

# AVALIAÇÃO DA BIODIVERSIDADE FÚNGICA EM MAMÃO ATRAVÉS DO MICROCULTIVO\*

**Esperidião ES**

**Iogi AA**

**Saenz EC**

**Borda CC**

Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas - FMU. Av. Santo Amaro, 1239 - Vila Nova Conceição, São Paulo, SP, Brasil. CEP: 04505-002  
E-mail: cestyborda@gmail.com

## RESUMO

O mamão possui propriedades intrínsecas que propiciam o crescimento microbiano e produção de micotoxinas. O intuito do trabalho foi avaliar a biodiversidade fúngica através do microcultivo e relevância para saúde. Frutos de mamão com as mesmas condições maturativas, foram divididas e expostas durante seis dias em três locais diferentes, avaliou-se temperatura, umidade, área de crescimento, pH e identificação microscópica. No local I houve 25% de crescimento da área do mamão, no local II 40% e no local III 30%. Os gêneros obtidos foram *Penicillium* spp., *Rhodotorula* spp, *Clamidosporium* spp., *Fusarium* spp. e *Rhizospus* spp.. Observou-se uma relação direta entre o crescimento fúngico e aumento de temperatura e umidade; e o pH e gênero do micro-organismo. O microcultivo permitiu melhor definição das estruturas de reprodução. A temperatura e umidade pode influenciar na velocidade e porcentagem de crescimento, e a técnica de microcultivo mostrou-se mais eficaz para identificação de estruturas fungicas.

**Palavras-chave:** Carica papaya; Frutas; Fungos; Microbiologia Ambiental; Temperatura.

---

\* Apresentado e premiado na XVI Jornada da Biomedicina - 2016.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil encontra-se em segundo lugar na produção de mamão papaya, produzindo cerca de 1.517.696 toneladas por ano. As propriedades como qualidade da fruta, sabor, valor comercial, facilidade de consumo entre outros fatores permite seu alto consumo mundial. Segundo Souza et al. o mamão é comprado ao menos uma vez por semana, por ser uma fruta que possui baixa durabilidade, por apresentar predisposição para o crescimento microbiano, principalmente por fungos devido aos fatores intrínsecos (água e pH) e extrínsecos (umidade relativa do ambiente e temperatura).<sup>1</sup>

Os fungos são micro-organismos decompositores de alimentos que se disseminam com grande facilidade pelo ar devido aos seus esporos. Em uma mesma região, são encontrados diversos microclimas, devido a poluição e vegetação do ambiente em torno de cada local o que pode influenciar diferencia no crescimento fungico.<sup>2</sup>

O estudo destes fungos torna-se importante devido à produção de micotoxinas, onde ao menos quatorze delas tem potencial carcinogênico. Com o intuito de avaliar o crescimento e identificação de micro-organismos em diferentes regiões através da comparação de técnicas e sua relevância para a saúde pública em consequência das micotoxinas produzidas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Crescimento

Frutos de mamão (*Carica papaya*) obtidos do mesmo lugar e com as mesmas condições de maturação, foram partidas em duas metades, protegidas com tule para evitar contaminações por insetos, e expostas em três diferentes locais da região da zona leste de São Paulo. Os parâmetros de avaliação foram: temperatura, umidade e porcentagem de crescimento micelial em cada local durante seis dias. Posteriormente os frutos foram transportados ao laboratório multidisciplinar das Faculdades Metropolitanas Unidas, campus Santo Amaro.

## 2.2. Determinação de pH

A determinação do pH foi realizado com as fitas reativas da Macherey Nagel, imersas em solução contendo 1g de fruta contaminada diluída em 30ml de água destilada previamente homogeneizada em Agitador.

## 2.3. Isolamento

Com o auxílio da alça de sementeira as colônias foram isoladas em meio de cultura Sabouraud e identificadas de acordo com o local de origem. Todo o procedimento ocorreu no fluxo laminar com materiais esterilizados.

