

CAPÍTULO V

FUNGOS

Ida Chapaval Pimentel
Jair Alves Dionísio
Diana Signor

Os fungos são micro-organismos eucarióticos, pertencentes ao domínio Eucarya, podendo ser unicelulares (leveduras) ou multicelulares, micro ou macroscópicos. São os principais decompositores da natureza, desdobrando os produtos orgânicos e reciclando carbono, nitrogênio e outros compostos do solo (TORTORA et al., 2013).

A maioria dos fungos é multicelular formando uma rede de filamentos denominados hifas, as quais podem ser septadas ou asseptadas (cenocíticas). O conjunto de hifas recebe o nome de micélio, um tecido próprio dos fungos responsável por todas as funções vegetativas do organismo. O componente principal da parede celular dos fungos é a quitina, porém outros polissacarídeos como mananas, galactosanas e quitosanas substituem a quitina em algumas paredes celulares fúngicas (DUNLAP et al., 2010)

Quanto à nutrição e fisiologia os fungos não possuem pigmentos fotosintetizantes, crescem melhor em pH ácido, a maioria é aeróbico e quimio-heterotróficos (TORTORA et al., 2013).

A obtenção de alimento efetua-se por absorção, o micélio secreta enzimas extracelulares que digerem compostos orgânicos complexos. Em outras situações, o micélio emite haustórios, que são estruturas que penetram no tecido dos organismos hospedeiros absorvendo o alimento (TORTORA, 2013).

Os fungos se reproduzem de forma sexuada e assexuada. Ocorre o crescimento por meio da disseminação de filamentos de hifas, produção de esporos ou simples divisão celular, como nas leveduras com brotamento (DUNLAP et al., 2010). A sistemática de classificação dos fungos é baseada em aspectos macroscópicos (aspecto das colônias) e microscópicos (presença ou ausência de septos nas hifas e características dos esporos) e, recentemente, utilizando a filogenia molecular.

Estes micro-organismos estão agrupados no Reino Fungi, subdivididos nos Filos Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota (KIRK et al.,

2008). O Filo Chytridiomycota apresenta zoósporos móveis uniflagelados polarmente, pode ser parasito de plantas, algas e larvas de insetos, decompõem celulose, queratina e quitina (ex.: *Alomyces* e *Rhizophydium*). O Filo Zygomycota possui hifas não septadas, a estrutura de reprodução assexuada é o esporângio e o zigósporo é o esporo sexual. A maioria é saprofítica, alguns fitopatogênicos ou parasitas de outros fungos e englobam parte das endomicorrizas arbusculares (ex.: *Mucor*; *Rhizopus* e *Zygorhynchus*). O Filo Ascomycota possui hifas septadas, esporos sexuais denominados ascósporos e formam esporos de resistência: os clamidósporos ou esclerócios. Decompõe substâncias recalcitrantes, como celulose e lignina, formam líquens e micorrizas, sendo alguns fitopatógenos (ex.: *Endothia*, *Claviceps* e *Saccharomyces*). O Filo Basidiomycota apresenta hifas septadas, reprodução assexuada, produzindo conídios ou artrosporos, ou sexuadamente, pela produção de um basídio com seus basidiósporos haplóides. São decompositores de materiais lenhosos, fitoparasitas, sendo representados pela maioria das ectomicorrizas, muitos cogumelos, inclusive os comestíveis (ex.: *Agaricus*, *Porta* e *Boletus*).

A partir da adoção de parâmetros moleculares para estudos filogenéticos, foi criado um grupo artificial denominado de fungos mitospóricos (antigo filo Deuteromycota), para agrupar aquelas espécies que possuem somente a fase de reprodução assexuada. Eles, muitas vezes, possuem também a alternativa do sexo denominada de ciclo parassexual ou parassexualidade. A maioria é saprófita, muitos são parasitas de plantas, animais e outros fungos e muitos deles são endofíticos (ex.: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*) (ARAÚJO et al., 2010).

Os fungos predominam em solos ácidos, onde há menor competição com bactérias e actinobactérias. São encontrados em faixas de pH variando de 2,0 a 9,0. A umidade ideal para o desenvolvimento está entre 60 e 70 % da capacidade de campo do solo. Toleram ampla faixa de temperatura, mas as espécies mesofílicas são predominantes nos solos. A dispersão dos esporos ocorre por diversos agentes como a água, o vento, as sementes, os insetos, outros artrópodos, e o homem (JONES; HARRISON, 2004).

Os fungos contribuem com a maior parcela da biomassa microbiana do solo, de 70 a 80 %, e podem atingir até 5 t ha⁻¹ (BRANDÃO, 1992). Apesar de apresentarem baixa densidade populacional (de 10⁴ a 10⁶ g⁻¹ de solo), possuem hifas de elevado comprimento e diâmetro, o que eleva a biomassa (ALEXANDER, 1980). Os principais gêneros que ocorrem no solo são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Rhizoctonia*. Nakagawa e Andréa (2006) constataram densidade popula-

cional, (UFC g⁻¹) de solo, de fungos 7×10^2 , em solo contaminado com hexacloro benzeno (BHC), no entanto quando o solo recebeu adição de bagaço de cana-de-açúcar e cal essa densidade atingiu $15,35 \times 10^4$.

