

## ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS A CINCO ESPÉCIES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS

*Delci de Deus Nepomuceno, Eduardo Pimentel Brum, Sérgio Gaspar de Campos,  
João Carlos de Carvalho Almeida*

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/ BR 465, Km 47. e-mail: delci\_ufrrj@yahoo.com.br

**Resumo-** O experimento foi conduzido no setor de forragicultura e pastagem do Departamento de Nutrição Animal e Pastagem da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, em Seropédica, RJ, para investigar a presença de fungos, associados a cinco espécies de leguminosas forrageiras: kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*), soja perene (*Neonotonia wightii*), macrotiloma (*Macrotylloma axillare*), calopogônio (*Calopogonio mucunoides*) e amendoim forrageiro (*Arachis pintoi cv.amarillo*). Foram montadas laminas com fita adesiva utilizando azul de algodão e NaOH das amostras das folhas das leguminosas inoculada em Agar sabouraud dextrose e Agar simples montando-se laminas com fita adesiva ou lamínulas de vidro das colônias de fungo desenvolvida. Na identificação observaram-se a macroscopia e microscopia das colônias desenvolvidas, e identificando os fungos *Alternaria spp*, *Phitomyces chartarum*, *Nigrospora spp*, *Cladosporium spp*, *Mucor spp*, *Fusarium spp*, *Pseudomicrodochium spp*, *Tetraploa sp*, *Acremonium spp*, *Aspergilum niger*, *Curvularia spp*.

**Palavras-chave:** fitopatologia, fixação biológica de nitrogênio, micotoxina, saprofitismo

**Área do Conhecimento:** Ciências Agrárias

### Introdução

A Introdução de leguminosas forrageiras em sistemas de pastagens vem ganhando cada vez mais adeptos seja pela promoção de incrementos na produção animal, devido o aumento da qualidade e/ou da quantidade de forragem, resultante da participação direta da leguminosa na dieta animal ou pelos seus efeitos indiretos relacionados com a fixação biológica de nitrogênio e seu repasse ao ecossistema de pastagem diminuindo custos com adubação nitrogenada. Segundo Pereira, (2008) pesquisas com leguminosas forrageiras têm despertados interesses de vários pesquisadores, porém os trabalhos desenvolvidos têm sido em termo de produção, persistência e avaliação da quantidade de nitrogênio fixado por ha/ano e passado para as gramíneas quando plantado em consórcio além do desempenho animal em pastejo e Entre as espécies leguminosas forrageiras existentes no mercado destacam-se o *Calopogonium muconoides* (calopogônio) *Pueraria phaseoloides* (kudzú tropical) *Neotonia wightii* (soja perene) e *Leucena leucocephala* (leucena), ainda correspondendo ainda, nesta ordem de citação, à grande fatia do volume de sementes de leguminosas comercializadas no Brasil.

A baixa persistência das leguminosas na pastagem tem sido citada como a principal limitação à sua inclusão nos sistemas de produção ou até mesmo à continuidade das pesquisas necessárias ao lançamento de novos materiais. Além deste problema, destacam-se o desconhecimento das características botânicas

importantes para o manejo de produção de sementes, os requisitos climáticos específicos para o florescimento e produção de sementes, alta incidência de ervas daninhas, colheita difícil e alta susceptibilidade a doenças (SOUZA, 1981).

A presença de fungos em forrageiras pode estar relacionada ao parasitismo refletindo em fitopatologias ou saprofitismo, mesmo neste último caso pode acarretar diminuição do consumo pelos animais devido a rejeições e depreciação das forragens quando comercializada em forma de feno além da capacidade destes fungos causarem doenças a animais tanto diretamente por meio de infecção quanto pela ingestão de micotoxinas. A importância do método de diagnóstico por meio de imprint utilizando fita adesiva e/ou lamínulas de vidros ocorre devido à velocidade na obtenção do resultado o que serve como técnica preliminar para direcionar a métodos mais preciso quanto à identificação das espécies fúngicas patogênicas ou em caso de suspeitas de micotoxinas em forragens.

O cultivo de fungos em meio de cultura Agar simples e Agar Sabouraud além de propiciar meios de diagnósticos de fungos são técnicas de produção de fungos para fins de obtenção de colônias puras para identificação mais precisas quanto às espécies. O conhecimento da microbiota fúngica das forrageiras serve tanto para adequar técnicas de manejo específicas de controle das fitopatologias causadas por fungos quanto à eliminação de risco com intoxicação com micotoxinas. Daí o objetivo da realização este trabalho.

## Metodologia

O experimento foi conduzido no Setor de Forragicultura e Pastagens do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRRJ), no município de Seropédica, RJ (latitude: 22°46'59" S, longitude: 43°40'45" W e altitude de 33m). As leguminosas cultivadas foram kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*), soja perene (*Neonotonia wightii*), macrotiloma (*Macrotylloma axillare*), calopogônio (*Calopogonio mucunoides*) e amendoim forrageiros (*Arachis pintoi cv.amarillo*) em canteiros de 3x2m, em delineamento em bloco ao acaso com quatro repetições. O material (folhas e ramos) foram coletados a uma altura de 20cm do solo em pontos aleatórios dos canteiros das leguminosas e acondicionados em sacos de papel e encaminhada para análise microbiológica no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária do Instituto de Medicina Veterinária da UFRRJ para verificar a presença de fungos associados a leguminosas. Onde fragmentos das forrageiras estudadas foram inoculados em Agar Sabouraud dextrose e Agar simples permanecendo as placas em temperatura ambiente.

