

Isolamento e caracterização de fungos com atividade lignocelulolítica destinado a decomposição de substratos de interesse agrícola

RESUMO

Gustavo da Silva Matos
gmatos@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná,
Brasil

Cleverson Busso
cleversonbusso@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná,
Brasil

O objetivo desta pesquisa é bioprospectar, avaliar e identificar microrganismos com ação lignocelulolítica a partir da cama de aviário. Para o isolamento, foram coletadas amostras de cama de aviário com seis diferentes tipos de composição. Posteriormente os isolados foram submetidos à avaliação quanto a seu potencial de degradação da cama de frango. No total foram 18 linhagens isoladas e submetidas a testes quanto a sua capacidade lignolítica e celulolítica. Dentre estas, apenas três ofereceram degradação considerável, sendo avaliadas quanto a sua capacidade enzimática celulolítica. No teste da celulase, as linhagens submetidas à temperatura de 45°C obtiveram um melhor resultado geral, o que nos permite deduzir que há uma capacidade termofílica das linhagens.

PALAVRAS-CHAVE: Bioprospecção. Lignocelulolítico. Termofílico.

1. INTRODUÇÃO

Um dos setores agropecuários de maior destaque no Brasil é o setor avícola, que nos últimos anos teve um crescimento expressivo, gerando importantes receitas para o Brasil (OECD-FAO, 2015; TEIXEIRA et al, 2008).

Entretanto, a produção de carne de frango e a geração de resíduos poluidores são diretamente proporcionais, dando a este setor um certo caráter desafiador quanto a adoção de medidas de aproveitamento destes de forma a preservar o meio ambiente.

O tipo de resíduo mais comum do sistema de produção avícola é a cama de aviário. Embora este resíduo possa ser reutilizado em média até oito vezes, o destino final de grandes quantidades ainda é um grande problema.

Uma das alternativas de reutilização é seu uso como adubo, porém existem problemas quanto à sua composição que acabam dificultando sua decomposição. Por possuir elementos como maravalha e serragem, que por sua vez são resíduos com grandes quantidades de celulose e lignina, sua decomposição microbiana se torna muito lenta ou quase ineficaz (PAGANINI, 2004; HAHN, 2004).-

Uma ferramenta quanto à decomposição da cama de frango pode ser a bioprospecção de microrganismos lignocelulolíticos para a otimização deste processo, atuando como inóculo, que por sua vez pode ser usado pelos agricultores diversas vezes.

2. MÉTODOS

Para o isolamento de fungos filamentosos, foram coletadas amostras de seis diferentes tipos de cama de aviário: cama de peru (CP); cama de aviário com 15 dias de compostagem (C15); cama de aviário com 45 dias de compostagem (C45); cama de aviário com 85 dias de compostagem (C85); cama de aviário mista (CM) e cama de frango com casca de ovos (CO).

As amostras foram levadas ao laboratório de microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos, pesadas e diluídas em água peptonada 0,1%. Após as diluições, alíquotas de 100µL foram distribuídas em placas de petri contendo meio de cultura sólidos CMC por um período de 7 dias.

A avaliação da atividade celulolítica, foi realizada de acordo com Ruegger & Tauk-Tornisielo (2004). Discos de micélio-ágar com diâmetros de 5mm foram retirados de culturas puras e inoculadas em novas placas. Após um período de incubação de 7 dias a temperatura de 28°C, a atividade celulolítica pode ser verificada pela adição de 10mL de solução corante de vermelho congo. O resultado foi uma correlação entre o tamanho do halo formado e a capacidade de degradação dos microrganismos.

Para a avaliação da atividade lignolítica, foi realizada a metodologia descrita por Castro & Krüger (1984). Colônias foram cultivadas em meio extrato de malte-ácido-tânico-ágar (extrato de malte, 15,0 g.L⁻¹; ácido tânico, 5,0 g.L⁻¹; ágar, 20,0 g.L⁻¹). A avaliação final é baseada no teste de Bavendamm quanto à formação de um halo marrom, considerando como reação positiva para produção de fenoloxidasas (NOBLES, 1965).

Os microrganismos que apresentaram atividade celulolítica e lignolítica, foram submetidos ao crescimento em meio contendo Cama de Frango Ágar (CFA- Cama de frango, 20 g.L⁻¹; Ágar-Ágar, 15 g.L⁻¹). Para este meio, 10g de cama de aviário foram autoclavados em Erlenmeyer e posteriormente adicionado micélio e células dos isolados, foram incubados por 10 dias às temperaturas de 25 e 45°C. Após a incubação, foi feita a adição de água destilada e em seguida o material filtrado. O filtrado foi centrifugado e o sobrenadante utilizado para determinação da atividade celulolítica.

