

ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE AMBIENTES EXTREMÓFILOS COM POTENCIAL USO EM PROCESSOS INDUSTRIAIS E BIOTECNOLÓGICOS

Aline Amaral Proença*

RESUMO: *Os microrganismos são amplamente utilizados nos processos industriais e biotecnológicos. As enzimas produzidas por estes, principalmente celulolíticas e hemicelulolíticas, têm sido empregadas em indústrias de alimentos para animais, têxteis, remoção de tintas, na agricultura, aproveitamento de resíduos agro-industriais, além de uso em pesquisas. Alguns microrganismos são capazes de absorver resíduos tóxicos e poluentes, sendo utilizados para recuperar áreas degradadas através do tratamento monitorado e/ou transformação das substâncias tóxicas em compostos atóxicos em um processo denominado biodegradação. Este trabalho teve como finalidade analisar a capacidade de crescimento de fungos provenientes do município de Caldas do Jorro – BA em diferentes condições de temperatura e pH. Foram isolados microrganismos das amostras coletadas e procedeu-se à avaliação de crescimento em diferentes temperaturas e pH, utilizando os meios de cultura preconizados na literatura. Houve crescimento da colônia nas temperaturas que variaram entre 30°C a 50°C. A resistência à mudança de pH foi ampla e todos os microrganismos analisados obtiveram resultado positivo em pH ácido e básico (4.0 a 12.0). Os fungos isolados demonstraram ampla capacidade adaptativa resistindo às oscilações de temperatura e pH, o que indica a aplicação destes microrganismos em diferentes ambientes ou em processos industriais nos quais pode haver mudanças destas condições. Além disso, os resultados demonstraram a possível aplicabilidade dos fungos provenientes de Caldas do Jorro para processos biotecnológicos.*

Palavras-chave: Fungos; Biodegradação; Enzimas.

INTRODUÇÃO

Durante muito tempo, os fungos foram classificados como vegetais, mas hoje constituem um reino à parte. Os fungos são seres vivos eucarióticos, com um só núcleo, como as leveduras, ou multinucleados, como se observa entre os fungos filamentosos ou bolores. Seu citoplasma contém mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso (TRABUSLI, 1991). Têm características heterotróficas, isto é, não possuem clorofila, portanto necessitam de material orgânico para viver, sendo sua nutrição feita por absorção de nutrientes graças à presença de enzimas que são por eles produzidas e que degradam produtos como, por exemplo, celulose e amido (AZEVEDO, 2003). Suas células possuem vida independente e não se reúnem para formar tecidos verdadeiros. Os componentes principais da parede celular são hexoses e hexoaminas, que formam mananas, ducanas e galactanas. Alguns fungos têm parede rica em quitina (N-acetil glicosamina), outros possuem complexos polissacarídicos e proteínas, com predominância de cisteína (TRABUSLI, 1991).

*Graduanda em Ciências Biológicas da UCSal; Estagiária de Iniciação Científica – CEPEX – LEMA/UCSal; E-mail: alineproenca@ig.com.br. Orientador: Eduardo Aquino Ximenes, Doutor em Biologia Molecular. Co-orientadora: Luzimar Gonzaga Fernandez, Doutora em Biologia Molecular Estrutural pela UPC, Barcelona, Espanha; Coordenadora e Pesquisadora do LEMA/UCSal; Professora do ICS-UFBA; E-mail: luzimar@ucsal.br. Apoio Financeiro: FAPESB

A biotecnologia consiste no uso de sistemas celulares para o desenvolvimento de processos e produtos de interesse econômico ou social. Entre os sistemas celulares, os fungos são de grande interesse biotecnológico. Talvez sejam eles, dentre os seres vivos, os que mais têm contribuído com produtos e processos de importância fundamental para o bem-estar da população (AZEVEDO, 2003). Estima-se que exista em torno de um milhão e quinhentas mil espécies de fungos espalhadas pelo mundo. Isso é muito mais do que todas as espécies vegetais e animais, excluindo-se os insetos. Apenas cerca de 70.000 espécies de fungos foram até hoje descritas, ou seja, menos de 5% das possivelmente existentes. Se entre esses cinco por cento de espécies, já existem muitas de grande importância, como as que entram na fabricação de alimentos, incluindo bebidas, de ácidos orgânicos, de fármacos e inúmeros outros produtos, pode-se imaginar o que se espera com a descoberta de novas espécies com distintas propriedades potencialmente de valor biotecnológico (FIGUEIREDO, 1997).

