



CRESCIMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ASCOMICETOS ISOLADOS DE *Piper hispidum* EM MEIO DE CULTURA CONTENDO OS CORANTES REATIVOS AMARELO RNL E AZUL BB

*Ravelly Casarotti Orlandelli*¹; *Tiago Tognolli de Almeida*²; *Vânia Specian*³; *Mariana Sanches Santos*⁴; *João Lúcio de Azevedo*⁵; *João Alencar Pamphile*⁶

RESUMO: Endófitos ou fungos endofíticos habitam o interior das plantas sem causar-lhes danos, sendo encontrados em órgãos e tecidos vegetais como folhas e ramos. Entre suas aplicações biotecnológicas estão o controle biológico de pragas e doenças, a biorremediação de compostos tóxicos e efluentes industriais, a produção de metabólitos com atividade biológica e a produção de enzimas. Este trabalho teve como objetivo analisar o crescimento *in vitro* de três fungos endofíticos ascomicetos isolados da planta *Piper hispidum* na presença dos corantes reativos amarelo RNL e azul BB, na concentração de 0,1% (v/v), durante 7 e 15 dias, a fim de avaliar um possível potencial para a biorremediação de corantes têxteis. Os diâmetros de crescimento das colônias fúngicas foram medidos em cm e analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os três fungos testados foram tolerantes a presença dos corantes, embora não tenham sido capazes de degradá-los nas condições de crescimento testadas neste trabalho. Assim, conclui-se que devido à capacidade de crescimento na presença de corantes, esses fungos podem ser empregados em outros trabalhos buscando seu potencial para a biorremediação, testando-se outros corantes e/ou outras condições de crescimento.

PALAVRAS-CHAVE: biorremediação; corantes têxteis; degradação; endófitos.

1 INTRODUÇÃO

Corantes têxteis podem ser classificados de acordo com seu modo de fixação e interação com a fibra têxtil. Corantes reativos são aqueles usados principalmente nas fibras celulósicas. Este grupo de corantes contém um grupo reativo (eletrofílico) capaz de formar ligações covalentes com grupos hidroxila das fibras celulósicas e, também, com grupos amino/ hidroxila/ tióis das fibras protéicas e também com os grupos amino presentes nas poliamidas. A principal característica deste grupo é sua alta solubilidade em água e a estabilidade na cor do tecido tingido, devido às interações formadas entre o corante e a fibra têxtil (GUARATINI; ZANONI, 2000).

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná. Bolsista CAPES. ravellycasarotti@gmail.com

²Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná. Bolsista CAPES. tiagotognolli@hotmail.com

³Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná. specian82@hotmail.com

⁴Aluna do curso de graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná. mari_sanches_s@hotmail.com

⁵Pesquisador visitante nível 1 do CNPq no Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná. jazevedo@esalq.usp.br

⁶Docente do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná. prof.pamphile@gmail.com

A alta solubilidade dos corantes reativos minimiza sua absorção nos organismos, porém, estes corantes reagem eficientemente com substâncias portadoras de grupos amino e hidroxila que não estão presentes em fibras naturais, mas também, são encontradas nos organismos vivos (SOUZA, 2006).

Entre as principais estratégias que podem ser aplicadas na biorremediação de corantes têxteis estão: 1) a biorremediação intrínseca ou natural, onde organismos do próprio local são usados sem qualquer interferência de tecnologias ativas; 2) a bioestimulação, que consiste na adição de agentes estimulantes como nutrientes, oxigênio e biossurfactantes e 3) o bioaumento, onde ocorre a inoculação de consórcios microbianos enriquecidos. Nesses processos, o poluente é transformado em gás carbônico, água e biomassa (BENTO; CAMARGO; OKEKE, 2003).

Entre os microrganismos que têm sido pesquisados quanto ao potencial para a biorremediação de corantes têxteis estão os endófitos ou endofíticos, que são principalmente fungos e bactérias que habitam o interior das plantas e são encontrados em órgãos e tecidos vegetais como folhas e ramos, sem causar danos aos seus hospedeiros e os beneficiam à medida que atuam no combate a fitopatógenos, insetos pragas e herbívoros (PEIXOTO NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). Estudos como o de Russel et al. (2011) demonstram a capacidade de degradação de poliuretano por fungos endofíticos, sugerindo seu uso como uma promissora fonte para atividades de biorremediação.

Assim, este trabalho teve como objetivo analisar o crescimento *in vitro* de três fungos endofíticos ascomicetos isolados da planta *Piper hispidum* na presença dos corantes reativos amarelo RNL e azul BB, na concentração de 0,1% (v/v), durante 7 e 15 dias, a fim de avaliar um possível potencial desses fungos para a biorremediação de corantes têxteis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ascomicetos *Phomopsis* sp., *Guignardia mangiferae* e um fungo da ordem Diaporthales foram isolados como endofíticos de folhas da planta medicinal *P. hispidum*, popularmente conhecida como falso-jaborandi (ORLANDELLI et al., 2012) e pertencem à coleção de fungos do laboratório de Biotecnologia Microbiana da Universidade Estadual de Maringá.

