



LEVANTAMENTO E DISTRIBUIÇÃO MÍNIMA DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM CAVERNAS DA CAATINGA BRASILEIRA

E.L.S. Taylor

R.L. Ferreira²; D. Silva³; G.B. Canestri³; L.R. Batista³

1 - Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Ecologia, Campus Universitário - Cx. Postal 37, 37200 - 000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. Telefone: 55 35 3829 - 1366-taylor.els@gmail.com </br >

2 - Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Zoologia, Campus Universitário - Cx. Postal 37, 37200 - 000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. </br >

3 - Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências dos Alimentos, Setor de Microbiologia dos Alimentos, Campus Universitário - Cx. Postal 37, 37200 - 000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. </br >

INTRODUÇÃO

As cavernas são ambientes singulares caracterizados pela alta estabilidade ambiental. Em cavernas extensas, a temperatura e a umidade quase não variam em locais mais distantes da entrada (Culver, 1982; Poulson & White, 1969; Howarth, 1983). A ausência permanente de luz em regiões mais profundas exclui a possibilidade de desenvolvimento de organismos fotossintetizantes. Desta forma, a base da produção primária em algumas cavernas se origina principalmente de bactérias quimioautotróficas e de outros microrganismos (Sarbu et. al, 1996). Grande parte ou a quase totalidade da produção nos ecossistemas cavernícolas é de origem secundária, baseada em cadeia de detritívoros atuando sobre recursos provenientes do meio externo (Ferreira & Martins, 1999; Culver, 1982).

Estima-se que possam existir mais de 100.000 cavernas em todo País, das quais pouco mais de 3.000 encontram-se cadastradas (Auler et al., 2001). Destas, apenas uma parte (cerca de 500 cavernas) já foi inventariada biologicamente. Além disso, estudos biológicos ou ecológicos mais detalhados foram realizados em uma quantidade bem menor de cavernas. Trabalhos descrevendo as comunidades microbianas dessas cavernas são praticamente inexistentes no Brasil e os já existentes basicamente descrevem o isolamento de fungos em algumas cavernas do País (Pedro & Bonomi, 2007).

Cada vez mais cavernas brasileiras vem sendo exploradas pela expansão crescente do turismo e pelo desenvolvimento de atividades mineradoras. Como o estudo microbiológico é ainda muito limitado no país, muita informação pode estar sendo perdida nestes processos. A investigação de tais microrganismos pode fornecer novos detalhes sobre a composição e o funcionamento do ecossistema cavernícola. Os microrganismos podem estar associados a diversos processos no ambiente onde estão inseridos. Dentre estes processos podem ser destacados o processo de espeleogênese

(Barton, 2006), o controle populacional através de fungos patogênicos para determinados organismos e base de cadeia alimentar (Kinkle et al., 1996), além de papel de grande importância desempenhado por estes microrganismos em diversos processos biogeoquímicos, como por exemplo, a ciclagem de nutrientes (Ferreira et al., 2000). O conhecimento sobre a dinâmica das cavernas se torna uma ferramenta de grande importância para a preservação das mesmas. O isolamento, caracterização de biodiversidade e conservação da microbiota cavernícola pode levar a identificação de novas espécies, obtenção de linhagens de interesse biotecnológico.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento e registrar de distribuição mínima de espécies de fungos filamentosos presentes em grutas inseridas no bioma Caatinga, assim como aumentar a distribuição de fungos filamentosos em cavernas do mundo.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em dezoito grutas carbonáticas localizadas no bioma Caatinga e distribuídas em cinco estados (Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Pernambuco e Rio Grande do Norte): (1)Gruta dos Morcegos (Delmiro Gouveia, AL), (2)Grutão Beleza (São Desidério, BA), (3) Gruta do Honorato (Iuiu, BA), (4)Gruta do Mangabeira (Ituaçu, BA), (5)Lapa do Bode (Itaeté, BA), (6)Toca da Barriguda (Campo Formoso, BA), (7)Toca do Morrinho (Campo Formoso, BA), (8)Gruta do Brejinho (Araripe, CE), (9)Gruta Rainha (Felipe Guerra, RN), (10)Furna Feia (Baraúnas, RN), (11)Labirinto dos Angicos (Governador Dix - sept Rosado, RN), (12) Gruta do Guano (Pedra

Grande, RN), (13)Gruta da Igreja da Nossa senhora do Perpétuo Socorro (Montalvânia, MG), (14)Gruta do Zé Prefeito (Montalvânia, MG), (15)Gruta do Gato (Buíque, PE), (16)Gruta do Meu Rei (Buíque, PE), (17) Casa de Pedra (Jucurutu, RN) e (18)Gruta da Fazenda Jurema (Vargem Grande, BA).