Para determinação da atividade enzimática celulolítica, a metodologia empregada foi a mesma descrita por Ghose (1987), substituindo o papel filtro por cama de aviário tratada e não tratada com NaOH 4% (m/v) e H₂O₂ 1% (v/v) reduzindo o tempo de incubação para 50 minutos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total 18 linhagens foram isoladas dos seis diferentes tipos de cama de aviário, como indicado no quadro 1.

Quadro 1 – Amostras coletadas e suas linhagens obtidas

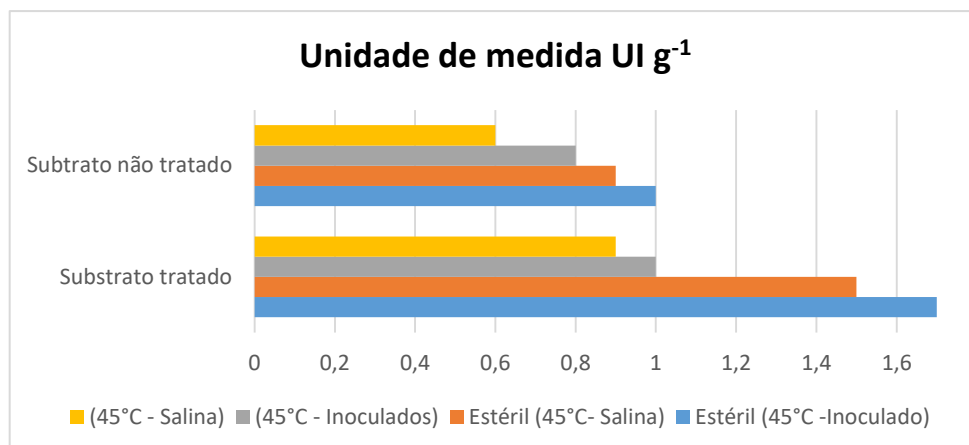
Amostra	Isolado I	Isolado II	Isolado III
Cama de Peru / (CP)	CP-1	CP-2	CP-3
Cama de aviário (15 dias compostagem) / (C15)	C15-1	C15-2	C15-3
Cama de aviário (45 dias compostagem) / (C45)	C45-1	C45-2	C45-3
Cama de aviário (85 dias compostagem) / (C85)	C85-1	C85-2	C85-3
Cama de aviário (Mista) / (CM)	CM-1	CM-2	CM-3
Cama de aviário com casca de ovos / (CO)	CO-1	CO-2	CO-3

Fonte: Autoria própria (2017).

A avaliação quanto à capacidade celulolítica e lignolítica, permitiu a seleção de 3 linhagens com maior capacidade de degradação (CP-2), (C15-3), (CO-2). Estes isolados ao serem submetidos ao crescimento em meio de cultura CFA apresentaram nítidas estruturas miceliais, características de fungos filamentosos.

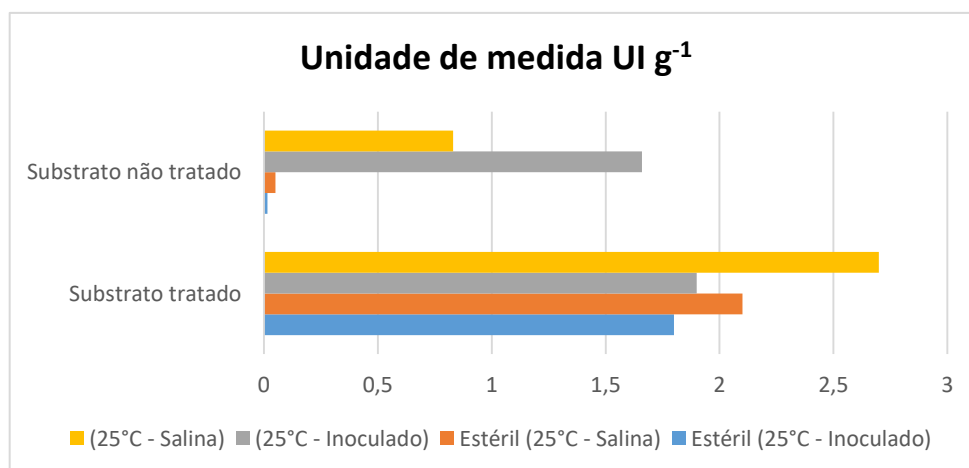
A atividade enzimática celulolítica foi avaliada através das taxas de açúcares liberados, considerando que os testes foram feitos em diferentes parâmetros tais como: amostras inoculadas e não inoculadas, estéreis e não estéreis, substrato tratado (NaOH 4% (m/v), (H₂O₂ 1%) (v/v) e não tratado (H₂O₂ 1%) (v/v) em temperaturas de 28 e 45°C. Ver, Gráfico 1- e Gráfico 2.

