

XXXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo

“Atividade Hidrolítica Inicial de Fungos Isolados de Manguezal”

VERÔNICA REGINA DE OLIVEIRA LOPES⁽¹⁾, RAÍSSA MESQUITA BRAGA⁽²⁾, MARIZA VIEIRA DA FONSECA SABOIA AMORIM⁽³⁾, GENILTON DA SILVA FAHEINA JUNIOR⁽⁴⁾, CAROLINE GONDIM DE SOUZA⁽⁵⁾, SUZANA CLAUDIA SILVEIRA MARTINS⁽⁶⁾, GUSTAVO ADOLFO SAAVEDRA PINTO⁽⁷⁾ & CLAUDIA MIRANDA MARTINS⁽⁸⁾

RESUMO – Os manguezais são ecossistemas ricos em matéria orgânica proveniente da decomposição ocasionada pelos microrganismos. O solo pode ser encarado como um habitat microbiano por excelência, local de vida de inúmeras e variadas populações de microrganismos, sendo os fungos os principais contribuintes para a biomassa do solo. Desta maneira o presente trabalho avaliou a capacidade de produção de enzimas hidrolíticas a partir de fungos isolados de solo de mangue. Os fungos isolados foram inoculados em placas com meios de cultura onde as únicas fontes de carbono eram ou a Celulose micro-cristalina (5,0g.L⁻¹), ou a Xilana *oat spelts* (2,0g.L⁻¹), e em seguida foram incubados por 96 horas a 30°C. Dos 166 isolados 59,64% cresceram em ágar xilana e celulose; 4,82% cresceram exclusivamente em ágar celulose, enquanto 18,67% cresceram exclusivamente em ágar xilana. No total, apenas 16,87% dos isolados não foram capazes de crescer utilizando as fontes de energia oferecidas. Pôde-se concluir que a maior parte dos fungos que apresentou atividade hidrolítica teve maior facilidade de crescer e de degradar o meio contendo xilana.

Palavras-Chave: microrganismos; celulases; xilanases.

Introdução

Os manguezais são ecossistemas de transição que portam comunidades vegetais típicas de ambientes alagados resistentes à alta salinidade da água [1] sendo extremamente importantes para a conservação da biodiversidade. A riqueza biológica destes ecossistemas costeiros faz com que essas áreas sejam os grandes "berçários" naturais, tanto para as espécies

características desses ambientes, como para peixes e outros animais que migram para as áreas costeiras durante, pelo menos, uma fase do ciclo de sua vida [2].

No Ceará os manguezais ocupam uma área de aproximadamente 23000 hectares. A vegetação, representada principalmente pelas espécies *Rhizophora mangle* L., *Avicennia shaueriana* Stapf. & Leechman, *Avicennia germinans* L., *Laguncularia racemosa* Gaerth. e *Cornocarpus erecta* L., se encontra submetida a uma série de fatores adversos, tais como altas taxas de salinidade, aeração deficiente e grande mobilidade de solos lamacentos [3].

O solo tem uma extrema importância para o homem e para a natureza. É um espaço com intensa atividade microbiológica, meio para decomposição, equilíbrio e renovação química, frutos das propriedades filtrantes, de tamponamento e de conversão de substratos [4]. Os microrganismos apresentam uma imensa diversidade genética e desempenham funções cruciais na manutenção de ecossistemas, como componentes fundamentais de cadeias alimentares e ciclos biogeoquímicos [5].

Há evidências que propõem uma estreita relação micróbio-nutritiva que funciona como um mecanismo para a reciclagem de nutrientes e de conservação do ecossistema manguezal. A comunidade microbiana, altamente produtiva e diversificada, transforma continuamente nutrientes provenientes da vegetação morta do manguezal em fontes de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes que podem ser utilizadas pelas plantas [6].

Dentre os microrganismos, os fungos vêm despertando crescente interesse em estudos devido à grande diversidade de enzimas que secretam no ambiente. Esses microrganismos desempenham um importante papel na natureza por sua capacidade de ciclagem de nutrientes, decompondo resíduos lignocelulósicos [7], [8]. Sabe-se que

⁽¹⁾ Primeiro Autor é Aluna do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760. E-mail: vevelopes@gmail.com

⁽²⁾ Segundo Autor é Aluna do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽³⁾ Terceiro autor é aluna do curso de Doutorado Rede Nordeste em Biotecnologia - RENORBIO, Universidade Estadual do Ceará, Av. Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE, CEP 60740-000.

