

CONSERVAÇÃO E MANUTENÇÃO DO ACERVO MICROBIÓTICO DO INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO CAMPUS DE ALEGRE.

Dhara Santos de Oliveira¹, Jaziel Rocha Almeida², Liliane Gomes da Silva³.

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo-Alegre, Rodovia ES-482 Cachoeiro-Alegre, Km 72 - 29500-000 - Rive, Alegre - ES, Brasil, dharaoliveira21@gmail.com, jazielrocha@gmail.com, lilianne.silva@ifes.edu.br

Resumo

O estudo enfatiza a importância das coleções biológicas para a compreensão da diversidade microbiológica, ressaltando que apenas 2% das 1.800.000 espécies estimadas de microrganismos estão conservadas em coleções de culturas. Com o aumento da degradação ambiental e das mudanças climáticas, a preservação dessas espécies é crucial. Foram isoladas 14 espécies de fungos e 5 de bactérias. Os fungos foram coletados IFES - Campus de Alegre e em Jerônimo Monteiro. Esses microrganismos foram submetidos a técnicas de limpeza, cultivo e identificação armazenadas em condições adequadas para o uso futuro de pesquisas e educação. O acervo microbiótico representa um recurso crucial para o conhecimento e a conservação da biodiversidade microbiana.

Palavras-chave: Microbiológica. Coleções Biológicas. Biodiversidade.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas; Microbiologia

Introdução

Os microrganismos são os seres vivos mais abundantes e antigos, capazes de habitar com sucesso cada nicho ecológico do planeta Terra. As coleções biológicas são conjuntos acumulativos de conhecimento gerado ao longo do tempo, que têm como principal função adquirir informações sobre a composição e distribuição da biodiversidade de determinado material.

(Guedes *et al.*,1998) Afirmar que as coleções científicas biológicas são essenciais para o entendimento e a obtenção de informações sobre a diversidade microbiológica que nos envolve. Estima-se que existam cerca de 1.800.000 espécies de microrganismos no mundo, sendo que apenas um pouco mais de 2% desse total está conservado em coleções de culturas. Segundo (Hamada *et al.*,2015) Com o crescimento da degradação ambiental as mudanças climáticas, algumas espécies podem estar em risco de extinção.

Sua relevância é evidenciada em várias áreas, como a conservação e a exploração da diversidade genética e metabólica de microrganismos. Portanto, o material biológico mantido em condições adequadas em coleções de culturas possui uma vasta gama de aplicações nos campos da saúde, agropecuária indústria, meio ambiente e, principalmente na área acadêmica. Como parte do patrimônio natural ex-situ essas coleções têm grande valor para a realização de projetos de pesquisa que envolvem estudos sobre medicamento, controle ambiental e biotecnologia (Camara *et al.*,2008)

O acervo microbiótico representa uma fonte imensurável de conhecimento e recursos, sendo fundamental para a educação. Ele se apresenta como uma ferramenta pedagógica de aprendizagem em Ciências Biológicas e uma valiosa contribuição para formar cidadãos mais informados e comprometidos com o conhecimento científico. Além disso, o acervo proporciona a possibilidade de investigar e estudar a vida dos microrganismos de perto, incentivando os jovens cientistas a se envolverem em estudos sobre a biodiversidade microbiana.

Metodologia

A pesquisa foi conduzida em diversas fases, iniciando pelo isolamento dos fungos. As amostras foram coletadas no Instituto Federal Campus De Alegre, e no Município de Jerônimo Monteiro, utilizando materiais variados, como folhas, sementes, caules e frutos. Após a coleta, as amostras foram levadas ao laboratório de química, onde foram submetidas a um processo de limpeza inicial com álcool 70%. Em seguida, as amostras foram tratadas com uma solução de hipoclorito de sódio e lavadas com água destilada. Posteriormente, foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA-

Dextrose- Agar). As placas foram incubadas a 25°C e monitoradas por sete dias para acompanhar o crescimento do patógeno. A identificação dos fungos foi realizada por meio de análises microscópicas e técnicas de microcultivo, resultando no total de 13 fungos catalogados, e seguida replicados mantidos em tubos de ensaio.

Os isolados bacterianos, derivados do acervo microbiológico do Instituto Federal Campus de Alegre, foram cultivados 4 tipos de bactérias sendo elas, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Serratia Marcens*, *Bacillus subtilis*, *Xanthomonas- Campestris*, em placas de Petri e tubos de ensaio, utilizando os meios de cultura sólido e líquido, Soybean Casein Digest Medium, Agar Violeta-Bile, e Standard Methods, neste trabalho foram isolados, 5 amostras bacteriana em seguida levadas e armazenadas na estufa bacteriana e mantidas incubadas à temperatura de 30°C. O crescimento bacteriano foi monitorado ao longo de um período de 24 horas e submetido a repicagens em intervalos de 15 dias, garantindo assim a estabilidade das culturas, que foram posteriormente guardadas na geladeira.

Figura 1 e 2- Bactérias conservadas



Fonte: autor,2023.