Os fungos filamentosos foram coletados através do processo de sedimentação em placas, com exposição de placas de petri de 90 mm de diâmetro contendo aproximadamente 20 mL de meios de cultura específicos para fungos filamentosos. Foram determinados 5 pontos de coleta em cada caverna amostrada. Foram utilizadas duas placas; uma placa contendo o meio DRBC (Dicloran Rose Bengal Chlorophenical) e outra contendo o meio DG18 (Dichloran Glicerol) em cada ponto. Estas foram expostas por 20 minutos, sendo depois lacradas e incubadas por sete dias à temperatura ambiente. Para a identificação dos fungos filamentosos foram realizados estudos de caracterização morfológica (macroscópicos e microscópicos). Para tal, foram utilizados meios de cultura específicos para diferenciar as espécies presentes no ambiente carvernícola conforme descritos por Pitt e Hocking (1997) e foram feitas lâminas para a caracterização microscópica dos isolados. Os meios de cultura utilizados foram Czapek, Extrato de Malte e Agar aveia conforme o gênero identificado.

Para a identificação dos fungos filamentosos foram realizados estudos de caracterização morfológica (macroscópicos e microscópicos). Para tal, foram utilizados meios de cultura específicos para diferenciar as espécies presentes no ambiente carvernícola conforme descritos por Pitt e Hocking (1997) e foram feitas lâminas para a caracterização microscópica dos isolados. Os meios de cultura utilizados foram Czapek, Extrato de Malte e Agar aveia conforme o gênero identificado.

RESULTADOS

Foram isoladas e identificadas 44 espécies de fungos filamentosos distribuídas entre 8 gêneros diferentes: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eupenicillium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Paecilomyces* e *Emericella*. O gênero mais representativo foi o *Aspergillus*, com um total de 24 espécies identificadas e distribuição em todos os estados amostrados. O gênero *Penicillium* foi o segundo mais representativo em número de espécies, com um total de 15 espécies também distribuídas em todos os estados amostrados. Já o gênero *Cladosporium* está representado por apenas uma espécie (*Cladosporium cladosporioides*) distribuída nos estados da Bahia, Ceará, Minas Gerais e Pernambuco.

A espécie de *Aspergillus* mais bem distribuída foi *A. versicolor* (grutas 1, 3, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 17). As demais espécies também apresentaram desde de uma distribuição razoável até registro em apenas uma caverna. *A. aculeatus* (grutas 1 e 8), *A. auricomus* (grutas 7 e 13), *A. caespitosus*: (grutas 18, 11 e 13), *A. candidus* (grutas 7, 6, 18, 13 e 5), *A. costaricensis* (gruta 13), *A. flavus* (grutas 7, 18, 13, 1, 16, 14.), *A. japonicus* (grutas 1, 5, 8, 10 e 14), *A. lanosus* (gruta 8), *A. melleus* (gruta 18), *A. niger* (grutas 5, 9 e 12), *A. niveus* (gruta 6), *A. ochraceus* (grutas 7, 18, 13, 8), *A. ostianus* (grutas 7, 18, 1, 9, 12, 15, 3 e 13), *A.*

oryzae: (gruta 6, 18, 13, 10, 1 16, 14, 8), *A. sclerotiorum* (grutas 18, 13, 1, 16, 8), *A. sidowii* (grutas 6, 13, 16, 12, 15, 11, 8), *A. sojae*: (gruta 6), *A. sulphureus* (grutas 8 e 13), *A. terreus*: (gruta 14), *A. unguis*: (grutas 11 e 13), *A. ustus*: (grutas 7, 13, 5, 2 e 14), *A. wentii* (grutas 2, 8 e 18). Dentro deste gênero também foi encontrado um isolado ainda não identificado (*Aspergillus* sp.), podendo ser uma espécie nova ou rara. Essa espécie foi encontrada nas grutas 8, 12 e 18.