Foram feitas laminas utilizando azul de algodão e NaOH das folhas das leguminosas montando-se laminas utilizando-se fita adesiva e, das colônias

de fungos desenvolvidas em Agar Sabouraud dextrose e Agar simples também foram montadas laminas com fita adesiva ou com lamínulas de vidro. Observando-se a macroscopia e microscopia das colônias desenvolvidas, identificando-as de acordo com a chave taxonômica de (PITT e HOCKING, 1997) e (BARNETT e HUNTER, 1990), utilizando-se os elementos de reprodução amorfas dos fungos.

## Resultados

A presença de fungos foi confirmada nas cinco espécies de leguminosas estudadas (tabela 1) ocorrendo alguma diferença quanto os gêneros encontrados de acordo com os métodos de diagnóstico empregado, onde a presença de fungos utilizando Imprint com fita adesiva ou lamínulas de vidro somente não foi confirmada no macrotiloma o que foi verificado pelo método de cultivo em Agar Sabouraud dextrose e Agar simples.

Tabela 1-Métodos empregado no diagnóstico dos fungos das leguminosas

Métodos de diagnósticos	Leguminosas				
	Amendoim forrageiro	Calopogônio	Kudzu tropical	Macrotiloma	Soja perene
<b>Imprint<sup>1</sup></b>	<i>Alternaria spp</i> <i>Phitomyces chartarum</i> <i>Nigrospora spp</i> <i>Cladosporium spp</i>	<i>Nigrospora spp</i> <i>Aspergilum niger</i> <i>Phitomyces chartarum</i> <i>Cladosporium spp</i>	<i>Pseudomicrodochium spp</i> <i>Tetraploa spp</i> <i>Alternaria spp</i>	-	<i>Phitomyces chartarum</i> <i>Alternaria spp</i> <i>Tetraploa spp</i> <i>Nigrospora spp</i>
<b>Cultivo<sup>2</sup></b>	<i>Fusarium spp</i> <i>Curvularia spp</i> <i>Micélia sterília</i>	<i>Mucor spp</i> <i>Fusarium spp</i>	<i>Alternaria spp</i> <i>Micélia sterília</i>	<i>Alternaria spp</i> <i>Fusarium spp</i> <i>Acremonium spp</i>	<i>Fusarium spp</i> <i>Cladosporium spp</i>

<sup>1</sup> Imprint utilizando fita adesiva/ou lamínula de vidro e azul de algodão.

<sup>2</sup> Método de identificação em cultivo em Agar Sabouraud e Agar simples.

## Discussão

A importância do conhecimento dos fungos em forrageiras ocorre devido o envolvimento deste em

doenças de forrageiras Verzignassi e Fernandes (2001) e em animais, o que pode estar relacionado com a presença de micotoxinas produzidas por algumas espécies de fungos que colonizam vegetais no campo ou até mesmo após a colheita

(FONSECA, 2008) ou devido a inalação de esporos fúngicos (ZOPPA et al, 2008) Nas fazendas os animais contaminados por micotoxinas acarretam grandes perdas econômicas para o produtor devido o animal recusar o alimento, levando ao quadro de baixa conversão alimentar, imunossupressão, interferência na fertilidade além das perdas com medicamentos, diagnóstico, custo de reposição dos animais mortos e risco com resíduos em produtos de origem animal (PEREIRA et al. 2005) É importante ressaltar que a presença do fungo toxigênico não implica necessariamente na produção de micotoxinas, as quais estão intimamente relacionadas à capacidade de biossíntese do fungo e das condições ambientais predisponentes, como, em alguns casos, da alternância das temperaturas diurna e noturna (SANTIN et al. 2000). Dentre os fungos encontrados destacam-se *Fusarium spp*, *Aspergillum niger*, *Phitomyces chartarum*, *cladosporium spp*, *Alternaria spp*, *Acremonium spp* e *Mucor spp*, potencialmente produtores de micotoxinas. (QUINN, et al, 2005).

### Conclusão

Devido o resultado comprobatório da presença de fungos nas espécies de leguminosas e a capacidade destes de produzirem micotoxinas, a qual está relacionada com doenças em animais. São necessários estudos para relaciona-los com a produção de micotoxinas.

O fato de alguns destes fungos atuarem como parasitas oportunistas são necessários estudos quanto práticas de manejo a fim de evitar perdas ao utilizar estas leguminosas.

E o resultado diferente quanto à presença de fungos pelos métodos da fita adesiva e cultivo em Agar Sabouraud dextrose e Agar simples mostra a importância da utilização de mais de um método para o diagnóstico de fungos em forragens.

### Referência

- BARNETT H. L.; HUNTER B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3. ed. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1990. 370p.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. Australia: CSIRO Division of Food Science and Technology Sydney Academic, Press, 1997. 920 p.
- VERZIGNASSI, J. R & FERNANDES, C. D. Doenças em forrageiras. Embrapa gado de corte divulga. 2001(Comunidade técnico n° 50).

- PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P. C.; PRADO, G. ROSA, C. A. R. VELOSO, T.; SOUZA, L. A. F & RIBEIRO, J. M. M. Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 106-112., 2005

- SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.e MAGON, L. Micotoxinas do *fusarium* spp na avicultura comercial. **Cienc. Rural**. v.31, n.1, p.185-190. 2000

- SOUZA, F. H. D. Pesquisas em sementes de leguminosas forrageiras. **Revista Brasileira de Sementes**. v.13, n.2, p. 134- 142. 1981

- QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M. E.; DONNELLY e LEONARD, F. C. Porto Alegre: ed. Artimed. 2005 p.514.

- ZOPPA, A.L.V.; CRISPIM, R.; SINHORINI, I.L.; BENITES, N.R; SILVA, L.C.L.C.; BACCARIN, R.Y.A. Obstrução nasal por granuloma fúngico em equino: relato de caso. Arquivo. Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v.60, n.2, p.315-321, 2008