Análises de peptaibols produzidos pelos fungos *Trichoderma nivale* e *T. ovalisporum* usando LC-ESI-MS/MS e atividade antibacteriana

Juliana Feijó de Souza Daniel* (PQ)*, Amanda Mizukami (IC), Gezimar Donizetti de Souza (PG), Edson Rodrigues Filho (PQ)

[1]*Laboratório de Bioquímica Micromolecular de Microorganismos – LABIOMMI, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, cep 13.565-905, São Carlos-SP, Brasil. e-mail: julianafeijo@dq.ufscar.br*

Palavras Chave: Trichoderma, peptaibols, antibacteriana.

Introdução

Os fungos do gênero *Trichoderma* apresentam várias aplicações tanto nas indústrias como na vida humana. As espécies não são patogênicas e habitam o solo exercendo antagonismo a vários fitopatógenos, através do parasitismo e/ou antibiose. Um mecanismo de biocontrole deve-se a produção de peptídeos conhecidos como peptaibols, ativos contra bactérias e fungos.[1] Os peptaibols são uma classe de peptídeos lineares com 7-20 resíduos de aminoácidos, apresentando alta proporção de aminoácidos α-dialquilados; grupos N-acil e C-aminoálcoois terminais.[2] Este trabalho tem como objetivo a detecção e sequenciamento dos aminoácidos nos peptaibols por LC-ESI-MS/MS e a verificação da atividade antibacteriana dos extratos.

Resultados e Discussão

Os fungos *T. ovalisporum e T. nivale* foram isolados de *M. paniculata* e armazenados na micoteca do LABIOMMI. Os fungos foram cultivados em 6 litros do meio líquido BDL por 18 dias. A obtenção dos extratos está descrita na **Figura 1**.

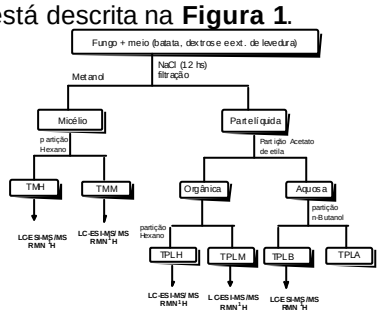

Figura 1: Fluxograma de obtenção dos extratos de *T. ovalisporum* e *nivale*.

No cultivo de *T. ovalisporum* obteve-se TOMH (1,29g), TOMM (8,72g), TOPLH (2,01g) TOPLM (0,77g) e TOPLB (34,4g) e *T. nivale* forneceu TNMH (0,6g), TNMM (9,14g), TNPLM (0,19g), TNPLH (0,93g) e TNPLB (18,2g). As análises de LC-MS foram realizadas em coluna analítica ODS, gradiente de acetonitrila em água-Mili-Q, ambos com 0,1% de TFA. Após a análise dos cromatogramas, os íons produtos característicos de peptaibols foram submetidos à análise do espectro de massas tandem (ESI-MS/MS), **Figura 2**.

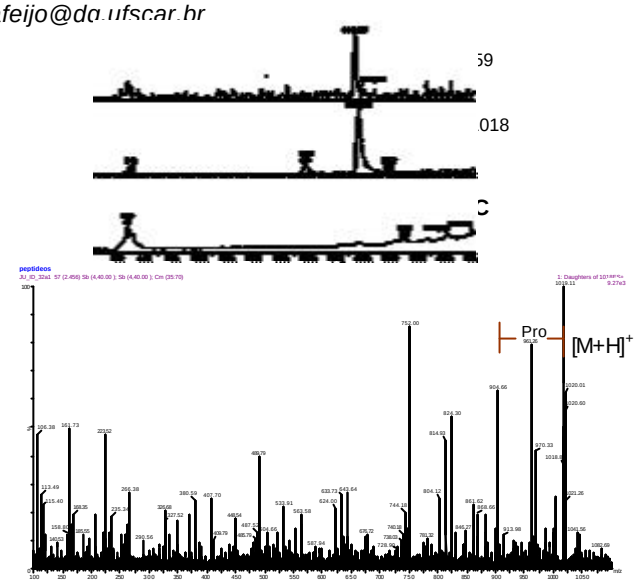

Figura 2: (A) Cromatograma de íons selecionados e TIC; (B) Íons produtos obtidos por CID (35 eV) do íon precursor *m/z* 1018.

Os testes antimicrobianos dos extratos foram realizados pela dispersão dentro de placas de Petri com ágar Muller Hinton, em duplicata, **Tabela 1**.

Tabela 1. Atividade antibacteriana de extratos de *T. ovalisporum* e *nivale*.

Amostra	Diâmetro do halo de inibição (cm)					
	S. aureus	Lactoba-cillos	*P. aeroginosa*	*E.coli*	*B. subtilis*	*Bacillus sp.*
TOMH (0,096 mg)	1,5	1,6	-	-	1,1	-
TNPLM (0,09 mg)	0,9	-	-	-	1,0	-
TOPLH (0,090 mg)	-	-	-	-	1,2	1,1
TNLH (0,135 mg)	-	-	1,0	-	-	1,3
TOMM (0,150 mg)	1,4	-	-	-	-	-
Tetraciclina (0,050 mg)			2,2	3		
Penicilina (0,050 mg)	3	3			3	1,2

Conclusões

As cepas de *T. ovalisporum e nivale* sintetizam peptaibols e apresentam atividade antibacteriana. A metodologia aplicada se mostrou eficaz para a detecção dos peptaibols e futuro sequenciamento completo dos aminoácidos.

Agradecimentos

FAPESP, CNPQ E CAPES

[1] Wiest, A.; Grzegorski, D.; Xu, B. W.; Goulard, C.; Rebuffat, S. e et. Al. *The Journ. Biol. Chem.* **2002**, 277 (23): 20862.

[2] Wada, S.; Iida, A.; Akimoto, N.; Kanai, M.; Toyama, N. e Fujita, T. *Chem. Pharm.Bull., 43, 910, 1995.*