A capacidade de microrganismos de degradar compostos orgânicos é cientificamente reconhecida e vem sendo utilizada ao longo do tempo em processos de tratamento biológico de efluentes líquidos e resíduos sólidos. Graças a essa habilidade têm sido desenvolvidos processos biotecnológicos destinados a diversas finalidades, dentre as quais se destaca degradação de poluentes, lixiviação de minerais, a desobstrução de poços de petróleo e a recuperação de locais contaminados – solos, águas superficiais e subterrâneas (OLIVEIRA, 2002). Tais microrganismos podem ser encontrados no próprio ambiente impactado, sendo, na maioria das vezes, os responsáveis pelo desaparecimento dos contaminantes. Os fungos são considerados mais eficientes sob condições adversas: solos com valores extremos de pH, limitação de nutrientes e com baixo teor de umidade (MACEDO, *et al.*, 2002).

Estudos sobre complexos enzimáticos produzidos por fungos e bactérias que podem decompor celulose em fragmentos menores, principalmente glicose, a exemplo da celulase e outras hidrolases, começaram a ser propagados no início dos anos 50, visando o enorme potencial de conversão de lignocelulose em glicose e outros açúcares (COUGHLAN, 1985; BHAT, 2000). Vários microrganismos têm demonstrado produzir enzimas capazes de hidrolisar eficientemente substratos lignocelulósicos presentes na parede celular de vegetais, sendo este processo de hidrólise de grande interesse biotecnológico para uso em diferentes indústrias.

Atualmente tais enzimas têm sido usadas nas indústrias alimentícia, têxtil, de produção de detergentes, vinho, polpa e papel, cerveja, alimentos para animais, na agricultura, aproveitamento de resíduos agro-industriais, além de uso em pesquisas (BAYER *et al.*, 1994; BASJPAI, 1999; BHAT, 2000). Incluem-se também estudos relacionados à saúde pública (MORAES, 2002).

Estes microrganismos encontram ainda grande potencial de aplicação em processos de biorremediação, a qual surgiu como uma alternativa de remediação de locais impactados com poluentes orgânicos e se baseia na utilização de populações microbianas que possuem a capacidade de metabolizar determinados poluentes. O benefício máximo desse processo é a mineralização, obtendo como produto final CO₂ e água pela via aeróbica, assim como a formação de biomassa (CUNHA, 1996, apud MACEDO *et al.*, 2002). A forma mais usada para descontaminação de aquíferos envolve métodos que recalcam a água para a superfície ou tratam a contaminação no local. (XIMENES, 1999)

OBJETIVOS

Este trabalho teve como finalidade analisar a capacidade de crescimento de fungos provenientes do município de Caldas do Jorro – BA a fim de verificar o potencial biotecnológico

destes em condições ambientais extremas no que se refere a diferentes faixas de pH e temperatura.

METODOLOGIA

Foi realizada uma coleta de água e sedimento no município de Caldas do Jorro-Bahia em ambientes considerados extremófilos. Os microrganismos foram isolados e selecionados, utilizando os meios de cultura descritos na literatura (XIMENES *et al.*, 1994). No caso de condições extremas de pH, os meios foram adaptados para atender à variação desejada. As colônias obtidas foram repicadas várias vezes até a obtenção de pureza, ou seja, isolamento total dos microrganismos que foram identificados com as numerações 1.1 e 1.2.

