

Avaliação de atividade epóxido-hidrolase em fungos endofíticos associados às folhas e sementes de Ingá

Vivia Lúcia Lemos*¹ (IC), Jailton Marques da Silva¹ (IC), Simone Morais Palmeira¹ (IC), Helder Lopes Teles¹ (PQ), Helen Cristina Fávero Lisboa¹ (PQ)

¹UFMT, Universidade Federal de Mato Grosso, Campus de Rondonópolis, Instituto de Ciências Exatas e Naturais (ICEN), Rodovia Rondonópolis-Guiratinga Km 06, Rondonópolis-MT, Brasil, CEP:78735-901, e-mail: helcrisiq@yahoo.com.br

Palavras Chave: Fungos endofíticos, epóxido-hidrolase, screening, triagem.

Introdução

Os fungos endofíticos são microrganismos que colonizam tecidos internos de plantas sem causar danos ao seu hospedeiro, vivendo nos espaços intercelulares de folhas, sementes, caules e raízes¹. Esses são reconhecidos como potenciais produtores de metabólitos secundários bioativos e de enzimas, tal como as epóxido-hidrolases.

Tais enzimas são consideradas biocatalisadores de fácil utilização e importantes na síntese de intermediários quirais valiosos, hidrolisando uma ampla variedade de epóxidos de maneira régio- e enantiosseletiva.

As epóxido-hidrolases podem ser detectadas através da triagem em grande número de amostras, possibilitando a rápida construção de um banco de dados contendo um conjunto de fungos com essa atividade biocatalítica.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade epóxido-hidrolase em 21 fungos endofíticos isolados a partir das folhas e sementes das espécies vegetais *Inga edulis* Mart. e *I. laurina*, de ocorrência no cerrado de Mato Grosso.

Resultados e Discussão

A determinação da atividade epóxido-hidrolase foi realizada pelo método da adrenalina. Nesse ensaio, a enzima hidrolisa o substrato (óxido de estireno) periodato-resistente, gerando um produto periodato-sensível que é rapidamente oxidado pelo periodato de sódio. A adrenalina, um reagente cromogênico, é adicionada à reação para quantificar o periodato que não reagiu, sendo sua hidrólise proporcional à redução da coloração vermelha do adrenocromo formado².

Os ensaios foram realizados em espectrofotômetro, utilizando uma suspensão fúngica de 1 mg/mL, e as leituras feitas a 490 nm após 20 h de incubação.

A pesquisa dessa atividade enzimática pelo método da adrenalina permitiu que os fungos fossem agrupados de acordo com os níveis de atividade biocatalítica.

Considerando-se que nesse ensaio a atividade enzimática é proporcional à redução da coloração, e que os resultados dos controles positivo (mínima coloração) e negativo (máxima coloração) foram de 0,050 e 0,913, respectivamente, estabeleceu-se o seguinte critério:

Tabela 1: Níveis de atividade epóxido-hidrolase

Intervalo de absorbância	Critério utilizado
0,050 – 0,300	Atividade Alta
0,301 – 0,600	Atividade Intermediária
0,601 – 0,900	Atividade Baixa
Acima de 0,900	Não detectada

Seguindo esse critério de classificação, 38% dos fungos estudados apresentaram alta atividade epóxido-hidrolase (IEF-10B; IEF-15; IES-01A; ILF-03; IEF-02A; ILS-02; IEF-13 e IEF-12B), 5% atividade intermediária (ILF-04), 43% baixa atividade (IE-04B; ILF-06; IEF-17B; IE-01; IEF-05B; ILF-01; IEF-06B; IEF-11 e ELS-01B) e 14% atividade não detectada.

Os fungos endofíticos citados foram previamente isolados e codificados como mostrado acima.

Conclusões

Os resultados mostram a prosperidade dos fungos endofíticos para a produção de epóxido-hidrolases, com diferentes níveis de atividade, destacando aqueles com 38% de alta atividade biocatalítica. O trabalho continua sendo desenvolvido com outros fungos e diferentes metodologias para a prospecção de outras enzimas de interesse comercial, além de ensaios de biotransformação (biocatálise) com os endófitos mais promissores.

Agradecimentos

Ao CNPq e FAPEMAT, pelo suporte financeiro.

¹Andrews, J. H.; Hirano, S. S. (Ed.). *Microbial ecology of leaves* Springer. New York: Springer-Verlag, 1991. 499.

²Wahrler, D.; Reymond, J. L. *Angew. Chem.-Int.* 2002, 41, 1229.