

## BIOPROSPECÇÃO FÚNGICA E CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS ENZIMÁTICOS QUE COMPÕE OS BIOHERBICIDAS MICROBIANOS

JÚLIA PIEPER NERLING <sup>1,2\*</sup>, SIMONE KUBENECK <sup>3</sup>,  
ALINE FRUMI CAMARGO<sup>4</sup>, HELEN TREICHEL <sup>5</sup>.

### 1 Introdução

O desenvolvimento contínuo de novos métodos de controle de plantas daninhas é essencial para a produtividade agrícola. Sendo assim, o trabalho ressalta a importância da ampliação do campo tecnológico na busca de bioherbicidas que apresentem eficiência, viabilidade econômica, social, ecológica, e que possam reduzir a utilização de herbicidas químicos, impulsionando a preservação da biodiversidade, bem como a segurança alimentar e ambiental (BORDIN et al., 2020).

Pode-se citar também, o auxílio no cumprir da ODS 2 da Agenda 2030, pois busca remediar as práticas agrícolas inadequadas, mostrando opções de agricultura sustentável, que visa garantir um sistema de produção agrícola sustentável e resiliente (AGENDA 2030, 2015).

Nesse cenário, é importante ressaltar que a bioprospecção de microrganismos e enzimas é uma estratégia muito interessante quando se buscam avaliar a eficiência para aplicações específicas. Desta forma, a partir de fonte natural fúngica, espera-se observar uma comparação de resultado na produção enzimática, a qual interfere diretamente no crescimento vegetal, através da medição tradicional e desenvolvida perante planejamento com condicionantes pré-definidas (COSTA et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020).

### 2 Objetivos

Impulsionado pelos resultados já obtidos, este trabalho visa realizar a caracterização dos extratos enzimáticos advindos de bioherbicidas microbianos, a fim de avaliar o comportamento de atividades enzimáticas em meios reacionais com diferentes condições de

<sup>1</sup> Discente de Engenharia Ambiental e Sanitária, UFFS, *campus Erechim*, contato: julaianerling@gmail.com

<sup>2</sup> Grupo de Pesquisa: Agroenergia

<sup>3</sup> Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, UFFS - *Campus Erechim*

<sup>4</sup> Doutoranda em Biotecnologia e Biociências, Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>5</sup> Doutora em Engenharia de Alimentos, UFFS, *campus Erechim*.

pH e temperatura, por meio da metodologia de Delineamento Composto Central (DCC).

### 3 Metodologia

Baseado em estudos já realizados, os bioherbicidas utilizados foram desenvolvidos pela fermentação em biorreator *airlift*, com microalga da espécie *Chlorella spp.* (MICHELON et al., 2016), e o fungo da espécie *Trichoderma koningiopsis*, isolado da planta daninha *Digitaria ciliares* (BORDIN et al., 2018; CAMARGO et al., 2019; REICHERT JÚNIOR et al., 2019).

Para fins de avaliação dos compostos enzimáticos extraídos do bioherbicida estudado, foram implementados procedimentos para quantificar as enzimas: amilase (FUWA, et al., 1987; MILLER, 1959), celulase (GHOSE, 1987; MULLER, 1959), lacase (HOU et al., 2004), e lipase (TREICHEL et al., 2015), com metodologias padrão, e para comparativo, foi implementado o DCC, utilizando-se o *software Protimiza Experimental Design*, para tratamento dos dados, com as variáveis independentes, pH e temperatura, em níveis pré-estabelecidos (RODRIGUES; IEMMA, 2014).

### 4 Resultados e Discussão

As medidas enzimáticas foram desenvolvidas no método padrão adotado no grupo de pesquisa, e posterior a isso foi feita uma investigação sobre as condicionantes de pH e temperatura, obtendo os resultados apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Medidas de atividade enzimática conforme a metodologia padrão e variando pH e temperatura dos meios reacionais.

Ensaio	pH	Temperatura (°C)	Amilase	Celulase	Lacase	Lipase
1	4 (-1)	20 (-1)	13,09	0,05	0,02	0,29
2	10 (1)	20 (-1)	0,00	0,15	0,01	0,79
3	4 (-1)	80 (1)	0,00	0,61	0,00	0,00
4	10 (1)	80 (1)	40,52	1,28	0,01	0,25
5	2,76 (-1,41)	50 (0)	2,91	0,00	0,00	0,89
6	11,24 (+1,41)	50 (0)	3,30	0,19	0,01	1,22
7	7 (0)	7,57 (-1,41)	11,15	0,24	0,00	0,00
8	7 (0)	92,43 (+1,41)	3,39	0,10	0,04	0,00
9	7 (0)	0 (50)	8,53	0,12	0,00	0,75
10	7 (0)	0 (50)	0,00	0,12	0,00	0,00
11	7 (0)	0 (50)	11,73	0,24	0,00	0,29
<b>Metodologia padrão</b>			0,00	0,69	0,00	0,00

