



ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE FUNGOS FILAMENTOSOS PRESENTES NA CORROSÃO DE MATERIAIS METÁLICOS

LUANA TEIXEIRA PINA; OTÁVIO AUGUSTO SANTOS PORTO; BRENDA KETILYN
LAGES DE PAULA; VIVIAN MACHADO BENASSI

RESUMO:

A corrosão influenciada por microrganismo, conhecida internacionalmente como CIM (*Microbially Influenced Corrosion*), refere-se à corrosão causada diretamente ou indiretamente pela ação de específicos microrganismos. Há estudos demonstrando a ação de bactérias no processo de corrosão, em especial as bactérias oxidadoras de sulfato. Entretanto, são poucos os trabalhos relatando a ação de fungos filamentosos na biocorrosão. Os fungos filamentosos são organismos eucariontes, quimioheterotróficos, cosmopolitas, antes relacionados à ocorrência de doenças e à contaminação alimentar, contudo vem revolucionando a biotecnológica devido às suas funcionalidades e amplas aplicações em processos industriais. Dessa forma, o presente trabalho objetivou coletar materiais metálicos em diferentes níveis de corrosão, isolar fungos filamentosos destes e analisar as características macromorfológicas dos isolados. Ao todo, foram isolados nove fungos, dos quais cinco foram retirados do prego corroído, sendo eles: PD21, PD24, PD51A, PD51B e PD71, enquanto quatro fungos foram provenientes da lasca metálica corroída, identificados como: LD22, LD23, LD26B e LD27. Durante o processo de isolamento foi possível observar a presença de demais microrganismos, como bactérias e leveduras, este fato serviu como exemplo da coexistência destas espécies, podendo até agir de forma cooperada para a realização dos processos de corrosão. Estes microrganismos tiveram características morfológicas macroscópicas distintas entre si, dentre estas: pigmentação, superfície, coloração da colônia, topografia e tipo de borda. Com os resultados obtidos na pesquisa foi possível afirmar que houve presença destes organismos nos materiais metálicos corroídos, no entanto, nem todas as dúvidas foram sanadas, restando questionamentos de como estes fungos filamentosos participam do processo de corrosão ou se apenas estão contidos no material coletado, sendo assim, essa pesquisa serve como incentivo para futuros estudos na área. O trabalho em questão é de grande importância para exemplificar a coexistência dos microrganismos, bem como visualizarmos a presença de diferentes fungos filamentosos em um processo incomum para os mesmos. Desta forma, o presente resumo também serviu como uma provocação para posteriores estudos acerca do tema e até mesmo para aprofundar pesquisas relacionadas aos fungos já coletados em processos de CIM, a fim de encontrarmos semelhanças e diferenças entre estes microrganismos e melhor compreender seu papel.

Palavras-chave: Biocorrosão; Microbiologia; Microrganismos; Diversidade fúngica.

1 INTRODUÇÃO

Graças a ubiquidade dos microrganismos podemos encontrá-los coexistindo nos mais distintos meios e processos, desde os mais simples até os mais complexos, como o caso do processo de biocorrosão ou corrosão induzida por microrganismos (CIM) de materiais

metálicos. Neste caso, sabe-se que os principais organismos presentes neste processo são as bactérias, em especial as oxidadoras de sulfato, que geram como produto do metabolismo o sulfeto de hidrogênio, um dos principais agentes biocorrosivos. No entanto, demais microrganismos são encontrados nos meios oxidados, dentre eles os fungos filamentosos, esta afirmativa trás contigo questionamentos sobre a participação destes no processo e possíveis interferências no meio. Uma vez que, os microrganismos ativos nesse processo são capazes de ativar, dar condições ou acelerar o processo corrosivo, fazendo a manutenção eletroquímica da corrosão (NAGIUB & MANSFELD, 2002; MARANGONI, 2010).

Os fungos filamentosos são de grande importância para a área da biotecnologia, uma vez que são produtores de diversos metabólicos de importância, como por exemplo, as enzimas. A identificação desses microrganismos se dá pela junção das características morfológicas macroscópicas, a observação das estruturas reprodutivas, e a identificação molecular. Estas informações trazem questionamentos a respeito da participação de fungos filamentosos na biocorrosão, para isto, o mapeamento das espécies presentes em materiais corroídos é de suma importância, com maior enfoque nos fungos filamentosos, objetivo desse trabalho.

2 METODOLOGIA

Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Micologia, Enzimologia e Desenvolvimento de Produtos (LMEDP) do Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, Minas Gerais. Os microrganismos foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), número A64AD93.

