíticos são microrganismos que vivem sistematicamente no interior das plantas, possuindo a capacidade de seqüestrar metabólitos que atuam como defesa química, ou produzi-los como resposta à pressão exercida por predadores e/ou patógenos. Diante do grande potencial de produção de metabólitos secundários que estes possuem, ainda muito pouco explorado quando comparado com espécies vegetais, é de interesse o estudo químico destes fungos. Em um trabalho preliminar envolvendo o estudo químico e biológico realizado com *Phomopsis cassiae*, cultivado em caldo de batata e dextrose (PDB) e extrato de malte (EM), foram isoladas várias substâncias com atividade anticancerígena e antifúngica em potencial, evidenciando este fungo como um produtor de substâncias bioativas.

É conhecido que a produção metabólica por microrganismos (fungos, bactérias, etc.) é dependente das condições de cultivo (pH, temperatura, composição do meio e tempo). Até o presente, baseando-se em indicações da literatura, têm-se em geral adotado um tempo de cultivo de 28 dias, sem analisar a produção dos metabólitos ao longo da fermentação. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi um estudo da variação da produção metabólica de *P. cassiae*, objetivando estabelecer o tempo ótimo para a produção de cada metabólitos desejado.

### Resultados e Discussão

A metodologia consistiu em acompanhar a fermentação em EM com agitação e temperatura controlada, ao longo de 73 dias, preparando 2 extratos por semana, em acetato de etila. Os extratos foram analisados quanto ao perfil cromatográfico por CLAE. Inicialmente atribuiu-se uma identificação numérica aos picos, acompanhando-se a evolução com o tempo, com base no tempo de retenção.

Os extratos foram preparados e analisados em duplicata, exibindo similaridade qualitativa com relação aos picos, mas variações na amplitude e área, indicando variação na proporção entre os metabólitos (Figura 1).

Utilizando como padrão metabólitos isolados em uma fermentação em maior escala, por período de 28

dias, identificou-se 7 deles nos extratos, cada um associado ao pico correspondente. Os perfis de produção em função do tempo foram então expressos em termos de concentração ou de produção total (Figura 2).

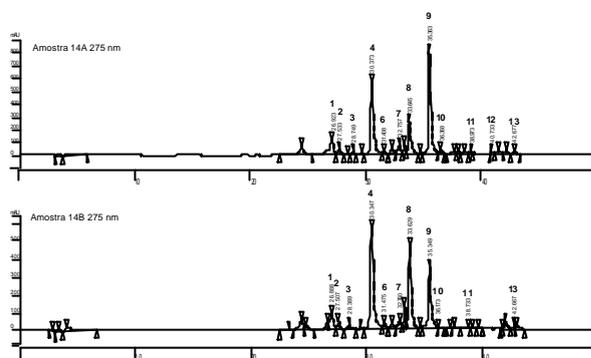


Figura 1. Cromatogramas de um extrato em duplicata, mostrando atribuição numérica aos picos.

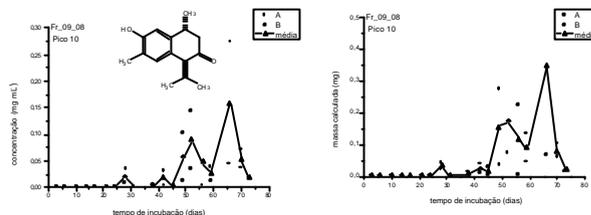


Figura 2 Produção do metabólito associado ao pico 10 do cromatograma, como exemplo de um dos sete avaliados.

### Conclusões

CLAE foi uma técnica adequada para acompanhamento da produção de metabólitos. Com a metodologia usada pôde-se estabelecer o tempo ótimo e a produção para cada metabólito (65 dias e 0,35mg/50mL de meio para o pico 10, como exemplo (Figura 2)). No caso de metabólitos não isolados ou identificados, o perfil de produção baseado no cromatograma pode auxiliar na escolha do tempo de fermentação mais adequado para sua produção, inclusive daqueles que foram gerados e depois desapareceram ao longo da fermentação.

### Agradecimentos

*Sociedade Brasileira de Química ( SBQ)*

À FAPESP, pelo suporte financeiro.