



Ensaio da ação antifúngica da secreção cutânea de Anfíbios–Anura da espécie *Physalaemus cuvieri* em fungos isolados de solos do Cerrado.

Gislaine Tavares de Moraes (IC)*, Igor de Oliveira (PQ).

gislainetaavares17@gmail.com

Universidade Estadual de Goiás- Campus Palmeiras de Goiás.

Resumo: A epiderme dos anfíbios exerce varias funções, tais como: proteção contra abrasão, respiração cutânea, osmorregulação, termorregulação e secreção de substâncias protetoras. Uma grande variedade e quantidade de microrganismos compõem o solo dentre eles temos os fungos responsáveis por manter o equilíbrio nutricional do solo, tendo por função a decomposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes. Tais fungos podem adquirir o status de praga agrícola, causando prejuízos aos agricultores. Por este motivo, este estudo busca observar a possível atividade antifúngica presente nas secreções cutânea da espécie *P.cuveiri* contra os fungos do solo do Bioma Cerrado. Esperava-se a atividade antifúngica da secreção cutânea de *P. cuveiri* em fungos isolados do solo do cerrado. Neste caso foi possível observar que em uma placa não ocorreu a ação antifúngica mas o crescimento micelial ficou mais restrito a algumas áreas da placa enquanto as demais não foi observado o mesmo comportamento observando o crescimento generalizado na placa.

Palavras-chave: Armadilha. Extração. Procedimento. Captura. Laboratório. Petri.

Introdução

O Brasil tem a maior diversidade de anfíbios do mundo com 1080 espécies descritas sendo que destas 1039 são Anuros (SBH, 2017). Ao ranquearmos os biomas o Cerrado fica em terceiro lugar com 209 espécies de anuros, assumindo a liderança quando o assunto é o endemismo de suas espécies, apresentando 51,7% de espécies endêmicas ao domínio (VALDUJO et al., 2012).

A pele dos anfíbios exerce diversas funções, tais como: proteção contra abrasão, respiração cutânea, osmorregulação, termorregulação e secreção de substâncias protetoras (NASCIMENTO et al., 2003).

Physalaemus cuveiri é uma espécie de ocorrência é conhecida do Nordeste, Centro, Sudeste e Sul do Brasil, Argentina e Leste do Paraguai. Ocorre até 2.000 m acima do nível do mar e ocorre em muitos habitats, incluindo pastagens abertas, pastagens e savanas inundadas. Reproduz em lagoas de gado ou corpos d'água temporários, como poças, muitas vezes em faixas de casco cheias de água. É uma espécie muito adaptável (ANPHIBIAWEB, 2017).

REALIZAÇÃO





Uma grande variedade e quantidade de microrganismos compõem o solo dentre eles temos os fungos responsáveis por manter o equilíbrio nutricional do solo, tendo por função a decomposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (PELCZAR et al., 1997; FREITAS, et al., 2009). Tais fungos podem adquirir o status de praga agrícola, causando prejuízos aos agricultores (GHINI e NAKAMURA, 2001).

Assim, os anfíbios por serem animais terrestres e de pele úmida tendem a entrar em contato com tais fungos de solo. Por este motivo, este estudo busca observar a possível atividade antifúngica presente nas secreções cutânea da espécie *P.cuveiri* contra os fungos do solo do Bioma Cerrado.

Portanto o objetivo deste é verificar a existência da atividade antifúngica da secreção cutânea de espécies de anuros do gênero *P. cuveiri* em fungos isolados de solo do Cerrado.

Material e Métodos

Foram realizadas aulas laboratoriais para o ensino de como produzir meios de cultura. Cultura de fungos em placas de petri, manutenção de culturas utilizando o repique e repicar as colônias nas placas.

Ocorreu instalação de pitfall de 40m composto por balde plásticos instalados no solo mediante a abertura de cova de volume aproximado de 6 dm³, mas para facilitar a captura de anuros foi necessário a construção de uma barreira constituída de lona preta onde foram amarradas em estacas cravadas no solo, os anfíbios capturados na armadilha foi colocados dentro de um recipiente plástico e levados para o laboratório da Universidade, logo após os sapos foram lavados em água corrente para facilitar na extração das secreções cutâneas presentes na epiderme do anfíbio para a proteção deste contra os agentes patogênicos, este *Physalaemus cuveiri* foram medidos e pesados conforme apresenta na figura1, logo após conduzidos para câmara de fluxo onde foi friccionado um swab na pele para retirada da secreção como mostra na figura2 e logo após aplicado na placa cotendo BDA que é composto por 20g de batata cozida no micro-ondas, coada e acrescentada a 1,5g de agar e 1g de glicose, criando uma solução de 100ML de BDA.



