

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE TRÊS ISOLADOS DO MACROFUNGO *PANUS STRIGELLUS* CONTRA *BACILLUS SUBTILIS*

Louise Silva de Freitas¹, Ruby Vargas-Isla², Cáritas Farias Loureiro^{1,3}, Luciana Pinheiro Negro Vaz³, Noemia Kazue Ishikawa⁴

¹Bolsista, Programa de Iniciação Científica do INPA, ²Colaboradora, PNPd-CAPES/UEA, ³Colaboradora, CENBAM/INPA, ⁴Orientadora, COBIO/INPA

Financiamento da bolsa: PIBIC/CNPq

INTRODUÇÃO

Panus strigellus (Berk.) Overh. é um basidiomiceto causador de podridão branca pertencente à classe Agaricomycetes, ordem Polyporales e família Polyporaceae. Sanuma e colaboradores (2016) relataram o consumo de *P. strigellus* por povos Yanomami da Amazônia brasileira. Por ser uma espécie comestível e apresentar características termófilas, com crescimento ótimo nas temperaturas entre 35 e 40 °C, o cultivo na região tropical é promissor em relação às espécies de origem europeia e asiática, com temperaturas ótimas de crescimento por volta de 25 °C (Vargas-Isla e Ishikawa 2008).

Panus strigellus produz metabólitos secundários com potencial de aplicação no ramo farmacêutico, destacando-se o sesquiterpeno hipnofilina, composto com atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* Rosenbach e *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, e antifúngica contra *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link. (Ishikawa *et al.* 2009). Outras atividades biológicas relatadas para *P. strigellus* são atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* (Andrews & Horder) Schleifer & Klipper e *Pseudomonas aeruginosa* (Schröter) Migula (Vásquez *et al.* 2018), citotoxicidade (Zheng *et al.* 2009), biocatálise (Barros-Filho *et al.* 2009).

Estes compostos naturais derivados de micro-organismos representam uma provável fonte para a descoberta de novos antibióticos (Hutchings *et al.* 2019). A busca por novos antibióticos se deve à alarmante questão do aumento da resistência de cepas bacterianas, devido a diversos motivos, como por exemplo, ao uso indevido de antibióticos, transferência horizontal de genes resistentes e mutações (Prescott 2014; Munita e Arias 2016).

Em trabalhos anteriormente desenvolvidos pelo grupo de pesquisas Cogumelos da Amazônia do INPA foi observada a atividade antibacteriana de *P. strigellus* pelo isolado INPACM1464. No entanto, a observação do efeito antibacteriano por apenas um isolado ainda é considerada uma informação fraca. Portanto, este trabalho objetivou analisar a atividade antibacteriana de metabólitos

secundários produzidos por três isolados de *P. strigellus* contra a bactéria *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn.

MATERIAL E MÉTODOS

Micro-organismos: foram utilizados três isolados de *P. strigellus* (INPACM1464, INPACM1530 e INPACM1531), depositados na coleção do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do INPA. Para a avaliação antibacteriana utilizou-se a bactéria *B. subtilis*.

Obtenção do inóculo: fragmentos da cultura micelial foram transferidos para placas de Petri contendo 15 mL de meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) solidificado; as placas foram incubadas a 25 °C durante dez dias em estufa de Demanda Biológica de Oxigênio (BOD).

Obtenção de filtrado e biomassa: fragmentos do inóculo foram transferidos para frascos Erlenmeyer (125 mL) contendo 50 mL de meio Extrato de Malte e Peptona de Soja (EMP) e incubados a 25 °C durante 30 dias. A colônia foi então separada do meio de cultura por filtração. Para avaliação da produção de biomassa, o micélio foi desidratado até obtenção de massa constante (Vargas-Isla e Ishikawa 2008). O filtrado foi utilizado para avaliar a atividade antibacteriana.

