

Fórum de apresentação de resultados de pesquisas: **avanços e oportunidades**

23 de setembro de 2014

Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna/SP

BIODIVERSIDADE E BIOPROSPECÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS DA CAATINGA

**Melo, I. S. de¹; Moraes; L. A. B.²; Queiroz, S. C.¹; Mendes, R.¹; Fiore, M. de F.³;
Pelizari, V.H.⁴; Taketani, R.¹; Melo, S.⁵; Souza, A. O. de⁶; Kavamura, V. N.¹; Santos,
S. N.¹; Oliveira, V. M.⁷; Nakayama, C. R.⁸**

¹Embrapa Meio Ambiente; ²USP/Ribeirão Preto; ³CENA/USP; ⁴Instituto Oceanográfico/USP; ⁵Embrapa Recursos Genéticos; ⁶Instituto Butantan; ⁷CPQBA/Unicamp; ⁸Universidade Federal de São Paulo

Problema abordado

A Caatinga, o único bioma exclusivamente brasileiro, inserido no clima semiárido nordestino, apresenta ecossistemas também únicos para micro-organismos adaptados às altas temperaturas, excesso de radiação UV, estresse hídrico e escassez de nutrientes. As enzimas e outros metabólitos bioativos produzidos por estes micro-organismos têm o potencial de possuir propriedades fisiológicas e bioquímicas únicas que podem ser usados comercialmente em muitos segmentos da indústria, farmacologia, cosméticos e agricultura. O Brasil apresenta déficit na sua balança comercial pela carência de produtos da biodiversidade. No entanto, o país detém a maior diversidade biológica do planeta e, quase a totalidade dessa megadiversidade, não é conhecida. Conhecimento dessa imensa diversidade contribuirá com estratégias de conservação de ecossistemas naturais e ameaçados como também em estratégias de exploração racional. Os micro-organismos benéficos representam a maior fonte natural de substâncias de valor agregado tanto na indústria, como na medicina e na agricultura. Desse modo, o projeto em epígrafe se propôs bioprospectar a microbiota da Caatinga visando a descoberta de enzimas e substâncias bioativas de interesse biotecnológico.

Objetivos

Poucos estudos têm sido feitos para levantamento da biodiversidade microbiana da Caatinga e exploração racional dos seus recursos. Acredita-se que grupos microbianos ainda intocados e adaptados às condições extremas possam ser fontes de metabólitos secundários de importância biotecnológica. Especificamente, os objetivos são:

1. Isolar, identificar e avaliar a biodiversidade e composição de comunidades de arqueias, bactérias, fungos e actinobactérias cultiváveis e não cultiváveis de solos e endófitos de plantas medicinais nativas da Caatinga. (As seguintes famílias botânicas foram objeto de estudo: Combretaceae e Leguminosae);
2. Prospectar bactérias de solo e rizosfera com características de promoção de crescimento de plantas para uso potencial como inoculantes sob condições de estresse hídrico e osmótico (Ênfase foi dada à busca de bactérias diazotróficas osmotolerantes com potencial de fixar nitrogênio, e produzir EPSs);
3. Bioprospectar micro-organismos (de solos e endofíticos) quanto aos seus princípios bioativos (agroquímicos: bactericidas, fungicidas, herbicidas e inseticidas) e quanto às suas atividades anticancerígenas. (Prioridade foi dada ao isolamento de fungos endofíticos de plantas nativas);
4. Estruturar uma Coleção Temática de Micro-organismos da Caatinga e uma Coleção de Extratos de Micro-organismos. (A Embrapa Meio Ambiente detém um dos maiores acervos de micro-organismos de importância agrícola com a Coleção de Micro-organismos de Importância Agrícola e Ambiental, credenciada como Instituição “fiel depositária” de componente do patrimônio genético (O61/2012/CGEN). Nesse sentido, foi objetivo desse projeto a conservação dos micro-organismos isolados em, pelo menos, dois métodos de preservação a longo prazo: nitrogênio líquido e liofilização, que poderão ser disponibilizados para uso em estudos científicos.

