



## Seleção de fungos e meios de cultura para biossíntese de oxalato

Laura Vieira Xavier<sup>1</sup> (lauravx91@hotmail.com), Jeniffer Kelly Cortes Amaro<sup>1</sup>,  
Bruno Sérgio Vieira<sup>1</sup>, Gilberto de Oliveira Mendes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, Minas Gerais

**RESUMO:** O objetivo desse trabalho foi selecionar fungos e meios de cultura que maximizem a produção de oxalato. O experimento foi montado em um fatorial de 6 (fungos) x 3 (meios) e com 3 repetições, conduzido em erlenmeyer de 125 mL com 30 mL de meio e inoculado com 3 quadrados de micélio. Foram incubados por 15 dias em incubadora shaker horizontal a 250 rpm e 28 °C e após o período de incubação as amostras foram filtradas em sistema de filtração a vácuo utilizando membrana com poros de 0,22 µm. A biomassa fúngica retida no filtro foi transferida para cadinho e seca em estufa a 80 °C até peso constante e no filtrado analisaram-se o pH e o oxálico produzido. Todos os seis gêneros de fungos e os três meios de cultura estudados mostraram ter efeito significativo na produção de ácido oxálico. Os maiores níveis de produção de oxalato foram alcançados pelo fungo *Sclerotium rolfsii* no meio Tsao, produzindo 24 mM de oxalato.

**Palavras-chave:** ácido oxálico, fósforo; microbiologia.

## INTRODUÇÃO

Um dos fatores que afetam o crescimento vegetal é a disponibilidade de nutrientes. No caso dos solos brasileiros, o fósforo (P) é um dos elementos mais limitantes, em decorrência da sua forte adsorção às partículas do solo (NOVAIS; SMITH, 1999). O uso racional de P é extremamente necessário, visto que a principal fonte para a produção de fertilizantes são as rochas fosfáticas (RFs), que constituem um recurso natural não-renovável, sem sucedâneo e finito (CORDELL et al., 2009). Dentre as alternativas que possibilitam a melhoria na eficiência de uso das fontes de P, a ação dos micro-organismos do solo destaca-se como biotecnologia sustentável e de baixo custo (SILVA FILHO et al., 2002).

A principal forma de solubilização de P por micro-organismos é a liberação de ácidos orgânicos e seus prótons associados, que atuam dissolvendo diretamente o material fosfático, ou quelando os cátions que acompanham o ânion fosfato (KUCEY et



al., 1989). Dentre os ácidos orgânicos produzidos por micro-organismos destacam-se os ácidos oxálico, láctico, cítrico, glicônico, itacônico e málico (MAGNUSON; LASURE, 2004).

O ácido oxálico 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). Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi selecionar fungos e meios de cultura que maximizem a produção de ácido oxálico.

## MATERIAL E MÉTODOS

A partir de um levantamento bibliográfico foram selecionados seis gêneros de fungos que têm produção significativa de ácido oxálico, sendo eles *Rhizoctonia solani* (Rhi); *Sclerotium rolfsii* (Rol); *Sclerotinia sclerotiorum* (Scl); *Aspergillus niger* (FS1); *Penicillium islandicum* (FS41) e *Pleurotus ostreatus* (Plo). Três meios de cultura que maximizam a produção de oxalato também foram avaliados: meio caldo batata dextrose (BD), meio Tsao [Gli] (TSAO, 1963) e meio de cultura Strasser [Sac] (STRASSER, 1994).

Para obtenção do inóculo os fungos foram cultivados em placa de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA) por 6 dias a 28 °C e inoculados com três quadrados de micélio (~5 mm) retirados das bordas da colônia em erlenmeyers de 125 mL contendo 30 mL de meio de cultura líquido. Os erlenmeyers foram incubados em *shaker* horizontal a 250 rpm e 28 °C.

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

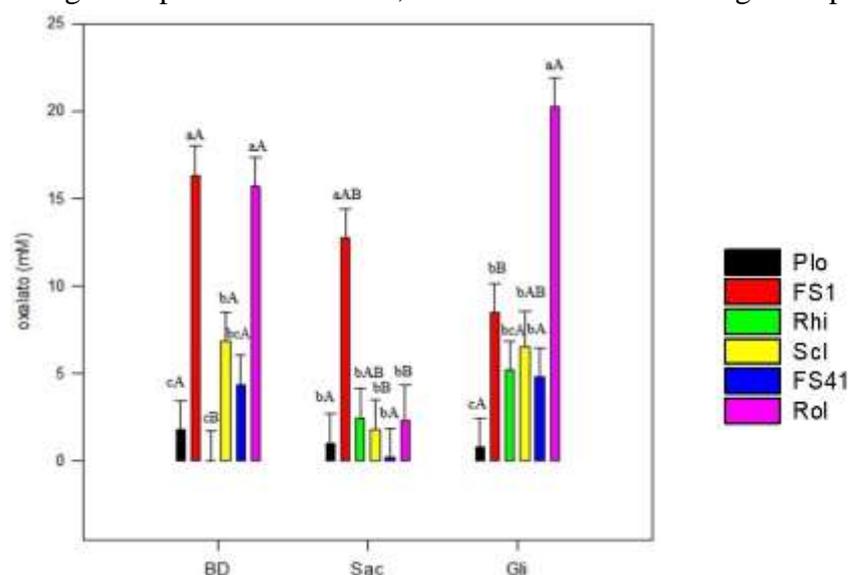
O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x3 com três repetições por tratamento, sendo avaliados individualmente, não havendo tratamentos de mistura entre fungos ou entre meios. A análise da significância (teste t,  $p < 0,05$ ) do efeito dos meios de culturas e dos fungos sobre a biossíntese de ácido oxálico, foi realizado no software Sigma Plot.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

