



## **ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE *Mikania glomerata* COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO**

Vinícius Paiva Mota (PIBIC/CNPq), Aline Maria Bulla, Helio João de Oliveira Junior, Julio Cesar Polonio, Angela Aparecida da Silva, João Alencar Pamphile ( Coorientador), João Lúcio Azevedo (Orientador), e-mail: [vinipaivam@gmail.com](mailto:vinipaivam@gmail.com).

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área: 2.12.00.00-9 Microbiologia; Sub-área: 2.12.02.00-1 Microbiologia Aplicada

**Palavras-chave:** guaco, endófitos, lipase

### **Resumo:**

Endófitos são fungos e bactérias que habitam o interior de tecidos vegetais interagindo de maneira neutra ou favorável ao desenvolvimento da planta hospedeira, sem lhe causar doença. Esses micro-organismos podem ser utilizados na busca de novos compostos de interesse biotecnológico como por exemplo as enzimas. As lipases são enzimas que degradam por meio da hidrólise, gorduras e óleos e são amplamente utilizadas na indústria. Foram selecionadas 51 bactérias endofíticas isoladas de *Mikania glomerata*, e avaliadas quanto à atividade lipolítica *in vitro*. Dessas, 18 apresentaram resultado positivo.

### **Introdução**

O termo endofítico é derivado do grego (*endo*; dentro) e (*phyton*; planta) e representa micro-organismos que habitam o interior de tecidos vegetais. Os endófitos podem se relacionar de maneira simbiote com seu hospedeiro, pois a planta fornece nutrientes ao micro-organismo e este disponibiliza a planta compostos que a ajudam em seu crescimento e resistência a doenças e predação (KAUL et al., 2012). Entre os micro-organismos endofíticos destacam-se as bactérias, que devido a suas características específicas podem ser fixadoras de nitrogênio, solubilizadoras de fosfato ou





produtoras de enzimas de alto potencial biotecnológico com interesse industrial.

Enzimas são encontradas naturalmente desde plantas a animais, sendo que as enzimas de origem microbiana são as de maior utilização, por possuírem uma grande diversidade bioquímica, e podem ser facilmente manipuladas geneticamente. Neste contexto destaca-se a lipase, que pode ser produzida pelos micro-organismos endofíticos. A lipase é uma enzima do grupo das hidrolases que catalisam reações de quebra nas ligações de óleos e gorduras, tem aplicação industrial ao degradar e reduzir o volume desses resíduos. Também tem aplicação desde a produção alimentícia até a química fina e tratamento médico (JAEGER; EGGERT, 2002).

Este trabalho tem como objetivo prospectar bactérias isoladas de *Mikania glomerata* (guaco) quanto à produção de lípases.

### **Materiais e métodos**

Foram selecionadas 51 bactérias endofíticas isoladas de *M. glomerata*, e avaliadas quanto à atividade lipolítica *in vitro*. Os isolados endofíticos foram crescidos em microtubos, contendo 1,5mL de meio TSB (Caldo Triptona Soja – HIMEDIA) por 48h a 28 °C em BOD. Após esse período as bactérias foram eluídas em 5mL de solução salina 1% para atingir a concentração de  $10^8$  (CFU/mL), o que corresponde a 0,5 na escala McFarland. Aliquotas de 2 $\mu$ L da cultura bacteriana foram transferidas para quatro pontos na placa de petri, contendo meio de cultura para lipase (10 g.L<sup>-1</sup> peptona; 5 g.L<sup>-1</sup> NaCl; 0,1 g.L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 15 g.L<sup>-1</sup> ágar; 990ml H<sub>2</sub>O destilada; pH 7,4) com 1% tween 20. As placas foram incubadas em BOD a 28°C por 5 dias, após esse período a presença de halos formados por cristais indica a produção de lipase pelas linhagens inoculadas. Para análise estatística do teste, foi realizado experimento em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), analisado estatisticamente por meio da análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) com auxílio do programa estatístico Sisvar 4.3.

