

Investigação da ação antifúngica da secreção cutânea de Anfíbios do gênero *Physalaemus centralis* em fungos isolados de solos do Cerrado.

Paulo R. S. Gomes^{*1} (IC), Igor G. de Oliveira² (PQ), Saulo J. L. de Siqueira³ (PQ)..

¹Acadêmico do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Goiás Campus Palmeiras de Goiás. e-mail: Paulogx4@gmail.com

²Pesquisador, coordenador do projeto de pesquisa, docente da Universidade Estadual de Goiás Campus Palmeiras de Goiás.

³Pesquisador, Universidade Estadual de Goiás, Palmeiras de Goiás, Goiás.

Resumo: A pele dos anfíbios representa uma de suas maiores adaptações tanto anatômicas como fisiológicas, exercendo diversas 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. 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 cutâneas da espécie *P. centralis* contra os fungos do solo do Bioma Cerrado. Foram realizadas armadilhas e buscas ativas por poças no município de Palmeiras de Goiás, porém não conseguimos capturar a espécie alvo de anuro, porém este trabalho isolou 4 morfotipos de fungos de solo do cerrado classificados dentre os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium* e *Mucor*.

Palavras-chave: Extração. Captura. Procedimento. Placas. Ensaios.

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 representa uma de suas maiores adaptações tanto anatômicas como fisiológicas, exercendo diversas funções, tais como: proteção



contra abrasão, respiração cutânea, osmorregulação, termorregulação e secreção de substâncias protetoras (NASCIMENTO et al., 2003).

Physalaemus centralis que costuma habitar de áreas abertas associadas às florestas semi-decíduas do Atlântico, Pantanal e Cerrado, Nordeste do Paraguai e Bolívia. Ela ocorre em altitudes de até 1000m. A população dessa espécie é considerada estável, uma vez que é amplamente distribuída no centro do Brasil sendo considerada uma espécie generalista (ANPHIBIAWEB, 2017).

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. centralis* contra os fungos do solo do Bioma Cerrado.

Material e Métodos

Coleta de solo e isolamento dos fungos

Foram coletadas amostras de solo de Cerrado da região de Palmeiras de Goiás nos períodos úmido e seco. As amostras de solo foram captadas a uma profundidade de 0 a 20 cm e acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em geladeira até o processamento (MONTEIRO, 2012).

Para o isolamento dos fungos, 5g de solo foram homogeneizados em 45 mL de solução salina esterilizada e incubados a 28° C por uma hora. Após esse período, a solução foi diluída em série e 0,1mL da diluição 1:1000 e aplicada em placas contendo meio ágar batata contendo ampicilina 100µg/mL (MONTEIRO, 2012; DELABONA, 2011). As placas ficaram incubadas a 28°C por 7 dias ou até a esporulação dos fungos.

Diferenciação morfológica das linhagens



As linhagens foram diferenciadas a partir de seus aspectos morfológicos, como aspecto da hifa, cor e esporulação. As placas foram fotografadas e os fungos com morfologia diferentes foram considerados de morfotipos diferentes.

Coleta de Anuros do gênero *Physalaemus* e de sua secreção cutânea

Foram utilizados de forma combinada três métodos de coleta, sendo eles: levantamento em sitio de reprodução, captura por terceiros e encontros acidentais (SCOTT e WOODWARD, 1994). Os esforços de busca se concentraram nas áreas adjacentes e nos corpos de água presentes na área do Campus da UEG de Palmeiras de Goiás e em do município.

Foi confeccionada uma armadilha de queda (*pitfall trap*) na área do Campus da universidade para coletas do anuro, composta por quatro baldes plásticos de 20 litros, distantes um do outro em linha reta por 10 metros e uma cerca guia composta por uma lona plástica preta com 50 cm de altura e 40 metros de comprimento ela ficou em funcionamento por três meses de abril, maio e junho com conferencias a cada dois dias.

Também foram realizadas buscas ativas, nos meses de maio e junho, por áreas alagadas do município de Palmeiras de Goiás em busca das rãs *P. centralis* no período noturno de maior atividade dos anuros.

Resultados e Discussão

Os fungos isolados do solo do cerrado e identificados quanto a seu morfotipo foram *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium* e *Mucor*. Estes foram repicados em placas de petri e submetidos a culturas em placas por 7 dias para observar o crescimento do fungo, notou-se que os mesmos cresceram sem contaminação demonstrando ser morfotipos isolados.

Não foi possível testar a atividade antifúngica da secreção de *P. centralis*, apesar de todas as buscas realizadas como: armadilha de queda (*pitfall*), buscas ativas, levantamento em sitio de reprodução, captura por terceiros e encontros acidentais, pois não conseguimos encontrar/capturar nenhum indivíduo da espécie alvo.



Considerações Finais

O processo de iniciação científica gerou um grande aprendizado em minha formação acadêmica, pois aprendi procedimentos de laboratório de microrganismos, observei colônias de fungos e as isolei do solo do Cerrado, repiquei culturas de fungos e também pude vivenciar métodos de captura de anuros com procedimento de ida a campo e vivência do trabalho do biólogo em ambos os espaços laboratoriais e campo.

Agradecimentos

Agradecemos a Pró-Reitoria de Pesquisa (PrP) pela oportunidade de participar do programa de Iniciação Científica Voluntário (PIVIC) da UEG.

Referências

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

DELABONA, P.S. **Bioprospecção de fungos produtores de celulasas da região amazônica para a produção de etanol celulósico**. Dissertação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

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.

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.

REALIZAÇÃO

PRG
Pró-Reitoria de
Graduação

PRP
Pró-Reitoria de
Pesquisa e
Pós-Graduação

PRE
Pró-Reitoria de
Extensão, Cultura e
Assuntos Estudantis



Universidade
Estadual de Goiás



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..

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.

SBH – SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA. 2017. **Lista de espécies de anfíbios do Brasil**. Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH). Disponível em <http://www.sbherpetologia.org.br/>, acesso em 03/02/2017.

SCOTT JR., N. e WOODWARD, B.D. **Surveys at breeding sites**, p.118-125. In: HEYER, W.R.; M.A. DONNELLY; R.W. MCDIARMID; L.C. HAYEK & M.S. FOSTER (Eds). **Measuring and Monitoring Biological Diversity – Standard Methods for Amphibians**. Washington, Smithsonian Institution Press, 364p, 1994.

VALDUJO, P.H., SILVANO, D.L., COLLI, G. & MARTINS, M. **Anuran species composition and distribution patterns in Brazilian Cerrado, a neotropical hotspot**. S. A. J. H. 7(2):63-78, 2012.

.