Principais contribuições científicas

Substâncias puras, obtidas de fungos endofíticos associados à plantas da família Combretaceae apresentaram atividade contra várias células cancerígenas. Alguns desses compostos também possuem atividade antifúngica e, portanto, representam grande potencial de uso, pois apresentam atividade citotóxica comparáveis à atividade dos anticancerígenos do grupo das combretastatinas, já em uso comercial. De acordo

com as atividades citotóxicas as maiores ações foram com extratos puros de *Aspergillus oryzae* contra as linhagens linfoma histiocística (J744), mieloma murino (B16F10) e baixa citotoxicidade para carcinoma de bexiga (ECV304) e leucemia eritroblástica humana (k562) na concentração de 1mg/mL^{-1} . Uma bactéria, *Halomonas*, obtida da rizosfera de *Atriplex* tolerante a altas concentrações de sal produz octoína pura, um osmólito compatível muito utilizado na indústria de cosméticos. Inoculantes à base dessa bactéria também pode ser utilizada na agricultura visando a promoção de crescimento de plantas em solos salinos. Linhagens de *Bacillus* e *Azospirillum* osmotolerantes, associadas às cactáceas promoveram o crescimento de plantas de trigo e milho sob estresse hídrico. Essas bactérias produzem também altas concentrações de betaína, EPS e ácido hialurônico que podem ser os responsáveis pela proteção das plantas aos efeitos danosos da seca. Fungos de serrapilheira mostraram grande potencial de produzirem enzimas ligninolíticas (lacases e peroxidases) e de degradarem diversos pesticidas, demonstrando o potencial de uso em biorremediação de solos contaminados. Uma nova linhagem de arqueia, Haloferax, termotolerante e halofílica isolada de solos do Cariri da Paraíba, teve seu genoma completo sequenciado. Duas novas metodologias, uma de extração de substâncias antioxidantes e outra de “screening” rápido e de baixo custo para seleção de substâncias anticancerígenas a partir de micro-organismos foram desenvolvidas no âmbito desse projeto.

Investigou-se também a biogeografia de bactérias, arqueias, e arqueias oxidadoras de amônia em rizosfera de árvores da caatinga. Para isso, foram empregadas análises de TRFLP para o gene *rrs* de bactéria e archaea, assim como o *amoA* de archaea; e QPCR por PCR em tempo-real de *rrs* bacteriano. Os resultados obtidos, até o momento, indicam que a diversidade de bactérias é intensamente afetada pela diferença entre os períodos de seca e chuva e pelas diferenças entre as regiões geográficas, indicando um padrão biogeográfico. Por outro lado, a diversidade de arqueias (tanto por *rrs* quanto por *amoA*) não apresentou efeito significativo da estação nem da geografia. Isso indica que a diversidade desses grupos é, provavelmente, regulado por fatores não avaliados nesse estudo. A avaliação do metagenoma da rizosfera de *M. tenuiflora* indica que esse solo é dominado por proteobactérias (principalmente rizóbios e *Burkholderia*) e actinobactérias (*Streptomyces*). Somados, esses resultados ajudam a compreender como é organizada a diversidade microbiana e como ela se adapta ao estresse hídrico.

Impactos

Sociais

O desenvolvimento econômico e gestão da biodiversidade são conceitos inseparáveis. O conhecimento da biodiversidade de um Bioma pode ajudar nas estratégias de conservação a longo prazo de espécies ali existentes, como também a apoiar no delineamento de planos de preservação de espécies/gêneros específicos de habitats e/ou ecossistemas típicos.

Econômicos

- A seca é um problema que atinge inúmeras partes do mundo e perdas na agricultura são enormes, o que afeta o setor econômico. Assim, espera-se obter micro-organismos xerotolerantes com potencial uso como inoculantes para diversas culturas que sejam capazes de, além de promoverem crescimento de plantas sob condições de estresse hídrico e osmótico, também sejam capazes de protegê-las contra os efeitos negativos causados pela dessecação. Após esta etapa, espera-se formular inoculantes viáveis que após serem testados, possam ser amplamente utilizados em culturas agrícolas suscetíveis à seca, como milho, trigo, cana-de-açúcar e sorgo. *É possível a redução do consumo de água aplicada a certas culturas agrícolas com a aplicação de inoculantes bacterianos produtores de exopolissacarídeos e betaina. Bactérias osmotolerantes protegem as plantas contra os efeitos danosos da seca, principalmente em solos de regiões áridas e semi-áridas.*
- *Fungos ligninolíticos e celulolíticos da Caatinga, com atividade em altas temperaturas, podem ter aplicação na deslignificação da biomassa e contribuir no processo da produção de etanol.*
- *Fungos endofíticos associados às plantas medicinais da Caatinga, aqui descobertos, produzem potentes substâncias anticancerígenas que podem ter interesse farmacológico.*

Ambientais

A Caatinga é o Bioma brasileiro mais ameaçado e o mais degradado. Ações de pesquisa que visem a conservação e exploração racional trará benefícios sem precedentes às comunidades locais.

Fonte financiadora – Embrapa, Macroprograma 2