Gráfico 1 – Atividade da celulase à 45°C



Fonte: Autoria própria (2017).

Gráfico 2 – Atividade da celulase à 25°C



Fonte: Autoria própria (2017).

4. CONCLUSÕES

Observou-se grande incidência fúngica nas amostras de cama de aviário coletadas na região sudoeste do Paraná. Os isolados obtidos apresentaram grande capacidade quanto a degradação de celulose e lignina, revelando ótimos resultados quanto à sua ação enzimática em resíduo sólido, tendo maior ênfase à temperatura de 45°C em substrato tratado com NaOH 4% (m/v) e H₂O₂ 1% (v/v).

As análises quanto à temperatura puderam nos mostrar uma capacidade termofílica dos isolados em questão.

Isolation and characterization of fungi with lignocellulite activity for the decomposition of substrates of agricultural interest

ABSTRACT

The objective of this research was to bioprospect, evaluate and identify lignocellulolytic microorganisms from the aviary bed. For the isolation, avian litter samples were collected with six different types of composition. Subsequently the isolates were submitted to the evaluation of their degradative potential in chicken litter. In total, 18 isolated strains were tested for lignolytic and cellulolytic capacity. Of these, only three presented considerable degradation capacities, being evaluated for their cellulolytic enzymatic capacity. Of the 18 lines obtained, only 3 stood out in the degradation tests. In the cellulase test, the strains submitted to the temperature of 45 ° C obtained a better overall result, which allows us to deduce that there is a thermophilic capacity of the strains.

KEY WORDS: Bioprospecting. Lignocellulolytic. Thermophilic.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação Araucária pela bolsa PIBIC disponibilizada para execução deste projeto. A empresa Solo Forte Indústria e Comércio de Adubos Orgânicos Ltda. À profa. Maria G. B. Pagnoncelli pela ajuda em procedimentos analíticos. A profa. Marcela T. Frata responsável pelo laboratório de Microbiologia e uso dos equipamentos. Também agradecemos a UTFPR, campus Dois Vizinhos pela oportunidade de desenvolvimento deste projeto.

REFERÊNCIAS

CASTRO, H.A.; KRUGNER, T.L. Microorganismos associados à podridão do cerne de árvores vivas de *Eucalyptus spp.* na região de Guaíba, RS. **Fitopatologia Brasileira**, v.9, p.227-232, 1984.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulose activities. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 59, p. 257-268, 1987.

HAHN, L. **Processamento da cama de aviário e suas implicações nos agroecossistemas**. 2004. 130 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

NOBLES, M. K. Identification of cultures of wood-inhabiting hygomycetes. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 43, p. 1097-1139, 1965.

OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015), **OECD-FAO Agricultural Outlook 2015**, OECD Publishing, Paris.

PAGANINI, F. J. **Produção de frangos de corte: manejo de cama**. Ed. MENDES, A. A.; NÄÄS, I. de A.; MACARI, M. Campinas: FACTA. 356p. 2004.

RUEGGER, M.J.S. & TAUKE-TORNISIELO, S.M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p.205-211, 2004.

TEIXEIRA, E. C.; FERREIRA FILHO, J. B. S. Estrutura de oferta e de demanda derivada da produção de frangos de corte no Brasil a partir de uma função lucro translog. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco. **Anais**. Rio Branco: SOBER, 2008. p. 1-21.

Recebido: 31 ago. 2017.

Aprovado: 02 out. 2017.

Como citar:

MATOS, G. S.; BUSO, C. Isolamento e caracterização de fungos com atividade lignocelulolítica destinado a decomposição de substratos de interesse agrícola. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 22., 2017, Londrina. **Anais eletrônicos...** Londrina: UTFPR, 2017. Disponível em: <<https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2017/index>>. Acesso em: XXX.

Correspondência:

Gustavo da Silva Matos

Rua Paineira, 2874s, Lucas do Rio Verde, Mato Grosso, Brasil.

Direito autoral:

Este resumo expandido está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição-Não Comercial 4.0 Internacional.