## 2.4. Controle

Para fins comparativo foi realizado o método direto de microscopia que consiste na suspensão de 50ul de TE(TRIS – EDTA) com micélio aéreo. Essa suspensão foi aplicada sobre lâmina e recoberta com lamínula e analisada na objetiva de 40x.

## 2.5. Microcultivo

Para esta técnica foi desenvolvido um sistema que consiste na montagem numa placa de petri, contendo uma lâmina com 500ul de ágar batata, que foi colocada sobre dois palitos de madeira como suporte, após a solidificação do meio o fungo foi semeado e coberto com lamínula. Posteriormente, foi depositado algodão embebido com água destilada estéril dentro da placa, para criar uma câmara úmida. A avaliação foi realizada após sete dias na objetiva de 40x.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na cidade de São Paulo são encontrados diversos microclimas, onde a temperatura e umidade são influenciadas pelo ambiente que circunda cada local, como por exemplo, a presença de vegetação, jardins particulares, edificações e pontos onde há grandes populações, podem aumentar ou diminuir a média da temperatura e umidade de uma mesma localidade.<sup>4</sup>

As frutas, como o mamão possuem fatores intrínsecos que os torna propícios ao crescimento de micro-organismos que podem gerar o apodrecimento destas. Um destes fatores é o pH que no mamão varia de 4.5 a 6.0, faixa de crescimento ótimo para os fungos. Pela qual, o mamão é um substrato propício ao crescimento de fungos o que torna a necessidade de uma boa identificação destes micro-organismos. O manual da Anvisa descreve a técnica de microcultivo que permite uma boa visualização de estruturas características do fungos.<sup>3</sup>

Os resultados obtidos de cada local denotaram uma umidade e temperatura própria, onde as medias da temperatura e umidade foram: de 21°C e 87% no local I, de 25°C e 82% no local II e de 23°C e 82% no local III. Estas variações de temperatura e umidade ocorre devido aos microclimas presentes em cada um destes locais, a distância entre o local I para o II foi de 20 Km, do local I ao III foi de 22 km, entre o II e III foi de 4 km, como observado na figura 1.



**Figura 1** - Mapa da região Leste de São Paulo, apresentando os locais de exposição da fruta marcados. Local I vermelho, local II amarelo e local III preto.

No local I, o crescimento fúngico iniciou-se no quarto dia com aproximadamente 8% da área do mamão, no sexto dia apresentou aprox. 25% da área. Assim mesmo, no local II o crescimento iniciou-se no quarto dia com aprox. 9% da área da fruta, e apresentou aprox. 40% no sexto dia. No local III, o crescimento iniciou-se no segundo com aprox. 1% com 30% da área da fruta no sexto dia. Na tabela I, observam-se as temperaturas, umidades e porcentagens de crescimento por dias nas três regiões avaliadas. A velocidade de crescimento micelial nos frutos foi diferente em cada local, observando o inicio de crescimento do local I e II a partir do quarto dia e no local III aconteceu a partir do segundo dia. O crescimento a partir do segundo dia no local III pode ser devido à

temperatura e umidade, que quando comparado com o local I apresentou uma umidade media menor e temperatura media maior. Enquanto, no local II o crescimento micelial se iniciou no mesmo dia que o local I, porém apresentando uma porcentagem maior, aprox. 40%

Tabela 1. Temperatura, umidade e porcentagem de crescimento de cada local durante os seis dias.

