BIOPROSPECÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS CULTIVÁVEIS DE DIFERENTES PAISAGENS DO ESTADO DO CEARÁ PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

Geovana da Silva Costa [1], Vanessa Lúcia Rodrigues Nogueira [2]

RESUMO

À exceção de animais e plantas superiores, o conhecimento da diversidade microbiana em termos de riqueza de espécies, distribuição local e global, e função no ecossistema, permanece ainda bastante incompleto. Apesar de sua grande importância na manutenção da biosfera, estima-se que menos de 10% dos micro-organismos existentes no planeta tenham sido caracterizados e descritos. O conhecimento da diversidade e prospecção de novos micro-organismos tornaram-se uns dos focos principais da era biotecnológica, visto que sua utilização nas áreas de alimento, saúde, meio ambiente e indústria vem crescendo de forma acelerada no atual cenário mundial. Sua extraordinária atividade baseada na diversidade metabólica e adaptabilidade genética, é o que os torna uma importante fonte de recursos genéticos. Nesse cenário, alguns ambientes são potenciais fontes de recursos genéticos, e no Ceará, destaca-se a Serra de Baturité, um dos poucos resquícios de Mata Atlântica no Nordeste. Esse ecossistema é rico em biodiversidade, com alto endemismo, e ainda pouquíssimo estudado. Esse projeto buscou isolar, caracterizar e avaliar o potencial enzimático desses micro-organismos. Para tanto, bactérias e fungos foram isolados em meios específicos a partir de amostras de solos e de serapilheira da serra. Os isolados estão sendo caracterizados quanto a fisiologia, potencial enzimático e produção de antibióticos. Os isolados mais promissores serão identificados por métodos moleculares para compor uma coleção de micro-organismos regionais contribuindo para o conhecimento da biodiversidade da nossa região, além de ser um banco genético valioso com potencial para futuras prospecções biotecnológicas.

Palavras-chave:

Microbiota do solo. Serra de Baturité. Enzimas.

[1] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: geovanasc260@gmail.com
[2] UNILAB, ICEN, Docente, e-mail: vanessa.nogueira@unilab.edu.br

