

IDENTIFICAÇÃO DE *Penicillium* INCORPORADOS NA COLEÇÃO DE CULTURAS DE INTERESSE AGROSSILVICULTURAL DO INPA

Daniela Alexandra silva de OLIVEIRA¹
Maria aparecida de JESUS²

¹Bolsista PIBIC/CNPq; ²Orientadora COTI/INPA

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 varias 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 mucilaginosa ou aveludada (Pitt 1985).

Segundo Terrasan (2007), possui importante papel ecológico como decompositor e reciclador de matéria orgânica. 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, madeiras, produtos florestais, dentre outros substratos, lignocelulíticos que foram materiais de estudos de durabilidade natural de madeira, tecnologia da madeira e biotecnologia. As linhagens ainda não se encontravam identificadas. O estudo de taxonomia das espécies contribuiu para o conhecimento da diversidade de *Penicillium* na região Amazônica.

MATERIAL E MÉTODOS

Primeiramente, foi realizado um levantamento das linhagens de *Penicillium* depositadas na Coleção com o intuito de selecionar as melhores técnicas de cultivo e métodos de preservação, identificar e conhecer a diversidade e 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. A partir da obtenção da colônia pura, inóculos foram produzidos para a preservação da linhagem em óleo, sílica 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: cotonoso (semelhante a algodão), plumoso, ceroso, camurçado, feltro, aveludado, flocoso, pulverulento, lanoso e úmido (presença de exsudatos ou massas mucilaginosa de esporos na colônia). Assim como a coloração da colônia: verde, verde-oliva, cinzentada, amarela, rosada e outras, o reverso da mesma, massa de esporos (seca ou mucilaginosa) e presença de anéis concêntricos, seguindo os parâmetros estabelecidos por Pitt (1985).

A análise microscópica 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 inoculo coloca-se uma lâminula estéril pelo período de sete dias, visando assim o crescimento micelial sobre as lâminulas. Também, as microestruturas tais como micélio vegetativo e reprodutivo foram visualizadas em lâminas com corante lactofenol azul-algodão. Os dados de presença ou ausência de microestruturas, assim como as suas respectivas mensurações foram comparados com as espécies de *Penicillium* descritas por Daumal (1995), Elias (2005), Pallu (2010), Pitt (1985), Rousseau (1984), Terrasan (2007) e em sites especializados como Myco bank (www.mycobank) e index fungorum (www.indexfungorum.org).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 106 linhagens de *Penicillium* está depositado na coleção sendo que até o momento estão identificados morfológicamente: *P. aculeatum*, *P. commune*, *P. chrysogenum*, *P. fellutanum*, *P. griseofulvum*, *P. roquefortii*, *P. paxilli*, *P. sclerotium*, *P. corylophilum*, *P. expansum*, *P. frequentans*, *P. glabrum*, *P. melinii* Thom, *P. raistricki* e *P. verruculosum*. Algumas espécies são conhecidas pelo seu potencial biotecnológico por produzir diversos metabólitos secundários bioativos (Pallu 2010). *P. citrinum* é antagonico a *Aspergillus niger* Tiegh, inclusive é usado no controle da população desse patógeno (Damasceno 2012). *P. lividum* e *P. implicatum* (Figura 1) são produtores de proteases, enzimas industriais, aplicadas a indústria farmacêutica (Silva e Lins 2008) (Tabela 1).

Tabela 1. Número de linhagem 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	19
<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	17
<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>	35
Total	106

Em vista que esses fungos possuem maior número de linhagens de importância biotecnológica se torna necessário a preservação e conservação das mesmas em condições específicas de coleção. Um total de 75 linhagens estão identificados em nível de espécie, e todas mantidas em pelo menos 3 métodos de conservação e depositadas na Coleção de Culturas. As demais linhagens 35 encontram-se em processo de reativação, visando a identificação e armazenamento das mesmas.

