



Simpósio de Ciências Agrárias e Ambientais 2020

Ajuste de variáveis de cultivo para maximização da produção de ácido oxálico por *Sclerotium rolfsii*

Jeniffer Kelly Cortes Amaro¹ (jeniamaro@outlook.com), Laura Vieira Xavier¹,
Bruno Sérgio Vieira¹, Gilberto de Oliveira Mendes¹

¹Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, Minas Gerais

RESUMO: Nesse trabalho, foi determinado o ajuste dos níveis dos fatores que maximizam a produção de ácido oxálico por *Sclerotium rolfsii*. As variáveis tempo de incubação e componentes do meio de cultura (glicose; KH_2PO_4 ; extrato de levedura; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) foram avaliadas. O experimento foi realizado em um delineamento composto central (CCD) com cinco níveis de cada fator. As amostras foram filtradas após período de incubação para quantificação do ácido oxálico por meio de eletroforese capilar (CE). A análise de regressão revelou que o componente quadrático da superfície de resposta foi significativo para os fatores KH_2PO_4 , e tempo de incubação, indicando o ajuste dos níveis desses fatores para atingir máxima biossíntese de ácido oxálico por *S. rolfsii*. Já o componente linear se mostrou significativo para o fator extrato de levedura, sugerindo que se o nível desse fator for aumentado, conseqüentemente, a produção de ácido oxálico também aumenta. O fator glicose não se mostrou significativo, porém houve uma interação com coeficiente negativo entre os fatores $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e glicose. A faixa de variação dos fatores tempo de incubação e KH_2PO_4 que influenciam de forma positiva na biossíntese de ácido oxálico pelo fungo *S. rolfsii* são 20 dias e 2 g/L respectivamente, proporcionando uma produção em torno de 60 a 80 mmol/L de ácido oxálico produzido pelo fungo *S. rolfsii*.

Palavras-chave: fósforo, biossíntese, oxalato

INTRODUÇÃO

O suprimento apropriado de P é de fundamental importância em todas as fases do desenvolvimento das plantas (GRANT *et al.*, 2001). Contudo, na maioria dos solos há deficiência de formas de P prontamente absorvíveis pelas plantas em função da fixação deste elemento às partículas do solo. Isso se agrava nos solos tropicais, onde o fosfato é adsorvido a óxidos, hidróxidos e oxi-hidróxidos de Al e Fe (FONTES; WEED, 1996).

A solubilização de RF por microrganismos é um método promissor para alcançar novos produtos químicos por meio de fontes renováveis de carbono e substratos de



Simpósio de Ciências Agrárias e Ambientais 2020

baixo custo (JONES, 1998). Nesse tipo de sistema biotecnológico, as condições do cultivo podem ser modificadas para contribuir na síntese de ácidos orgânicos pelo microrganismo, os quais podem ser empregados na solubilização dos minerais fosfatados. Inúmeros microrganismos do solo, envolvendo bactérias e fungos, apresentam a capacidade para solubilizar fosfatos através de distintos mecanismos, principalmente pela produção de ácidos orgânicos (WHITELAW, 1999). Esses ácidos orgânicos vão atuar no material fosfático dissolvendo-o, ou atuando como quelante de cátions que acompanham o ânion fosfato, liberando o mesmo para as plantas. O ácido oxálico em comparação com os demais ácidos se mostra mais eficiente na solubilização de P devido à acidificação do meio e ao alto potencial de complexação resultante da proximidade de seus grupos carboxila (KPOMBLEKOU - A; TABATABAI, 1994).

O ácido oxálico é produzido por vários fungos, incluindo fungos formadores de ectomicorrizas, basidiomicetos degradadores de madeira, saprófitas e fitopatógenos. Assim, fungos que causam doenças em culturas de importância econômica, podem ser utilizados alternativamente para estudos de produção de ácido oxálico, tornando-os, de alguma forma, úteis para a aplicação agrônômica (DUTTON; EVANS, 1996). Nesse trabalho, determinou-se o ajuste dos níveis dos fatores para maximização da produção de ácido oxálico por *Sclerotium rolfsii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Três quadrados (~3 mm) de micélio do fungo *S. rolfsii* foram retirados das bordas de colônias crescidas em meio de cultura batata dextrose e ágar (BDA) durante 7 dias a 25 °C e transferidos para erlenmeyers de 125 ml contendo 30 ml de meio de cultura líquido. Os erlenmeyers foram incubados em *shaker* horizontal a 28 °C e 240 rpm.

As amostras foram filtradas após incubação, utilizando membrana com poros de 0,22 µm em sistema de filtração a vácuo. O filtrado foi analisado para quantificação do ácido oxálico por meio de eletroforese capilar (CE).

O experimento foi realizado em um delineamento composto central (CCD) (BARROS NETO *et al.*, 2010) com cinco níveis de cada fator: ponto central (codificado como 0), dois níveis acima do ponto central (codificados como 1 e 2) e dois níveis abaixo (codificados como -1 e -2). O delineamento experimental, bem como a análise da significância (teste t, $p < 0,05$) do efeito de cada variável sobre a biossíntese de ácido oxálico, foram realizados no software Minitab 18.

