

Identificação e Conservação de culturas *Penicillium* de interesse Agrossilvicultural

Oliveira¹ D.A.S, Jesus¹ M.A

¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM. E-mail: ranna@inpa.gov.br; danielasoliveir@gmail.com

Resumo

Penicillium (Trichocomaceae) são fungos que possuem importante papel ecológico como decompositor e reciclador de matéria orgânica. Algumas espécies são conhecidas pelo seu potencial biotecnológico. Pretendeu-se identificar as linhagens de *Penicillium* depositadas na Coleção de Culturas de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural do INPA. Um total de (111) linhagens de *Penicillium* está depositados na coleção e distribuídas em *P. aculeatum* Raper & Fennell, *P. commune* Thom, *P. corylophilum* Dierckx, *P. chrysogenum* Thom, *P. expansum* Link, *P. fellutanum* Biourge, *P. frequentans* Westling, *P. glabrum* (Wehmer), *P. griseofulvum* Dierckx, *P. melinii* Thom, *P. paxilli* Bainer, *P. raistricki* Smith, *P. roquefortii* Thom, *P. sclerotirum*, *P. verruculosum* Peyronel e com destaque *P. citrinum*, *P. lividum* e *P. implicatum* pelo número de linhagens e os possíveis potenciais biotecnológicos. A identificação das espécies contribui para o conhecimento da diversidade de *Penicillium* na região Amazônica.

Palavras-chave: Taxonomia de fungos, Fungos amazônicos

Introdução

Penicillium pertence à família Moniliaceae, apresenta fase assexual através da produção de frutificações telemórficas. Caracterizam-se pela formação de uma estrutura ramificada de conídios que terminam em células conidióginas, chamadas fiálides, com ramificações monoverticilado, biverticilado e triverticilado. As ramificações estão divididas

em várias microestruturas (ramos, râmulas, métula e fiálides), nas quais são produzidos os conídios que são esféricos ou elipsoidais, unicelulares e geralmente hialino ou verde, azul- petróleo, verde oliva ou cinza (Frisvad e Samson, 2004). O aspecto macroscópico das colônias é circular, geralmente verdes, em algumas espécies a cor pode ser amarela, laranja, roxo ou marrom, e a superfície da colônia, também podem apresentar uma textura arenosa, aveludada ou mucilaginosa (Pitt, 1985).

Segundo Terrasan (2007) *Penicillium* apresenta grande papel ecológico como decompositor e reciclador de matéria orgânica. Este fungo tem sido isolado como endofítico em tecidos de várias plantas. Algumas espécies são conhecidas como produtores diversas classes de metabólitos secundários bioativos, incluindo atividade antiparasitária Elias (2005). Atualmente, diversas pesquisas têm mostrado seu enorme potencial biotecnológico, podendo ser fonte de novos fármacos, de enzimas de interesse industrial, entre outros (Pallu, 2010).

As cepas de *Penicillium* depositadas na Coleção de Culturas de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural foram isoladas de diversas espécies florestais de importância econômica da região amazônica, resíduos madeireiros, produtos florestais, dentre outros substratos, lignocelulíticos que foram materiais de estudos de durabilidade natural de madeira, tecnologia da madeira e biotecnologia, no entanto muitas linhagens ainda não se encontravam identificadas. De modo que o estudo de taxonomia das espécies contribuiu para o conhecimento da diversidade de *Penicillium* na região Amazônica.

Material e Metodos

Primeiramente, foi realizado um levantamento das linhagens de *Penicillium* do acervo com o intuito de selecionar as melhores técnicas de cultivo e preservação, identificar e conhecer a diversidade e as aplicabilidades desses fungos. As linhagens reativadas foram mantidas a 25°C por um período de 7 à 14 dias, período em que o micélio cresce em toda a superfície da placa de Petri. Apartir da obtenção da colônia pura, inóculos foram produzidos para a preservação da linhagem em óleo, sílica gel e baixa temperatura. Posteriormente, outra colônia foi obtida para estudo de taxonomia, tendo como parâmetros: a velocidade de crescimento (lento, relativamente lento, rápido), sendo que para fungos de crescimento mais lento a colônia foi avaliada, assim que atingiu a metade do diâmetro da placa de Petri. Enquanto que o crescimento rápido da colônia foi avaliado diariamente. Também, a descrição do aspecto da superfície da

cultura foi realizada, tendo como parâmetro o aspecto do micélio aéreo: plumoso, ceroso, camurçado, aveludado, flocoso, lanoso e úmido (presença de exsudatos). Assim como a coloração da colônia: verde, verde-oliva, cinzentada, amarela e outras, e presença de anéis concêntricos, e o reverso da mesma, seguindo os parâmetros estabelecidos por (Pitt, 1985).