Como descrito na Tabela 1, os valores obtidos no planejamento foram superiores ao que se obteve quando usando a metodologia padrão, ou seja, entre a variação de temperatura e pH, ainda se obteve os melhores resultados, destacando a atividade para a enzima amilase, a qual se obteve valores de atividade maiores no planejamento experimental do que na metodologia padrão, principalmente no ensaio, em que resultou em 40,52 U/mL de atividade. Isto pode se dar devido ao fato desta enzima ter afinidade por meios alcalinos, o que demonstra um novo comportamento, uma vez que amilases produzidas por fungos tem atividades mais elevadas em pHs ácidos a neutros na faixa de 4 a 6 (CRIPWELL; VAN ZYL; VILJOEN-BLOOM, 2021)

Já em relação a enzima celulase não se obteve valores de atividade elevados, sendo o maior valor obtido no ensaio 4, o qual resultou em 1,28 U/mL de atividade, e assim como a amilase, a celulase pode ter seus mecanismos de ativação em meios alcalinos. Em relação as demais enzimas avaliadas nesse estudo, pode ser avaliado que a lipase não exerce efeito eficiente devido aos baixos valores de atividade enzimática. Este comportamento pode se dar, devido a composição do meio reacional, já que microalgas do gênero *Chlorella* não sintetizam lipases, e logo, o microrganismo utilizado na fermentação não tem meio disponível para a produção dessa enzima (BRASIL et al., 2017).

Por fim, ao avaliar a presença da enzima lacase no bioherbicida fúngico, foi possível constatar que não há sua presença, uma vez que não foram obtidas atividades enzimáticas em nenhum dos ensaios do planejamento experimental e na determinação pela metodologia padrão.

## 5 Conclusão

Esse projeto, buscou comparar qual o melhor procedimento para desenvolver a medição enzimática, e obteve que os resultados do planejamento experimental mostraram que as enzimas amilase apresentam atividade melhor do que a metodologia padrão, quando expostas a condições alcalinas. A celulase teve resultados que também indicam um melhor desempenho em meios alcalinos. A lipase não teve atividade significativa devido à falta de produção nas microalgas utilizadas, e a enzima lacase não expressou resultado significativo.

Sendo assim, pode-se constatar que quando expostas a um pH e a temperatura controlada, os resultados tendem a ser mais promissores, e com menos interferência,

possibilitando evidenciar o melhor cenário para o desenvolvimento de determinada atividade enzimática.

### Referências Bibliográficas

AGENDA 2030. (2015). ODS – Objetivos de desenvolvimento sustentável. Disponível em: <<http://www.agenda2030.com.br/>>.

BRASIL, B. D. S. A. F. *et al.* Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories. *Algal Research*, v. 25, p. 76–89, 2017.

BORDIN, E. R. *et al.* Non-Toxic Bioherbicides Obtained from *Trichoderma koningiopsis* Can Be Applied to the Control of Weeds in Agriculture Crops. *Industrial Biotechnology*, v. 14, n. 3, p.157–163, 2018.

BORDIN, E. R. *et al.* Current production of bioherbicides: mechanisms of action and technical and scientific challenges to improve food and environmental security. *Biocatalysis and Biotransformation*, p. 1–14, 14 out. 2020.

CAMARGO, A. F. *et al.* Resistant weeds were controlled by the combined use of herbicides and bioherbicides. *Environmental Quality Management*, v. 29, n. 1, p. 37–42, 2019.

COSTA, J. A. V. *et al.* Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, v. 54, n. 5, p. 366–375, 2019.

CRIPWELL, R. A.; VAN ZYL, W. H.; VILJOEN-BLOOM, M. Fungal Biotechnology: Fungal Amylases and Their Applications. *Encyclopedia of Mycology: Volume 1,2.* [S.l.]: Elsevier, 2021. v. 2. p. V2-326-V2-336.

FUWA, H. A NEW METHOD FOR MICRODETERMINATION modified method of that described by Mc Cready. *The Journal of Biochemistry*, v. 41, n. 5, p. 583–603, 1954.

GHOSE, T. K. Measurements of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, v. 59, p. 257–268, 1987.

HOU, H. et al. Enhancement of laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its use for the decolorization of anthraquinone dye. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 11, p. 1415–1419, 2004.

MICHELON, W. et al. Effects of Nitrogen and Phosphorus on Biochemical Composition of Microalgae Polyculture Harvested from Phycoremediation of Piggery Wastewater Digestate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 178, n. 7, p. 1407–1419, 2016.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.

REICHERT JÚNIOR, F. W. et al. New perspectives for weeds control using autochthonous fungi with selective bioherbicide potential. *Heliyon*, v. 5, n. 5, p. 0–6, 2019.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. Planejamento de Experimentos e Otimização de processos, 3ed., AMIC, Campinas, SP, 2014.

TREICHEL, H. et al. Lipase Production from a Newly Isolated *Aspergillus niger* by Solid State Fermentation Using Canola Cake as Substrate. *Current Biotechnology*, v. 6, n. 4, 2015.

**Palavras-chave:** Controle biológico; Processos biotecnológicos; Atividades enzimáticas.

**Nº de Registro no sistema Prisma:** PES 2023 - 0169

**Financiamento** FAPERGS