

## **BB. Determinação qualitativa da atividade proteolítica geral do fungo marinho *Trichoderma lixii***

Sarah Santana Sanchez<sup>1</sup> (sarah.sanchez@unesp.br), Ana Carolina dos Santos Boralli<sup>1</sup> (ana.boralli@unesp.br), Alexandra Daniela Barrios Eguiluz<sup>1</sup> (alexandra\_be88@hotmail.com), Rodrigo Sorrechia<sup>1</sup> (rodrigo.sorrechia@unesp.br), Eloah Drudi Lepore<sup>1</sup> (eloah.drudi@unesp.br), Camila Cristina Baccetti Medeiros<sup>1</sup> (camila.medeiros@unesp.br), João Vitor Carvalho Constantini<sup>1</sup> (joao.vitorcc@hotmail.com), Ana Helena Januário<sup>2</sup> (anahjanuario@gmail.com), Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro<sup>1</sup> (rosemeire.pietro@unesp.br)  
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”<sup>1</sup>; UNIVERSIDADE DE FRANCA<sup>2</sup>

**Introdução:** As enzimas são utilizadas em diversos processos biotecnológicos, dentre elas, a protease possui grande importância na área industrial para múltiplos fins, e a utilização de proteases fúngicas permite uma ampla variação nas condições de seu uso, pois cada microrganismo responde de maneiras diferentes à diversos meios. O método cup-plate é um método qualitativo, utilizado para comprovar se o microrganismo, substância ou extrato em análise possui atividade proteolítica através do tamanho do halo formado ao redor do poço onde é adicionado o produto de pesquisa.

**Objetivo:** Esse estudo teve como objetivo investigar qualitativamente a atividade proteolítica geral do fungo filamentososo de ambiente marinho *Trichoderma lixii* 5A-7, através do método cup-plate pela medição do halo formado.

**Metodologia:** Foi realizado o método cup-plate em Ágar Gelatina Leite, onde foram feitos 4 poços em cada placa, sendo 1 para o controle, utilizando água, e 3 para realizar a triplicata, adicionado 150 µL de extrato obtido na filtração após o cultivo do 5º, 7º e 10º dia de fermentação submersa utilizando o meio de fermentação Manachini, que foi incubado contendo uma alíquota de 200 µL de uma solução de esporos concentrada. As placas foram incubadas à 28°C por 24h, e analisados os halos através da aferição com paquímetro.

**Resultados e discussão:** Os resultados obtidos pelo cup-plate demonstraram que o *T. lixii* não foi um bom produtor de proteases extracelulares nas condições avaliadas, pois o Índice de atividade enzimática obtido nos três dias de fermentação foram menores que 2,0, e pela literatura, um bom indicador de produção deveria apresentar Índice > 2,0 ou 2,5.

**Conclusão:** Através do ensaio qualitativo, observou-se que o *T. lixii* apresentou baixa atividade enzimática proteolítica extracelular. Para aumentar a produção, será necessário otimizar a indução das enzimas proteolíticas, introduzindo modificações nos meios de fermentação submersa, podendo também, alterar a temperatura de incubação tanto da fermentação submersa, quanto da placa utilizada para o cup-plate.

**Palavras-chave:** Protease, cup-plate, *Trichoderma. lixii*.

**Financiamento e agradecimento:** Agradecemos à UNESP (Lab. Biotecnologia Farmacêutica); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Proc. nº 2022/06203-0 e 2022/09795-5.