



Bactérias produtoras de polihidroxicanoatos (PHAs): diversidade e potencial de aplicações biotecnológicas

GONZALES, Hebert Hernan Soto^{1*}; SOARES, Karen Janaína da Silva Soares²; ALENCAR, Andréia da Silva¹; SILVA, Luiziana Ferreira³; VITAL, Marcos José Salgado¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Federal de Roraima.

²Centro de Estudo da Biodiversidade, Universidade Federal de Roraima.

³Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - ICB-USP.

hebert.gonzales@ufr.br

Palavras Chave: plástico, lixo, polihidroxicanoatos, Sudan Black B, Nile Red A.

INTRODUÇÃO

O plástico tradicional é produzido a partir do petróleo. Nos últimos 50 anos, o consumo do material no mundo aumentou em 20 vezes. Cerca de 311 milhões de toneladas são produzidas anualmente. Até o final deste século, a estimativa é que o planeta receba 30 bilhões de toneladas de plástico. A China, Indonésia, Filipinas, Tailândia e Vietnã são os países que contribuem com mais da metade da quantidade de lixo plástico no oceano. Além da poluição e do descarte de resíduos em cidades nas costas, os rios também carregam o material para o mar. Há estimativas de que 10% de todo o lixo plástico algo como 91 milhões de toneladas anuais acaba nos oceanos. A produção de polihidroxicanoatos (PHA) que são poliésteres produzidos e armazenados como material de reserva de carbono e energia por diversos microrganismos sob a forma de grânulos intracelulares (Steinbüchel 1995). Esses polímeros tem despertado interesse industrial, pois apresentam propriedades termoplásticas e são biodegradáveis. A avaliação da biodiversidade do Estado de Roraima para bactérias produtoras de PHA tem demonstrado uma ampla variedade de espécies, entretanto, ainda um número pequeno de ambientes foi avaliado. Este trabalho tem por objetivo isolar linhagens bacterianas da biodiversidade Roraimense com relação à produção de polihidroxicanoatos (PHAs).

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento de bactérias

Os isolados bacterianos utilizados neste trabalho são provenientes de 3 locais de Boa Vista-RR. As amostras foram coletadas de água de igarapés de Boa Vista (Estação de Tratamento de Esgotos), água do Rio Branco (Bairro São Pedro), Lago dos Americanos (Parque Anauá). Foram feitas diluições em série da suspensão e espalhamento em placas contendo meio mineral sólido com glicose, sendo tomada a amostra com diluição de 10^{-3} a 10^{-4} . Para o isolamento por enriquecimento, alíquotas foram incubadas em frascos erlenmeyer de 1 L contendo 200 mL de meio mineral e glicose 3 g/L por 24 horas com agitação rotativa a 30 °C. Após 24 horas, foram feitas diluições em série do cultivo e espalhamento em placas contendo meio mineral sólido com glicose, sendo tomadas as diluições de 10^{-3} para a recuperação dos isolados.

Deteção de bactérias produtoras de PHA+

Os isolados foram cultivados em meio apropriado ao acúmulo destes materiais (Spiekermann et al.,1999), adicionados do corante Nile Red A no meio, com o objetivo de detectar colônias que podem conter grânulos de PHA quando apresentam fluorescência sob luz UV

(Spiekermann et al.,1999). O PHA também foi detectado pela coloração azul das colônias coradas com Sudan Black B em etanol, após serem cultivadas sob condição propícia ao acúmulo (Schlegel et al.,1970). As linhagens PHA(+) foram preservadas em glicerol a 20% e congelados em freezer a -80 °C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 467 isolados foi testado em meio mineral sólido contendo glicose como fonte de carbono e utilizando Nile Red A ou Sudan Black B como métodos qualitativos para detecção da produção de PHA. Os isolados provenientes de amostras água de igarapés de Boa Vista (Estação de Tratamento de Esgotos), 65 isolados, correspondendo a 45,0% dos isolados analisados, foram considerados como produtores de PHA. Para amostras de água do Rio Branco (Bairro São Pedro) foram detectados como produtores de PHA, correspondendo a 35,0% dos isolados analisados. Já para amostras do Lago dos Americanos (Parque Anauá), foram PHA+14 isolados, correspondendo a 20% dos isolados analisados. A literatura (Spiekermann et al., 1999) indica que o corante Nile Red A seria mais sensível e permitiria a detecção de quantidades menores de PHA acumulado. Esperava-se dessa forma que com esse corante fosse detectado um número muito maior de bactérias produtoras de PHA do que utilizando o corante Sudan Black B. Os resultados apresentados demonstram que um número maior de isolados foi detectado como produtor de PHA utilizando Sudan Black B quando comparado a Nile Red A.

CONCLUSÕES

O corante Nile Red não se apresentou como mais eficiente para detecção de bactérias produtoras de PHA quando comparado ao corante Sudan Black. Foi possível isolar bactérias produtoras de PHA capazes de produzir esses polímeros em comparação à linhagem de referência.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Universidade Federal de Roraima, igualmente ao Dr. Marcos José Salgado Vital, e à Dra. Luiziana Ferreira S.

SCHLEGEL, G.; LAFFERTY, R. **The isolation of mutants not accumulating poly-β-hydroxybutyric acid.** Archives of Microbiology. 1970;71:283-94.
SPIEKERMANN, E.; REHM, B.H.A.; KALSCHUEER, R.; BAUMEISTER, D.; STEINBÜCHEL, A. **A sensitive viable colony staining method using Nile red for direct screening of bacteria that accumulate polyhydroxyalkanoic acids and other lipid storage compounds.** Archives of Microbiology 1999;171:73-80.