2.1 Coleta das amostras

Os materiais utilizados para a coleta das amostras foram frascos de vidro, pinças, espátulas, previamente autoclavados, e borrifador com álcool 70° GL, sendo coletado duas amostras para posterior análise microbiológica (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1- Amostras coletadas.

Amostras	Identificação
Lasca Metálica	LD
<u>Prego Corroído</u>	<u>PD</u>



Figura 1- Imagem representativa das amostras coletadas. (A) lasca metálica LD e (B) prego corroído PD.

2.2 Isolamento dos fungos filamentosos a partir das amostras coletadas

Inicialmente foram preparados cerca de 20 mL de meios de cultura sólido Ágar Contagem de Placa Padrão ION Cult[®], com concentração de 23,5 g/L, previamente autoclavados à 120°C, 1,5 atm, durante 30 minutos, vertidos em placas de Petri com diâmetro de 8,5 cm.

Posteriormente, as amostras coletadas foram postas sobre o meio de cultura e armazenadas em uma estufa bacteriológica, durante sete dias, à 30°C. A partir desta etapa, todas as placas foram analisadas em um período de 24 horas para o acompanhamento do crescimento das colônias de fungos filamentosos diferenciados segundo características morfológicas macroscópicas. Os fungos foram nomeados de acordo com o seguinte padrão: código (Tabela 1); número de dias após o inóculo da amostra que ocorreu o isolamento do microrganismo; ordem de isolamento dos microrganismos no dia.

2.3 Análise das características morfológicas macroscópicas

Preparou-se o meio de cultivo sólido Ágar Contagem de Placa Padrão ION Cult[®], sendo autoclavado à 120 °C, 1,5 atm, por 30 minutos. Posteriormente, verteu-se 20 mL do meio em placa de Petri, também autoclavada, procedimento realizado em superfície esterilizada com hipoclorito de sódio e álcool 70° GL, próximo ao Bico de Bunsen, sendo feito o repique pontual dos fungos filamentosos isolados e mantidos no laboratório ao centro da placa de Petri, utilizando palitos de dente previamente autoclavados.

Após o repique, os meios foram mantidos em estufa bacteriológica, à 30°C, por dois a quatro dias, sendo o crescimento dos fungos filamentosos monitorado a cada 24 horas. Após o crescimento dos isolados, as características macroscópicas morfológicas foram analisadas, como: textura, superfície, borda, topografia, cor da colônia e presença ou ausência de pigmentação.

2.4 Manutenção dos fungos filamentosos isolados

A manutenção da cepa ocorreu através do inóculo das colônias em tubos contendo meio de cultura sólido Ágar Contagem de Placa Padrão ION Cult[®]. Os tubos e o meio de cultura foram autoclavados por 30 minutos, 1,5 atm, à 120°C, para esterilização. Após o inóculo, foram mantidos em estufa à 30°C até que o crescimento das colônias fosse observado. Em seguida, os tubos foram armazenados sob refrigeração de 4°C.

As cepas também foram armazenadas em sílica gel, seguindo a metodologia proposta por Michelin (2009). Nesta metodologia, uma solução com 5 mL de leite em pó 200 g/L foi

autoclavada e adicionada aos tubos contendo as colônias fúngicas, para a obtenção de uma suspensão de esporos. Em seguida, cerca de 1 mL desta suspensão foi adicionada em tubos de ensaio contendo sílica gel, também previamente autoclavados. Os tubos foram lacrados e armazenados sob refrigeração de 4°C.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado do processo de isolamento (Figura 2) dos fungos filamentosos, pode-se observar que decorrido o tempo de incubação das amostras coletadas em meio de cultura sólido, à 30°C, após sete dias, não pode ser isolado mais nenhum fungo filamentoso, assim como, pode-se observar que ao longo do decorrer dos dias de incubação foram obtidos muitos microrganismos, desde bactérias, leved