⁽⁴⁾ Quarto autor é Aluno do Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽⁵⁾ Quinto autor é Aluna do Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽⁶⁾ Sexto autor é Professora Adjunta IV do Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽⁷⁾ Sétimo autor é pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical, Laboratório de Bioprocessos. Rua Dr^a. Sara Mesquita, 2270, Pici, Fortaleza, CE. CEP 60511-110.

⁽⁸⁾ Oitavo Autor é Professora Adjunta II do Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

Apoio financeiro: CAPES e CNPq.

diferentes tipos de fungos podem estar associados a esse ecossistema, como saprófitos e patógenos, em diferentes substratos, tais como folhas, caules, frutos e solo [9].

Atualmente o desenvolvimento de metodologias para avaliar e monitorar a comunidade microbiana do solo, em relação a sua composição, diversidade e biomassa, vem sendo uma das prioridades entre diversos grupos de pesquisa [10].

Neste contexto, o presente trabalho objetivou o conhecimento acerca da diversidade, assim como avaliou a capacidade de produção de enzimas hidrolíticas a partir de fungos isolados de solo de mangue.

Material e Métodos

Fungos isolados

Os fungos utilizados foram isolados no Laboratório de Bioprocessos da Embrapa Agroindústria Tropical, a partir de amostras de solos de mangue da Reserva Ecológica de Sapiranga – Reserva particular da Fundação Maria Nilva Alves. Foram ao todo 13 amostras de solo, com um total de 166 isolados utilizados na referente fase de teste de atividade enzimática.

Meios de cultura

Para os testes preliminares de atividade enzimática os fungos, isolados foram inoculados em placas contendo meios de cultura onde as únicas fontes de carbono eram ou a celulose (para verificação de atividade celulolítica), ou a xilana (para verificação da atividade xilanolítica), obedecendo à seguinte composição: Sulfato de Magnésio ($MgSO_4$) - $0,5g.L^{-1}$; Cloreto de Potássio (KCl) - $0,5g.L^{-1}$; Nitrato de Sódio ($NaNO_3$) - $3,0g.L^{-1}$; Sulfato Ferroso ($FeSO_4.7H_2O$) - $0,01g.L^{-1}$; Fosfato de Potássio (K_2HPO_4) - $1,0g.L^{-1}$; Ágar - $15g.L^{-1}$; Xilana *oat spelts* - $2,0g.L^{-1}$ /Celulose micro cristalina - $5,0g.L^{-1}$. Os meios de cultura tiveram seu pH ajustado, sendo o pH final igual a 6,0 para o meio com xilana e pH igual a 5,0 para o meio com celulose.

Cada isolado foi inoculado em placas de Petri, uma contendo celulose e outra contendo xilana, por meio de um repique pontual no centro da placa. As placas foram então incubadas por 96 horas a $30^\circ C$. Nesta fase da pesquisa, apenas a verificação do crescimento foi importante, não influenciando, portanto, o tamanho que as colônias atingiram. A verificação do crescimento foi feita visualmente.

Resultados

Resposta inicial para celulose e xilana

Dos 166 fungos utilizados nesta fase, 59,64% dos fungos cresceram em ambos os meios. Demonstrando capacidade para degradar apenas um tipo de substrato, 4,82% cresceram exclusivamente no meio ágar - celulose enquanto 18,67% cresceram exclusivamente no meio contendo ágar - xilana.

No total, 83,13% dos fungos cresceram de alguma maneira e apenas 16,87% não foram capazes de crescer de modo significativo a ponto de serem visualizados (Gráfico 1).

Discussão

Muitos isolados tiveram a capacidade de degradar tanto a xilana quanto a celulose (59,64%). Segundo Marchand [11], os detritos decorrentes do manguezal contribuem fortemente para o enriquecimento orgânico dos sedimentos, e podem ser discriminados pelo conteúdo de monossacarídeos de xilose e celulose.

