

Potencial de biorremediação de petróleo e óleo diesel dos fungos filamentosos *Trichoderma reesei* rut C30, *Aspergillus tamarii* e *Penicillium cerradense* em monoculturas e cocultivos.

Souto, A. L.¹, Vieira, G. D. A.¹, Casimiro, A.C.A.¹, Lopes, A. G. A.¹, Paranhos C. J. C.¹, Gonçalves, M. J. L.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.

E-mail de correspondência: ariane.souto@aluno.unb.br

Fungos filamentosos além de serem conhecidos como degradadores de diversas matérias orgânicas, possuem a capacidade de adaptação a diversos ambientes e alta tolerabilidade a compostos tóxicos de naturezas diversas (1). Pesquisas com o intuito de avaliar a capacidade destes microrganismos são conduzidas com o propósito de encontrar soluções sustentáveis de limpeza de matérias tóxicas do meio ambiente, como é o caso do petróleo e seus derivados (2). Apesar desta necessidade global, os estudos das atividades metabólicas envolvidas na degradação e consumo de hidrocarbonetos como fonte de carbono são poucos, se limitando ao conhecimento de algumas enzimas oxidativas que fazem parte deste processo. (3) Neste estudo, avaliamos a capacidade de uso de petróleo bruto e óleo diesel como única fonte de carbono de três fungos filamentosos *Trichoderma reesei* rut C30, cepa comercial, *Aspergillus tamarii* e *Penicillium cerradense*, isoladas do cerrado brasileiro. Foram realizados cultivos sólidos (BDA) para avaliação morfológica, e em meio líquidos, foram feitos cocultivos em: caldo batata, rico em carboidratos, e meio mínimo, composto de sais, para os testes de controle sem açúcar e testes suplementado com 1% de óleo diesel ou petróleo, adicionando 1 milhão de esporos de cada espécie e crescidos em *Erlenmeyers* aerado em *shaker* 28°C e 120 rpm. Após o crescimento, foi realizada a filtração a vácuo, coletando 150mL do *pool*, que foi centrifugado a 14.000 g por 20 minutos para retirada de precipitados e filtrado em filtro seringa de 0,22 µm. Realizou-se quantificação de proteínas por BCA e Qubit em cultivos concentrados em *speedVac*. Trabalhos anteriores, validaram a capacidade destas espécies em utilizar o petróleo bruto e óleo diesel como fonte de carbono crescendo por um período superior a 14 dias. Neste trabalho, avaliamos como tais espécies podem trabalhar em simbiose e obter resultados ainda melhores que em monocultivos. *Aspergillus tamarii* e *Penicillium cerradense* crescidos juntos apresentaram resultados visivelmente superiores que das espécies isoladas, com consumo e/ou adsorção do óleo diesel em 15 dias de crescimento, assim como mudanças físico-químicas do petróleo. As três espécies cocultivadas apresentaram mudança da coloração do petróleo para marrom de aspecto lamacento e aglomerado, indicando modificações estruturais. A quantificação proteica obteve aumento de proteínas em cocultivos em relação aos monocultivos, além de maior resistência com até 30 dias de atividade fúngica. Em SDS-PAGE usando o secretoma bruto, todos os cocultivos apresentaram perfil eletroforético. *A. tamarii* e *P. cerradense* crescidos em diesel apresentaram bandas definidas de proteínas distintas das de controle rico. Já o triplo cultivo obteve bandas em ambos os testes com padrão similar. Mudanças no meio de cultura, como substituição por caldo batata adicionado ao diesel ou petróleo pode melhorar o desempenho fúngico, visto a rica fonte de açúcar para crescimento e

aumento da capacidade de eliminação do composto tóxico invasor. Os achados deste trabalho evidenciam o uso e modificação destes compostos pelos fungos, e abre margem para mais experimentos de avaliação enzimática e proteômica, como espectrometria de massas, que elucide os mecanismos de degradação de compostos recalcitrantes, como o petróleo, por essas espécies de interesse.

Palavras-chave: Hidrocarbonetos, Proteínas, Enzimas, microbiologia ambiental.

Referências

1. Chunyan, X. *et al.* (2023) “The role of microorganisms in petroleum degradation: Current development and prospects,” *The Science of the total environment*, 865(161112), p. 161112. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161112>.
2. Atakpa, E.O. *et al.* (2022) “Improved degradation of petroleum hydrocarbons by co-culture of fungi and biosurfactant-producing bacteria,” *Chemosphere*, 290(133337), p. 133337. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133337>.
3. Zhang, M., Chen, Q. and Gong, Z. (2024) “Microbial remediation of petroleum-contaminated soil focused on the mechanism and microbial response: a review,” *Environmental science and pollution research international*, 31(23), pp. 33325–33346. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33474-9>.