



## Diversidade Morfofisiológica de Fungos Filamentosos Isolados de Áreas Mineradas e de Preservação

**Talita Coeli D'Angelis de Aparecida Ramos<sup>(2)</sup>; Francisco Adriano de Souza<sup>(3)</sup>; Christianne de Oliveira Paiva<sup>(3)</sup>; Márcia Cristina Ribeiro<sup>(4)</sup>; Denise Pacheco dos Reis<sup>(2)</sup>; Ivanildo Evódio Marriel<sup>(3)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos da Embrapa Milho e Sorgo, FAPEMIG/VALE

<sup>(2)</sup> Estudante de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, MG; talita.tchely@gmail.com; <sup>(3)</sup> Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo; <sup>(4)</sup> Bolsista FAPEMIG/Embrapa

**RESUMO:** O conhecimento da biodiversidade dos fungos filamentosos de solos ferruginosos pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de preservação, recuperação de áreas degradadas bem como a exploração do seu potencial biotecnológico. O objetivo do trabalho foi isolar, preservar e caracterizar morfofisiologicamente fungos provenientes de áreas de preservação e de área minerada em recuperação. As amostras foram coletadas em solos de cinco áreas (Canga, Mata Cerrado, Eucalipto e Capim) no município de Sabará-MG. O isolamento dos fungos foi feito pelo método *Spread-plate*, utilizando-se alíquotas de diluições seriadas decimais das amostras de solo e plaqueadas em oito meios de culturas sólidos distintos, em relação à composição de sais minerais e de fonte de carbono. Para a caracterização morfofisiológica, utilizou-se o meio Martin. Foram obtidos, purificados e preservados 692 estirpes de fungos filamentosos. Os fungos foram caracterizados quanto à coloração do micélio, coloração da esporulação, produção de pigmentos solúveis e produção de exsudados. A caracterização morfológica quanto à coloração do micélio, destacou o predomínio de fungos com micélio de coloração branca, seguido dos beges, esverdeados, amarelados, hialinos e acinzentados. Quanto a coloração da esporulação a maioria dos fungos apresentou coloração de esporos esbranquiçada, seguida dos esverdeados, acinzentados, e beges. Foram identificados isolados produtores de exsudatos e pigmentos solúveis respectivamente em 13% e 6% isolados de vegetação de Canga, 13% e 6% em Capim, 7% e 11% em Cerrado, 14% e 10% em Eucalipto e 16% e 2% em Mata. Concluiu-se que as áreas avaliadas apresentam elevada abundância e diversidade morfofisiológica de fungos filamentosos.

**Termos de indexação:** Biodiversidade, potencial biotecnológico

### INTRODUÇÃO

O solo é considerado um dos ecossistemas terrestres que apresenta maior diversidade biológica. Abriga representantes de todos os reinos e domínios, dentre eles uma vasta

população de microrganismos, dentre eles os fungos filamentosos (Moreira & Siqueira, 2006).

Os fungos, em especial os fungos filamentosos que compõem a microbiota do solo representam uma das linhagens evolutivas mais amplas e diversas e contribuem efetivamente para vários serviços indispensáveis ao funcionamento sustentável de todos os ecossistemas (Muller & Bills, 2004; Borges et al., 2011).

Os fungos participam ativamente dos processos de decomposição e biodegradação, na nutrição e desenvolvimento vegetal, aumentando a disponibilidade de nutrientes através da solubilização, mineralização de compostos orgânicos e inorgânicos, ações antagonicas, associações simbióticas com plantas, dentre outros (Meena, 2013; Muller & Bills, 2004). Além disso, apresentam ampla adaptação ecológica, o que lhes confere capacidade de colonizar ambientes extremos (Onofri et al., 2011; Selbmann et al., 2013) como solos impactados pela atividade mineradora. Sabe-se que fungos adaptados a ambientes extremos podem representar uma valiosa fonte de metabólitos ou genes de interesse biotecnológico para produção agrícola, industrial e ambiental (Monteiro, 2012; Quintanilha et al., 2015; Selbmann et al., 2013).