Figura 1 : Fotos onde os anuros foram pesados e medidos.

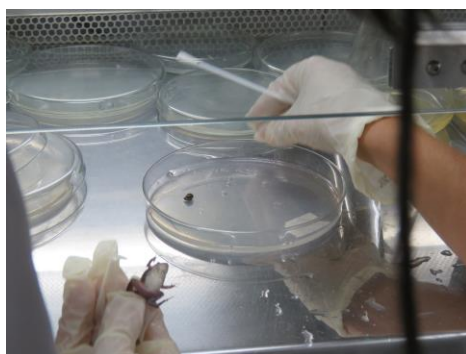


Figura 2: Retirada da secreção do anuro, transferindo-a para placa de petri.

Resultados e Discussão

Esperava-se a atividade antifúngica da secreção cutânea de *P. cuveiri* em fungos isolados do solo do cerrado.

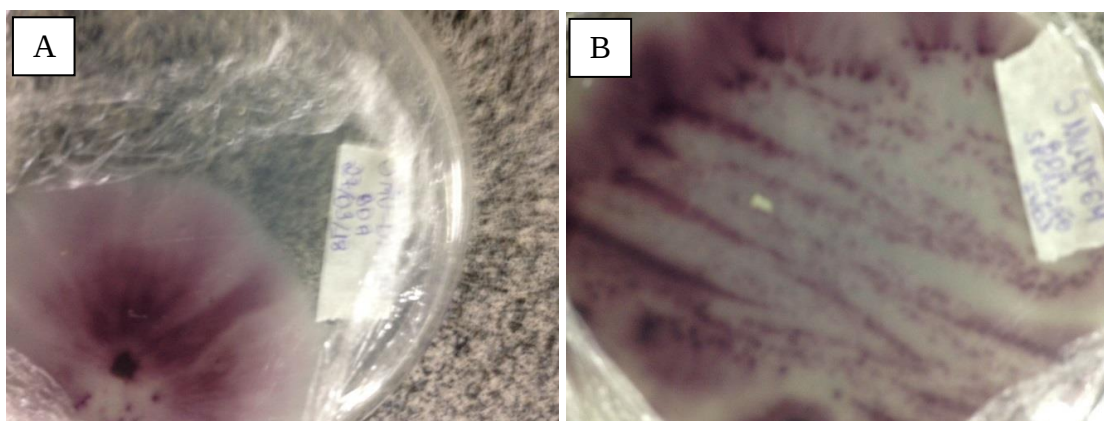


Figura 1. Análise da ação antifúngica de *P. cuveiri* contra o fungo *Fusarium* SMU4. (A) Fungo crescido em meio BDA na ausência de secreção. (B) Fungo crescido em meio BDA espalhado juntamente com a secreção de *P. cuveiri*. Não foi observada inibição do crescimento pelo fungo da secreção espalhada na placa junto com o fungo.