Para a caracterização fisiológica e avaliação da faixa de temperatura e pH ideais para crescimento, os microrganismos foram cultivados em meio sólido e líquido (XIMENES *et al.*, 1994), contendo glicose (0,5%) como única fonte de carbono. Os experimentos com estes isolados foram realizados nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C por 72 horas para a determinação da curva de crescimento. Após estes testes, foram realizados cultivos em meio líquido, utilizando o agitador magnético, em condições ácidas e básicas de pH (4.0 a 12.0).

RESULTADOS

Os fungos isolados (isolado 1.1 e isolado 1.2), inoculados em novo meio de cultura e nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C demonstraram apresentar curva de crescimento diferente dependente da temperatura (tabela 1). O isolado 1.2 demonstrou melhor crescimento a 30 °C, a colônia cresceu a 4,05 centímetros (cm) de diâmetro, e a 40 °C também houve crescimentos significativos, semelhantes ao anterior. O isolado 1.1 obteve o mesmo crescimento nas temperaturas de 30 °C e 40 °C (4,0 cm de diâmetro). Isso demonstra que estes microrganismos crescem bem nesta variação de temperatura. Já a 50 °C as colônias não se desenvolveram tanto, e os diâmetros dos halos foram de 2,1 e 2,0 cm para os isolados 1.2 e 1.1, respectivamente.

Tabela 1. Resultados da avaliação do crescimento dos fungos 1.1 e 1.2 nas temperaturas de 30°C, 40°C e 50°C. Os valores de crescimento são medidos em centímetro de diâmetro da colônia.

ISOLADO	TEMPERATURA		
	30 °C	40 °C	50 °C
1.1	4,00	4,00	2,00
1.2	4,05	3,90	2,10

Ambos os isolados demonstram ter alta capacidade adaptativa no que diz respeito à mudança de pH, pois cresceram em todas as faixas testadas. O isolado 1.2 apresentou melhor crescimento em pH básico (10.0), e nesta faixa a colônia ocupou boa parte da placa, crescendo até 4,45 cm de diâmetro em 72 horas, porém este fungo também cresceu em pH ácido como 4,0 (2,1 cm) e 5,0 (2,1 cm). O isolado 1.1 apresentou uma capacidade adaptativa ainda maior. Nas faixas de pH ácido, (4.0 e 5.0) onde a colônia cresceu 3,5 cm de diâmetro também em 72 horas. Em pH básico, o crescimento mais significativo foi no pH 10.0, no qual a colônia chegou a 9,0

cm de diâmetro, ocupando quase toda a placa. Portanto os dois fungos isolados cresceram nas faixas de pH que variou de 4.0 a 12.0. Na tabela 2, estão registrados os resultados de crescimento (diâmetro da colônia em centímetros) de dos microrganismos em cada pH testado.

Tabela 2. Avaliação do crescimento dos fungos 1.1 e 1.2 em diferentes faixas de pH. Para o fungo 1.2 a temperatura utilizada foi 30°C e para o fungo 1.1 a temperatura utilizada foi 40°C.

pH	Diâmetro da Colônia (cm)	
	Isolado 1.2	Isolado 1.1
4.0	2,10	3,5
5.0	2.30	3,5
6.0	2,70	4,2
7.0	4,05	5.5
8.0	3,10	5.5
9.0	4,30	5.0
10.0	4,45	9,0
11.0	3,50	2,0
12.0	1,25	2,5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os isolados 1.1 e 1.2 apresentaram grande potencial de adaptação em diferentes temperaturas e pH. Este é um resultado significativo, pois os processos de produção industrial em geral envolvem várias etapas nas quais há oscilação de pH e temperatura. Um microrganismo que se adapta a estas diferentes condições pode ser facilmente inserido nestes processos de produção.

O comportamento destes fungos também desperta interesse para o uso na recuperação de áreas degradadas assim como para o tratamento de resíduos tóxicos. A ampla capacidade adaptativa permite a inserção destes seres em projetos que visem recuperação de ambientes extremófilos através do uso da biodegradação.