Das espécies de *Penicillium* a espécie *P. citrinum* foi a mais representativa, estando presente em 7 das 18 cavernas amostradas (grutas 3, 4, 7, 8, 12, 13, 18). As espécies *P. purpurogenum*(grutas 3, 12, 18) e *P. sclerotiorum* (grutas 9, 13 e 15) foram encontradas em apenas 3 cavernas cada. As outras espécies de *Penicillium* foram encontradas em apenas 1 ou 2 cavernas amostradas: *P. chrysogenum* (grutas 1 e 3), *P. glabrum* (grutas 2 e 13), *P. corylophilum* (gruta 18), *P. decubens* (gruta 13), *P. expansum* (gruta 5), *P. fel-lutanum* (gruta 18), *P. funiculosum* (gruta 12), *P. islandum* (gruta 13), *P. lividum* (gruta 14) e *P. oxalicum* (gruta 8), *P. solitum* (grutas 4 e 7), *P. variabile* (grutas 7 e 18).

Os gêneros *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium* e *Paecilomyces* foram representados por apenas uma espécie cada. *Cladosporium cladosporioides* (grutas 7, 8, 13 e 15), *Emericella rugulosa* na gruta 7, *Eurotium* sp (gruta 18), *Fusarium* sp (grutas 9 e 11) e *Paecilomyces lilacinus* (gruta 14) respectivamente.

Através dos dados obtidos é possível observar que os grupos mais representativos de fungos filamentosos presentes em cavernas da caatinga brasileira são os *Aspergillus* e *Penicillium*. Este resultado pode, no entanto, estar relacionado ao método de coleta, aos meios de cultura utilizados e ao fato destes fungos serem considerados organismos de crescimento rápido, podendo muitas vezes estar inibindo o crescimento de outros grupos.

Das espécies encontradas podem ser destacadas as espécies *Emericella rugulosa* que já foi registrada como sendo um importante agente envolvido na disponibilização de fósforo no solo (Yadav & Tarafdar, 2007) no ambiente externo. Este seria um exemplo de espécies a serem mais bem estudadas em ambientes cavernícolas, uma vez que a maioria das cavernas pode ser considerada como ambientes caracteristicamente oligotróficos. É importante que se compreenda como ocorre essa disponibilização de recursos para a fauna e até mesmo a própria microbiota presentes nas cavernas.

Outra espécie encontrada neste estudo que deveria ser destacada é a espécie *Aspergillus flavus*, que já foi relatada como sendo entomopatogênica. *Paecilomyces lilacinus* já foi relatado como sendo patogênico para o taxa Nematoda, sendo inclusive utilizado com agente de controle biológico (Santiago *et al.*, 2006). O fato de esse fungo ter sido encontrado em caverna mostra mais uma vez a necessidade de se conhecer melhor a microbiota e distribuição dos microrganismos em ambientes cavernícolas, uma vez que já foram relatados registros de Nematoda em algumas cavernas, e estes fungos podem potencialmente estar participando de processo de controles populacionais de alguns organismos, exercendo, desta forma, certa pressão seletiva nestes.

As espécies *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus sclerotiorum* e *Aspergillus flavus* também merecem atenção especial, uma

vez que são notoriamente produtores de toxinas (aflatoxinas e ocratoxinas) com relevante toxigenicidade em humanos e animais.

Estes registros são pioneiros (ao nível de espécies de fungos filamentosos), para as cavernas na caatinga brasileira. Pouco se conhece sobre a composição da fauna brasileira, e menos ainda sobre a microbiota. As espécies de melhor distribuição nas cavernas amostradas foram dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

As espécies *A. japonicus*, *A. versicolor*, *A. sidowii*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. wentii* e *P. fellutanum* já foram registrados em cavernas da Índia (Koilaraj *et al.*, 1999). As espécies *A. Níger*, e *A. wentii* já foram relatados em cavernas na Índia e em Taiwan (Koilaraj *et al.*, 1999; Hsu, 2001). *A. flavus* e *A. Níger* já foram registrado em cavernas da Índia e de Porto Rico (Koilaraj *et al.*, 1999; Nieves - Rivera, 2003). *C. cladosporioides* também já foi relatado em cavernas de Porto Rico (Nieves - Rivera, 2003). As espécies *P. variabile* e *P. chrysogenum* já foram coletadas em grutas de Porto Rico (Nieves - Rivera, 2003). O registro destas espécies no Brasil aumenta a distribuição destas mesmas espécies em cavernas no mundo.