	Local I	Local II	Local III
<b>Dia 1</b>	Temperatura: 21°C Umidade: 88% Porcentagem: 0%	Temperatura: 22°C Umidade: 78% Porcentagem: 0%	Temperatura: 24°C Umidade: 78% Porcentagem: 0%
<b>Dia 2</b>	Temperatura: 21°C Umidade: 88% Porcentagem: 0%	Temperatura: 22°C Umidade: 78% Porcentagem: 0%	Temperatura: 23°C Umidade: 78% Porcentagem: ≈ 1%
<b>Dia 3</b>	Temperatura: 21°C Umidade: 88% Porcentagem: 0%	Temperatura: 26° C Umidade: 75% Porcentagem: 0%	Temperatura: 23°C Umidade: 75% Porcentagem: ≈ 8%
<b>Dia 4</b>	Temperatura: 23°C Umidade: 65% Porcentagem: ≈ 8%	Temperatura: 29° C Umidade: 69% Porcentagem: ≈ 9%	Temperatura: 25°C Umidade: 69% Porcentagem: ≈ 8%
<b>Dia 5</b>	Temperatura: 24°C Umidade: 94% Porcentagem: ≈ 18%	Temperatura: 28 °C Umidade: 94% Porcentagem: ≈ 24%	Temperatura: 21°C Umidade: 94% Porcentagem: ≈ 21%
<b>Dia 6</b>	Temperatura: 21°C Umidade: 100% Porcentagem: ≈ 25%	Temperatura: 26°C Umidade: 100% Porcentagem: ≈ 40%	Temperatura: 24°C Umidade: 100% Porcentagem: ≈ 30%

Na avaliação de pH dos frutos nos três locais pode-se obter um pH de 5.0 no local I, 6.0 no local II e 4.0 no local III, sendo que o pH do mamão varia de 4.5 a 6.0. Esta variação de pH pode ser atribuída a diversidade porcentagem de micro-organismos encontradas em cada uma das frutas de mamão analisadas.

Em relação aos fungos encontrados no mamão de cada local, foram encontrados seis diferentes gêneros. No local I foi encontrado *Penicillium* spp. e *Rhodotorula* spp., no local II encontrou-se *Clamidosporium* spp. e *Fusarium* spp., enquanto no local III, apresentou *Penicillium* spp. e *Rhizospus* spp.

As variações de temperatura e umidade podem ter influenciado no crescimento micelial dos fungos. Cada um deles possui uma temperatura e umidade ideal para seu crescimento. A variabilidade fungica encontrada pode ser devido as características aéreas de cada ambiente. A presença destes micro-organismos podem estar influenciando na alteração do pH do mamão, provavelmente pela produção de micotoxinas, metabólitos secundários capazes de causar patologias, desde intoxicações até o câncer.

Em relação as técnicas para identificação fúngica, o microcultivo destacou-se quando comparada ao método direto, por apresentar estruturas de reprodução integras. Permitindo uma boa visualização de estruturas como conidióforos, filíades, conídios e hifas, como por exemplo o *Penicillium* spp., o que tornou possível resultados mais fidedignos. O método direto, as estruturas observadas se apresentaram sobrepostas e fragmentadas, ocasionando resultados duvidosos.

#### **4. CONCLUSÕES**

Devido aos microclimas presente nas regiões, a umidade e temperatura podem ser variáveis, esta variação influencia na velocidade do crescimento micelial desde o tempo inicial até a porcentagem em que a fruta é contaminada. Os diferentes gêneros de fungo que tem crescimento favorecido em cada região estão relacionados as características aéreas de cada local. Este crescimento fungico reduz o tempo de viabilidade do consumo do mamão por causar podridão das frutas, além de produzir micotoxinas que podem ser prejudiciais à saúde humana, podendo se tornar um problema para a saúde pública. Na análise morfológica das estruturas fungicas a técnica de microcultivo se apresentou melhor que o método direto.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Souza JTA, et al. Análise sócio-econômica do consumo de mamão no Sertão paraibano. Revista em Agronegócios e Meio Ambiente.2013; 6(2): 235-246

2. Silva RR e Coelho GD. Fungos principais grupos e aplicações biotecnológicas.[monografia]. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo; 2006
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica [Internet] 2004. [acesso em 2016 maio 21]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_7\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf)
4. Ferreira CCM, Assis DC, Pimentel FO, Oliveira DE. O estudo do microclima gerado por praças em relação aos seus arredores na cidade de Juiz de Fora-MG. In: X Simpósio brasileiro de climatologia geográfica, 2012, Manaus.