

Otimização das condições de produção microbiológica de destruxinas pelo fungo *Beauveria felina* de origem marinha.

Raquel Peres de Moraes^{*1} (PG), Mirna H. R. Seleglim² (PQ), Roberto Gomes de S. Berlinck¹ (PQ).
Email: raquelperes@iqsc.usp.br

¹Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, CEP 13560-970, São Carlos, SP;

²Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP

Palavras Chave: destruxinas; *Beauveria felina*; fungos marinhos, quimiometria

Introdução

O fungo *Beauveria felina* produz as destruxinas,¹ depsipeptídeos cíclicos que apresentam diversas atividades biológicas. As destruxinas são utilizadas em controle biológico de diferentes culturas vegetais. Devido ao alto valor agregado de inseticidas biológicos, é extremamente importante que sejam desenvolvidos métodos de otimização para a sua produção por meio fermentativo.

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver metodologia objetivando otimizar a produção de destruxinas pelo fungo *Beauveria felina* variando as condições de crescimento microbiano.

Resultados e Discussão

O fungo *B. felina* foi crescido em meio MF (glicose 20 g/L, amido solúvel 10 g/L, soytone 20 g/L, peptona 5 g/L, extrato de carne 0,3 g/L, extrato de levedura 5g/L e ágar 15 g/L) em diferentes condições de crescimento, variando-se parâmetros tais como: composição em nutrientes do meio de crescimento, salinidade do meio de crescimento, pH do meio de crescimento, temperatura de incubação, número de dias de incubação. A variação destes parâmetros foi planejada de acordo com métodos quimiométricos.² Foram realizados 16 experimentos variando-se 2 ou mais parâmetros experimentais simultaneamente.

Após o tempo de incubação de cada um dos 16 experimentos de crescimento de *B. felina*, os meios de cultura foram filtrados separando-se o micélio do meio líquido. Ao micélio foi adicionado 10 mL de MeOH, sonificado por 1 min, filtrado e então obtido o extrato MeOH do micélio. O meio líquido de cada experimento foi submetido a uma extração em fase sólida (SPE) em coluna C₁₈ (eluente: gradiente de MeOH em H₂O) de onde foram obtidas 4 frações. Depois disso todas as frações obtidas foram analisadas por cromatografia líquida utilizando-se um detector de arranjo de díodos (HPLC-PDA) em coluna de fase reversa, com um gradiente de MeOH em H₂O.

Os cromatogramas das análises por HPLC-PDA foram interpretados através de integrais das áreas dos picos observados em 230 nm, com tempos de retenção entre 10 e 26 minutos, de acordo com o

tempo de retenção de destruxinas (Phe³, Val⁵, destruxina B; Pseudodestruxina C e Roseotoxina B)

analisadas nas seguintes condições: coluna de fase reversa C₁₈ Synergi 4 µ Fusion-RP 80 de dimensões

250 x 4,6 mm; eluente: gradiente de MeOH em H₂O, λ_{max} 230 nm.

Os resultados dos experimentos multivariados foram analisados individualmente bem como por interações de 2ª ordem. Os resultados preliminares obtidos pela análise quimiométrica indicaram que as condições ideais para o crescimento e produção de destruxinas por parte de *B. felina* são as seguintes:

Concentração de sais no meio de crescimento: 20% da concentração original de água do mar artificial.

Concentração dos nutrientes no meio de crescimento: 60% da concentração de nutrientes original do meio MF

Tempo de crescimento: 35 dias.

pH do meio de crescimento: 8,0

Temperatura ambiente de incubação: 15 °C

Estes resultados deverão ser refinados por meio de análises estatísticas adicionais. As condições ideais a serem estabelecidas para a produção de destruxinas por parte de *B. felina* deverão ser testadas experimentalmente, incubando-se o fungo nas condições ideais estabelecidas e quantificando-se a produção de destruxinas por HPLC-PDA.

Conclusões

Neste trabalho foram utilizados, pela primeira vez, métodos quimiométricos para a otimização das condições de produção de destruxinas por parte do fungo *Beauveria felina*. Os resultados preliminares obtidos indicam que a metodologia utilizada é válida, e pode ser uma valiosa ferramenta a ser utilizada na produção de metabólitos secundários por microrganismos.

Agradecimentos

À FAPESP pelo apoio financeiro e ao CEBIMar-USP pelo apoio nas coletas de material biológico.

¹Lira, S.P.; Vita-Marques, A.M.; Seleghim, M.H.R.; Bugni, T.S.; Labarbera, D.; Sette, L.D.; Sponchiado, S.R.P.; Ireland, C.M.; Berlinck, R.G.S. *J. Antibiotics*. **2006**, 59, 553-563.

² Teófilo, R.E.; Ferreira, M.M.C. *Quím. Nova*. **2006**, 29, 338 – 350,.