

Congresso Luso-Galaico de Micromicologia



Macrofungos: Diversidade e Biotecnologia



Livro de resumos



13-15 Outubro 2005
Universidade de Trás-os-Montes e Alto
Douro
Vila Real, Portugal

Conservação *ex-situ* de recursos micológicos

Santos, I.M. & Lima, N.

Micoteca da Universidade do Minho (MUM), Centro de Engenharia Biológica, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

Dois grandes eventos nos inícios dos anos 90 contribuíram para dar destaque ao papel das colecções de culturas microbianas como centros de recursos genéticos com relevância para a biotecnologia, a saúde, a agricultura, a indústria e outros serviços. O primeiro foi o Simpósio Král, em 1990, para comemoração dos cem anos das colecções de culturas, decorridos desde a criação da primeira colecção de culturas de leveduras e fungos filamentosos por Frantisek Král, em Praga, no decurso do ano de 1890, com vista à conservação e distribuição de microrganismos para a investigação, indústria, diagnóstico e ensino. Dois anos mais tarde, na Conferência das Nações Unidas sobre o Ambiente e o Desenvolvimento (Cimeira da Terra), no Rio de Janeiro, onde a protecção do ambiente e a conservação do património genético inerente à biodiversidade constituíram uma das principais recomendações, a Agenda 21 foi subscrita por todos os Estados presentes. O Capítulo 15 da Agenda 21 evidencia o potencial do material genético contido em plantas, animais e microrganismos, em relação à agricultura, à saúde e ao bem estar das populações, bem como a necessidade de métodos melhorados e diversificados para a conservação *ex-situ*, com vista à conservação a longo prazo de recursos genéticos com importância para a investigação e o desenvolvimento (United Nations, 1992).

As colecções de culturas, por serem depositárias de estirpes capazes de se desenvolverem em cultura pura e de exibirem propriedades singulares, constituem uma fonte valiosa de material biológico para a investigação, bem como depósitos seguros a longo prazo para estirpes com interesse comercial, estirpes patenteadas e outras estirpes importantes. Adicionalmente, essas colecções desempenham um papel complementar e fundamental em relação à biodiversidade e à biossistemática. A identificação e conservação de novas espécies está intimamente relacionada com a protecção *in-situ* da biodiversidade e a conservação *ex-situ* do seu património genético. Os isolamentos depositados nas colecções de culturas constituem a base da maior parte do conhecimento actual sobre a biodiversidade biológica e representam material de arquivo para estudos futuros.

Hawksworth (1991 e 2001) estima que, numa base mundial, deverão existir ca de 1,5 milhões de espécies de fungos na natureza, das quais, em 2001, apenas 80800 tinham sido descritas. Das espécies descritas, apenas 11500 (16%) estão conservadas em colecções de culturas, o que equivale a menos de 1% do número total de espécies estimado. Este autor aponta ainda o facto de um número surpreendentemente elevado de fungos estar representado por menos de cinco estirpes conservadas em colecções, o que indica a pouca frequência do seu isolamento da natureza e pode representar uma preocupação, na medida em que se não sabe ao certo quantas estirpes deveriam ser conservadas para representar de forma adequada a variabilidade genética intra-específica de um fungo.

Adicionalmente, as potencialidades dos fungos em termos de produção de moléculas bioactivas com interesse farmacológico e industrial, de aplicações em bioprocessos com desempenhos económicos e ambientais melhorados e na biotecnologia ambiental, são reconhecidamente vastas. Neste contexto, as colecções de culturas respondem às questões inerentes à disponibilidade e localização de culturas isoladas de diferentes substratos e localizações geográficas, com propriedades específicas, devidamente documentadas e autenticadas, sem a necessidade de incorrer nos custos inerentes a uma recolha e nas incertezas do re-isolamento do material para cada novo estudo.

É assim tarefa das colecções de culturas salvaguardar a integridade das culturas conservadas em todas as suas vertentes, desde a manutenção da viabilidade até à sua estabilidade morfológica, fisiológica e genómica.

Existem hoje diversas técnicas de conservação disponíveis, cuja aplicabilidade é determinada, em primeiro lugar, pela natureza do organismo a conservar, mas também pela sua utilização futura, entre outros critérios de ordem prática e económica. Todas estas técnicas assentam no princípio comum de minimizar o número de gerações a partir do isolamento original e de reduzir a actividade celular até uma situação teórica ideal, em que a actividade metabólica foi completamente suprimida. O metabolismo celular pode então ser reduzido pela acção do frio (e.g. manutenção a 4 °C), através da redução da tensão de oxigénio (e.g. conservação em óleo mineral) ou através da redução do conteúdo em água das células (e.g. desidratação de

propágulos fúngicos em sílica-gel, liofilização, ou desidratação por acção do frio durante a crioconservação). No caso particular da crioconservação a temperaturas inferiores a -140 °C admite-se que a actividade metabólica atingiu um nível tão baixo que pode considerar-se nula. Durante estes processos os organismos vão ser sujeitos a condições físicas adversas que podem originar danos nas células com consequências ao nível da sua viabilidade e estabilidade. As diferentes estirpes de fungos irão ter respostas diferentes a estes processos que podem estar relacionadas com a sua condição fisiológica e o grupo taxonómico a que pertencem.

A este respeito será apresentado um estudo de caso onde se pretendeu averiguar o efeito da aplicação de diferentes técnicas de conservação, o efeito do tempo de conservação e o efeito da alteração das condições de cultura, nomeadamente o substrato fornecido, sobre a viabilidade, estabilidade morfológica e a produção das micotoxinas citrinina e patulina, em *Penicillium expansum*. As técnicas de conservação aplicadas incluem duas metodologias baseadas no crescimento contínuo do fungo, a subcultura e manutenção a 4 °C e a conservação em óleo mineral, e duas metodologias que assentam na desidratação de uma suspensão de conídios, a conservação em sílica gel e a liofilização com centrifugação.

United Nations (1992) Earth Summit, Agenda 21 – United Nations Programme of Action from Rio, Rio de Janeiro, 294 pp., United Nations, New York.

Hawksworth, D.L. (1991) The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. *Mycological Research* **95**, 641-655.

Hawksworth, D.L. (2001) The magnitude of fungal diversity: the 1.5 millions species estimate revisited. *Mycological Research* **105**, 1422-1432.