

Perfil químico e atividade antibacteriana do extrato e frações do fungo *Trichoderma ovalisporum*

Juliana Feijó de S. Daniel^{1*} (PQ), Edson Rodrigues Filho¹ (PQ), Antônia Q. L. de Souza² (PG) e José Odair Pereira² (PQ)

¹Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, cep 13.565-905, São Carlos-SP, Brasil. ²Departamento de Gen. e Evolução, Universidade Fed. do Amazonas, Bairro Coroado, cep: 69077-000. Manaus-AM. *Corresponding author. Tel./Fax: (16)3351-8052; e-mail: edinho@pesquisador.cnpq.br

Palavras Chave: *T. ovalisporum*, peptídeos, antibacteriana.

Introdução

Os fungos do gênero *Trichoderma* são conhecidos pela produção de metabólitos com vasta atividade farmacológica e no controle biológico de plantas, principalmente contra os fungos fitopatogênicos. O mecanismo de biocontrole é a produção de peptídeos conhecidos como peptaibols, ativos contra bactérias e fungos.¹ A habilidade na produção de antibióticos depende do microorganismo, meio ambiente (pH e temperatura) e do substrato.² Os peptaibols isolados de *Trichoderma* são estruturalmente lineares com 7-20 aminoácidos, apresentando uma alta concentração de ácido α -aminobutírico (Aib).³ Este trabalho tem como objetivo estabelecer metodologias de análises (extração, pré-purificação, e identificação) de peptídeos e ensaios antibacterianos de frações e extratos do fungo em diferentes meios de cultivo.

Resultados e Discussão

O fungo *T. ovalisporum* (Tg. 144:MpG 16.13b) foi isolado dos galhos de *Murraya paniculata* e armazenado na micoteca do LaBioMi - UFSCar. O fungo foi cultivado nos meios de arroz (TOA), milho tipo canjica e meio líquido BDL (batata, dextrose com extrato de levedura), por 18 dias. O meio BDL (8 litros) foi escolhido para fracionamento cromatográfico inicial. O micélio foi filtrado e extraído com etanol e o meio líquido particionado com acetato de etila, obtendo-se 5,05 g (TME) e 1,20 g (TLA), respectivamente. 5,05 g de TME foram fracionadas em coluna de XAD-4 e Sephadex LH-20. Os cromatogramas e os espectros de UV foram realizados por CLAE [Shimatzu LC-10 AD, detector fotodiodo (PDA)]. A melhor separação cromatográfica: coluna analítica Phenomenex Ciano-CN 5U – 25 cm X 4,6 mm, gradiente de acetonitrila em água-Mili-Q, ambos com 0,1% de TFA. Os picos foram monitorados em 212 nm e espectro no UV (190-370 nm), **Figura 1**.



Figura 1: A: Extrato etanólico; B: Fração TME após filtração em XAD-4; C: Padrão de peptídeo gramicidina.

A atividade antibacteriana foi realizada contra *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Bacillus subtilis* (ATCC 6623) e *Bacillus sp.* cedidas pela Univ. Estadual de Maringá. Os testes foram realizados pela dispersão dentro de placas de Petri com ágar Muller Hinton. Foi adicionada 50 μ l de cada substância dissolvida em DMSO, pelo método de difusão em ágar, duplicata e dois controles com DMSO, por 24 e 48 h., **Tabela 1**.

Tabela 1. Atividade antibacteriana das frações e extratos de *T. ovalisporum*.

Amostra	Diâmetro do halo de inibição (cm)				
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus sp.</i>
TLA (0,150 mg)	1,4	-	-	-	0,9
Fr. XAD-13 (0,125 mg)	1,3	1,3	-	-	-
Fr. XAD-3 (0,115 mg)	-	1,2	1,3	2	1,3
Fr. XAD-12 (0,125 mg)	1,2	-	-	-	1,5
Extr. TOA (0,250 mg)	0,9	-	-	1,5	1,3
Tetraciclina (0,050 mg)		4,2	5		
Penicilina (0,050 mg)	3			4	1,8

Conclusões

Os dados de CLAE demonstram boa separação cromatográfica. A análise dos dados de TLC, CLAE e RMN ¹H indicam a presença de peptídeos. Os resultados de atividade antibacteriana mostram o grande potencial farmacológico de *T. ovalisporum*.

Agradecimentos

FAPESP, CNPQ E CAPES

¹ Wiest, A.; Grzegorski, D.; Xu, B. W.; Goulard, C.; Rebuffat, S.; Ebbola, D. J.; Bodo, B. e Kenerley, C. *The Journ. Biol. Chem.* **2002**, 277 (23): 20862.

² Vizcaino, J. A.; Sanz, L.; Basilio, A.; Vicente, F.; Gutiérrez, S.; Hermosa M. R.; Monte, E. *Mycol. Res.* **2005**, 12, 1397.

³ New, A. P.; Eckers, C.; Haskins, N. J.; Neville, W. A.; Rivera-Sagredo, A. *Tetrah. Letters.* **1996**, 37(17), 3039.