Os dados de reativação e identificação dos isolados indicam a necessidade de preservação e conservação dos mesmos em todos os métodos, com o intuito de se evitar contaminação e perda das cepas de *Penicillium*, principalmente das que possuem grande potencial bioeconômico, e a continuidade da identificação destas, assim como a preservação, considerando que estas outras linhagens podem possuir aplicabilidade biotecnológica. Como também, a identificação de cada espécie de *Penicillium* contribuirá com o conhecimento da diversidade, tendo em vista que este grupo ainda é pouco conhecido (Vergne e Tutunji 2003). Com isso houve um melhor aproveitamento do acervo em estudos de taxonomia e de biotecnologia, além da otimização dos processos de conservação e preservação de *Penicillium* na coleção, principalmente quanto à diversidade genética de metabólitos destes fungos, assim como biodiversidade fúngica no Brasil (Canhos e Vazoller 2004).

CONCLUSÃO

A identificação de *Penicillium* é de fundamental importância, nos permitindo conhecer as espécies com possíveis potenciais bioeconômicos. Dentre os identificados destacam-se *P. citrinum*, *P. lividum* e *P. implicatum* com o maior número de linhagens depositadas na Coleção de Culturas de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural do INPA, que possuem aplicabilidades biotecnológicas. De modo que o presente estudo contribuirá para o conhecimento da diversidade de *Penicillium* na região Amazônica.

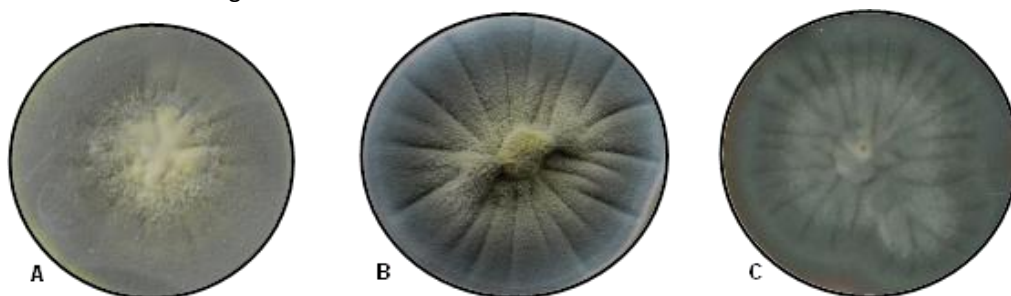


Figura 1. (A) Cultura de *Penicillium citrinum*, (B) *P. lividum* e (C) *P. implicatum*.

REFERÊNCIAS

- Canhos, V.P.; Vazoller, M.P. 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.
- Coelho, N.S.; Jesus, M.A.; Cortez, A.C. 2007. Recuperação do acervo de culturas de fungos lignocelulíticos. *XV jornada de iniciação científica do PIBIC/CNPQ/FAPEAM/INPA. Anais* 359-360.
- Dalmau, L.M. 1929. Remarques surlatechniquemycologique. Parasitologieet Humaine Comparée, *Annales*, 7: 536-545.
- Damasceno, L.C. 2012. Potencial de *Penicillium citrinum* para controle *Aspergillus niger*, agente causal da podridão vermelha do sisal, Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal do Rêconcavo da Bahia. 69 pp.
- Elias, B.C. 2005. Estudo químico e atividades biológicas de extratos obtidos de culturas de *Penicillium verrucosum* Dierck, dissertação de mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. 23pp.
- Frisvard, J.; Samson, R.A. 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne tervercillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Micology*. 49:1-174.
- Pallu, A.P.S. 2010. Potencial biotecnológico de fungos do gênero *Penicillium* e interação com cana de açúcar, tese de Doutorado, Piracicaba. 130pp.
- Pitt, J.I. 1985. A laboratory guide to common *Penicillium* species. Commonwealth 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 *Milchwissenschaft*, 39: 129–134.
- Silva, R.R.; Lins, G.D. 2008. Fungos e Aplicabilidades biotecnológicas, programa de pós- graduação em Biodiversidade Vegetal do IBT, São Paulo. 20pp.
- Silveira, V.D. 1995. *Micologia*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro: Âmbito Cultura, 336pp.
- Terrasan, C.R.F. 2007. Produção e caracterização do complexo Xilanolítico de *Penicilliumjanczewskii*, dissertação de mestrado, programas de Pós-graduação da UNESP, Rio Claro. 83pp.
- Vergne, M.M.; Tutunji, L.V. 2003. Implantação e Manutenção das coleções de culturas de micro-organismos da UniCEUB. *Universitasciência da saúde*, 02: 236-251.