INTRODUÇÃO

Os fungos e as bactérias controlam muitos dos processos vitais dos quais depende a própria manutenção e sobrevivência de diversos ecossistemas (Hawksworth & Colwell, 1992). Esses micro-organismos, além daqueles que causam doenças em humanos, animais domésticos e plantas cultivadas, são poucos conhecidos. A maioria dos esforços de estudo e uso sustentável da biodiversidade tem sido focada nos macro-organismos (mamíferos, aves, peixes e plantas). Estimativas recentes indicam que os micro-organismos e invertebrados constituem quase que 90% das espécies da biosfera e desempenham um papel fundamental no funcionamento de ecossistemas (Canhos & Manfio, 2001). No entanto, conhecemos menos de 1% das bactérias e vírus, e menos que 5% dos fungos, em contrapartida, mais de 80% das plantas e mais de 90% dos vertebrados existentes na natureza são conhecidos. Embora menos estudados, muitos micro-organismos são essenciais para a sobrevivência das formas de vida na terra (Hamond, 1995). Nos últimos anos, vem crescendo o número de micro-organismos descritos na literatura, em virtude do desenvolvimento das ferramentas moleculares a partir da análise de DNA extraídos de amostras ambientais. Essas novas tecnologias trouxeram à tona a grande lacuna existente no conhecimento da real diversidade microbiana do planeta. Como exemplo, podemos citar a vasta diversidade genética evidenciada por essas ferramentas no em amostras de solo. Estima-se que em 1 g de solo ocorram entre 20 e 40 mil espécies bacterianas. Considerando-se que são descritas cerca de 5.000 espécies de bactérias, cuja maioria não é de solos, há uma enorme lacuna de conhecimento a ser preenchida em estudos de biodiversidade. A evolução das metodologias de biologia molecular aplicada ao estudo do meio ambiente tem contribuído significativamente para um grande avanço do conhecimento sobre a diversidade microbiana (Coutinho et al, 2001; Achtman & Wagner, 2008) Atualmente, estima-se que o número de espécies microbianas pode ser ainda maior, cerca de 1 e 1,5 milhões de espécies de fungos, e até 3 milhões de bactérias, a maioria das quais são ainda não cultiváveis. Mesmo que tais números encontrem algum ceticismo, duas conclusões são inevitáveis: (1) que pelo menos 90 a 95% da microbiota da Terra ainda não foi descrita; e (2) a biota microbiana constitui pelo menos 15% de todas as espécies na Terra, em comparação com menos de 3 e 0,5% para plantas e vertebrados, respectivamente. (Oliveira, Sette & Fantinatti-Garboggini, 2006). À exceção de animais e plantas superiores, o conhecimento da diversidade biológica em termos de riqueza de espécies, distribuição local e global, e função no ecossistema, permanece ainda bastante incompleto. Os micro-organismos são essenciais para o meio ambiente e contribuem para a estabilidade de ecossistemas, sendo também responsáveis pela ciclagem dos compostos químicos, incluindo a degradação de poluentes ambientais. O conhecimento da biodiversidade e bioprospecção de novos micro-organismos tornaram-se uns dos focos principais da era biotecnológica, visto que a utilização destes organismos na busca de soluções nas áreas de alimento, saúde, meio ambiente e indústria vem crescendo de forma acelerada no atual cenário mundial (Oliveira, Sette & Fantinatti-Garboggini, 2006). Os benefícios científicos esperados de um maior conhecimento sobre a diversidade microbiana são extensos, desde uma melhor compreensão das funções exercidas nos ambientes e suas interações com outros organismos, até a descoberta de micro-organismos com potencial biotecnológicos para obtenção de novos antibióticos, agentes terapêuticos, produtos químicos, enzimas e polímeros para aplicações industriais, bem como aplicações ambientais, na biorremediação de poluentes, controle biológico de pragas e vetores e fertilização dos solos (Coutinho et al, 2001; Tripathi et al., 2007; Vitorino & Bessa, 2017). Essa extraordinária atividade dos micro-organismos está baseada em sua notável diversidade metabólica e adaptabilidade genética (Kurtböke, Swings & Storms, 2004.), o que os torna uma importante fonte de recursos genéticos para o avanço biotecnológico e para o desenvolvimento sustentável. A grande diversidade metabólica e adaptabilidade genética dos micro-organismos auxiliam a superar as diversas condições ambientais encontradas em seus habitats (Whitman et al., 1998). Tradicionalmente, as enzimas ou outros compostos com atividade biológica têm sido acessados por isolamento e cultivo de micro-organismos a partir das amostras ambientais. As enzimas microbianas, por exemplo, já ocupam uma posição proeminente na biotecnologia moderna, melhorando ou até mesmo substituindo vários processos que já existiam (Egorova & Antranikian, 2005). A busca por novos compostos bioativos de microorganismos isolados, muitas vezes tem culminado no isolamento de espécies já bastante conhecidas, tem sido urgente a busca de novas espécies de micro-organismos, buscando novas metodologias

de cultivo tradicionalmente ou otimizando-as ou explorar ambientes ainda pouco estudados.

Diante do exposto, há necessidade premente de conhecer a diversidade microbiana dos ecossistemas, assim como seu potencial genético, visando contribuir para o conhecimento da nossa biodiversidade regional, que poderá ser utilizada para diversos fins ecológicos e tecnológicos. A criação de uma coleção de micro-organismos na universidade abrirá oportunidades para uma maior integração e desenvolvimento de atividades científicas multidisciplinares na UNILAB, e com outras instituições parceiras. Os estudantes de graduação participantes do projeto, serão favorecidos com uma formação sólida e integrada nas áreas das Ciências Biológicas buscando uma aplicação prática para a sociedade, além de desenvolver habilidades na sua formação acadêmica, através do aprendizado em ferramentas e metodologias científicas que possam ser aplicados no desenvolvimento da região. Esse aprendizado fortalece o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, juntamente com caráter humano e social, além da difusão de conhecimento através da inclusão e desenvolvimento regional e dos países parceiros.

METODOLOGIA

1. Coleta de amostras A área de coleta na Serra foi georreferenciada e marcadas no mapa da região. Foram coletadas amostras aleatórias ao longo da subida da Serra atrá do Campus das Auroras, totalizando 6 pontos amostrados, de solo e de serrapilheira. As amostras foram acondicionadas em potes estérieis e levadas ao laboratório para iniciar o isolamento.

