IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE SOLO DA UEG CAMPUS PALMEIRAS DE GOIÁS

Nayane N. dos Santos[1](IC)*; Saulo J.L. de Siqueira[1](PQ);

E-mail: nayane2bio@gmail.com
[1] Universidade Estadual de Goiás, Campus Palmeiras de Goiás. Palmeiras de Goiás-GO, Brasil.

Resumo: O conhecimento da diversidade de fungos de um ecossistema é importante por conta de vários fatores, entre eles o auxílio à restauração de áreas degradadas. A degradação do solo e dos ecossistemas nativos são as maiores ameaças à biodiversidade o que significa perda de informação sobre microbiota presentes no solo deste bioma. Dessa forma, estudos de identificação dos fungos presentes em áreas de ação antrópica são um primeiro passo para conhecer a biodiversidade da área deste bioma. No solo do Universidade Estadual de Goiás (UEG) Campus Palmeiras de Goiás, foram isolados principalmente fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Na área analisada foram detectadas mais colônias de fungos no período chuvoso, mas os gêneros encontrados não sofreram grande variação. A identificação das espécies de fungos dessa área permitirá aprimorar e estabelecer os métodos de identificação morfológicos para fungos do solo de Cerrado, além de comparar espécies presentes em áreas antrópicas e áreas nativas.
Palavras-chave: Cerrado. Micro-organismos de solo. Biodiversidade. Biotecnologia.

Introdução

Designado conjunto de ecossistemas, o Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando 21% do território nacional, tendo superioridade apenas a Amazônia. O Cerrado possui uma ampla biodiversidade em flora e fauna, porém tais riquezas de espécies sofrem diversas ameaças, devido aos efeitos do desmatamento e da erosão do solo, degradando parte da microbiota do solo (KLINK & MACHADO, 2005).

Os fungos filamentosos são organismos eucarióticos heterotróficos conhecidos por sua capacidade de degradar diversas substâncias devido à produção de enzimas (PAPAGIANNI, 2004). A Mata Atlântica possui o maior registro de espécies de fungos (1.664 spp.), seguida pela Caatinga (734 spp.), Amazônia (519 spp.), e o Cerrado com (291 spp.). Quanto aos fungos endêmicos (encontrados somente em determinada região), Goiás encontra-se em 19º lugar com apenas 104 espécies listadas (FORZZA et al., 2010). Dentre tais espécies de fungos destacam-se os do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, conhecidos por suas propriedades metabólicas e poder de biodegradação, além de sua vasta presença em diversos

biomas, mas principalmente em regiões de clima tropical e subtropical como no Cerrado (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Estudos científicos tem se voltado para a microbiologia do solo. Enzimas produzidas pela atividade fúngica tem sido alvo de interesse crescente para biotecnologia, pois os processos industriais biocatalisados podem apresentar menor impacto ambiental e também menor consumo energético, uma vez que as enzimas são biodegradáveis e sendo altamente específicas minimizam os efeitos indesejáveis (ROCHA, 2010). É importante o estudo para o conhecimento da diversidade de fungos em um ecossistema, pois tais podem auxiliar na reconstrução de áreas ambientais destruídas (FREITAS et al, 2009).

O solo do Campus da UEG Palmeiras de Goiás sofreu algumas transformações pela mão do homem, como exemplo queimadas. Sendo assim de importância o estudo da microbiota desse solo antes que haja uma perda maior desta diversidade microbiana. A identificação de fungos dessa área comparando os períodos seco e úmido (chuvoso), poderá aprimorar e estabelecer técnicas de preservação de fungos filamentos desse bioma. O objetivo deste presente trabalho foi isolar fungos filamentosos a partir de solo do Campus UEG – Palmeiras de Goiás e fazer a identificação morfológica desses isolados.

Material e Métodos

A área de estudo em questão foi o solo da UEG Campus Palmeiras de Goiás, onde se coletou tal solo em três pontos diferentes, escolhidos aleatoriamente, com distância mínima de 5 metros cada ponto, retiradas de 0 a 10 cm de profundidade. Cada amostra de solos foram colocados em sacos plásticos, no período seco entre Agosto e Setembro de 2016 e no período úmido entre Fevereiro e Março de 2017.