Avaliação antibacteriana: utilizou-se o método de difusão em ágar (técnica do pocinho). Cerca de 20 mL de meio Infusão Cérebro Coração e Ágar (BHIA) inoculado com 10^5 UFC/mL da bactéria *B. subtilis* foram transferidos para placas de Petri. Após a solidificação do meio foram confeccionados três orifícios de 9 mm de diâmetro em cada placa, para onde transferiu-se 0,1 mL de filtrado do cultivo micelial de *P. strigellus*. As placas foram mantidas a 4 °C *overnight* e posteriormente a 37 °C por 8 h. Os halos de inibição foram medidos por meio da distância entre a borda do orifício e a borda do halo. O meio de cultura Extrato de Malte e Peptona de Soja (EMP), não inoculado previamente com fragmentos de cultura micelial, foi utilizado como controle negativo. O experimento foi casualizado, com três repetições para avaliar a produção de biomassa e nove para atividade antibacteriana. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os três isolados de *P. strigellus* (INPACM1464, INPACM1530 e INPACM1531), não houve variação significativa na produção de biomassa (Figura 1).

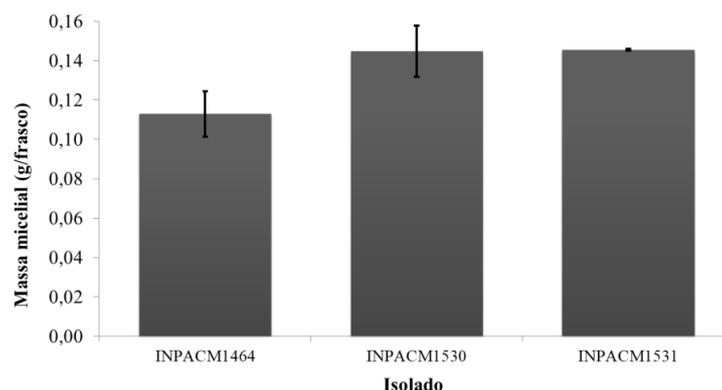


Figura 1. Massa micelial seca de três isolados de *Panus strigellus* cultivados em meio de cultura Extrato de Malte e Peptona de Soja – EMP (frascos de 125 mL; 50 mL de meio), a 25 °C por 30 dias. As colunas representam a massa seca, as barras representam o desvio padrão. N.S. = não significativo pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (n=3)

Todos os isolados apresentaram atividade antibacteriana contra *B. subtilis*, reforçando resultados anteriores do grupo de pesquisas Cogumelos da Amazônia. No entanto, o isolado INPACM1531 apresentou variação na atividade quando comparado aos demais (Figura 2). Essa variação na produtividade de compostos antimicrobianos pode estar relacionada à variabilidade genética entre os isolados. Os isolados INPACM1464 e INPACM1530 exibiram os maiores halos de inibição (Figura 3).

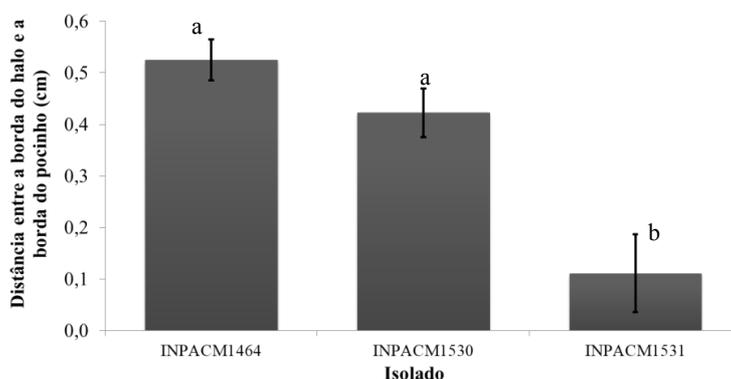


Figura 2. Atividade antibacteriana do filtrado da cultura micelial de três isolados de *Panus strigellus* contra *Bacillus subtilis*. Os isolados foram cultivados em Extrato de Malte e Peptona de Soja – EMP a 25 °C por 30 dias. As colunas representam a distância entre a borda do halo e a borda do pocinho, as barras indicam o desvio padrão. Médias com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (n=9)