Pesquisas envolvendo a taxonomia, ecologia e bioprospecção de fungos isolados de solos ferruginosos podem permitir a identificação de estirpes importantes para o desenvolvimento de estratégias de recuperação de ambientes naturais e impactados, bem como de nutrição mineral de culturas agrícolas. O objetivo deste trabalho foi isolar, preservar e caracterizar morfofisiologicamente fungos provenientes de áreas de preservação e de área minerada em recuperação visando a bioprospecção de isolados com potencial biotecnológico.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras do solo (0-0,20m) em três fitofisionomias: vegetação de Canga, Mata- fragmento de Mata Atlântica e

Cerrado, uma floresta antrópica e uma área minerada em recuperação, localizadas na Mina Córrego Meio, Município de Sabará, Minas Gerais. Esta área abriga o Centro de Biodiversidade (CeBio) da empresa Vale S/A – CeBio. A floresta antrópica é composta de plantação de Eucalipto e área minerada em recuperação consiste de taludes revegetados com capim gordura (*Melinis minutiflor*) e faz parte de ações de recuperação ambiental da área minerada.

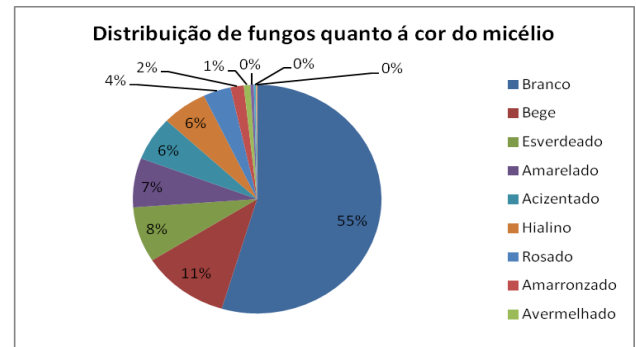
As coletas de solo foram realizadas em três épocas, uma na estação seca e duas na estação chuvosa no ano de 2014. O isolamento dos fungos foi realizado pelo método *Spread-plate*, utilizando-se alíquotas de 0,1 mL de cada uma das diluições seriadas decimais ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) das amostras de solo e plaqueadas em oito meios de culturas sólidos distintos em relação à composição de sais minerais e de fonte de carbono (Batista et al., 2014) e incubadas durante 7 a 10 dias à temperatura ambiente. Após este período as colônias foram transferidas para o meio Martin para caracterização morfofisiológica. Foram obtidos 692 isolados de fungos filamentosos que foram purificados e incorporados à coleção de culturas de microrganismos multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo.

A caracterização morfofisiológica foi realizada no Laboratório de Microbiologia do solo da Embrapa Milho e Sorgo, MG. Os fungos foram caracterizados quanto à coloração do micélio, coloração da esporulação, produção de pigmentos solúveis e produção de exsudatos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

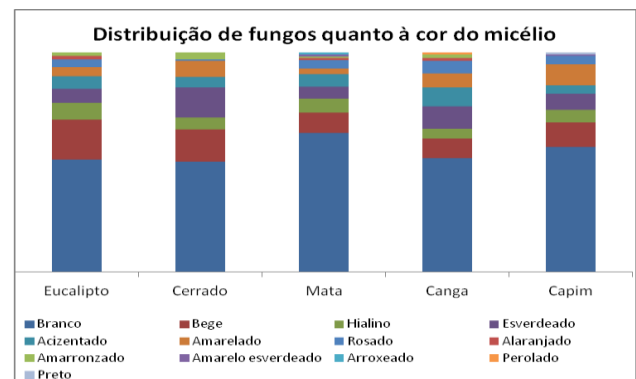
No total foram obtidos 692 isolados de fungos filamentosos, 121 da plantação de Eucalipto, 125, do Cerrado, 112 da Mata, 199 da vegetação de Canga, e 135 da área minerada revegetada com Capim.

De modo geral, a caracterização morfológica quanto à coloração do micélio, revelou elevada diversidade morfológica entre os isolados (Figura 1). Os fungos com micélio de coloração branca se destacaram (55%), seguido dos beges (11%), esverdeados (8%), amarelados (7%), acinzentados e hialinos (6%). Os demais apresentaram porcentagem abaixo de 5%.



