

Produção de peroxidase por fungos filamentosos isolados de solos de lavouras no Estado de Goiás

Thales Antony de Assis Santos^{1*} (PG), Solange Xavier dos Santos¹ (PQ).

antonythales@hotmail.com

Universidade Estadual de Goiás - Campus Henrique Santillo; Rodovia BR 153, 3105 - Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - GO, 75132-903; Telefone (62) 3328-1161.

Resumo: Este trabalho teve por objetivo investigar a produção da enzima peroxidase por fungos filamentosos, isolados de solos de diferentes cultivos agrícolas no estado de Goiás. Foram utilizadas amostras de solos de 3 monoculturas, totalizando 10 linhagens fúngicas de 9 gêneros diferentes. A análise da produção de peroxidase, ocorreu através da análise dos extratos enzimáticos brutos, sendo possível perceber que todos os fungos produziram a enzima peroxidase. Os níveis da produção da enzima variaram entre 0,52 a 4,23 U.E/mL, sendo as linhagens TAS 06 e TAS 03 as que mais produziram peroxidase. Isso indica que vale a pena investir em pesquisas com fontes alternativas, para obtenção da peroxidase, tendo em vista, que as maiorias das linhagens pertencem a gêneros do Filo *Ascomycota*, que segundo a literatura não são os maiores produtores de peroxidase. Entretanto, ainda são necessários estudos mais detalhados, para que sejam obtidas as condições mais adequadas de produção desta enzima, pelas linhagens de fungos utilizadas neste trabalho.

Palavras-chave: Fungos de solo; Peroxidase; Potencial biotecnológico.

Introdução

Os fungos filamentosos têm se destacado como importantes degradadores de compostos orgânicos, devido sua capacidade de metabolizar polímeros complexos, que são convertidos em enzimas extracelulares não específicas, tais como lignina peroxidases, manganês peroxidases e lacases, formando assim, o “complexo das Peroxidases”, (Silva et al, 2011).

Estas enzimas são oxi-redutoras, responsáveis pela redução e oxidação de vários substratos. São amplamente usadas na indústria de papel e celulose, pois atuam no branqueamento da matéria-prima utilizada para produzir o papel. E também são usados na biorremediação, devido seu potencial no tratamento de efluentes da indústria têxtil e de celulose.

Este trabalho teve por objetivo investigar a produção da enzima peroxidase por fungos filamentosos, isolados de solos de diferentes cultivos agrícolas no estado de Goiás.

Material e Métodos

Obtenção das amostras de solo

As amostras de solo foram obtidas a partir de coletas em diferentes monoculturas: cana convencional, cana orgânica e soja, em três municípios do Sul e Sudeste goiano: Morrinhos, Goiatuba e Itumbiara.

Diagnóstico da micobiota do solo

As amostras passaram por uma técnica de isolamento de fungos de solo, considerando uma série de diluições sucessivas a partir da adição de 1g de solo em 10mL de Solução Fisiológica a 0,9% + Tween 80 a 0,02%. Em seguida uma alíquota de 100 µl dessa suspensão foi inoculada sobre a superfície de placas de Petri com meio de cultura de BDA+ Cloranfenicol a 0,025% g/100 mL. As culturas foram incubadas em estufa BOD a 25° C.

As colônias foram levadas à análise em microscópico ótico. A identificação taxonômica foi baseada nas características morfológicas, considerando tanto o aspecto macroscópico da colônia, quanto as características microscópicas, segundo a bibliografia pertinente.

Análise da atividade da enzima peroxidase

Para a análise da atividade da enzima peroxidase produzida por fungos, foram utilizados erlenmeyers de 250 mL cada, onde foram introduzidos 5g de farelo de trigo; 10mL de solução de nutrientes, contendo Sulfato de Amônio à 1% e Sulfato de Magnésio à 0,01%; e 3 inóculos de fungos. As culturas foram incubadas em estufa BDO a 25° C. Após 7 dias, os metabólitos liberados pelos fungos nos erlenmeyer, foram diluídos com 40 mL de água destilada.

O extrato enzimático bruto foi avaliado quanto à produção da enzima peroxidase, utilizando a espectrofotometria segundo o método de Halpin e Lee (1987). A mistura de reação foi preparada em tubos de ensaio adicionando 2,4 mL de Pirogalol (preparado em tampão fosfato de sódio 0,1 mol/mL, e pH 6,0); e 0,1 mL da solução enzimática. A reação iniciou-se pela adição de 0,5mL de H₂O₂ a 0,05 mol/ L, e processou-se em 1 minuto, a 420 nm, considerando 0,1 absorvância /min o equivalente a uma unidade de enzima de peroxidase (POX)

Resultados e Discussão

A habilidade de produção de peroxidase pelos isolados fúngicos estudados, é apresentada no quadro 1. Ao analisá-la, podemos perceber que os diferentes fungos testados neste trabalho, demonstraram padrões de níveis de peroxidase não muito distintos, mas mesmo assim, isso é algo a se levar em consideração, tendo em vista, que a maioria das linhagens, pertencem a gêneros do Filo *Ascomycota*, que segundo a literatura não são os maiores produtores de peroxidase, pois os gêneros, que mais produzem a enzima peroxidase, pertencem ao Filo *Basidiomycota*, responsáveis, por exemplo, pela chamada “Podridão branca”.