Resultados

No total, foram isoladas 14 espécies de fungos do acervo, provenientes de amostras coletadas de diversas fontes, incluindo frutas como mexerica, jambo, café Conilon, mamão, morango e laranja. Durante as análises microscópicas das lâminas, 13 dessas espécies foram identificadas, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela1- Coleção fungos do acervo

Fungos Fitopatogênicos

<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Alternaria sp</i>	<i>Fusarium sp</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Colletotrichum okinawense</i>	<i>Guignard sp</i>
<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Rhizoctonia sp</i>	fungo do cerrado sem identificação	

Colletotrichum musae

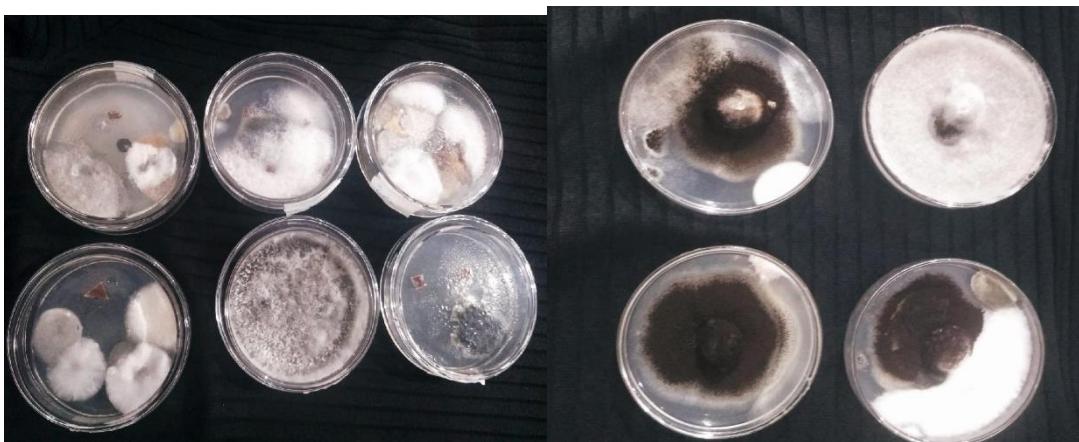
Penicillium sp

Botrytis cinerea

Fonte: autor, (2023).

As sementes de café Conilon, coletadas no IFES - Campus de Alegre, foram isoladas em 10 placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) com folhas e sementes. As placas foram incubadas em uma B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 25°C por um período de sete dias, conforme ilustrado nas imagens

Figura 3 e 4- amostras isoladas do café

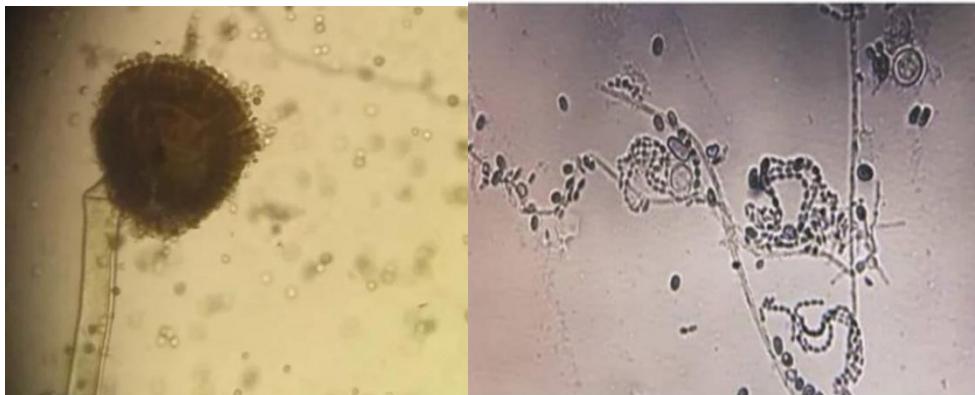


Fonte: autor, (2023).

Após o período de incubação, foi analisado o crescimento das colônias fúngicas. Nas amostras foliares e de sementes de *Coffea canephora*, foram identificadas, por meio da técnica de microcultivo, cinco espécies fúngicas. De acordo com Bozza *et al.*, (2009), nas amostras foliares (imagem 3), destacaram-se as espécies *Fusarium spp.*, *Colletotrichum spp.*, *Penicillium sp.*, e *Guignardia sp.* Nas sementes (imagem 4), foi detectada a presença do fungo *Aspergillus niger*. Esta espécie de fungo é adaptada a ambientes com baixa umidade e pode crescer em qualquer matéria orgânica que possua um grau de umidade em equilíbrio com a umidade do ambiente entre 65% e 90%. De ocorrência cosmopolita, está entre os organismos vivos mais bem-sucedidos e abundantes, sendo normalmente associada a grãos armazenados ou danificados (Chalfoun; Batista, 2003).

A identificação dos fungos foi realizada por meio de microcultivo, com a morfologia dos fungos sendo observada em lâminas de microscopia. Na (figura- 5), são apresentadas as características morfológicas dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium sp.*, que foram identificados.