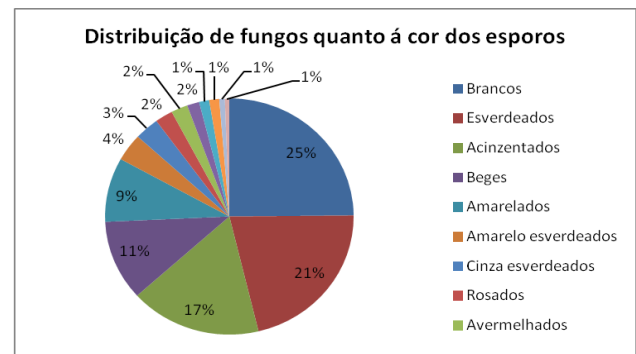
**Figura 1-** Diversidade morfológica de 692 fungos filamentosos isolados de áreas de preservação e área minerada em recuperação quanto à coloração do Micélio.

Foi observado o prevaletamento de fungos com micélio de coloração branca em todas as áreas, seguidos dos de cor bege (18% e 9%) e hialinos (7% e 6%) em Eucalipto e Mata respectivamente. Bege (14%) e esverdeado (14%) em Cerrado, esverdeado (10%) e bege (9%) em Canga e Bege (10%) e amarelado (9%) em Capim (Figura 2).



**Figura 2-** Diversidade morfológica de fungos filamentosos isolados de áreas de preservação e área minerada em recuperação quanto à coloração do micélio.

A coloração da esporulação também indicou uma elevada diversidade entre os isolados (Figura 3). A maioria dos fungos apresentou coloração de esporos esbranquiçada (25%), seguido dos esverdeados (21%), acinzentados (17%), beges (11%) e amarelados (9%). Os demais apresentaram porcentagens abaixo de 5%.



**Figura 3-** Diversidade morfológica de 692 fungos filamentosos isolados de áreas de preservação e área minerada em



recuperação quanto à coloração da esporulação

A maioria dos fungos apresentou coloração de esporos esbranquiçada, seguida dos, acinzentados (28%) em Eucalipto, esverdeados (21%, 21%, 23% e 24%) em Cerrado, Mata, Canga e Capim respectivamente. Logo depois os Esverdeados (19%) em Eucalipto, acinzentados (19% e 20%) em Cerrado e Canga, Bege (18%) em Mata e amarelados (18%) em Capim (Figura 4).

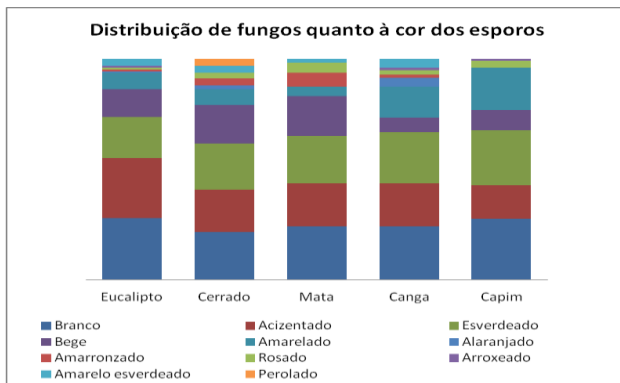


Figura 4 - Diversidade morfológica de fungos filamentosos do solo de áreas de preservação e área minerada em recuperação quanto à coloração dos esporos.

Qualitativamente, observou-se elevada diversidade de fungos independente do ecossistema avaliado. Nas áreas que foram submetidas a algum tipo de atividade antrópica, como Eucalipto e Capim, a diversidade observada através dos parâmetros analisados indicou uma similaridade em comparação com Canga, Mata e Cerrado, o que pode influenciar positivamente no processo de recuperação destas áreas.

A diversidade encontrada nas comunidades fúngicas pode estar relacionada aos numerosos fatores bióticos e abióticos o qual estão expostos, como as comunidades vegetais, características do solo, matéria orgânica e clima (Tedersoo, 2010).

A observação macroscópica das características das colônias permite uma primeira identificação. Monteiro (2012) aponta que a coloração das colônias é um fator importante a ser observado para diferenciação taxonômica em alguns gêneros. Um exemplo é o gênero *Trichoderma* onde pode-se observar colônias de micélio branco, com pontuações esverdeadas ou amareladas (Faia, 2011). Fungos do gênero *Aspergillus*, no entanto, apresentam ampla variação na coloração (Klich, 2002)

Em relação à produção de metabólitos, foram encontrados 88 (13%) que produziram exsudatos e 58 isolados produtores de pigmentos solúveis (Figura 5).