RESULTADOS E DISCUSSÃO



Simpósio de Ciências Agrárias e Ambientais 2020

A análise de regressão revelou que o componente quadrático da superfície de resposta foi significativo para dois dos cinco fatores avaliados (Figura 1) sendo eles KH_2PO_4 e tempo de incubação, indicando o ajuste dos níveis desses fatores para atingir máxima biossíntese de ácido oxálico por *S. rolf sii*.

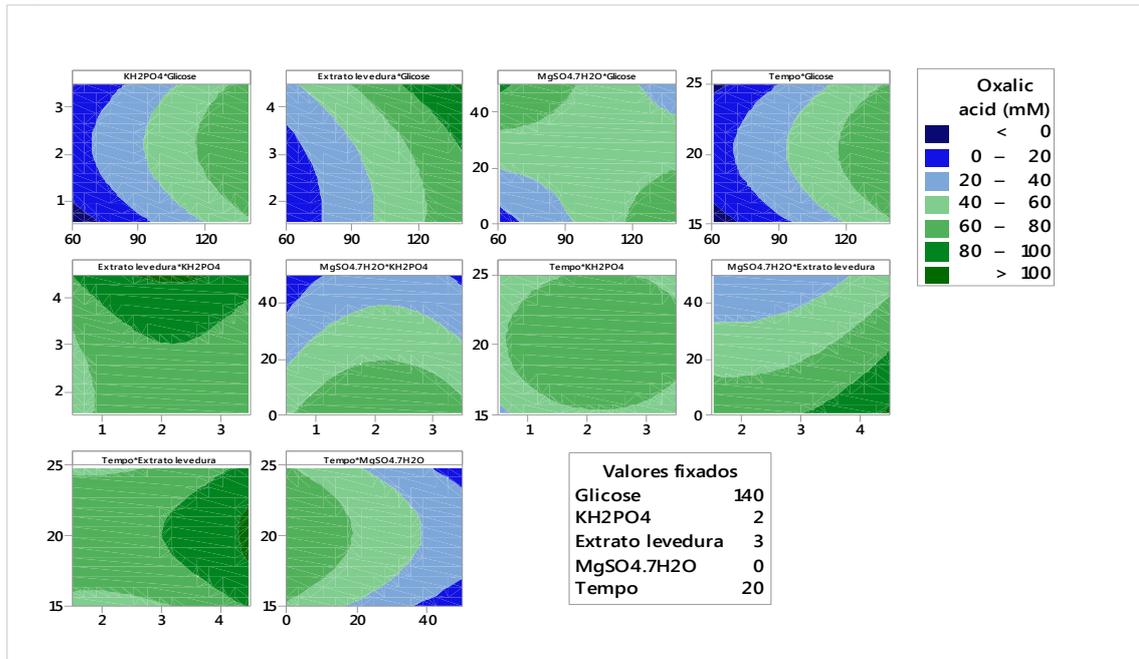


Figura 1. Níveis de ácido oxálico produzido por *Sclerotium rolf sii* em meio de cultura líquido em resposta a diferentes combinações de glicose, extrato de levedura, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e tempo de incubação. Em cada painel, as variáveis não apresentadas foram fixadas conforme indicado.

Já o componente linear se mostrou significativo para o fator extrato de levedura (Figura 1) sugerindo que se o nível desse fator for aumentado consequentemente a produção de ácido oxálico também aumenta. O fator glicose não se mostrou significativo em nenhum dos componentes, tanto no linear como no quadrático, porém houve uma interação com coeficiente negativo entre os fatores $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e glicose, indicando que quando a dose de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ era aumentada, interferia de forma negativa na capacidade da glicose de expressar seu fator de maneira proveitosa na biossíntese de ácido oxálico.

CONCLUSÃO

Foi possível determinar o ajuste de dois dos cinco fatores que influenciam na biossíntese de ácido oxálico pelo fungo *S. rolf sii* que foram o tempo de incubação (20



Simpósio de Ciências Agrárias e Ambientais 2020

dias) e a concentração de KH_2PO_4 (2 g/L) que no ajuste exato proporcionam uma produção em torno de 60 a 80 mmol/L de ácido oxálico produzido pelo fungo *S. rolfsii*.

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho foi financiado por FAPEMIG (APQ-01842-17), CNPq (401485/2016-1) e Fundação de Apoio Universitário (FAU).

REFERÊNCIAS

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4. ed. Campinas: Bookman, 2010.

DUTTON, M. V.; EVANS, C. S. Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 9, p. 881–895, 1996.

FONTES, M. P. F.; WEED, S. B. Phosphate adsorption by clays from Brazilian Oxisols: Relationships with specific surface area and mineralogy. **Geoderma**, v. 72, n. 1–2, p. 37–51, 1996.

GRANT, C. A. et al. The importance of early season phosphorus nutrition. p. 211–224, 2001.

JONES, D. L. Organic acids in the rhizosphere - a critical review. **Plant and Soil**, v. 205, p. 25–44, 1998.

KPOMBLEKOU - A, K.; TABATABAI, M. A. **Effect of organic acid on release of phosphorus from phosphate rocks**. **Soil Science**, 1994.

WHITELAW, M. A. Growth Promotion of Plants Inoculated with Phosphate-Solubilizing Fungi. **Advances in Agronomy**, v. 69, n. C, p. 99–151, 1999.