Para o isolamento dos fungos o foram misturados 10g de solo da quantidade coletada com 100mL de água destilada estéril. Foram feitas apartir de amostras originais diluições (1:20 e 1:50), as quais foram utilizadas 100µL das diluições sobre o meio de cultura PPS adicionado de 50 mg antibacteriano ampicilina contido em placas de Petri. As placas foram incubadas em temperatura ambiente ao abrigo da luz direta, até surgirem colônias de fungos. Foram fotografados nas placas cada colônia isolada com aspecto morfológico distinto em placa foi considerado um morfotipo (MONTEIRO, 2012, com adaptações).

Para a observação dos fungos em microscópio, foi feita a técnica de microcultivo e raspagem direta na lâmina. A técnica de microcultivo consiste em

colocar um cubo de meio de cultura PPS sobre uma lâmina esterilizada contida em uma placa de Petri estéril. Os fungos foram inoculados na parte superior do cubo de meio de cultura e após recoberto com uma lamínula esterilizada. A raspagem direta em lâmina consiste em colocar a parte esporulada do fungo em lâmina (LEVY, 2004). Ambas as técnicas o micélio é corado com corante Vermelho Congo 0,1%. Imagens dos fungos em microcultivo foram obtidas com o uso de câmera fotográfica com a visualização no microscópio. Através das imagens obtidas a partir do microcultivo e da literatura contendo chaves e fotos para a identificação (NAVY et al., 1999; WATANABE, 2010).

Resultados e Discussão

Os fungos isolados neste trabalho receberem códigos de letras de acordo com o local da coleta (Solo sem Cultivo UEG - SCU) e números. Durante o período seco, foram detectados 9 morfotipos de fungos nas placas analisadas, com um total de 29 colônias. Desses morfotipos foram identificados 9 isolados. No período de chuvas foram detectadas 139 colônias e 30 morfotipos dos quais 9 foram identificados. Os gêneros que foram mais encontrados foram *Aspergillus* e *Penicillium*. Foram encontrados também fungos dos gêneros *Fusarium* e *Sordaria*. Na Tabela 1 estão mostrados os gêneros dos isolados identificados por seu código e pelo período em que o solo foi coletado.

Tabela 1. Gêneros dos fungos isolados do solo da UEG Campus Palmeiras de Goiás identificados parcialmente por período de coleta.

Período de Coleta	**Gênero**	**Código do isolado (total identificado)**
Período Seco (9 morfotipos)	*Aspergillus*	SCU 5.1 (1)
	Fusarium	SCU 3; SCU 4.1; SCU 4.2 (3)
	Penicillium	SCU 7; SCU 8.3; SCU 12.3 (3)
	Sordaria	SCU 2 (1)
Período Chuvoso (30 morfotipos)	*Aspergillus*	SCU 6; SCU 13; SCU 20; SCU 21 (4)
	Penicillium	SCU 1; SCU 5; SCU 9, SCU 11, SCU 14 (5)

A Figura 1 mostra a diversidade morfológica em placa com meio PPS dos isolados identificados e a Figura 2 mostra a morfologia das estruturas reprodutivas utilizadas na identificação.