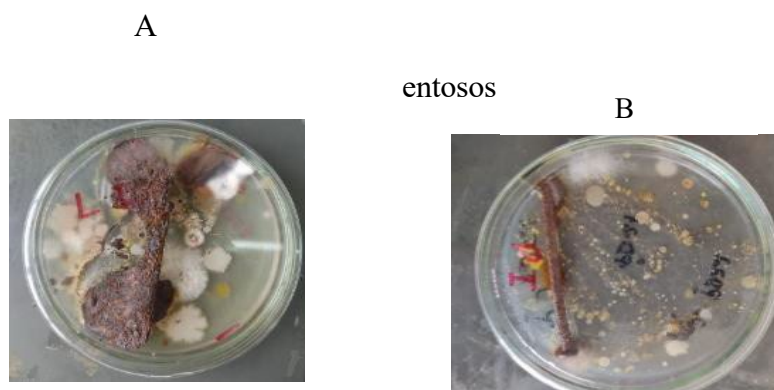
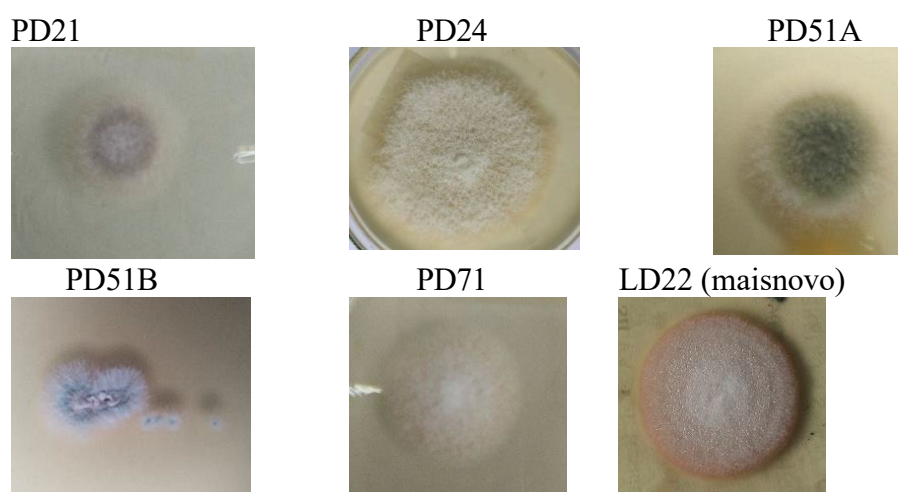


Figura 2- Placa contendo meio de cultura sólido e as amostras coletadas, sendo mantidos à 30°C após sete dias. (A) lasca metálica e (B) prego corroído.

A partir das amostras coletadas foram isolados nove fungos filamentosos, sendo cinco da lasca metálica e cinco do prego corroído (Figura 3). Vale citar que, os fungos filamentosos isolados demoram mais tempo para crescerem no meio de cultura durante o processo de isolamento quando comparado com os outros microrganismos, uma vez que é um organismo mais complexo, quando comprado com as bactérias e multicelular, distinto das leveduras.



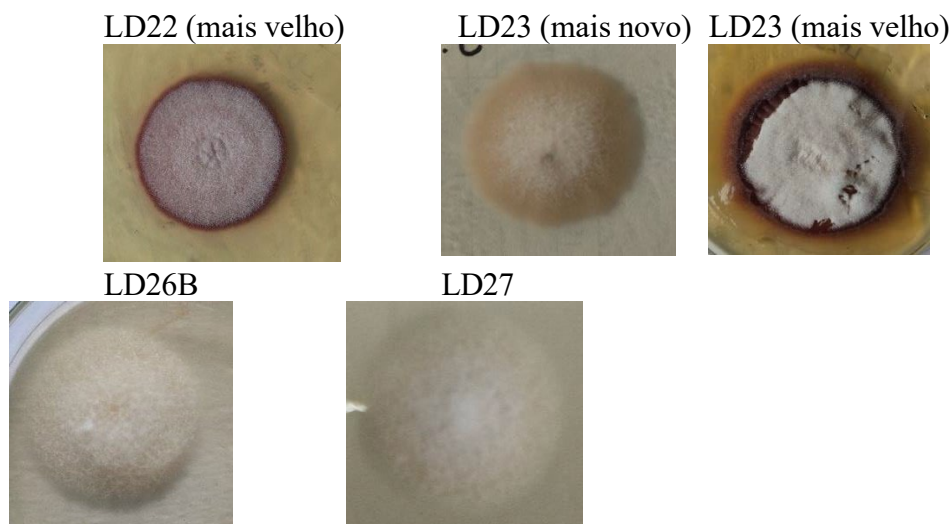


Figura 3- Foto dos fungos filamentosos isolados da lasca metálica e do prego corroído.

Os fungos isolados tiveram suas características morfológicas macroscópicas analisadas (Tabela 2), e pode-se observar que os microrganismos isolados possuem características distintas um dos outros, e sua maioria foram colônias de coloração branca e sem pigmentação.

Tabela 2 – Características macromorfológicas dos fungos filamentosos isolados.