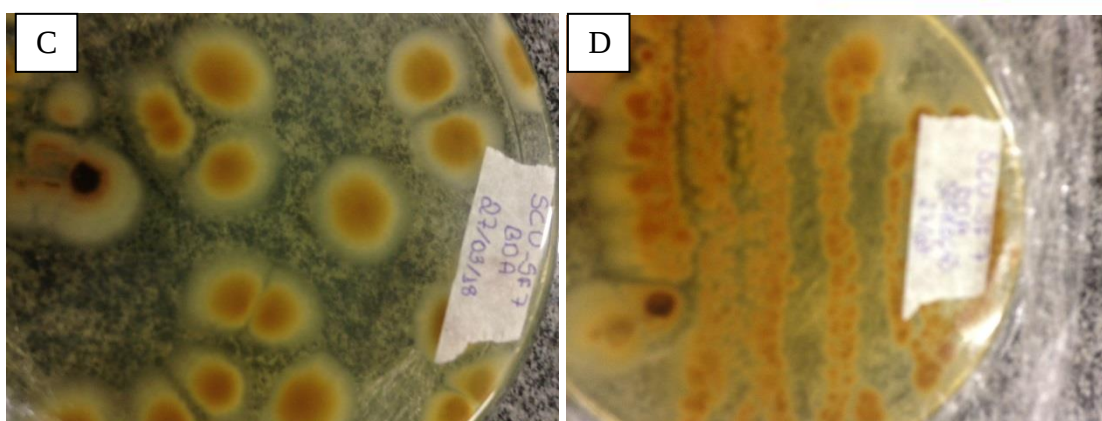


Figura 2. Análise da ação antifúngica de *P. cuvieri* contra o fungo *Aspergillus* SF7. (C) Fungo crescido em meio BDA na ausência de secreção. (B) Fungo crescido em meio BDA espalhado juntamente com a secreção de *P. cuvieri*. Não foi observada inibição do crescimento pelo fungo da secreção espalhada na placa junto com o fungo.

O mesmo foi observado para os fungos dos gêneros *Cladosporium*, com o isolado M3 e *Mucor*, com o isolado DF9. As imagens não foram mostradas pois foram observados crescimento de outros fungos que podem ter vindos de esporos de fungos presentes na superfície do animal no momento da coleta da secreção.

Considerações Finais

Novos ensaios devem ser realizados variando-se a quantidade de fungo a ser inoculada nas placas com a secreção cutânea de *P. cuvieri*. Outra variação no método que pode ser testada é deixar em contato a secreção do anfíbio com os esporos dos fungos por um determinado período de tempo antes de semear nas placas.

Agradecimentos

Aos técnicos de laboratório da UEG Campus Palmeiras de Goiás e colegas que participam da iniciação científica pela ajuda e apoio.

Referências

ANPHIBIAWEB, Disponível em:
http://www.amphibiaweb.org/cgi/amphib_query?where-genus=Physalaemus&where-species=cuvieri i. Acessado em 25/03/2017.

BENICIO, V.; ARAÚJO, E.; SOUTO, F.M.; BENICIO, M.J.; FELISMINO, D.C. Identificação e características culturais de espécies do gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.28, n.2, p.180-183, 2003.



- BULET, P.; STÖCKLIN, R. & MENIN, L. Anti-microbial peptides: from invertebrates to vertebrates. *Immunol.* 198, 169-184, 2004.
- CARVALHO, I. F. Atividade antinociceptiva, em dores agudas, de um novo fator opióide da secreção cutânea de *Rhinella schneideri*. 2008. 110f. Dissertação (PósGraduação)- Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.
- DELABONA, P.S. Bioprospecção de fungos produtores de celulases da região amazônica para a produção de etanol celulósico. Dissertação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.
- FREITAS, V.L.O, et al. 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.
- FROST, D.R. (2017). «Physalaemus». *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. Acessado em 03 de março de 2017.
- GAMBALE, P.G., WOITOVICZ-CARDOSO, M., VIEIRA, R.R., BATISTA, V.G., RAMOS, J. & BASTOS, R.P. Composição e riqueza de anfíbios anuros em remanescentes de Cerrado do Brasil Central. *Iheringia, Série Zoologia*, Porto Alegre, 104(1): 50-58, 2014.
- GANZ, T. e LEHRER, R. I. Antimicrobial peptides of vertebrates. *Curr. Opin. Immunol.* 10, 41-44, 1998.
- GHINI, R. e NAKAMURA, D. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividade de solos a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em microcosmos e in vivo. *Summa Phytopathologica*, v.27, n.3, p.318-322, 2001.
- JESUS, J.M.I., ROSA, E.V., SILVA, P., PESSOA, F.O.A.; SILVA, F.G. VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA in vitro DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DE QUINA FRENTE AO FUNGO *Fusarium oxysporum*. *Anais IV Congresso Estadual de Iniciação Científica do IF Goiano*. Setembro, 2015.
- 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.
- NASCIMENTO, A. C. C.; FONTES, W.; SEBBEN, A. e CASTRO, M. S. Antimicrobial peptides from anurans skin secretions. *Protein and Peptide Letters*. 10:227–238, 2003.
- OLIVEIRA, C. L. Análise in vitro da atividade de secreções cutâneas de anfíbios do Cerrado brasileiro à proliferação do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (LONGCORE; PESSIER; NICHOLS, 1999). Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. UNB, Brasília, 2014.
- PELCZAR JR; CHAN; KRIENG. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2 ed. V. 2. p. 306309, cap. 28, microbiologia do solo e do ar. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 1997.