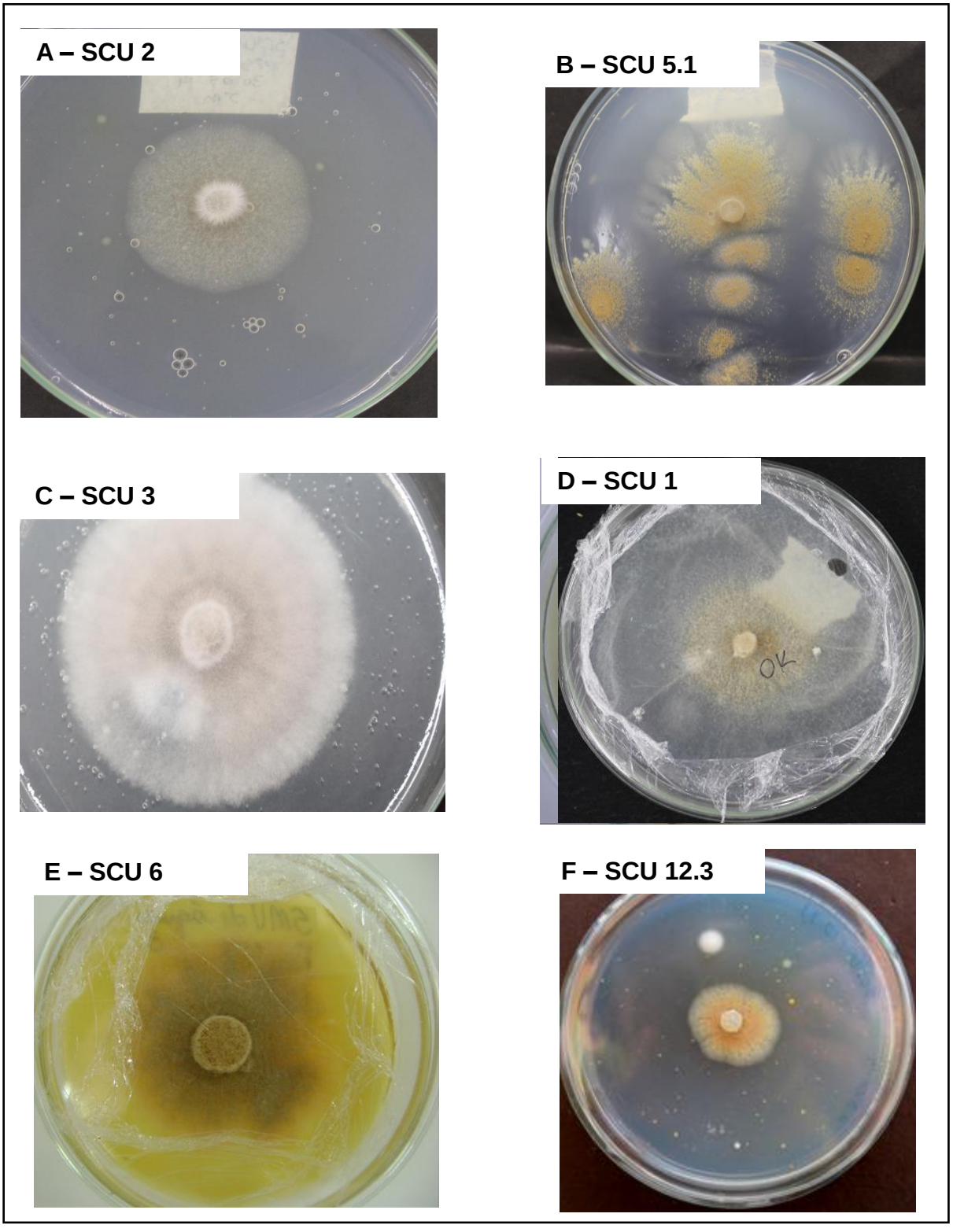

Figura 1. Morfologia de crescimento em placa dos isolados SCU 2 (A); SCU 5.1 (B); SCU 3 (C); SCU 1(D); SCU 6 (E) e SCU 12.3 (F) representando a diversidade de fungos isolados. (Meio PPS após 3 a 10 dias de crescimento).

