



AVALIAÇÃO DA TAXA DE CRESCIMENTO E SECREÇÃO DE PIGMENTOS POR DISTINTOS FUNGOS FILAMENTOSOS VISANDO APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA

Igor F. S. Lima¹; Isabela de M. Silva²; Vivian M. Benassi³;

*1 – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, campus JK, Instituto de Ciência e Tecnologia,
e-mail: Igor.fernandes@ufvjm.edu.br

Palavras-chave: Bioprospecção, Meio de Cultura, Otimização de Cultivo.

Introdução

Os fungos filamentosos representam um vasto e diversificado reino de microrganismos, reconhecidos por seu imenso potencial biotecnológico, sendo que a biodiversidade brasileira abriga uma riqueza de espécies ainda pouco estudada (Benassi; Almeida, 2018). Devido à sua grande diversidade metabólica, eles são fontes naturais de uma variedade de compostos bioativos e enzimas com aplicações em múltiplos setores industriais, como o de alimentos, farmacêutico, têxtil e de biocombustíveis (Nogueira et al., 2021; Rocha et al., 2021).

Espécies como *Pleurotus ostreatus* são valorizadas por seu perfil nutricional e compostos antioxidantes, enquanto outras, como *Coprinus comatus*, apresentam polissacarídeos com potencial antitumoral (Valério et al., 2024; Jang et al., 2009).

A exploração desse potencial começa pela bioprospecção, a busca sistemática por novas linhagens em diferentes habitats para a descoberta de cepas com alto desempenho (Dallastra, 2022), seguida do isolamento e cultivo desses microrganismos em condições laboratoriais para obtenção de biomassa e metabólitos (Oliveira, 2023; Benassi; Almeida, 2018).

O sucesso do cultivo fúngico está diretamente ligado à formulação do meio de cultura, que deve fornecer as fontes de carbono, nitrogênio e minerais essenciais para o desenvolvimento micelial (Jang et al., 2009). Meios de cultura comerciais são amplamente utilizados por sua praticidade e composição padronizada. No entanto, o custo associado a esses meios pode sobrecarregar a pesquisa, tornando-se um fator limitante, especialmente em estudos de triagem em larga escala ou em laboratórios com recursos financeiros restritos. Essa limitação econômica impulsiona a busca contínua por novas cepas de microrganismos e estratégias para otimizar os processos de produção (Rocha et al., 2021).

Nesse contexto, a utilização de substratos alternativos, de baixo custo e facilmente disponíveis, como resíduos agroindustriais e farinhas de cereais, tem ganhado destaque



(Nogueira et al., 2021). Estudos demonstraram que subprodutos, como os do processamento do palmito pupunha são ricos em nutrientes como celulose, hemicelulose e açúcares solúveis, podendo ser utilizados com sucesso para o cultivo de cogumelos (Valério et al., 2024).

Essa abordagem não apenas representa uma alternativa econômica, mas também sustentável, pois agrega valor a materiais que seriam descartados e contribui para a solução de problemas de poluição ambiental (Valério et al., 2024; Nogueira et al., 2021). Formulações à base de aveia, malte e outros grãos podem, similarmente, oferecer um perfil nutricional complexo e adequado para sustentar o crescimento fúngico.

A avaliação e validação desses meios alternativos são essenciais, pois diferentes isolados fúngicos exibem preferências nutricionais distintas. A otimização do substrato é crucial para maximizar o rendimento da biomassa e, conseqüentemente, dos metabólitos de interesse (Nogueira et al., 2021). A escolha correta da fonte de carbono e nitrogênio, bem como o ajuste fino do pH e da temperatura podem influenciar drasticamente a velocidade de crescimento fúngico, sendo uma etapa fundamental para o sucesso de qualquer bioprocessamento (Jang et al., 2009). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de isolados fúngicos nativos em diferentes meios de cultura.

Material e Métodos

Os fungos filamentosos analisados neste trabalho foram identificados pelos códigos: W01, β SI37, EA131 (Nogueira et al., 2021), AB1, AI132 e AG853 (Benassi; Almeida, 2018) e são mantidos no Laboratório de Micologia, Enzimologia e Desenvolvimento de Produtos (LMEDP), da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

Todas as linhagens, isoladas de amostras do bioma Cerrado, possuem cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o código A64AD93.

Os fungos filamentosos são preservados pelo método de sílica gel. Nesta técnica, uma suspensão de esporos em leite em pó integral é adsorvida em sílica gel estéril, promovendo a desidratação controlada e mantendo a viabilidade celular por longos períodos sob refrigeração à 4 °C. Para a reativação, as sílicas foram transferidas assepticamente para placas de Petri contendo meio de cultura sólido composto por farinha de aveia e ágar bacteriológico (Emerson, 1941). Estas placas foram incubadas em incubadora tipo B.O.D., à 30 °C, por 4 dias, até que as colônias atingissem crescimento, servindo como fonte de inóculo.