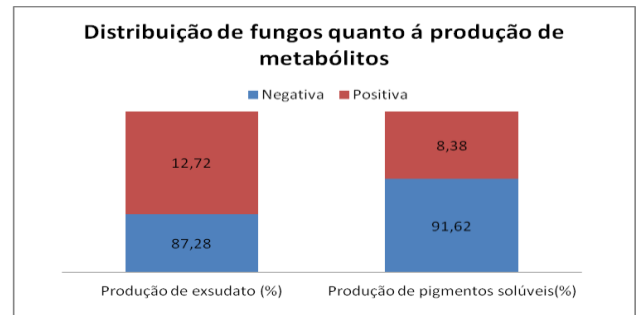


Figura 5 - Produção de metabólitos por 692 fungos filamentosos isolados de áreas de preservação e área minerada sobre recuperação.

A produção de exsudatos foi verificada em 13% dos isolados em vegetação de Canga, 13% em Capim, 7% em Cerrado, 14% em Eucalipto e 16% em Mata (Figura 6). A produção de pigmentos solúveis foi detectada em 10% dos isolados de vegetação de Canga, 6% em Capim, 11% em Cerrado, 10% em Eucalipto, 2% em Mata (Figura 7).

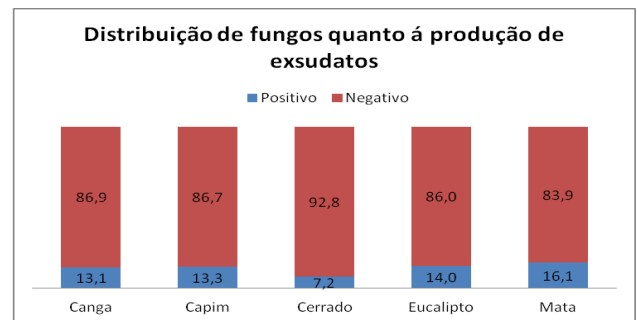


Figura 6 - Produção de exsudatos por 692 fungos filamentosos isolados de áreas de preservação e área minerada em recuperação.

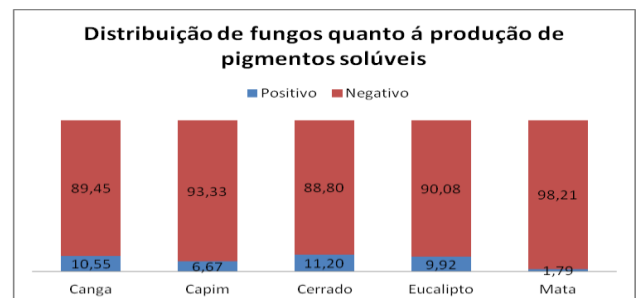


Figura 7 - Produção de Pigmentos solúveis por 692 fungos filamentosos isolados de áreas de preservação e área minerada em recuperação

A presença de metabólitos em meio de cultura também é um fator importante a ser observado no processo de caracterização. A formação de exsudatos tem sido relatada para Basidiomycota, Zygomycota, e Ascomycota, incluindo gêneros como *Aspergillus* e *Penicillium* (Hutwimmer, 2010). Estima-se que a produção destes metabólitos esteja relacionada com a capacidade de adaptação dos microrganismos à condições de



estresses ambientais bem como reservatórios de metabólitos secundários, enzimas e ações antagonicas (Hutwimmer, 2010; Jennings, 1991).

Os fungos produtores de pigmentos solúveis apresentam grande potencial biotecnológico, sendo muito utilizados como corantes naturais na indústria têxtil e de alimentos. Além disso estes fungos podem ser utilizados em processos de biodegradação e biorremediação (Harms, 2011).

O conhecimento das características individuais do isolado fungico é determinante para seu potencial de utilização futura e a caracterização morfofisiológica contribui para alcançar tais resultados. As informações taxonômicas clássicas devem ser complementadas com a utilização de técnicas moleculares (Mello et al., 2011). As caracterizações moleculares dos isolados se encontram em andamento.

