

# ESTRATÉGIAS DE BIODEGRADAÇÃO DE FUNGO DO BIOMA CERRADO: EVIDÊNCIAS PARA APLICAÇÃO EM BIORREMEDIAÇÃO DE PETRÓLEO E DERIVADOS

**Autores:** PARANHOS, C.J.C<sup>1,2</sup>., GONÇALVES M.J.L<sup>1,2</sup>., SOUTO A.L<sup>1,2</sup>., CASIMIRO A.C.A<sup>1,2</sup>. VIEIRA, G.D.A<sup>1,2</sup>, LOPES, G.A<sup>1,2</sup>., FILHO E.X.F<sup>2</sup>., VALE.L.H.F<sup>1</sup>.

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

<sup>2</sup> Laboratório de Enzimologia, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

**E-mail:** cezarjunio75@gmail.com

O gênero fúngico *Paecilomyces sp.* costuma ser utilizado em processos de biorremediação, incluindo áreas contaminadas com petroderivados, o bioma Cerrado caracteriza-se como de seus *habitats*. Os objetivos do presente estudo buscaram cultivar o fungo *P. formosus* (CZJ1) a 35 e 60 dias, em controles com fontes de carbono tradicionais (dextrose), sem fonte de carbono, óleo diesel e petróleo a 1%, além de cultivá-lo com reagente redox 2,6 diclorofenol-indofenol (DCPIP) afim de analisar taxas oxidativas colorimétricas com *software FIJI/ImageJ* suplementado com *scanner* de nanômetros, avaliação proteico-enzimáticas através de dosagem por *Qubit*, gel SDS-PAGE 12% corado com AgNO<sub>3</sub>, ensaio enzimático de manganês peroxidase (MnP) com vermelho de fenol 0.1%, tampão succinato de sódio pH 4.5 e não enzimáticos através de microscopia óptica. Tratando-se dos processos não enzimáticos, nota-se a formação de micelas, demonstrando clareamento do petróleo. As imagens microscópicas revelam adsorção e ancoragem de hifas fúngicas às micelas, no diesel, observam-se esporos absorvidos em gotículas deste óleo, indicando aptidão deste microrganismo a substratos hidrocarbonados. As dosagem de proteínas destacam-se em extrato bruto 60 dias, no qual petróleo atingiu 39µg/mL, diesel 81 µg/mL e sem a fonte de carbono demonstrou 35 µg/mL e na presença de dextrose 78 µg/mL. As amostras concentradas ressuspendidas em tampão adequado para matrizes hidrofóbicas (triton X-100 (0.02%), Glicerol 10%,

NaCl 150 mM e Tris Hcl 50mM pH 8.0) indicaram 90 µg/mL nas amostras sem fonte de carbono, igualmente em petróleo e 110 µg/mL em diesel na recuperação de proteínas retidas em *pellet*. O gel dialisado, sem precipitação, inserido 10 µg revelaram proteínas secretadas definidas. As bandas apresentadas em diesel concentraram mais bandas de 25-75kDa e amostras com petróleo destacam bandas entre 45-150 kDa, comparado ao carregamento sem fonte de carbono, oferecendo contraste claro entre este controle, diesel e petróleo. A atividade de MnP resultou em controle com dextrose 10,07 U/mL, controle sem fonte de carbono, diesel e petróleo resultaram respectivamente em 2,18 U/mL, 3,94 U/mL e 2,45 U/mL. O ensaio com concentração das amostras garantiu a saturação do substrato melhorando as absorbâncias, indicado pela variação de cores na microplaca, capaz de revelar os resultados enzimáticos, ressaltando a importância dessa enzima extracelular comumente secretadas por fungos para processos oxidativos. As taxas oxidativas em OD apresenta-se maior (79,3%), seguido de controle abiótico com dextrose (CA+) e com o fungo junto a dextrose (C+) (55%) e petróleo (49,1%), enquanto os controles abióticos sem fonte de carbono (CA-) e controle abiótico com petróleo (CAPT) aproximaram-se de 10%, controle sem fonte de carbono e inóculo fúngico (C-) resultou em 29,6%. Os ensaios com DCPIP durante 7 dias apontam redução e oxidação, alterando o espectro de cores. As análises por imagem permitem quantificar a perda de cor do corante reduzido. As diferenças nas taxas oxidativas das amostras com fungo sugerem variação na atividade oxidativa promovida pelo mesmo, indicando biodegradação de petróleo e diesel. A espécie do fungo supracitado revela-se como boa candidata para trabalhos biotecnológicos que envolvam derramamentos de petróleo e derivados, capaz de abrandar riscos tóxicos, contribuindo para a sustentabilidade global.

**Palavras-chaves:** Hidrocarbonetos, Secretoma, Micelas, Proteínas, Enzimas.

## REFERÊNCIAS

- BILEN OZYUREK, Sezen; AVCIOGLU, Nermin Hande; SEYIS BILKAY, Isil. Mycoremediation potential of *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 10, p. 5937–5950, 1 dez. 2021.
- BRAGA, Héberly Fernandes; DO PRADO, Heloiza Ferreira Alves. Micodiversidade no Cerrado: relatos nos últimos anos. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 8, n. 4, p. 339–348, 12 out. 2020.
- HOFRICHTER, Martin. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, n. 4, p. 454–466, 2002.
- JOHNSON, Kenneth A.; GOODY, Roger S. The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper. **Biochemistry**, v. 50, n. 39, p. 8264–8269, 4 out. 2011.
- KLUCZEK-TURPEINEN, Beata *et al.* Degradation and enzymatic activities of three *Paecilomyces inflatus* strains grown on diverse lignocellulosic substrates. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 59, n. 4, p. 283–291, jun. 2007.
- KUMAR, Vikas *et al.* Studies on the morphology, phylogeny, and bioremediation potential of *Penicillium citrinum* and *Paecilomyces variotii* (Eurotiales) from oil-contaminated areas. **Archives of Microbiology**, v. 205, n. 1, 1 jan. 2023.
- ROMERO-HERNÁNDEZ, Lucia *et al.* Extra-heavy crude oil degradation by *alternaria* sp. Isolated from deep-sea sediments of the gulf of mexico. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 11, n. 13, 1 jul. 2021.
- WESSEL, D.; FLÜGGE, U. I. A method for the quantitative recovery of protein in dilute solution in the presence of detergents and lipids. **Analytical Biochemistry**, v. 138, n. 1, p. 141–143, 1984.
- WONG, Dominic W. S. **Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes.** **Applied Biochemistry and Biotechnology**, maio 2009.