A análise microscópica da colônia foi feita a partir de lâminas semipermanentes, preparadas com lactofenol e azul de algodão, sendo que as microestruturas foram obtidas em micro-cultivo (CYA) que consiste em repicar dois inóculos, equidistante na placa de Petri e sobre cada inóculo coloca-se uma lâminula estéril pelo período de sete dias, até que o fungo micelial cresça sobre as lâminulas de acordo com Daumal (1995). Também foi avaliado a presença ou ausência de microestruturas tais como micélio vegetativo e reprodutivo e suas respectivas mensurações. As características das culturas foram comparadas com as das espécies de *Penicillium* descritas em sites e.

Resultados

Um total de 111 linhagens de *Penicillium* está depositado na coleção, deste 95 linhagens estão identificados morfológicamente em *P. aculeatum* Raper & Fennell, *P. commune* Thom, *P. corylophilum* Dierckx, *P. citrinum* Thom, *P. chrysogenum* Thom, *P. expansum* Link, *P. fellutanum* Biourge, *P. frequentans* Westling, *P. glabrum* (Wehmer), *P. griseofulvum* Dierckx, *P. implicatum* Biourge, *P. lividum* Westlin, *P. melinii* Thom, *P. paxilli* Bainer, *P. raistricki* Smith, *P. roquefortii* Thom, *P. sclerotirum* e *P. verruculosum* Peyronel, e com o maior número de linhagens. Em vista que esses fungos são representantes de maior número de linhagens de importância biotecnológica se justifica a preservação e conservação de suas cepas em condições específicas no sentido de manter a viabilidade cultural.

A reativação das culturas contribuiu para a obtenção de culturas puras de 111 linhagens de *Penicillium*, as quais estão mantidas em pelo menos 3 métodos de conservação na Coleção. (Tabela 1.)

Os dados de reativação e identificação dos isolados indicam a necessidade de preservação e conservação dos mesmos em todos os métodos, com o intuito e de se evitar contaminação e perda das culturas de *Penicillium*, inclusive das que possuem grande potencial bioeconômico, e assim dar continuidade na identificação das espécies através de técnicas clássica ou moleculares, e principalmente a preservação das mesmas,

considerando as linhagens que podem apresentar aplicabilidades biotecnológicas, como .Também, o estudo de taxonomia e otimização dos processos de conservação e preservação de *Penicillium* viabilizou o melhor aproveitamento do na coleção, e o conhecimento da diversidade de *Penicillium* fornecendo assim subsídios para futuro estudos em bioprospeção dos metabólitos destes fungos, visando a obtenção de bioprodutos (Canhos e Vazoller, 2004).

Tabela 1. Relação de *Penicillium* identificados na coleção.

Táxon	Linhagem
<i>Penicillium aculeatum</i> Raper & Fennell	1
<i>P. corylophilum</i> Dierckx	1
<i>P. chrysogenum</i> Thom	3
<i>P. citrinum</i> Thom	15
<i>P. commune</i> Thom	3
<i>P. expansum</i> Link	2
<i>P. fellutanum</i> Biourge	2
<i>P. frequentans</i> Westling	1
<i>P. glabrum</i> (Wehmer) Westling	1
<i>P. griseofulvum</i> Dierckx	2
<i>P. implicatum</i> Biourge	7
<i>P. lividum</i> Westling	14
<i>P. melinii</i> Thom	1
<i>P. raistricki</i> Smith	1
<i>P. roquefortii</i> Thom	2
<i>P. paxilli</i> Bainier	2
<i>P. sclerotirum</i> Beyma	2
<i>P. verruculosum</i> Peyronel	4
<i>Penicillium spp.</i>	47
Total	111

Discussão

Muitas das espécies de *Penicillium* depositadas na coleção são conhecidas pelo seu amplo potencial biotecnológico por produzirem diversos metabólitos secundários bioativos utilizados para produção de enzimas hidrolíticas (amilases, celulasas e proteases), ácidos orgânicos (ácido cítrico e ácido glucônico) que podem possuir aplicabilidade em diversas áreas bioeconômicas (Pallu, 2010).

