

## Avaliação da atividade esterase em fungos endofíticos

Helen C.F.Lisboa<sup>\*1</sup> (PG), Carolina R. Biasetto<sup>1</sup> (IC), João B. Medeiros<sup>1</sup> (IC), Ângela R. Araújo<sup>1</sup> (PQ), Dulce H. S. Silva<sup>1</sup> (PQ), Henrique C. Trevisan<sup>1</sup> (PQ). \*e-mail: [helcrisiq@yahoo.com.br](mailto:helcrisiq@yahoo.com.br)

<sup>1</sup>UNESP, Instituto de Química, Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, Rua Francisco Degni, s/n, Araraquara, SP, Brasil, 14800-900.

Palavras Chave: Fungos endofíticos, esterases, high-throughput screening

### Introdução

Os fungos endofíticos, microrganismos que vivem nos espaços intercelulares de plantas, vêm sendo reconhecidos como potenciais produtores de metabólitos secundários bioativos e de enzimas, tais como as esterases. As esterases são muito importantes para aplicação industrial, pois são altamente estáveis e ativas, especialmente em solventes orgânicos, catalisando a quebra e formação de ésteres, com ação restrita para ácidos graxos de cadeia curta, solúveis em água.

Essas enzimas podem ser detectadas através de ensaios no formato "high-throughput screening" (triagem de alto desempenho - HTS), os quais permitem a prospecção da atividade enzimática em grande número de amostras, e uma rápida construção de um banco de dados contendo um conjunto de fungos com determinada atividade biocatalítica.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade esterase em 30 fungos endofíticos obtidos de espécies do Cerrado e Mata Atlântica do Estado de S.P.

### Resultados e Discussão

A atividade esterase neste grupo de fungos foi detectada utilizando-se o método da adrenalina. Neste ensaio, a enzima esterase hidrolisa o substrato periodato-resistente, gerando um produto periodato-sensível que é rapidamente oxidado pelo periodato de sódio (NaIO<sub>4</sub>). A adrenalina, um reagente cromogênico, é adicionada à reação para quantificar o periodato que não reagiu através da densidade óptica obtida após reação (490 nm), sendo a hidrólise proporcional à redução da coloração vermelha do adrenocromo formado<sup>1</sup>. Visando avaliar o método, foram testados vários substratos acetilados, tendo sido escolhido a galactose em razão da maior sensibilidade.

Os ensaios foram realizados em microplacas, utilizando-se uma suspensão fúngica de 1mg/mL. As leituras foram feitas após 10hs de incubação em 490 nm.

A triagem desta atividade enzimática por esta metodologia resultou na classificação de grupos de fungos, reunidos de acordo com os níveis de atividade biocatalítica.

Considerando-se que a atividade enzimática é proporcional à redução da coloração, que os resultados dos controles positivo (mínima coloração) e negativo (máxima coloração) foram de 0,068 e 1,007, além do nível de resposta para soluções de esterase padrão, estabeleceu-se o seguinte critério:

Intervalo de Absorbância	Nível de Atividade
0,400 – 0,600	Alta
0,601 – 0,800	Intermediária
0,801 – 0,950	Baixa
Maior que 0,950	Ausente

Seguindo esse critério de classificação, obteve-se 3 fungos com alta atividade esterase (CB-13-3, CSY-03 e MC-8R), 8 com atividade intermediária esterase (ALG-06, CB-7-3, CV-06, MC-2C, MC-5F, PA-03, CS-01 e CS-02) e 15 com baixa atividade (ALG-02, ALG-03, CB-8-3, CB-9-3, CB-10-3, CB18-3, CB-4-4, CL-01, CL-03, CL-04, CSY-06, CV-03, MC-1C, PAJ-01 e XIA-04).

Os fungos endofíticos citados foram previamente isolados atribuindo-se um código a cada linhagem como mostrado acima. Alguns foram classificados e outros se encontram em fase de classificação.

### Conclusões

Boa porcentagem dos fungos estudados apresentam alguma atividade esterase, ainda que em diferentes níveis, sendo 3 deles com alta atividade biocatalítica (CB-13-3, CSY-03 e MC-BR). Os ensaios em microplaca (HTS) mostraram maior sensibilidade do método, se comparado ao ensaio em placas (dados não mostrados) realizado anteriormente, no qual em 10 dos fungos ensaiados não foi detectada a presença de atividade. Prossegue-se o trabalho com outros fungos, usando diferentes metodologias, além da prospecção de outras enzimas de interesse comercial.

### Agradecimentos

A CAPES, CNPq e FAPESP-BIOprospecTA, pelo suporte financeiro

<sup>1</sup>Wahrler, D.; Reymond, J.L. *Angew. Chem.-Int.*, **2002**, .41, 1229