Os fungos foram crescidos inicialmente em meio BDA - Batata Dextrose Ágar (SMITH; ONIONS, 1983) por 7 dias a 28°C para a obtenção de colônias jovens. Em seguida, discos de 6 mm de cada colônia foram inoculados, em triplicata, em placas de Petri contendo meio BDA (controles) e BDA acrescido dos corantes reativos amarelo RNL ou azul BB, na concentração de 0,1% (v/v) (tratamentos). As placas foram incubadas em BOD a 28°C por 7 e 15 dias e os diâmetros das colônias (medidos em cm) nos controles e tratamentos bem como possíveis sinais de degradação dos corantes foram observados durante o período de incubação. Os diâmetros das colônias (medidos em cm) nos controles e tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) com o uso do programa estatístico SISVAR 5.3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores obtidos para o crescimento das colônias dos fungos endofíticos na presença dos corantes reativos amarelo RNL e azul BB, em concentração de 0,1%, estão

detalhados na tabela 1. O endófito da ordem Diaporthales e endófito *Phomopsis* sp. tiveram crescimento equivalente nos tratamentos e controles. Já *G. mangiferae* apresentou crescimento menor nos tratamentos, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa.

Embora tenham sido tolerantes a presença dos corantes reativos, estes fungos não foram capazes de degradá-los nas condições testadas.

Tabela 1. Crescimento das colônias (em cm) dos fungos endofíticos em meio BDA (controles) e BDA acrescidos de corantes têxteis (tratamentos) na concentração de 0,1% (v/v).

Ascomicetos endofíticos	BDA (controle)		BDA + corantes (tratamentos)			
			amarelo RNL		azul BB	
	7 dias	15 dias	7 dias	15 dias	7 dias	15 dias
<i>Guignardia mangiferae</i>	5,30 ^a	7,77 ^a	3,50 ^a	6,00 ^a	3,93 ^a	5,60 ^a
Endófito da ordem Diaporthales	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a
<i>Phomopsis</i> sp.	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a	9,00 ^a

Médias das triplicatas. Médias seguidas de mesma letra, em cada linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Bruscato (2011) avaliou a capacidade de fungos endofíticos isolados de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) para degradar corantes têxteis, encontrando dois isolados do gênero *Pestalotiopsis* com capacidade para degradar em pelo menos 50% o corante reativo azul 220 (RB220) quando crescidos em placas de Petri contendo meio sólido; já os corantes reativos vermelho 198 (RR198) e amarelo ouro (RY107) não foram degradados por nenhum endófito. Recentemente, Silva e Rondon (2013) avaliaram o potencial de fungos endofíticos isolados de bambu para a biorremediação de chorume, óleo diesel e herbicida, destacando o potencial de *Fusarium moliniforme* para a biorremediação destes compostos, confirmando o potencial de endófitos não apenas para a biorremediação de corantes, como também de outros compostos.

4 CONCLUSÃO

Embora não tenham sido capazes de degradar os corantes têxteis reativos testados, os três fungos endofíticos ascomicetos foram tolerantes a estes compostos, apresentando crescimento estatisticamente igual ao controle (ausência de corante). Assim, estudos futuros envolvendo outras concentrações e/ou outros corantes, bem como outros períodos de crescimento, podem ser empregados para ampliar o conhecimento sobre o potencial desses fungos para a biorremediação de corantes têxteis.

REFERÊNCIAS

BENTO, F.M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 65-68, 2003.

BRUSCATO, E. C. **Potencial biotecnológico de fungos endofíticos na descoloração de corantes da indústria têxtil**. 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SOUZA, C. R. L. **Degradação de corantes reativos e remediação de efluentes têxteis por processos avançados envolvendo ferro metálico**. 2006. 82 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000.

ORLANDELLI, R. C.; ALBERTO, R. N.; RUBIN FILHO, C. J.; PAMPHILE J. A. Diversity of endophytic fungal community associated with *Piper hispidum* (Piperaceae) leaves. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 2, p. 1575-1585, 2012.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos: Interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, n. 29, p. 62-76, 2002.

RUSSELL, J. R.; HUANG, J.; ANAND, P.; KUCERA, K.; SANDOVAL, A. G.; DANTZLER, K. W.; HICKMAN, D.; JEE, J.; KIMOVEC, F. M.; KOPPSTEIN, D.; MARKS, D. H.; MITTERMILLER, P. A.; NÚÑEZ, S. J.; SANTIAGO, M.; TOWNES, M. A.; VISHNEVETSKY, M.; WILLIAMS, N. E.; VARGAS, M. P.; BOULANGER, L. A.; BASCOM-SLACK, C.; STROBEL, S. A. Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 17, p. 6076-6084, 2011.

SMITH, D.; ONIONS, A. H. S. **The preservation and maintenance of living fungi**. Great Britain: Commonwealth Mycological Institute; 1983.

SILVA, M. B.; RONDON, J. N. Utilização de fungo de bambu na biorremediação de solo contaminado. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 10, n. 10, p. 2175-2184, 2013.

SOUZA, C. R. L. **Degradação de corantes reativos e remediação de efluentes têxteis por processos avançados envolvendo ferro metálico**. 2006. 82 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.