Também, outras espécies de *Penicillium* da coleção são utilizadas no controle de patógenos em cultivares e sementes na agricultura (Costa e Jesus 2012). *P. citrinum* é antagonico a *Aspergillus niger* Tiegh, inclusive é usado no controle da população desse patógeno causal de podridão vermelha no sisal (Damasceno, 2012). Na área médica, as espécies *P. lividum* e *P. implicatum* são produtores de proteases, enzimas industriais, aplicadas a indústria farmacêutica na produção de fármacos antibióticos da classe Beta lactâmicos penicilina, amoxilina, bezetacil e outros antibióticos. (Silva e Lins, 2008). Além destas de valor econômico, *Penicillium roquefortii* e *Penicillium camembert* tem aplicabilidades na indústria alimentícias, principalmente na produção de fermento para pão e de diversos queijos, (Rousseau, 1984) sendo que os seus respectivos nomes *roquefortii* e *camembert* são dados para queijos que são bastante diferentes um do outro.

A importância da preservação de culturas de *Penicillium*, principalmente das linhagens conhecidos pelos seus potenciais e até mesmo aquelas desconhecidas podem servir de fonte para futuras pesquisas em biotecnologia na região amazônica. Uma vez que é de grande valia a manutenção de culturas de microrganismos, não somente para fins científicos como também didáticos (Romeiro, 1996).

Conclusão

O presente estudo contribui para o conhecimento da diversidade de *Penicillium* na região Amazônica, com destaque para *P. citrinum*, *P. lividum* e *P. implicatum* com o maior número de linhagens com possíveis potenciais biotecnológicos.

Referências

- Abreu MM, Tutunji LV(2003). Implantação e Manutenção das coleções de culturas de microrganismos da UniCEUB. *Universitas Ciência da Saúde*. 2:236-251.
- Canhos VP, Vazoller MP (2004). Coleções de culturas de microrganismos. 82-101. Disponível em: <<http://www.biota.org.br/pdf/v72cap03.pdf>> Acesso em: 11 de dezembro de 2013.
- Dalmau LM (1929). Remarques surla technique mycologique. *Parasitologie et Humaine Comparée, Annales* 7:536-545.
- Damasceno LC. (2012). Potencial de *Penicillium citrinum* para controle *Aspergillus niger*, agente causal da podridão vermelha do sisal, Monografia, Universidade Federal do Rêconcavo da Bahia. 69 pp.
- Elias BC(2005). Estudo químico e atividades biológicas de extratos obtidos de culturas de *Penicillium verrucosum* Dierck23p., (Dissertação) Mestrado em Produtos Naturais e Sinteticos, FCF-USP. Ribeirão Preto.
- Pallu APS (2010). Potencial biotecnológico de fungos do gênero *Penicillium* e interação com cana de açúcar, (Tese) Doutorado em Genetica e melhoramento de plantas, Piracicaba. 130pp.
- Pitt JI (1985). A laboratory guide to common *Penicillium* species. Common wealth scientific and industrial research organization division of food research. Australia. 6pp.
- Rousseau M (1984). Study of the surface flora of traditional Camembert cheese by scanning electron microscopy *Milch Wissens Chaft*, 39:129–134.
- Romeiro RM (2005). Bactérias patogênicas. Imprensa Universitária/ UFMG. Viçosa. 417pp.
- Silva RR,Lins GD (2008). Fungos e Aplicabilidades biotecnológicas, programa de pós-graduação em Biodiversidade Vegetal do IBT, São Paulo. 20pp.
- Terrasan CRF (2007). Produção e caracterização do complexo Xilanolítico de *Penicillium janczewskii*, 83pp. (Dissertação) Mestrado em Microbiologia Aplicada,, UNESP, Rio Claro.