

USO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE *ASPERGILLUS* SEÇÃO *NIGRI*

DAIANI MARIA DA SILVA¹, LUÍS ROBERTO BATISTA², EDUARDO ALVES³

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de diferenciar espécies pertencentes a Seção *Nigri* através do uso da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Oito isolados representativos das espécies *A. aculeatus*, *A. carbonarius*, *A. foetidus*, *A. japonicus*, *A. niger* Agregado, *A. niger*, *A. tubingensis* e *Aspergillus* sp UFLA DCA 01, foram obtidos na Micoteca do Laboratório de Micologia e Micotoxinas do Departamento de Ciência dos Alimentos – DCA, UFLA. A MEV permitiu diferenciar as espécies de *Aspergillus* Seção *Nigri* em dois grupos distintos.

Palavras-chaves: *Aspergillus*, Seção *Nigri*, Microscopia de Varredura

INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Aspergillus* Seção *Nigri* ou Black *Aspergillus* são mundialmente distribuídas e possuem capacidade de se desenvolver em uma vasta variedade de substratos. A taxonomia dos fungos pertencentes à Seção *Nigri* constitui uma das mais confusas e complexas do gênero, pois as diferenças entre estas espécies são muito sutis e, por muito tempo, a identificação e a classificação destas espécies foram estudadas por meio de critérios morfológicos e culturais (Pitt & Hocking, 1997; Samson et al., 2004). Algumas espécies, tais como *A. carbonarius* e as espécies unisseriadas (*A. japonicus* e *A. aculeatus*) podem ser mais facilmente reconhecidas por meio de chaves de identificação; enquanto que, espécies relacionadas ao complexo *A. niger* Agregado tem sido difíceis de serem distinguidas através de critérios morfológicos (Samson et al., 2004). Apesar de a taxonomia das espécies de *Aspergillus* Seção *Nigri* serem considerada problemática, vários métodos têm sido propostos para auxiliar na classificação desta Seção. A microscopia eletrônica de varredura é considerada como um método eficaz para auxiliar na caracterização e identificação fúngica uma vez que possibilita a visualização detalhada das estruturas de reprodução, tais como esporos, conidióforos, células conidiogênicas. O presente trabalho teve como objetivo diferenciar espécies de *Aspergillus* pertencentes a Seção *Nigri* através da Microscopia Eletrônica de Varredura.

MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados pertencentes a Seção *Nigri* foram obtidos na micoteca do Laboratório de Micologia e Micotoxinas, do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG. O cultivo dos isolados foi realizado em CYA (Czapeck Agar) a 25°C por 5 dias. Após o período de incubação, discos das amostras foram imersos em solução fixativa (Karnovsky's) por 24 h. Em seguida, pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio (1%). As amostras foram levadas para o dessecador para retirada da umidade. Os espécimes obtidos foram montados em suportes de alumínio *stubs*, seguindo a etapa de metalização (Sputtering ou banho de ouro). Depois de concluída as etapas, as amostras foram observadas no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) do

¹Doutoranda em Microbiologia Agrícola, DBI/UFLA, daiani0905@yahoo.com.br

²Professor Adjunto, DCA/UFLA, luisrb@dca.ufla.br

³Professor DFP/ UFLA, edualves@ufla.br

Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural do Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, UFLA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na análise das imagens geradas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foi possível observar a ornamentação dos esporos de espécies de *Aspergillus* Seção *Nigri* analisadas. A MEV permitiu distinguir as espécies em dois grupos distintos: os que apresentam conídios verrucosos e os que possuem conídios equinulados (Figura 1).

