

Potencial de biorremediação de petróleo por fungos do Cerrado em co-cultivo

Casimiro, A. C. A.¹; Lopes, A. G. A.¹, Souto, A. L.¹; Paranhos, C. J. C.¹; Gonçalves, M. J. L.¹;Vieira, G. A.¹; Filho, E. X. F.²; Vale, L. H. F.¹

¹ Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

² Laboratório de Enzimologia, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

Email de correspondência: anaclaraaraujocasimiro@gmail.com

RESUMO

A contaminação do ambiente por petróleo e derivados gera impactos severos sobre a biodiversidade e qualidade de vida humana. Microrganismos apresentam capacidade de degradar, eliminar e reduzir uma variedade de poluentes, incluindo o petróleo, sendo alvo de estudos de biorremediação. Destacam-se os fungos filamentosos devido ao crescimento em hifas em uma grande variedade de substratos e flexibilidade enzimática e metabólica. Na natureza, a matéria é degradada por comunidades de microrganismos que crescem em sinergia e se complementam metabolicamente, sendo mais eficiente monoculturas. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi bioprospectar fungos filamentosos isolados do solo de Cerrado em co-cultivos para degradar petróleo e óleo diesel e determinar suas características proteômicas e enzimáticas. As espécies *Paecilomyces formosus*, *Clonostachys byssicola* e *Aspergillus brasiliensis*, anteriormente testadas em monocultivo, foram cultivadas em consórcios duplos e triplo. Foram três grupos experimentais em cultivo líquido de 100 mL em Erlenmeyers de 250 mL: controle positivo, cuja fonte de carbono foi a glicose (meio batata-dextrose – BDA), controle negativo (meio mínimo sem fonte de carbono) e dois testes com óleo diesel S10 1% e petróleo bruto 1% como únicas fontes de carbono em meio mínimo. Os fungos foram inoculados por solução de esporos na concentração final de 10^5 esporos/mL obtida de placas crescidas por, no mínimo, sete dias ou até esporulação em meio BDA. Para os consórcios duplos, cada fungo correspondeu a 50% da concentração final de esporos e, para os consórcios triplos, 33,3%. Os cultivos foram mantidos a 28°C e 130 rpm por 30 dias. Ao final do cultivo, o secretoma foi coletado para análises proteômica e três ensaios enzimáticos: manganês-peroxidase, lacase e lignina-peroxidase. Dentre todos os quatro cultivos realizados, o consórcio entre *P. formosus* e *A. brasiliensis* (PF+AB) e o consórcio triplo apresentaram melhor desempenho no consumo de óleo diesel e petróleo. Em apenas sete dias de crescimento, PF+AB apresentou modificação na aparência do petróleo em duas das três replicatas, formando um aglomerado de aspecto lamacento e denso e concentração de proteínas três vezes maior do que em controle negativo no 30º dia. Sob microscópio óptico, observou-

se massa de hifas e esporos entremeados em petróleo. Além disso, foi o único cultivo a apresentar atividade de lignina peroxidase, com 3,32 U/mL em petróleo. Não foram encontradas atividade significativa das demais enzimas em outros cultivos ou grupos experimentais. A eletroforese mostrou que os perfis proteicos dos testes com petroderivados diferenciam em entre si e são mais diversos do que controle negativo, evidenciando processos metabólicos para biodegradação. Apesar do visível crescimento e consumo dos hidrocarbonetos, a quantidade de proteínas secretadas obtida ao final dos experimentos ainda não é satisfatória e dificulta as análises pretendidas. As substâncias de diesel e petróleo como únicas fontes de carbono não são suficientes para o crescimento pleno dos fungos, diminuindo a capacidade metabólica desses organismos. Dessa forma, planejamos adicionar glicose ao meio de cultura com objetivo de facilitar o crescimento dos microrganismos. Assim, espera-se que tenham maior crescimento e continuem a degradar os contaminantes, possibilitando melhor investigação dos mecanismos de ação destes fungos biorremediadores.

Palavras-chave: Biodegradação; Hidrocarbonetos; Óleo diesel; Enzimas; Proteínas.

REFERÊNCIAS

- Gan, S. Lau, E.V.; Ng, H.K. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials*, v. 172, n. 3, p. 532-549, 2009.
- Pinedo-Rivilla, C.; Aleu, J.; Collado, I. Pollutants Biodegradation by Fungi. *Current Organic Chemistry*, v. 13, n. 12, p. 1194–1214, 2009.
- Zhang, H.; Yu, H.; Wang, H. et al. Enhanced bioremediation of bensulfuron-methyl contaminated oil by *Hansschlegelia zihuaiae* S113: metabolic pathways and bacterial community structure. *Journal of Hazardous Materials*, v. 480, 2024.