2. Isolamento de micro-organismos Para iniciar o estudo da diversidade microbiana cultivável da Serra de Baturité, amostras coletadas foram pesadas e suspensas em solução salina estéril e mantidas a 25ºC por 1h, sob agitação de 250 rpm para auxiliar a liberação dos microorganismos das partículas de solo. Posteriormente, diluições decimais seriadas (10-1–10-7) foram plaqueadas em meios PCA para bactérias e agar batata para fungos e deixadas a temperatura ambiente para crescimento por até 5 dias, para o isolamento dos micro-organismos com taxa de crescimento diferencial. As cepas com características culturais distintas foram isoladas para obtenção de culturas puras e armazenadas sob refrigeração e ultrafreezer para processamento. As cepas foram classificadas numericamente em ordem crescente e em quatro grupos, para bactérias; S (serrapilheira), ST (Solo) e fungos FS (serrapilheira), FST (solo).

3. Avaliação do potencial de produção de hidrolases O projeto se encontra nessa fase de desenvolvimento. Inicialmente, estão sendo testadas as bactérias da serrapilheira para produção de amilases pelo método de difusão em ágar-amido (1%). As placas foram colocadas na estufa para crescimento das cepas por 7 dias a 35° até a revelação com lugol e medição do halo com paquímetro. As cepas, tanto de serrapilheira e solo, serão testadas para as enzimas celulase e lipase, para sua posterior seleção para identificação e caracterização fisiológica

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos no isolamento, 150 isolados, entre bactérias e fungos, a partir de amostras de solo e de serrapilheira da serra de Baturité. Até o momento as 36 cepas bacterianas testadas, 33% foram positivas para amilase. Dentre estas, duas cepas (S-58.2 e s-62.2) foram as mais promissoras com o halo de produção maior que 18mm de diâmetro. Os dados embora ainda iniciais tem perspectivas de identificar espécies produtoras de hidrolises de importância industrial e contribuir para a pesquisa nesta região pouco estudada (Ver Tabela 1).

CONCLUSÕES

Concluímos que considerando os achados da pesquisa realizada, os microrganismos cultiváveis em laboratório tem um potencial biotecnológico a ser explorado. Visto que, devido a poucos estudos acerca da diversidade microbiana no maciço de Baturité está área detém grande valor no qual podem ser encontradas novas espécies que contribuam para os setores de mercado e interesses globais.

AGRADECIMENTOS

UNILAB- Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. Pela oportunidade de enriquecer a minha formação acadêmica

CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Por auxiliar na continuidade e no desenvolvimento da pesquisa e contribuir para minha formação.

Profa.Dra. Vanessa Lúcia Rodrigues Nogueira. Pela paciência , orientação e suporte para minha formação cientifica e pessoal.

REFERÊNCIAS

ACHTMAN, M; WAGNER, M. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. Nat. Rev. Microbiol., v. 6, p.431–440, 2008.

CANHOS, V.P.; MANFIO, G.P. Recursos Microbiológicos para Biotecnologia, 2001. http://www.redetec.org.br/wp-content/uploads/2015/02/mct_recursos_biologicos.pdf. Acessado em maio de 2018.

COUTINHO, H. L. C.; OLIVEIRA, V. M., MANFIO, G. P. Diversidade microbiana em amostras ambientais. In: Garay, I. & Dias, B. (Eds.) Conservação da Biodiversidade em Ecossistemas Tropicais. Editora Vozes, Petrópolis. p. 215-232, 2001.

MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F. Enzimas: poderosa ferramenta na indústria. Ciência Hoje, v. 41, n. 242, p. 28-33, 2007.

NANDY, S. K. Bioprocess Technology Governs Enzyme Use and Production in Industrial Biotechnology: An Overview. Enzyme Engineering, v. 5, n. 1, 2016

OLIVEIRA, V. M.; SETTE, L.D.; FANTINATTI-GARBOGGINI, F. Preservação e Prospecção de Recursos Microbianos. Construindo a história de Produtos Naturais. MultiCiência/UNICAMP, 2006. Acessado em maio de 2018. https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_08_7.pdf SUN, H; ZHAO, P; GE, X. Recent advances in microbial raw starch degrading enzymes. Applied Biochemistry and Biotechnology, China, v. 160, p. 988–1003, 2010.

VAN BEILEN, J.; LI, Z. Enzyme Technology: an overview. Current Opinion in Biotechnology. v. 13, n. 4, p. 338-344, 2002.