As linhagens que apresentaram níveis de produção de peroxidase mais distantes um do outro, foram o TAS 06 e TAS 01, linhagens estas, isoladas de amostras de solos de cultivos agrícolas de cana-de-açúcar, obtidas nos municípios de Itumbiara, e de cana-de-açúcar orgânica no município de Morrinhos, respectivamente.

Levando em consideração a procedência do solo e o cultivo agrícola de onde foram obtidos os fungos, estes dois fatores não se mostraram como estímulo, para produção de peroxidase, pois os valores pouco variam, exceto as linhagens obtidas em Itumbiara no solo de cana-de-açúcar convencional, que apresentaram variações entre 0,97 a 4,23 U.E/mL.

A baixa variação nos níveis apresentados, não está necessariamente ligada a variação no tipo de solo ou manejo, pois as linhagens fúngicas encontradas em cada tipo de solo, não pertencem ao mesmo o gênero.

Silva et al (2004) em um trabalho que também analisou a produção de enzima peroxidase por fungos, obtidos através de amostras de solo cultivados com arroz irrigado, que também cresceram em farelo de trigo. Neste caso, foram utilizados alguns componentes no meio de cultura, que não foram usados no presente teste, e apresentaram níveis, que variaram de 0,19 a 18,08 UE. mL., o que pode indicar que o tipo de estímulo gerado pelo substrato, interfere diretamente na quantidade de enzima produzida pelo fungo.

Considerações Finais

As pesquisas que visam o estudo de enzimas fúngicas tem se mostrado relevante, pois o teste para a produção da enzima peroxidase, mostrou que mesmo fungos do Filo Ascomycota, produziram níveis significativos de peroxidase. Isso indica que vale a pena investir na pesquisa com fontes alternativas, para obtenção da peroxidase, podendo assim, investir na produção em larga escala. Entretanto, são necessários ainda estudos mais detalhados, para que sejam obtidas as condições mais adequadas de produção destas enzimas, pelas linhagens de fungos utilizados neste trabalho.

Quadro 1 – Produção de enzima peroxidase por fungos de solo de cultivos agrícolas em municípios goianos.

Cultivo agrícola	Procedência do solo	Gêneros de fungos (linhagens)	Quantidade de Peroxidase (U.E/mL)
Cana-de-açúcar orgânica	Goiatuba	<i>Cladosporium</i> (TAS 03)	1,76
		<i>Phytophthora</i> (TAS 04)	1,28
Cana-de-açúcar convencional	Anicuns	<i>Penicillium</i> (TAS 02)	1,24
	Itumbiara	<i>Penicillium</i> (TAS 13)	0,97
		<i>Aspergillus</i> (TAS 14)	1,03
Soja	Morrinhos	<i>Chrysosporium</i> (TAS 01)	0,52
	Itumbiara	<i>Fusarium</i> (TAS 11)	1,48
	Goiatuba	<i>Cunninghamella</i> (TAS 09)	1,12

Agradecimentos

A Universidade Estadual de Goiás pela concessão da Bolsa de mestrado e auxílio para participação de eventos científicos.

Referências

BAPTISTA, Nunes M. SANTOS, Queiroz A. ARRUDA, Castro F. GUSMÃO, Vanessa. F. *Produção das Enzimas Lignina Peroxidase e Lacase por Fungos Filamentosos*. Revista Scientia plena, vol. 8, n. 1, 2012.

ORLANDELLI, Ravelly Casarotti. SPECIAN, Vânia. FELBER, Aretusa Cristina. PAMPHILE, João Alencar. *Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações*. Revista de Saúde e Biologia, vol.7, n.3, set.-dez. p.97-109, 2012.

HALPIN, B.E.; LEE, C.Y. Effect of blanching on enzyme activity and quality changes in green peas. Journal of Food Science, v. 52, n 4, p. 1002-1005, 1987.

SILVA, Célia Maria de Souza Maganhotto. MELO, Itamar Soares. OLIVEIRA, Pablo Roberto. *Produção de enzimas ligninolíticas por fungos isolados de solos sob cultivo de arroz irrigado*. Jaguariúna : Embrapa Meio Ambiente, 2004.

SILVA, M.G. ; D.G. Almeida ; R.C.M. Miranda ; C.C.S. Maciel¹ ; GUSMÃO, N.B. *Produção da enzima lignina peroxidase por fungos filamentosos utilizando óleo diesel como substrato*. Revista Scientia plena, vol. 7, n. 10, 2011.

SOUZA, Vênia C. SILVA, Ricardo A. CARDOSO, Gleibson D. BARRETO, Artur F. *Estudos sobre fungos micorrízicos*. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. Campina Grande. vol.10, n.10.