### CONCLUSÕES

As áreas preservadas e mineradas em processo de recuperação apresentam abundância e elevada diversidade morfofisiológica de fungos filamentosos. Estes podem ser explorados quanto ao seu potencial como bioindicadores da recuperação das funções de ecossistemas degradados e fonte de produtos biotecnológicos importantes.

### AGRADECIMENTOS

À Fapemig, Universidade Federal de São João del Rei, Embrapa Milho e Sorgo e a empresa Vale S/A, pela infraestrutura e recursos financeiros para execução do trabalho.

### REFERÊNCIAS

BATISTA, A. M.; MATTOS, B. B.; SANTOS, S. S., OLIVEIRA, C. A.; OLIVEIRA, M. C. R.; TAKAHASHI, J. A.; SOUZA, F. A.; MARRIEL, I. E. Isolamento e caracterização morfofisiológica de fungos filamentosos de áreas minerada. XX Congresso Latinoamericano y XVI Congreso Peruano de la Ciencia del Suelo Cusco – Perú, Noviembre del 2014.

BORGES, L.R., LAZZARI, S.M.N., PIMENTEL, I.C., VILA NOVA, M.X. Diversidade de fungos filamentosos em solo de monocultivo de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient., Curitiba, v. 9, n. 2, p. 185-194, 2011.

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

HARMS, H., SCHLOSSER, D., WICK, L.Y. Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of

hazardous chemicals. Nature reviews, volume 9, p.177-192, 2011.

HUTWIMMER, S; WANG, H; STRASSER, H. Formation of exudate droplet by *Metarhizium anisopliae* and the presence of destruxins. Mycologia, 102(1), 2010, p.1-10, 2010.

JENNINGS, D.H. The role of droplets in helping to maintain a constant growth rate of aerial hyphae. Mycol. Res. 95 (7): 883-884, 1991.

KLICH, M.A. Identification of Common *Aspergillus* species. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelauteurs, 2002.

MEENA, V.S., MAURYA, B.R., VERMA, P. Does a rhizospheric microorganism enhance K+ availability in agricultural soils? Microbiological Research. v 169 p. 337–347, 2014.

MELLO, C.S.M., REIS, A., SILVA, J.T.B. Manual de curadores de germoplasma – Micro-organismos: Fungos filamentosos. Documentos, 134. Brasília, DF: Embrapa recursos genéticos e Biotecnologia, 2011. 25p.

MOREIRA, F.M.S., SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2ª edição. Lavras, Editora UFLA, 2006.

MUELLER, G.M., BILLS, G.F., FOSTER, M.S. Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods. Elsevier academic press, 2004. 777p.

ONOFRI S., ANASTASI A., DEL FRATE G., DI PIAZZA S., GARNERO N., GUGLIELMINETTI M., ISOLA D., PANNO L., RIPA C., SELBMANN L., VARESE G. C., VOYRON S., ZOTTI M., ZUCCONI L. Biodiversity of rock, beach and water fungi in Italy, Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official Journal of the Societa Botanica Italiana, 145:4, 978-987, 2011.

QUINTANILHA, D., HAGEMANN, T., HANSEN, K., GERNAEY, K.V. Fungal morphology in industrial enzyme production- Modelling and monitoring. Adv Biochem Eng Biotechnol. P.1-26, 2015.

SELBMANN, L., EGIDI, E., ISOLA, D., ONOFRI, S., ZUCCONI, L., HOOG, G. S., CHINAGLIA, S., TESTA, L., TOSI, S., BALESTRAZZI A., LANTIERI A., COMPAGNO R., TIGINI, V., VARESE, G.C. Biodiversity, evolution and adaptation of fungi in extreme environments, Plant Biosystems. An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official Journal of the Societa Botanica Italiana, 147:1, 237-246, 2013.

TEDERSOO, L., NILSSON, R.H., ABARENKOV, K., JAIRUTS, T., SADAM, A., SAAR, I., BAHRAM, M., BECHEM, E., CHUYONG, G., KÖLJALG, U. 454 pyrosequencing and sanger sequencing of tropical mycorrhizal fungus provide similar results but reveal substantial methodological biases. New Phytologist,