

Caracterização de lipopeptídeos por ESI-ITMS produzidos por bactérias endofíticas da região Amazônica

Adriana S. S. Mesquita*(PG)¹, Antonia Q. L. de Souza (PQ)^{2,3}, Adriana da S. e Silva (PG)², Felipe M. A. da Silva (PG)¹, Denny W. de O. Mesquita (PG)^{1,4}, Afonso D. L. de Souza (PQ)⁵

*spirottostein@yahoo.com.br

¹Estudante de PG da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, ²Bolsista da Escola Superior de Ciências da Saúde da Universidade do Estado do Amazonas – UEA, ³Pesquisadora do Depto.de Ciências Agrárias – UFAM e da Escola Superior de Ciências da Saúde – UEA, ⁴Docente do Depto.de Eng. de Produção, Campus de Cacoal, Universidade Federal de Rondônia – UNIR, ⁵Pesquisador do Depto.de Química, UFAM

Palavras Chave: Lipopeptídeos, Bactérias endofíticas da Amazônia, Espectrometria de massas.

Introdução

A região Amazônica possui uma grande biodiversidade de plantas, animais e microrganismos, entre os quais bactérias e fungos endofíticos, que vivem no interior das plantas sem lhes causar aparentemente nenhum dano¹. Entre as substâncias produzidas por bactérias, os lipopeptídeos têm atraído grande interesse na área científica por suas atividades antifúngica, antibiótica e surfactante. Os diversos tipos de lipopeptídeos são classificados de acordo com suas estruturas primárias, compostas diversamente por uma cadeia de ácido graxo ligada a uma porção peptídica cíclica. Os lipopeptídeos mais comuns formam três importantes famílias: surfactina, iturina e fengicina².

Resultados e Discussão

Vinte e oito linhagens bacterianas isoladas das folhas, galhos e raízes de espécies dos gêneros *Strychnos* (Loganiaceae), *Gustavia* (Lecitidaceae) e *Duguetia* (Annonaceae) foram cultivadas em triplicata em meio YM líquido, a 26 °C, sob agitação de 120 rpm, por 96 h. A massa bacteriana de cada amostra foi separada do líquido fermentado por centrifugação. O sobrenadante foi filtrado em membrana Millipore de 0,22 µm, diluído a 50 µL/mL de metanol e analisado por inserção direta em sistema ESI-ITMS (Thermo), nos modos positivo e negativo, na região de m/z 200-2000. Para as linhagens GhCc3 1.2a, GhCr3 1.1a, GhCc1 2.1a e DgCr2 1.1b, foram observados no modo positivo os picos em m/z 1016, 1030, 1044 e 1058 ($[M+Na]^+$), e no negativo, os picos em m/z 992, 1006, 1020 e 1034 ($[M-H]^-$), os quais são coerentes com os lipopeptídeos homólogos da surfactina: C-12, C-13, C-14 e C-15.

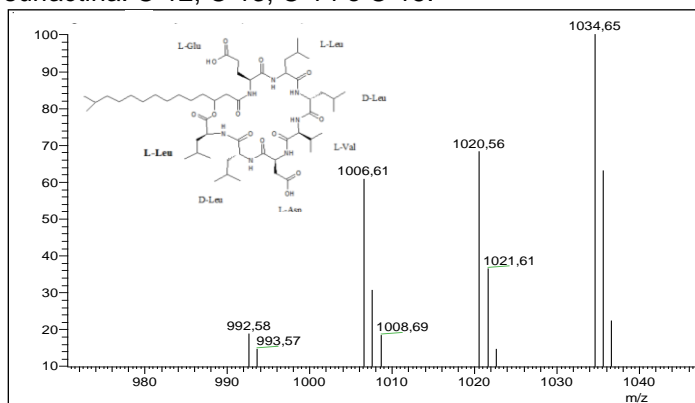


Figura 1. Espectro de massas (ESI-ITMS, no modo negativo) com a presença de homólogos da surfactina – Linhagem DgCr2 1.1b.

O C-15 (ácido 3-hidróxi-13-metil-tetradecanóico principal componente desta família²) foi o mais abundante nessas amostras. A estrutura da surfactina foi caracterizada através dos íons fragmentos de 1058 ($[M+Na]^+$), registrados em m/z 1040, 945, 832, 814, 618, 707, 594, 481 e 463. Semelhante perfil de fragmentação foi observado para as demais substâncias dessa família, apenas sendo diferenciados por 14 u (CH_2) os respectivos fragmentos da série de homólogos.

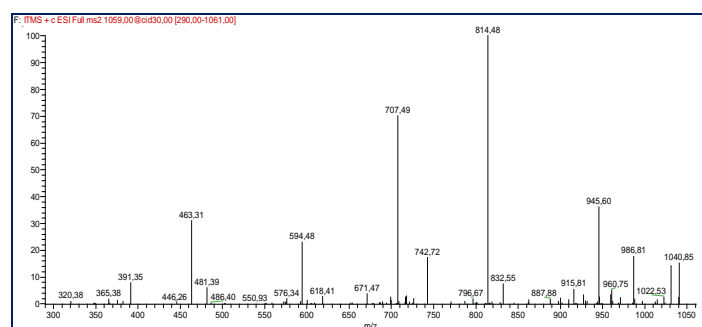


Figura 2. Espectro de fragmentação do íon m/z 1058 (ESI-MS/MS) da linhagem DgCr2 1.1b.

As substâncias da família da surfactina são caracterizadas por um ciclo peptídico de sete aminoácidos ligados a uma cadeia de ácido graxo β -hidroxilado, que pode variar de 12 a 15 átomos de carbono, permitindo a existência de homólogos e isômeros.

Conclusões

Com base em análises de espectrometria de massas foi possível identificar quatro homólogos da surfactina, entre os metabólitos extracelulares de bactérias endofíticas obtidas de plantas dos gêneros *Gustavia* e *Duguetia*. As bactérias de *Strychnos* avaliadas não apresentaram surfactinas, mas sim outros lipopeptídeos que estão em processos de identificação. Esse trabalho demonstra a importância de estudar e explorar o potencial biotecnológico das bactérias endofíticas da Amazônia.

Agradecimentos



¹Azevedo, J.L. 1998. In: Melo, I. S.; Azevedo, J. L. (Eds.) *Ecologia Microbiana*. Ed. Embrapa, Jaguariúna-SP. p.117-137.

²Barros, F. F. C.; Quadros, C. P.; Marostica Jr., M. R.; Pastore, G. M. *Quim. Nova*, 2007, 30(2), 409-414.