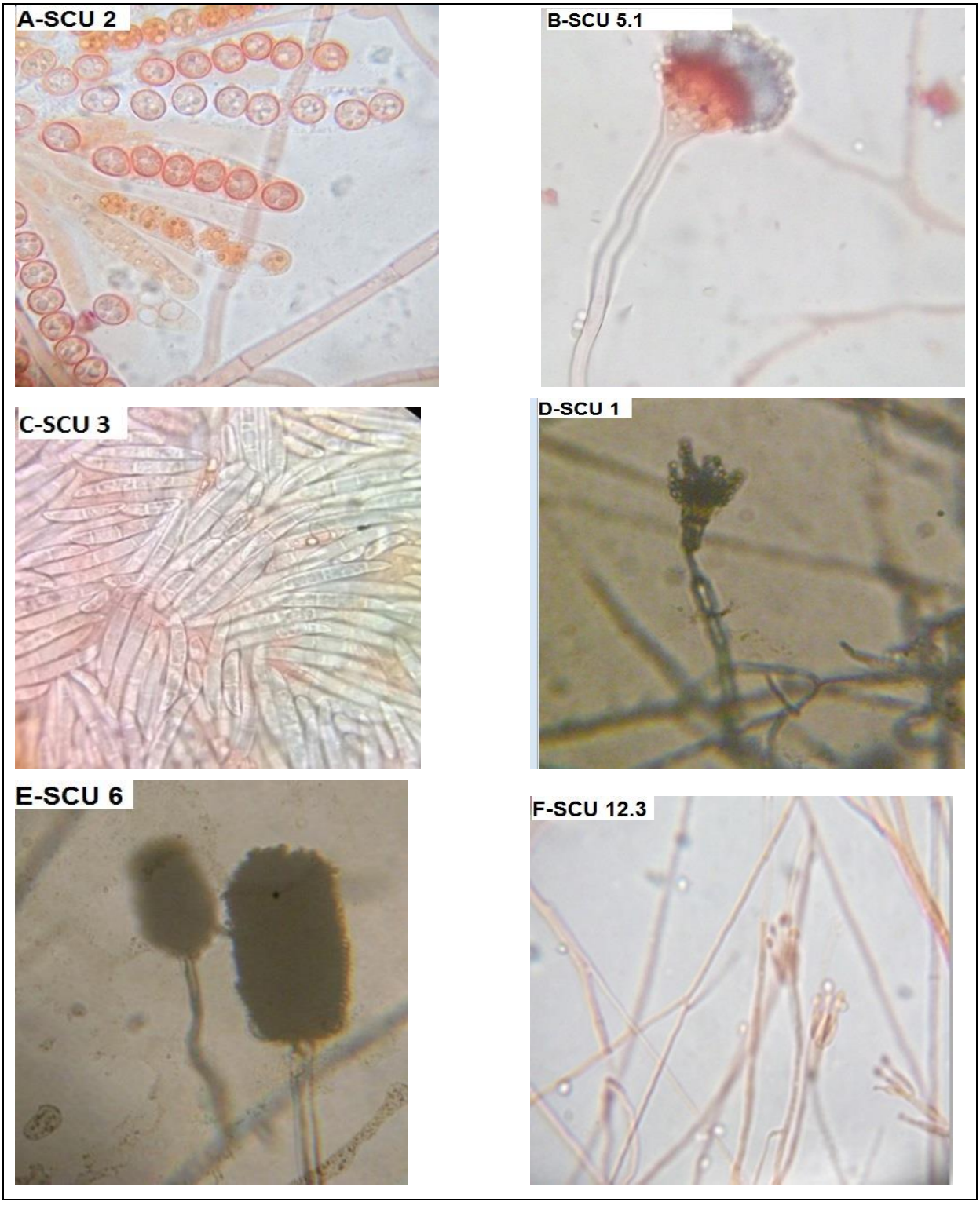

Figura 2. Imagens de micrografia obtidas dos microcultivos dos fungos SCU 2 (A); SCU 5.1 (B); SCU 3 (C); SCU 1(D); SCU 6 (E) e SCU 12.3 (F) A identificação foi feita comparando-se as imagens de estruturas de propagação com imagens da literatura para cada gênero (NAVY et al., 1999; WATANABE, 2010).

O gênero *Aspergillus* é conhecido por possuir conidióforo não septado e dilatado no topo, em forma de vesícula, onde se formam fiálides (células que originam os esporos chamados conídios); *Penicillium* possui conidióforo verticilado, com formação de fiálides; nos últimos ambos possuem a formação de conídios com origem nas fiálides e encontram-se dispostos em cadeia (FAIA, 2011). O gênero *Sordaria* é conhecido pelo seu arranjo de 8 ascósporos dentro do asco de formato longitudinal. Os isolados de *Fusarium* foram identificados principalmente pelo formato dos macroconídios de formato curvo a cilíndrico contendo de seis a dez septos (LESLIE; SUMMERELLI, 2006 apud SFALSIN, 2012)

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são conhecidos por seu alto poder de biodegradação, são bons produtores de enzimas que são utilizadas por indústrias alimentícias, têxteis e detergente, assim causando menos impactos ambientais (ROCHA,2010). Por conta dos avanços das técnicas moleculares, os fatores morfológicos são usados em trabalhos mais recentes somente para a caracterização de isolados de uma determinada área, por exemplo, sem o objetivo de identificação das espécies (LAZAROTTO, 2013).

Quanto ao número de isolados quanto ao período, era esperado um maior número de colônias a serem encontrados no solo no período chuvoso (139 colônias) que no período seco (29 colônias). Porém, 4 gêneros diferentes foram identificados no período seco e somente 2 no período úmido. Não quer dizer que os outros gêneros não estejam presentes no período seco. Mais estudos devem ser feitos para verificar a ocorrência de outros gêneros no período úmido no solo do Campus da Universidade.