O ensaio avaliou o crescimento dos isolados em oito meios de cultura sólidos, sendo esses ágar ureia DF Biolog[®], Agar Contagem de Placas Padrão ION[®], Sabouraud Dextrose Agar Kasvi[®], Agar Mueller-Hinton Micromed[®], Agar Fenilalanina Micromed[®], Agar Malte Neogen[®], Batata Dextrose Agar Himedia[®], meio contendo farinha de aveia e ágar bacteriológico (Emerson, 1941).

Todos os meios foram preparados dissolvendo os componentes em água destilada e posterior esterilização em autoclave, à 120 °C, 1 atm, 15 min. Em câmara de fluxo laminar, volumes de 25 mL de cada meio foram vertidos em placas de Petri (90 mm) estéreis. A inoculação foi feita no centro de cada placa com auxílio de alça de inoculação, retirado da cultura jovem. O experimento foi conduzido em triplicata. As placas foram incubadas em incubadora tipo B.O.D., à 30 °C (± 2 °C), por 72 horas. O crescimento foi aferido a cada 24 horas, medindo-se o diâmetro da colônia com um paquímetro. Os dados foram usados para calcular o raio micelial e a taxa de crescimento (mm/h).

Resultados e Discussão

A avaliação do crescimento micelial dos seis isolados fúngicos nos oito meios de cultura revelou diferenças significativas tanto na velocidade de crescimento do microrganismo quanto nas características macromorfológicas, indicando uma alta especificidade na interação entre o fungo filamentoso e o meio de cultivo.

A análise dos resultados revelou que o isolado AI132 apresentou o maior desenvolvimento, destacando-se em quase todos os meios, com uma taxa de crescimento de 1,139 mm/h no meio de cultura Sabouraud (Tabela 1). Este meio, rico em glicose, é classicamente utilizado para o cultivo de fungos por fornecer uma fonte de carbono de fácil assimilação, o que favorece um metabolismo rápido e, consequentemente, uma alta taxa de expansão da biomassa (JANG et al., 2009).

O excelente desempenho do AI132 também nos meios BDA (1,042 mm/h) e Malte (1,014 mm/h), ambos ricos em carboidratos, reforça a hipótese de que este isolado possui um aparato enzimático altamente eficiente para a metabolização de carboidratos simples e complexos.

Em contraste, o isolado Bsi371 exibiu o perfil de crescimento mais lento em todos os meios analisados, com uma taxa máxima de 0,222 mm/h em meio sólido Malte e ausência de crescimento em Sabouraud, Mueller-Hinton e Ureia (Tabela 1). Este comportamento pode indicar que o β si371 possui exigências nutricionais muito específicas que não foram plenamente

atendidas pelas formulações testadas, ou simplesmente que possui um metabolismo intrinsecamente mais lento, o que pode ser uma característica da espécie.

Tabela 1. Taxa de Crescimento Micelial (mm/h) dos isolados fúngicos nos diferentes meios de cultura após 72 horas de incubação, à 30 °C.

Fungos	Taxa de crescimento (mm/h)							
	BDA	Contagem de Placas	Fenilalanina	Ureia	Sabouraud	Malte	Mueller-Hinton	Aveia
AB1	0,236	0,458	0,333	0	0,458	0,347	0,375	0,389
AG853	0,653	0,500	0,222	0	0,431	0,736	0,403	0,500
AI132	1,042	0,875	0,875	0	1,139	1,014	0,986	0,861
EA131	0,458	0,500	0,500	0,208	0,528	0,542	0,528	0,500
W01	0,542	0,653	0	0	0,583	0,681	0,278	0,847
βsi371	0,139	0,194	0,139	0	0	0,222	0	0,153

Fonte: Autorial própria.

Um dos focos deste trabalho foi a avaliação de substratos alternativos. Nesse contexto, o meio composto por farinha de aveia (Emerson, 1941) mostrou-se uma alternativa promissora e de baixo custo. O isolado W01 atingiu sua maior taxa de crescimento (0,847 mm/h) neste meio, superando seu desempenho em meios comerciais tradicionais como BDA e Sabouraud (Tabela 1).

Este resultado é particularmente relevante, pois corrobora com a literatura que aponta o sucesso no uso de subprodutos agroindustriais e cereais para a produção de biomassa fúngica, representando uma via econômica e sustentável para bioprocessos (Valério et al., 2024).