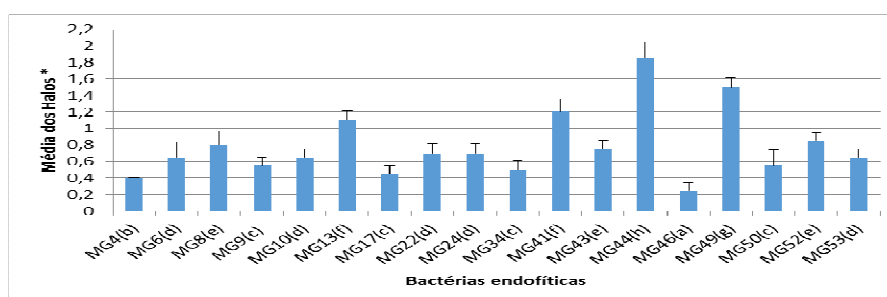
### **Resultados e Discussão**

Das 51 bactérias endofíticas isoladas de *M. glomerata*, 18 apresentaram atividade lipolítica, sendo elas Mg 4, Mg 6, Mg 8, Mg 9, Mg 10, Mg 13, Mg 17, Mg 22, Mg 24, Mg 34, Mg 41, Mg 43, Mg 44, Mg 46, Mg 49, Mg 50, Mg





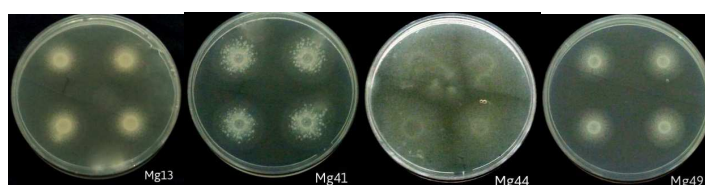
52, Mg 53. A variação do índice enzimático ficou entre 0,25 para Mg 46 e 1,85 para Mg 44 como apresentado na Figura 1.



**Figura 1.** Atividade enzimática de bactérias endofíticas de *M. glomerata* em meio sólido para Lipase.

\*Código das bactérias seguido pela mesma letra entre parênteses não diferem entre si pelo teste Scott-knott ( $p < 0,05$ )

Os quatro maiores diâmetros dos halos foram observados nas bactérias Mg 13 (1,1cm), Mg 41 (1,2cm), Mg 44 (1,85cm) e Mg 49 (1,5cm) como demonstrado na Figura 2. A presença do halo sugere o potencial deste isolado como produtor de enzima lipolítica.



**Figura 2.** Halo de atividade lipolítica pelas bactérias endofíticas Mg 13, Mg 41, Mg 44 e Mg 49 em meio de lipase.

Um estudo realizado por Carrim et al (2006) avaliou a produção enzimática de bactérias endofíticas isoladas de *Jacaranda decurrens Cham*. Os resultados apontaram que, dos 18 isolados avaliados 40% apresentaram atividade enzimática para lipase. Castro et al (2014) trabalhando com duas espécies de plantas do mangue *Rhizophora mangle* e *Avicennia nitida*, avaliaram semi-quantitativamente a produção enzimática de 40 bactérias endofíticas para enzimas amilase, esterase, lipase, celulase e protease. Eles observaram que 52,5% dos isolados bacterianos apresentam atividade lipolítica. Specian et al (2014) avaliou a atividade antifúngica e a produção enzimática de bactérias endofíticas isoladas de *Malpighia emarginata D.C.*





Eles obtiveram uma variação do índice enzimático para a lipase entre 1,24 para o isolado G1W28 (*Bacillus sp.*) e 2,4 para o isolado G3O25 (*Acinetobacter johnsonii*).

## Conclusão

O presente trabalho revelou que as bactérias endofíticas isoladas de *M. glomerata* apresentam potencial biotecnológico, pois possuem a capacidade de produzir enzimas de interesse comercial, como é o exemplo da lipase, cujo produção enzimática por microrganismos é altamente rentável.

## Agradecimentos

Ao CNPq (Processo n. 447265/2014-8) pelo apoio financeiro e bolsa IC.

## Referências

CARRIM, A.J.J.; BARBOSA, E.C.; VIEIRA, J.D.G. Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. V. 49, n.3, p. 353-359, 2006

CASTRO, R. A.; QUECINE, M. C.; LACAVA, P. T.; BATISTA, B. D.; LUVIZOTTO, D. M.; MARCON, J.; FERREIRA, A.; MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (2014) Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacterial associated with plants of Brazilian mangrove ecosystem. **SpringerPlus** 3, 382

JAEGER, K. E and EGGERT, T. (2002), **Lipases for botechnology. Current Opinion in Biotechnology**, 13, 390-397

KAUL, S.; GUPTA, S.; AHMED, M.; DHAR, M. K. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. **Phytochemistry Reviews**. Berlim, v. 11, n. 4, p. 487–505, 2012.

V. SPECIAN , A.T. COSTA , A.C. FELBER, J.C. POLONIO, J.L. AZEVEDO and J.A. PAMPHILE (2016), Molecular phylogeny and biotechnological potential of bacterial endophytes associated with *Malpighia emarginata*. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 2