Estudando fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* isolados de Cerrado do estado de Minas, Monteiro (2012) verificou a presença de ambos os gêneros, tanto no período chuvoso quanto no período seco, sem encontrar variações significativas tanto no número de colônias quanto no número de espécies identificadas entre os períodos. Forzza e colaboradores (2010) não acharam registros de *Aspergillus* isolado de Cerrado a partir das bases de dados consultadas. Segundo o estudo, os fungos mais encontrados nos biomas brasileiros são do gênero *Puccinia*, *Physarium*, *Penicillium*, dentre outros. Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são de fungos considerados cosmopolitas e bastante relacionados a ambientes antrópicos por terem alta capacidade de degradação de alimentos

comuns para o homem, como cereais, maçã e frutas cítricas (MENEGHELLO et al., 2012; VISAGIE et al., 2014). O fato de encontrar principalmente esses gêneros no solo da UEG Campus Palmeiras de Goiás pode ter relação a esse fato, aliado à questão do histórico de uso do solo para atividades de plantio experimental de alguns cultivares comerciais.

Considerações Finais

O levantamento dos fungos filamentosos do solo da UEG Campus Palmeiras de Goiás representa uma ação para conhecer os fungos que ocorrem nos solos do bioma Cerrado, mesmo em áreas já alteradas por atividades humanas. Os gêneros encontrados neste trabalho podem ser das mesmas espécies que ocorrem no Cerrado, sendo que o isolamento a partir de solos de áreas nativas permite comparar a diversidade de fungos, além de ampliar o conhecimento sobre esse tipo de micro-organismo deste bioma conhecido por sua biodiversidade. Além disso, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são conhecidos pelo potencial genético para produção de enzimas hidrolíticas, especialmente celulases, que tem grande aplicação em biotecnologia.

Agradecimentos

PRP Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação
Câmpus Palmeiras de Goiás
Universidade Estadual de Goiás

Referências

FAIA, A. M. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduras em alguns pontos de uma rede de distribuição de água.** Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. –Tese de Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia 2011.

FORZZA, R.C.; LETTMAN, P.M.; COSTA, A.; CARVALHO JR, A.A.; PEIXOTO, A.L.; WALTER, B.M.T.; (...) SOUZA, V.C. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Vol1, 2010.

FREITAS, V.L.O, MELLO, F.S.S.; GARCIA, K.V.C.N.; JALES, L.F. **Isolamento de fungos solubilizadores de fosfato e celulolíticos de uma pilha de rejeito - em processo de restauração - e no cerrado, no município de Papagaio, MG.** Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil, São Lourenço – MG, set. 2009

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. **A conservação do cerrado brasileiro**. Megadiversidade,v.1, n.1, 2005.

LAZAROTTO, Marília. **Identificação e Caracterização de *Fuzarium spp.* Pestalotiopsis spp. Assosciados a *Carya illinoinensis* no Rio Grande do Sul.** 2013. 156 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2013.

LEVY, C. E**. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. ANVISA. Módulo VII. 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf. Acesso em 23 de abril de 2015.

MENEGHELLO,E.L.; JORGE,J.R.M.; OLIVEIRA,A..V. de.; **Identificação e Pesquisa de Espécies de Fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus carbonarius* Encontradas em Frutas Secas Vendidas no Comércio de Maringá-PR.** 2014. Anais Eletrônicos. VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Cientifica, Maringá-PR, Brasil.

MONTEIRO, M.C.P**. Identificação de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do Cerrado**. Dissertação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. atual e ampl. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

NAVY, S.S., BANDYOPADHYAY, R., HALL, A.J., AND BRAMEL-COX, P.J. **A pictorial guide for the identification of mold fungi on sorghum grain**. Information Bulletin no. 59 (In En. Summaries in En, Fr). Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 1999.

PAPAGIANNI, M. **Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes**. Biotechnology Advances, Oxford, v. 22, p. 189-259, 2004.

ROCHA, C. P. **Otimização da produção de enzimas por Aspergillus Niger em fermentação em estado sólido.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química: Universidade Federal de Uberlândia – MG, 2010.

SFALSIN, Erica. **Caracterização morfologica e molecular de *Fusarium decemcellulare*, Agente Etiológico da Gralha-Floral em Cacaueiro.** 2012. 37 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia/fitopatologia, Programa de Pós-graduação em Agronomia/fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2012.

VISAGIE, C.m et al. **Aspergillus, Pnicillium and Talamoryces Isolated From House Dust Samples Collected Around the World.** 2014. Disponível em:<www.studiesinmycology.org>. Acesso em: 12 ago. 2017.

WATANABE, T. **Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi**: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. CRC Press, Taylor & Francis Group. Boca Raton. 2010.