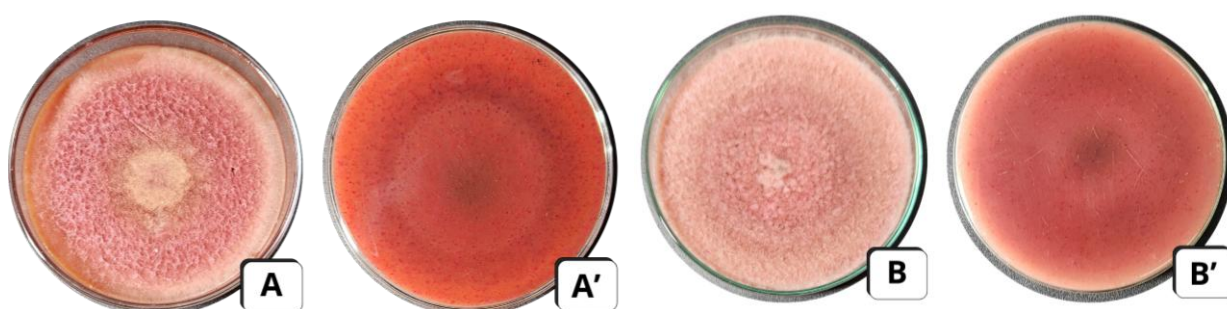
Além da análise do crescimento dos microrganismos em distintos meios de cultura sólido, esse estudo avaliou a capacidade de secreção de pigmentos pelos fungos filamentosos, um fator visualmente avaliado durante o cultivo.

A relação entre o crescimento rápido e a produção de metabólitos secundários, como os pigmentos, não é direta, e os resultados obtidos ilustram essa complexidade. Nesse contexto, os isolados W01 e AG853 destacaram pela secreção de pigmentos vermelho em meio de cultura sólido composto por farinha de aveia (Emerson, 1941) (Figura 1). A produção de pigmentos em um substrato de baixo custo como a aveia torna esses isolados alvos de grande interesse para estudos futuros de otimização, visando uma produção economicamente viável desses compostos bioativos.

Vale ressaltar que, o fungo filamentoso com código βsi371, apesar de seu crescimento lento e restrito no meio BDA, secretou um pigmento amarelo que se difundiu amplamente pelo

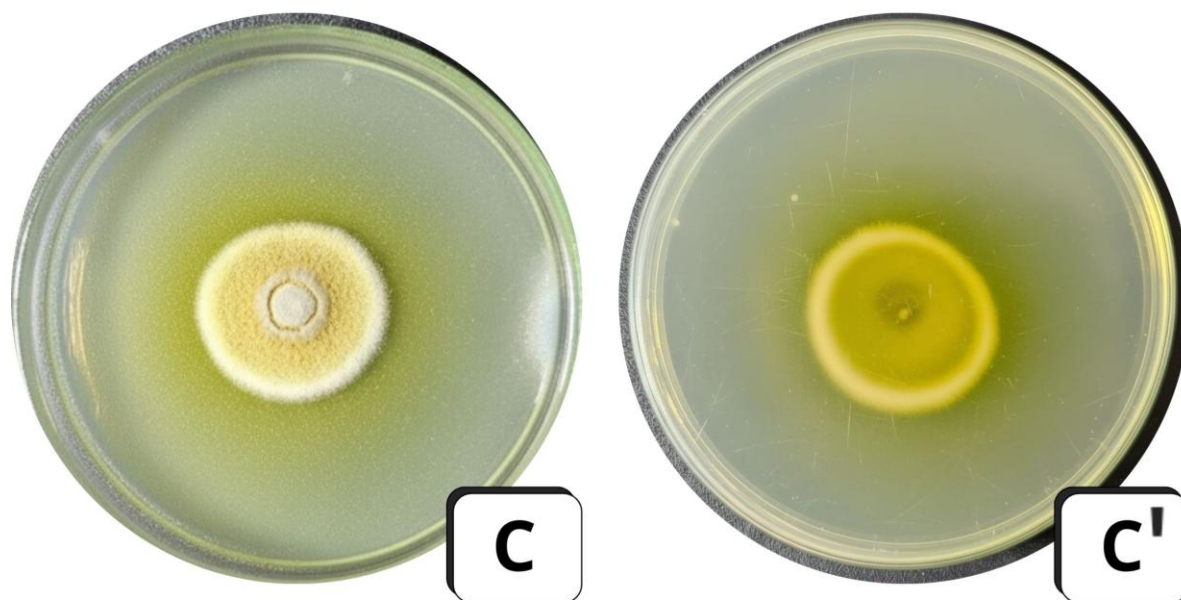
meio de cultura (Figura 2). Este fenômeno confirmou a produção de um metabólito extracelular solúvel, uma característica extremamente valiosa do ponto de vista industrial, pois pode simplificar enormemente as etapas de extração e purificação do composto em bioprocessos.