Microrganismos xilana - degradantes são por muitas vezes também celulolíticos, pois secretam misturas complexas de xilanases e celulasas. Em muitos destes microrganismos a síntese de xilanases não ocorre apenas na presença de xilana, mas como também na presença de celulose [12]. Este fato explica também o motivo da ocorrência de mais fungos xilana-específicos (18,67%) do que fungos celulose -específicos (4,82%). Deve-se levar em consideração que os fungos produtores de celulasas, na natureza, interagem com outros organismos celulolíticos e com aqueles que degradam vários polímeros, o que não acontece com os microrganismos em cultura pura [13].

A existência de fungos que não foram capazes de degradar nem a xilana nem a celulose (16,87%) foi decorrência do isolamento, evento que precedeu esta fase. O isolamento dos fungos a partir das amostras foi realizado em meio ágar Martin [14], que contém como única fonte de energia a glicose. A utilização da glicose permitiu o isolamento destes fungos que, na fase de atividade enzimática, não foram aptos ao crescimento em meios com polissacarídeos mais complexos.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que uma grande quantidade de fungos pode ser obtida a partir de ecossistemas ricos em matéria orgânica, como o solo de mangue por exemplo. Verificou-se que a maior parte dos isolados teve facilidade em crescer no meio ágar-xilana, como consequência da produção de xilanases. Existe, porém, uma carência de maiores conhecimentos sobre a diversidade de microrganismos que compõem estes ecossistemas. Estudos mais aprofundados com isolados de diferentes ecossistemas deverão ser realizados, assim como a verificação da potencialidade para a produção de enzimas hidrolíticas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio do Prof. Dr. Oriel Herrera Bonilla, que foi de fundamental importância para a realização da coleta. Agradecem também à Fundação Maria Nilva Alves, que permitiu o acesso da equipe a Reserva Ecológica Sapiranga.

Referências

- [1] REBELO, F. C.; MEDEIROS, T. C. C. *Cartilha do mangue*. São Luís: UFMA, 1988. 31 p

- [2] GERCO/ PE (Gerenciamento Costeiro de Pernambuco). 2003. *O ecossistema manguezal*. Recife. CPRH. 18p.
- [3] MIRANDA, P.T.C.; NÓBREGA, R.M.N.A. *O que é manguezal?* Fortaleza, SEMACE, 1990. 26 p.
- [4] SEABRA, P. N. Biorremediação de solos contaminados por petróleo. In: MELO, I. S. & AZEVEDO, J. L. *Microbiologia Ambiental*, Jaguariúna. SP. Embrapa Meio Ambiente. p. 547-570.
- [5] CANHOS, V.P. & MANFIO, P.F. 2001 [Online] Recursos Microbiológicos para Biotecnologia. Homepage: www.anbio.org.br/pdf/2/mct_recursos_biologicos.pdf.
- [6] HOLGUIN, G. et al. 2001. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biol Fertil Soils*. 33: 265-278.
- [7] BENNET, J.W. Mycothecnology: the role of fungi in biotechnology. *J. Biotechnol.*, v.66, p. 101-107, 1998.
- [8] BEG, Q. K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Microbiol Biotechnol.*, v. 56, p. 326 – 338, 2001.
- [9] GOMES, D. N. F. 2007. *Diversidade e potencial biotecnológico de fungos filamentosos isolados do manguezal Barra das Jangadas, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco*. Tese de Doutorado, UFPE, Recife.
- [10] PEIXOTO, R. S.; ROSALDO, A. S.; TAKETANI, R. G. Bioprospecção da Diversidade Cultivável e não Cultivável. In: MELO, I. S. & AZEVEDO, J. L. *Microbiologia Ambiental*, Jaguariúna. SP. Embrapa Meio Ambiente. p. 84-106.
- [11] MARCHAND, C.; DISNAR, J. R.; LALLIER-VERGÈS, E.; LOTTIE, N. Early diagenesis of carbohydrates and lignin in mangrove sediments subject to variable redox conditions (French Guiana) *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2005. Volume 69, p. 131-142.
- [12] HALTRICH, D., NIDETZKY, B., KULBE, K. D.; STEINER, W.; ZUPANCIC, S. Production of fungal xylanases. *Bioresource Technol*, 1996. Volume 58, p.137-161.
- [13] RUEGGER, M. J. S. e TAUK-TORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 2004. Volume 27, n. 2, p. 205-211.
- [14] MARTIN, J.P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science*, Maynard, 1950. Volume 69, p.215-232.

Gráfico 1. Representação da Resposta Hidrolítica Inicial.