As principais funções dos fungos no solo são atividade quimioheterotrófica sobre os restos vegetais, formação de relações simbióticas mutualísticas (micorrizas) e parasíticas (doenças) na maioria das plantas e produção de antibióticos. São ainda agentes de controle biológico de fungos fitopatogênicos e nematoides fitoparasitas (ex.: *Arthrobotrys*, *Dactylaria* e *Dactyella*) (GRAMINHA et al., 2001), como também, indicadores de qualidade do solo.

PROTOCOLO III

CONTAGEM DE FUNGOS PELO MÉTODO DE SEMEADURA EM SUPERFÍCIE

1. Material

- a) Solo úmido coletado da camada superficial, conforme o Capítulo II (p. 14);
- b) Vidrarias: Erlenmeyer de 250 mL, tubos de ensaio (16 x 1,5 cm) com rosca, placas de Petri (Ø 90 mm), alça de Drigalsky e esferas de vidro (Ø 2,00 mm);
- c) Equipamentos: agitador mecânico, estufa de esterilização, estufa de incubação, capela de fluxo laminar, autoclave, peagâmetro, esterilizador infravermelho ou bico de Bunsen ou lamparina, agitador de tubos e microscópio estereoscópio (lupa);
- d) Soluções: salina esterilizada (NaCl 0,85 %) e meio de cultura de Martin (Tabela 5);
- e) Outros: funil de plástico (Ø 10,0 cm), micropipeta com ponteiros de 0,1 mL, peneira número 10 (abertura de 2,00 mm), luvas de proteção (nitrílica descartável), parafilm, pera insufladora, gás butano, lixeira para resíduos biológicos; e,
- f) Alternativos: pipetas de 1,0 mL, algodão hidrofóbico e pera insufladora.

Tabela 5. Meio de cultura de Martin (MENZIES, 1965).

Reagente	Quantidade (g L ⁻¹)
K ₂ HPO ₄	1,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5
Peptona	5,0
Dextrose	10,0
Rosa Bengala ¹	0,3
Ágar	15,0
Água destilada q.s.p.	1.000,0 mL

¹Dissolvida em 10 mL de água destilada antes de ser adicionada ao meio.

Obs.: Ajustar o pH para 5,4 com HCl diluído, antes da adição do ágar; Adicionar sulfato de estreptomicina (30 mg L⁻¹ de meio) esterilizado por filtração, dissolvido em 10 mL de álcool etílico a 1 %, antes de verter em placas, com o meio de cultura à temperatura de 45 a 50 °C.

2. Metodologia

- a) Pesar 10,00 g de solo úmido, previamente tamizado, em peneira número 10, em duplicata, sendo uma parte destinada à contagem de fungos e a outra para a determinação da massa de solo seco (item 3);
- b) Transferir o solo, com um funil, para um Erlenmeyer de 250 mL contendo cinco esferas de vidro e 90 mL de solução salina esterilizada (Anexo 1) (diluição 1:10);
- c) Dispersar as unidades formadoras de colônias (UFC) em agitador mecânico (usar \cong 3,4 G) durante 15 minutos e aguardar a precipitação das partículas maiores;
- d) Com uma micropipeta, contendo ponteira esterilizada, transferir 1,0 mL da suspensão para um tubo de ensaio contendo 9,0 mL de solução salina esterilizada e agitar, no agitador de tubos ou manualmente, cinco vezes (diluição 1:100);
- e) Transferir com uma micropipeta, contendo outra ponteira esterilizada, 1,0 mL da solução anterior para outro tubo de ensaio contendo 9,0 mL de solução salina esterilizada e agitar manualmente cinco vezes (diluição 1:1.000);
- f) Repetir o item “e” novamente para atingir a diluição 1:10.000;
- g) Após cada transferência, descartar a ponteira utilizada em um béquer contendo solução de detergente (Anexo 1);
- h) Pipetar, com ponteiras diferentes, 0,1 mL das etapas “d”, “e” e “f” e transferir para placas de Petri contendo o meio de cultura de Martin, específico para fungos (Tabela 5);
- i) Espalhar o inóculo na superfície do meio específico com o auxílio da alça de Drigalsky, tomando o cuidado de esterilizá-la por flambagem, inserindo-a em álcool etílico (95 ou 96° GL) e passando-a imediatamente na chama da lamparina. Repetir o processo, após o uso em cada placa de Petri;
- j) Identificar as placas de Petri (tratamento, repetição, meio de cultivo, data e responsável), selar com parafilm e incubá-las em estufa a 25 °C, invertidas, por aproximadamente uma semana;
- k) Selecionar as placas de Petri com as diluições que contenham entre 20 e 200 (UFC) isoladas; e,
- l) Contar as UFC com contador de colônias ou a olho nu.

3. Cálculo

Realizar o cálculo conforme descrito no Capítulo III (p. 22).

4. Resultados

Preencher os dados conforme Tabela 4 (p. 22).