CONCLUSÃO

Através deste estudo foi possível aumentar a distribuição e ocorrência de alguns fungos filamentosos em cavernas no mundo, além de se observar certa variedade de microrganismos presentes nas cavernas da caatinga. O fato de este ser o primeiro registro destas espécies em cavernas brasileiras, mostra a grande necessidade de serem feitos mais levantamentos relacionados a microbiota cavernícola. A existência de espécies entomopatogênicas, produtoras de toxinas e com participação conhecida em disponibilização de fósforo em solos realça ainda mais a importância de se conhecer mais a fundo a microbiologia cavernícola e participação destes microrganismos no funcionamento e manutenção do ecossistema cavernícola. É necessário que se façam mais estudos principalmente relacionando estudos microbiológicos e de fauna nas cavernas brasileiras para que se possa compreender melhor este ambiente.

REFERÊNCIAS

Auler, A. S.; Rubbioli, E.; Brandi, R., 2001. As grandes cavernas do Brasil. Grupo Bambuí de Pesquisas Espelológicas. 277pp. </br >

Barton, H.A., 2006, Introduction to cave microbiology: a review for the non - specialist. Journal of Cave and Karst Studies, v. 68, no. 2, p. 43-54. </br >

Culver, D. C., 1982. Cave Life. Evolution and Ecology. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts and London, England. 189 pp. </br >

Ferreira R. L. & Martins R. P., 1999. Trophic structure and natural history of bat guano invertebrate communities, with special reference to Brazilian caves. Trop. Zool. 12, 231-52. </br >

Ferreira R.L. et al., 2000. Riqueza e abundância de fungos associados a guano de morcegos na gruta da Lavoura.. O Carste, v. 12, n. 1, p. 46 - 51, 2000. </br >

Howarth, 1983. Ecology of cave arthropods. Annual Review of Entomology. 28:365 - 389. </br >

Hsu, M.J. and Agoramoorthy, G., 2001. Occurrence and diversity of thermophilous soil microfungi in forest and cave ecosystems of Taiwan. Fungal Diversity. v.7, p.27 - 33. </br >

Klich M.A., 2002 Identification of common Aspergillus species. Utrecht, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures. 116 p. </br >

Koilaraj, A.J.; Marimuthu, G.; Natarajan, K.; Saravanan, S.; Maran, P. and Hsu, M.J., 1999.

Fungal diversity inside caves of Southern India. Current Science 77: 1081 - 1084. </br >

Nieves - Rivera, A.M., 2003. Mycological survey of Rio Camuy Caves Park, Puerto Rico. Journal of Cave and Karst Studies, v. 65, p. 23-28. </br >

Pedro, E.G. & Bononi V.L.R., 2007. Cave Fungi of the Karst Region of the State Touristic Park of the Upper Ribeira Valley (PETAR) in the State of São Paulo in Brazil. Focus, 65 - 78. </br >

Pitt, J.; Hocking, A. D., Fungi and Food Spoilage. 2 ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1997. 593p. </br >

Poulson, T.L.; White, W.B., 1969. The cave environment. Science, v.165, p.971 - 981. </br >

Santiago, C.D. et al., 2006. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. Cien. Rur. V.36, n.4, p. 1055 - 1064. </br >

Sarbu, S. M.; Kane, T. C.; Kinkle, B. K., 1996. A chemoautotrophically based cave ecosystem. Science. 272: 1953 - 1955. </br >

Yadav, B.K. & Tarafdar, J.C., 2007. Ability of *Emerella rugulosa* to mobilize unavailable P compounds during Pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] crop under arid condition. Indian Journal of Microbiology., v. 47, p.57-63. </br >