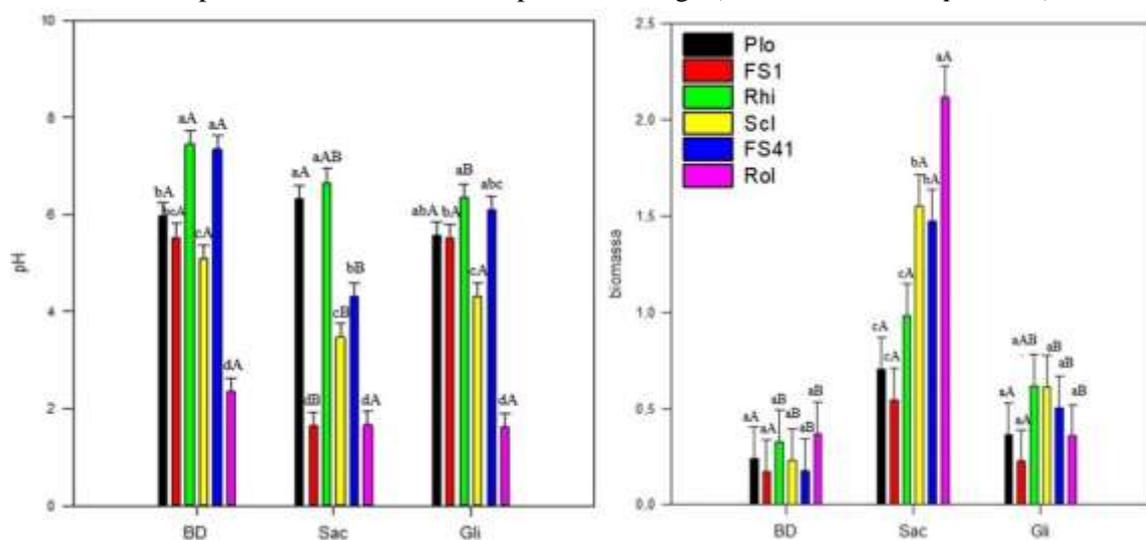
Todos os seis gêneros de fungos e os três meios de cultura estudados mostraram ter efeito significativo na produção de ácido oxálico. Os maiores níveis de produção de oxalato foram alcançados pelo fungo *Sclerotium rolfsii* no meio Tsao, alcançando biossíntese de 24 mM de oxalato (Figura 1). Isso está diretamente ligado ao baixo pH

# Simpósio de Ciências Agrárias e Ambientais 2019

encontrado, pois quanto maior a produção de oxalato, mais ácido o pH do meio (Figura 2a.). Por outro lado, a menor quantidade de ácido oxálico produzida pelo mesmo foi no meio Strasser, onde se produziu a maior quantidade de biomassa (Figura 2a.), o que explica a relação entre a quantidade de biomassa e oxalato, pois quando ele investe sua energia em produzir biomassa, ele deixa de investir energia em produção de ácido.



**Figura 1.** Biossíntese de oxalato por diferentes fungos em diferentes meios de cultura. Letras minúsculas comparam diferentes fungos dentro de cada meio de cultura e letras maiúsculas comparam os meios de cultura para cada fungo (Teste Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).



**Figura 2a.** pH dos meios após cultivo de fungos distintos. **Figura 2b.** Biomassa produzida por diferentes fungos em diferentes meios de cultura.

Letras minúsculas comparam diferentes fungos dentro de cada meio de cultura e letras maiúsculas



comparam os meios de cultura para cada fungo (Teste Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

A produção de ácido oxálico é influenciada tanto pelo tipo de meio de cultura quanto pelo fungo utilizados, tendo o máximo de produção pelo fungo *Sclerotium rolfii* no meio Tsao.

## REFERÊNCIAS

BRITO- NETO, J. G. A., DA SILVA, J. A. F., BLANES, L., DO LAGO, C. L., Understanding capacitively coupled contactless conductivity detection in capillary and microchip electrophoresis. Part 1. Fundamentals. *Electroanalysis* 2005, 17, 1198– 1206.

CORDELL, D.; DRANGERT, J.-O.; WHITE, S. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, v. 19, n. 2, p. 292–305, 2009.

KUCEY, R. M. N.; JANZEN, H. H.; LEGGETT, M. E. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. *Advances in Agronomy*, v. 42, p. 199–228, jan. 1989.

KPOMBLEKOU-A, K.; TABATABAI, M. A. Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. *Soil Science*, v. 158, n. 6, p. 442–453, 1994.

Magnuson, J.K., Lasure, L.L., 2004. Organic acid production by filamentous fungi, in: Tkacz, J.S., Lange, L. (Eds.), *Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture, and Medicine*. Springer US, Boston, MA, pp. 307–340. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8859-1\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8859-1_12)

NAUTIYAL, C. S. An eficiente microbiological growth médium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiologic Letters*, v. 170, n. 436, p. 265–270, 1999.

NOVAIS, R. F.; SMITH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 1999.

TSAO, G. T. Production of Oxalic Acid by a Wood-Rotting Fungus. p. 249–254, 1963.

SILVA FILHO, G. N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de Pinus e Eucalyptus de Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 37, n. 6, p. 847–854, 2002.

STRASSER, H.; BURGSTALLER, W.; SCHINNER, F. High-yield production of oxalic acid for metal leaching processes by *Aspergillus niger*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 119, n. 3, p. 365–370, 1994.