

Análise funcional e da diversidade de um consórcio microbiano capaz de degradar lignina

Ísis Viana Mendes¹, Mariana Botelho Garcia², Renata Henrique Santana³, John Gladden⁴, Ricardo Henrique Krüger⁵, Betania Ferraz Quirino⁶

Resumo

A biomassa lignocelulósica é composta de celulose, hemicelulose e lignina. Dentro do modelo de biorrefinarias, para o melhor aproveitamento da biomassa, faz-se necessária a degradação da lignina, bem como o aproveitamento desta para a produção de bioprodutos. Fungos e bactérias são capazes de degradar a lignina a partir da expressão de enzimas ligninolíticas, sendo a maioria das enzimas caracterizadas de origem fúngica. No presente trabalho, foi analisada a diversidade de quatro consórcios microbianos (os consórcios foram importados legalmente do JBEI, há MTA entre JBEI e Embrapa) obtidos a partir de solo Miracle Growth, cultivados a 30 °C e 37 °C, e enriquecidos para microrganismos capazes de utilizar lignina através de sucessivos cultivos em meio de cultura com lignina Kraft ou lignina extraída por método alcalino. Foi realizado o sequenciamento Illumina de iTags da região ITS para fungos, e 16S rDNA para bactérias, para cada um dos seis ciclos de adaptação (passagens). A análise da comunidade microbiana mostrou que a diversidade diminui gradualmente e a comunidade tende a se estabilizar a partir da terceira passagem. Diferentes famílias bacterianas que podem atuar na degradação da lignina foram identificadas: Planococcaceae, Paenibacillaceae e Bacillaceae, do filo Firmicutes; Rhodobacteraceae, Sphingomonadaceae, Methylobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Brucellaceae, Burkholderiaceae, Phyllobacteriaceae e Erythrobacteraceae, do filo Proteobacteria; Flavobacteriaceae e Chitinophagaceae do filo Bacteroidetes; e Microbacteriaceae e Promicromonosporaceae do filo Actinobacteria. Espécies dos filos Firmicute e Proteobactéria foram favorecidas, respectivamente, pelo enriquecimento com lignina extraída por método alcalino e lignina kraft. Trichosporonaceae, Trichocomaceae e Cephalothecaceae são as principais famílias da comunidade fúngica. Além disso, foram identificados Ciliophoras, que possivelmente desempenharam um papel importante na dinâmica evolutiva da comunidade microbiana. Foi construída uma biblioteca metagenômica com o DNA da sexta passagem de cultivo do consórcio microbiano cultivado a 37 °C e enriquecido com lignina extraída por método alcalino, BE-lig MG -6P. Para triar uma biblioteca para clones que codifiquem enzimas ligninolíticas, foram utilizadas duas abordagens: uma metodologia funcional, e outra baseada na sequência. A metodologia funcional é baseada no fenótipo das colônias que revelam atividades de enzimas ligninolíticas, sendo capazes de oxidarem reagentes com estruturas homólogas à da lignina. Possíveis clones positivos estão em fase de análise. Na metodologia baseada na sequência, *primers* previamente construídos a partir de domínios conservados de enzimas ligninolíticas já descritas foram utilizados para amplificar fragmentos por reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando o DNA da biblioteca metagenômica BE-lig MG 6P como molde. No total, sessenta sequências foram amplificadas, clonadas em vetor e enviadas para o sequenciamento.

Auxílio Financeiro: Embrapa, FAP-DF, Capes.

Palavras-chave: lignina. enzimas ligninolíticas. consórcio.

¹ Bióloga, mestranda em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, isis.mendes@colaborador.embrapa.br.

² Bióloga, mestranda em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília, mariana.garcia@colaborador.embrapa.br.

³ Bióloga, doutora em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília.

⁴ Bioquímico, doutor em Biologia Molecular e Celular, pesquisador JBEI.

⁵ Biólogo, doutor em Microbiologia, professor da Universidade de Brasília, kruger@unb.br.

⁶ Bióloga, doutora em Biologia Molecular e Celular, pesquisadora da Embrapa Agroenergia betania.quirino@embrapa.br.