Faz-se necessário alertar que os testes para aplicabilidade final destes isolados não são conclusivos. Novos estudos devem ser realizados visando à caracterização enzimática e identificação dos microrganismos isolados.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J. L. (1986) **Genética de Microrganismos em Biotecnologia e Engenharia Genética.**

BAYER, E. A., E. Morag, and R. Lamed. 1994. **The cellulosome – a treasure trove for biotechnology.** Trends Biotechnology. 12:379-386.

- BHAT, M. K. 2000. **Cellulases and related enzymes in biotechnology**. *Biotechnology Advances* 18: 355-383
- BASJPAI, 1999. **Application of enzymes in the pulp and paper industry**. *Biotechnol. Prog.* 15: 147-157.
- COUGHLAN M. P. 1985. **Cellulases production, properties and applications**. *Biochem. Soc. Trans.* 13: 405-6.
- ALVES, S.B. & PEREIRA, R.M, 1998. Produção de fungos entomopatogênicos. In: S.B. Alves (ed.), *Controle Microbiano de Insetos*, 2ª ed., p. 845-869. Piracicaba, FEALQ.
- FILHO, E. X. F. 1998. **Hemicellulases and biotechnology**, p.165-176. In: S.G. Pandalai(ed.), *Recent research developments in microbiology*. Research Signpost. Trivarium, India.
- HENRISSAT, B, H. DRIGUEZ, C. VIET, AND M. SCHULEIN. 1985. **Synergism of cellulases from Trichoderma reesei in the degradation of cellulose**. *Biotechnology* 3: 722-726.
- LI, X.-L., AND L. G. LJUNGDAHL. 1994. **Cloning, sequencing, and regulation of a xylanase gene from the fungus A ureobasidium p ullulans Y- 2311-1**. *A ppl. E nviron. Microbiol.* 60: 3160-3166.
- LJUNGDAHL, L. G. , D. L. BLUM, H. Z. CHEN, Y. HE, I. KATAEVA, X. -L. LI, E. A.
- MACEDO, R. C.; BERBERT, V.H.C.; LEMOS, J.L.S.; TRINDADE P.V.O.; RIZZO, A.C.L. **Biorremediação de Solos Impactados por Óleo Cru Utilizando Fungos Filamentosos**, 2002.
- MORAES, A. M. L, 2002. **As Utilidades de um Antigo Vilão**. *Biociência, Ciência e Desenvolvimento*
- OLIVEIRA, 2002 **Grande Enciclopédia das Ciências, Ediclube**.
- RIFAI, H. S. and FIORENZA, S. **Review of MTBE Biodegradation and Biorremediation**.
- TRABULSI, 1991 **Microbiologia** 2a. Edição Atheneu.
- XIMENES, E. A., C. J. ULHOA, and C. R. FELIX. 1994. **Production of Cellulases by Aspergillus fumigatus Fresenius and Characterization of One Beta-Glucosidase**. *Current Microbiology* 32:119-123.
- XIMENES. 1999. **The cellulose/hemicellulose system of the anaerobic fungus Orpinomyces and aspects of further cellulose research**. In: Genetics, Biochemistry and Ecology of cellulose degradation, Ohmyia, K., K. Hayashi, K. Skka, Y. Kobayashi, S. Sarita, and T. Kimiura (eds), *Mie Bioforum 98*, Uni Plubischers Co., Ltd, Tokyo, Japan, pp 495-506.
- YANG, J. L., Eriksson. 1992. **The impact of xylanase on bleaching of kraft pulps**. *TAPPI J.* 12:95-101.



YANG, R. C. A., C. R. MCKENZIE, D. BILOUS, AND S.A. NARANG. 1989. **Hyperexpression of *Bacillus circulans* Xylanase gene in *Escherichia coli* and characterization of the gene product.** Appl. Environ. Microbiol. 55:1192-1195.