Figura 5- morfologia micrscopica fungo *Aspergillus niger* e *Penicillium sp*



Fonte: autor, (2023).

As folhas e os caules do mamoeiro foram coletados no município de Jerônimo Monteiro. Após a coleta, as amostras passaram por um processo de limpeza e foram distribuídas em 11 placas de Petri. Em seguida, as amostras foram inoculadas em placas contendo meio de cultura B.D.A e incubadas em uma B.O.D. a 25°C por sete dias, visando o crescimento das colônias de fungos (figura-6).

Figura- 6- inoculados do mamoeiro



Fonte: autor, (2023).

Discussão

De acordo com Nehmi *et al.*, (2002), o mamoeiro (*Carica papaya L.*) é uma das frutas mais cultivadas em países com clima tropical. O Brasil lidera a produção e exportação global, com uma produção anual de 1,7 milhões de toneladas, o que representa 35,4% da produção mundial. O mamoeiro, também conhecido como mamão, é suscetível a diversas doenças, principalmente causadas por fungos e vírus, que afetam folhas, ramos, raízes, flores e frutos (Bleinroth, 1995). Foram identificados cinco gêneros de fungos nas amostras, entre eles *Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani* e *Colletotrichum okinawense*. Esses fungos se desenvolvem no local do corte do pedúnculo, nas rachaduras ou mesmo nos ferimentos ocorridos durante a colheita, comprometendo a qualidade do fruto.

Dessa forma, tanto os fungos quanto as bactérias da coleção do acervo foram preservados em diferentes meios de cultura. As bactérias foram armazenadas em placas de Petri contendo meio de cultura sólido, bem como em tubos de ensaio com meio líquido, enquanto os fungos foram conservados em tubos de ensaio contendo meio de cultura B.D.A e em placas de Petri.

Figura- 7- Fungos em tubo e em placa de Petri



Fonte: autor, (2023).

Afirmar, Alfenas, (2005) Os tubos foram mantidos em ambientes que estimulam o crescimento dos patógenos, com o meio de cultura inclinado nos tubos de ensaio, sendo armazenados em refrigeradores, garantindo uma durabilidade de seis meses. A conservação em condições ideais é essencial para a integridade do acervo microbiótico e para que os microrganismos estejam disponíveis para pesquisas e estudos educacionais de longo prazo.

Conclusão

Neste estudo, contribuiu significativamente para a compreensão da diversidade microbiológica presente nas amostras coletadas, enriquecendo o acervo microbiótico com informações valiosas sobre as bactérias e fungos analisados. A aplicação das técnicas de isolamento, identificação e conservação apresentadas neste trabalho oferece um recurso fundamental para futuras pesquisas na área da microbiologia, ampliando o conhecimento sobre a biodiversidade microbiana e suas implicações em diferentes ambientes.

Referências

- ALFENAS, C.; GONÇALVES, R. **Métodos em Fitopatologia.** Viçosa: Editora UFV, 2005.
- ALVES, F. C. Acervo de fungos endofíticos associados ao maracujá (*Passiflora incarnata*): preservação e potencial de biocontrole contra fitopatógenos. 2022.
- BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M. Incidência de Ocratoxina A em diferentes frações do café (*Coffea arabica* L.) Bóia, mistura e varrição após secagem em terreiros de terra, asfalto e cimento. Ciência e Agrotecnologia, v. 31, p. 804-813, 2007.
- BOZZA, A., et al. Isolamento de fungos associados a grãos de café cv. Iapar 59 de origem de solo e árvore em diferentes tempos de colheita. Food Science and Technology, v. 29, p. 529-534, 2009.
- CAMARA, R. N.; GRANATO, M.; SÁ, M. R. As coleções microbiológicas e sua importância como patrimônio científico: o caso das coleções da Fiocruz. In: GRANATO, M.; RANGEL, M. F. (Org.). *Cultura material e patrimônio da Ciência e Tecnologia*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008. p. 303-314.
- GUEDES, A. C. et al. Estratégia nacional de diversidade biológica: contribuição para a estratégia de conservação in-situ no Brasil. 1999. p. 39.
- HAMADA, E. et al. Simulação dos efeitos das mudanças climáticas sobre a ferrugem do café na região Sudeste do Brasil. 2015.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 1997.

NEHMI, I. M. D. et al. Anuário da Agricultura Brasileira. v. 01, n. 01, p. 378-386, 2002. Disponível em: <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/busca?b=ad&id=5643&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22INSTITUTO%20FNP%22&qFacets=autoria:%22INSTITUTO%20FNP%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=2>. Acesso em: 27 ago. 2024.

SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, A. A. R. Doenças causadas por fungos e oomicetos. 2022.

SOUZA, A. V. et al. Ocorrência de fungos micorrízicos em catuaba (*Anemopaegma arvense* (Vell.) Stell. ex de Souza-Bignoniaceae), uma planta medicinal do Cerrado em risco de extinção. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 15, p. 646-654, 2013.

Agradecimentos

Instituto Federal- Campus de Alegre e o Laboratório de Química e Microbiologia do IFES