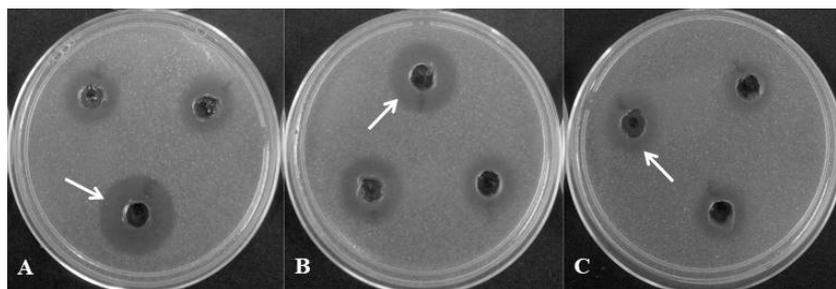


Figura 3. Halos de inibição (setas brancas) resultantes da atividade antibacteriana do filtrado de três isolados de *Panus strigellus* contra a bactéria *Bacillus subtilis*. A: INPACM1464. B: INPACM1530. C: INPACM1531. Fotos: L.S. Freitas.

CONCLUSÃO

A produção de metabólitos secundários com ação antibacteriana contra *Bacillus subtilis* foi observada em todos os três isolados de *Panus strigellus*. A observação da atividade antibacteriana em outros dois isolados da mesma espécie fortalece o resultados que esta espécie tem potencial de estudo para a busca de alternativas de compostos antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

- Barros-Filho, B.A.; Oliveira, M.C.F.; Lemos, T.L.G.; Mayyos, M.C.; Gonzalo, G.; Gotor-Fernández, V.; Gotor, V. 2009. *Lentinus strigellus*: a new versatile stereoselective biocatalyst for the bioreduction of prochiral ketones. *Tetrahedron: Asymmetry* 20: 1057-1061.
- Hutchings, M.; Truman, A.; Wilkinson, B. 2019. Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion on Microbiology* 51: 72–80.
- Ishikawa, N.K.; Vargas-Isla, R.; Macedo-Junior, F.C.; Capelari, M.; Faria, T.J. 2009. Hipnofilina, sesquiterpeno antimicrobiano isolado de *Lentinus strigellus*, um cogumelo comestível da Amazônia. In: *61ª Reunião Anual - Sociedade Brasileira para o progresso da ciência*. Manaus, Amazonas.
- Munita, J.M.; Arias, C.A. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum* 4: 1-24.
- Prescott, J.F. 2014. The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology. *Veterinary Microbiology*. 171: 273-278.
- Sanuma, O.I.; Tokimoto, K.; Sanuma, C.; Autori, J.; Sanuma, L.R.; Sanuma, M.; Martins, M.S.; Menolli Jr., N.; Ishikawa, N.K.; Apiamö, R.M. 2016. *Sanöma samakönö sama tökö nii pewö oa wi ï tökö waheta: Ana amapö. Enciclopédia dos alimentos Yanomami (Sanöma): cogumelos*. 1st. ed. Hutukara Associação Yanomami, Boa Vista; Instituto Socioambiental, São Paulo, 108p.
- Vargas-Isla, R.; Ishikawa, N.K. 2008. Optimal conditions of in vitro mycelial growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. *Mycoscience* 49: 215-219.
- Vásquez, R.; Rios, N.; Solano, G.; Cubilla-Rios, L. 2018. Lentinoids A-D, new natural products isolated from *Lentinus strigellus*. *Molecules* 23(4): 773-783.
- Zheng, Y.; Zhao, B.; Lu, C.; Lin, X.; Zheng, Z.; Su, W. 2009. Isolation, structure elucidation and apoptosis-inducing activity of new compounds from the edible fungus *Lentinus strigellus*. *Natural Product Communications* 4(4): 501-506.