Fungos	Textura	Cor	Pigmento	Superfície	Bordas	Topografia
PD21	Camurça	Branca	Verde musgo	Estrias concêntricas	Lisa	Achatada
PD24	Algodonosa	Branca	-	Granulosa	Filamentosa	Convexa pregueada
PD51A	Aveludada	Branca	-	Lisa	Regular	Lisa e convexa
PD51B	Camurça	Centro verde musgo e borda branca	Verde musgo	Lisa e Rugosa	Lisa	Crateriforme e com pregas centrais
PD71	Algodonosa	Branca	-	Estrias concêntricas	Filamentosa	Lisa e convexa achatada
LD22	Aveludada	Branca	Salmão	Estrias concêntricas	Lisa	Achatada
LD22*	Aveludada	Branca	Vermelha	Estrias concêntricas	Ondulada	Achatada

LD23	Camurça	Branca	-	Estrias concêntricas	Lisa	Lisa e convexa
LD23*	Camurça	Branca	Vermelha	Estrias radiais	Lisa	Achatada
LD26B	Camurça	Centro verde musgo e borda branca	-	Lisa rugosa	Filamentosa	Lisa e côncava
LD27	Camurça	Branca	Salmão	Estrias concêntricas	Ondulada	Lisa e convexa

* fungos com mais tempo no meio de cultura sólido. - ausência de pigmentação no meio de cultura.

Vale ressaltar que os códigos como LD22 e LD23 foram duplicados, pois foi possível a constatação de que as características morfológicas foram alteradas com o passar do tempo, com estas espécies a diferença vista foi em relação à pigmentação do meio, cerca de 10 dias de diferença. Um exemplo nítido desta discrepância na pigmentação foi do isolado LD22 que, como pode ser visto na Figura 4, sofreu alteração na cor, indo desde um salmão (com 4/5 dias) até um vermelho bem escuro (aproximadamente 20 dias).

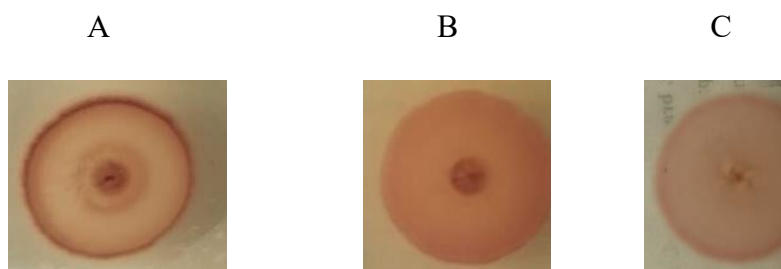


Figura 4 – Foto do fungo filamentoso isolado LD22 em diferentes tempos de incubação. (A) vinte e cinco dias, (B) dezesseis dias e (C) sete dias.

4. CONCLUSÃO

Como resultado foi visualizada a presença de fungos filamentosos nas amostras coletadas de lasca metálica e prego corroído, fungos esses que apresentaram características macromorfológicas distintas. Podendo inferir que esses organismos possuem, provavelmente, ação no processo de corrosão dos materiais analisados. Estes trabalho tras consigo informações sobre um tema muito pouco estudado no país e até mesmo fora dele, criando como perspectiva futura contínuas pesquisas acerca do mesmo, além da realização de possíveis testes para melhor compreensão do papel dos fungos filamentosos durante o processo de biocorrosão, caso exista. Além de pesquisas para que possamos dizer quais são esses fungos que foram isolados e onde mais os encontramos, quais são suas funções principais e o que fungos encontrados em processos como este possuem em comum, suas características e peculiaridades.

REFERÊNCIAS

ALTERTHUM, Flavio et al. **Biotecnologia industrial: volume 1: fundamentos**. 2. São Paulo: Blucher , 2020, 462 p.

LUIZ, NILSON FELIPE COUTINHO. **Biocorrosão: conceito e microrganismos associados**. UEZO, Rio de Janeiro. Julho de 2015.

MARANGONI, PAULO ROBERTO DANTAS. **Caracterização d biofilmes formados em superfícies metálicas e biocorrosão**. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Curitiba, 2010.

MENDES, WANDERSON DE JESUS DE MOURA et al. **Caracterização macromorfológica de fungos filamentosos isolados em Minas Gerais e Espírito Santo**. SICITAL, Diamantina. 2022.

MICHELIN, M. **Potencial dos fungos *Aspergillus terrícola* e *Aspergillus ochraceus* no desenvolvimento de bioprocessos e propriedades das enzimas xilanolíticas**. 2009. 236 f. Tese (Doutorado em Ciências – Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.