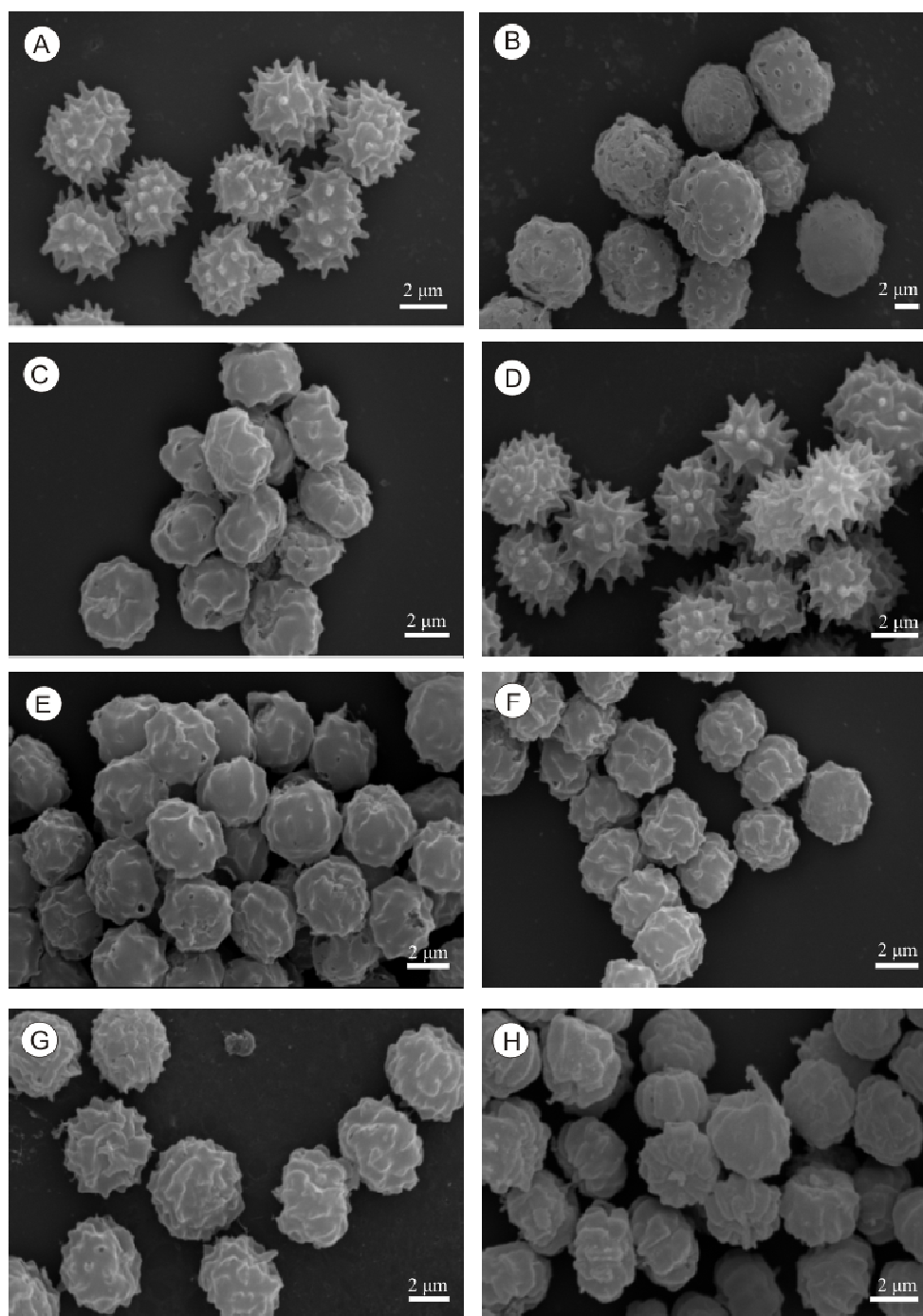


Figura 1- Eletromicrografia de Varredura dos conídios de *Aspergillus* Seção *Nigri*. (A) *A. niger*; (B) *A. niger* Agregado; (C) *A. aculeatus*; (D) *A. japonicus*; (E) *A. tubingensis*; (F) *A. carbonarius*; *Aspergillus* sp.

As espécies que possuem conídios verrucosos foram: *A. niger*, *A. niger* Agregado, *A. carbonarius* e *A. tubingensis*. Os esporos de *A. japonicus* e *A. aculeatus* são distintamente equinulados.

A caracterização morfológica da Seção *Nigri* é considerada por muitos autores como problemática. Samson et al. (2007), relatam que às espécies unisseriadas *A. japonicus* e *A. aculeatus* da Seção *Nigri*, não podem ser distinguidas somente por suas características morfológicas macroscópicas, tais como coloração das colônias. Entretanto, características morfológicas microscópicas como a forma dos seus conídios permite diferenciar as duas espécies; a espécie de *A. aculeatus* exibe conídios com forma predominantemente elipsoidal e *A. japonicus*, globosa a subglobosa. No entanto, a MEV não permite diferenciá-las.

A. carbonarius pode ser facilmente distinguido das demais espécies da Seção *Nigri* principalmente pelo tamanho dos seus esporos, que varia de 7 a 9 µm de diâmetro. As demais espécies exibem conídios com tamanhos variando entre 3-5µm (Klich, 2002).

CONCLUSÃO

A Microscopia Eletrônica de Varredura permitiu diferenciar as espécies em dois grupos distintos, um grupo que apresenta conídios com ornamentação equinulada e outro verrucoso.

Estes resultados sugerem a utilização de outras características morfológicas para auxiliar na diferenciação destas espécies, pois o uso da MEV não foi suficiente para distinguí-las.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

KLICH, M.A. **Identification of Common *Aspergillus* species**. (2002). Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelauteurs.

PITT, J. L.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 2. ed. Cambridge: Chapman & Hall, 1997. 593 p.

SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J. A. M. P.; KUIJPERS, A. F. A.; FRANK, M. J.; FRISVAD, J. C. New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. **Studies in Mycology**, Netherlands, v. 50, p.45-61. 2004.

SAMSON, R. A.; NOONIM, P.; MEIJER, M.; HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; VARGA, J. Diagnostic tools to identify black *aspergilli*. **Studies in Mycology**, Netherlands, v. 59, p.129-145. 2007.