Figura 1. Aspecto visual das colônias de W01 e AG853 em meio de cultivo sólido contendo farinha de aveia. (A, A') foto da frente e do verso do fungo W01 e (B, B') foto da frente e do verso do fungo AG853.



Fonte: Autoria própria.

Figura 2. Produção de pigmento amarelo extracelular pelo isolado β si371 em meio de cultura sólido Batata Dextrose Agar. (C e C') frente e verso do meio.



Fonte: Autoria própria.



Por outro lado, todos os outros fungos filamentosos analisados não apresentaram secreção de pigmentos nos meios avaliados. Isso não descarta seu potencial, mas sugere que a biossíntese desses compostos pode exigir condições de cultivo específicas, como estresse nutricional ou a presença de indutores, indicando a necessidade de mais testes para uma avaliação conclusiva.

Conclusões

Dessa forma, este estudo conclui que a composição do meio de cultura é um fator determinante e altamente específico para o desenvolvimento de isolados fúngicos nativos, impactando diretamente na taxa de produção de biomassa e secreção de pigmentos.

O isolado AI132 destacou-se com a maior taxa de crescimento dentre os microrganismos analisados, consolidando-se como o candidato ideal para aplicações que visam a rápida geração de biomassa. De igual importância, o trabalho validou o meio alternativo à base de farinha de aveia como uma opção de baixo custo e alta eficácia, que proporcionou o melhor desempenho para o isolado W01, superando meios comerciais e reforçando o potencial econômico de substratos não convencionais em bioprocessos.

Adicionalmente, observou-se que a capacidade de produção de pigmentos é uma característica independente da velocidade de crescimento. Conclui-se, portanto, que a seleção da linhagem fúngica e a formulação do meio de cultura devem ser estritamente alinhadas ao produto final desejado, seja ele a maximização da biomassa micelial ou a obtenção de outros metabólitos de interesse.

REFERÊNCIAS

BENASSI, V. M.; ALMEIDA, A. Prospecção de fungos filamentosos termotolerantes e termofílicos de distintos materiais coletados no estado de Minas Gerais e análise de potenciais produtores de amilases. *Revista Unimontes Científica*, 20, 150-169, 2018.

EMERSON, R. An experimental study of the life cycles and taxonomy of Allomyces. *Lloydia*, 4, 77-144, 1941.

JANG, M. J.; LEE, Y. H.; LIU, J. J.; JU, Y. C. Optimal Conditions for the Mycelial Growth of *Coprinus comatus* Strains. *Mycobiology*, 37, 103-108, 2009.

MICHELIN, M. Potencial dos fungos *Aspergillus terricola* e *Aspergillus ochraceus* no desenvolvimento de bioprocessos e propriedades das enzimas xilanolíticas. Tese (Doutorado em Ciências Biologia Comparada), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.



NOGUEIRA, E. A.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; AMORIM, I. C. S.; OLIVEIRA, T. B.; NELSON, D. L.; BENASSI, V. M. Otimização das condições de cultivo do fungo filamentoso *Fusarium* sp. EA 1.3.7 para a produção de xilanases. *Biotemas*, 34, 1-16, 2021.

OLIVEIRA, T. M. F. S. Otimização do cultivo do *Aspergillus brasiliensis* e caracterização bioquímica de celulasas visando aplicação na hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar para liberação de açúcares passíveis de fermentação. Dissertação (Mestrado em Biocombustíveis), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2023.

ROCHA, A. C. P.; COSTA, T. P.; SCHMIELE, M.; SANTOS, S. L. B.; ROA, J. P. B.; NELSON, D. L.; BENASSI, V. M. Isolation of potential lipolytic filamentous fungi from Macauba samples for applications in biotechnological processes. *Brazilian Journal of Development*, 7, 49426-49442, 2021.

VALÉRIO, T. P.; SZEREMETA, L. A.; PACHECO, J. T. M. R.; BARROS, B. C. B.; SYDNEY, E. B.; DANESI, E. D. G. Production of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Peach Palm By-Products: Effects on Composition and Maximization of Antioxidants Extraction. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 67, e24230467, 2024.

DALLASTRA, E. D. G. *Caracterização morfológica e bioquímica de fungos filamentosos isolados de ambientes naturais*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2022.

SILVA, A. C.; OLIVEIRA, M. J.; COSTA, R. S. Triagem de fungos filamentosos com potencial enzimático em resíduos orgânicos. *Revista Brasileira de Biotecnologia*, v. 25, n. 3, p. 45–52, 2021.

SOUZA, L. M.; GOMES, F. R.; PEREIRA, T. A. Avaliação fenotípica de microrganismos para aplicações industriais. *Cadernos de Pesquisa em Ciência e Tecnologia*, v. 18, n. 2, p. 88–96, 2020.