

ANDRÉ LUIZ CABRAL MONTEIRO DE AZEVEDO SANTIAGO

**EFEITOS DA SALINIDADE E DA TEMPERATURA NA
GERMINAÇÃO, NO CRESCIMENTO RADIAL E NA MORFOLOGIA
DE *CUNNINGHAMELLA ELEGANS* LENDNER**

**Recife-PE
2003**

ANDRÉ LUIZ CABRAL MONTEIRO DE AZEVEDO SANTIAGO

**EFEITOS DA SALINIDADE E DA TEMPERATURA NA
GERMINAÇÃO, NO CRESCIMENTO RADIAL E NA MORFOLOGIA
DE *CUNNINGHAMELLA ELEGANS* LENDNER**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOLOGIA DE FUNGOS DO CENTRO
DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO, COMO PARTE DOS
REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM BIOLOGIA DE
FUNGOS.

Orientadora: Prof^ª. DR^ª. Galba Maria de Campos Takaki

Co-orientadora: Prof^ª. DR^ª. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti

**Recife-PE
2003**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dr^a. Galba Maria de Campos Takaki (Orientadora)
Núcleo de Ciências Ambientais (UNICAP), Recife, PE

Profa. Dr^a. Neiva Tinti de Oliveira
Departamento de Micologia (UFPE), Recife, PE

Profa. Dr^a. Maria Aparecida de Resende
Departamento de Microbiologia (UFMG), Belo Horizonte, MG

SUPLENTE

Profa. Dr^a. Leonor Costa Maia
Departamento de Micologia (UFPE), Recife, PE

Profa. Dr^a. Aline Elesbão do Nascimento
Núcleo de Ciências Ambientais (UNICAP), Recife, PE

Aos meus pais, Vinícius e Ana, e irmãos, Felipe, Fernanda e Beatriz e a minha noiva Bruna por todo apoio, amor e confiança.

Agradecimentos:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, ao CNPq, CNPq/CTPETRO, FINEP/CTPETRO e à PRONEX pelo apoio financeiro o qual possibilitou a realização deste trabalho.

À Universidade Católica de Pernambuco pelo laboratório e pelo apoio financeiro.

À coordenação e professores do programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos pelo apoio e ensinamentos.

Aos meus pais Vinícius e Ana e irmãos Felipe, Fernanda e Beatriz e a minha noiva Bruna pelo carinho, apoio, confiança e compreensão.

À professora Galba Maria de Campos Takaki pela orientação, apoio e atenção.

À professora Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti pela co-orientação e atenção desde a iniciação científica.

Às professoras Aline Elesbão do Nascimento, Kaoru Okada, Leonie Sarubbo e Alexandra Amorim pelas informações fornecidas para a realização de alguns experimentos.

À professora Clarissa Daisy ao Antônio Patriota pela ajuda com as análises estatísticas.

Aos amigos Ricardo Kenji, Patrícia Mendes, Petrusk Homero, Marcos Lima, Luciana Franco e Mabel Kalina pela agradável convivência no Núcleo de Ciências Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco.

Aos amigos de turma pela ajuda e agradável convivência durante o curso de mestrado.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| AGRADECIMENTOS | 4 |
| LISTA DE FIGURAS | 7 |
| LISTA DE TABELAS | 10 |
| RESUMO | 12 |
| ABSTRACT | 13 |
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 16 |
| 2.1. Classe Zygomycetes | 16 |
| 2.1.1. Gênero <i>Cunninghamella elegans</i> Matruchot 1903 | 17 |
| 2.1.2. <i>Cunninghamella elegans</i> Lendner 1907 | 17 |
| 2.2. Efeitos da salinidade na germinação e no crescimento dos fungos | 18 |
| 2.3. Efeitos da temperatura na germinação e no crescimento dos fungos | 26 |
| 2.4. Efeitos combinados da salinidade e da temperatura na germinação e no crescimento dos fungos | 32 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 36 |
| 3.1. MATERIAIS | 36 |
| 3.1.1. Microrganismo | 36 |
| 3.1.2. Meios de cultura | 36 |
| 3.2. MÉTODOS | 39 |
| 3.2.1. Germinação dos esporângios de <i>Cunninghamella elegans</i> | 39 |
| 3.2.1.1. Preparação do pré-inóculo | 39 |
| 3.2.1.2. Avaliação da germinação | 39 |
| 3.2.1.3. Viabilidade dos esporângios | 40 |

SUMÁRIO (CONTINUAÇÃO)

| | |
|---|----|
| 3.2.2. Crescimento radial de <i>Cunninghamella elegans</i> | 40 |
| 3.2.3. Observação da morfologia de <i>Cunninghamella elegans</i> | 41 |
| 3.2.4. Tratamentos estatísticos | 41 |
| 4. RESULTADOS | 42 |
| 4.1. Influência da salinidade e da temperatura na germinação dos esporangíolos de <i>Cunninghamella elegans</i> | 42 |
| 4.2. Influência da salinidade e da temperatura no crescimento radial de <i>Cunninghamella elegans</i> | 47 |
| 4.3. Influência da salinidade e da temperatura na morfologia de <i>Cunninghamella elegans</i> | 54 |
| 5. DISCUSSÃO | 64 |
| 6. CONCLUSÕES | 71 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 73 |

LISTA DE FIGURAS

PÁG.

- FIGURA 1:** Germinação dos esporangíolos de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl: A. 20°C durante 28 horas de incubação; B. 25°C durante 24 horas de incubação. 45
- FIGURA 2:** Germinação dos esporangíolos de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl: A. 30°C durante 28 horas de incubação; D. 35°C durante 24 horas de incubação. 46
- FIGURA 3:** Crescimento radial de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl incubado à 20°C. 49
- FIGURA 4:** Crescimento radial de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado 2, 4, 6 e 8% de NaCl incubado à 25°C durante 72 horas. 50
- FIGURA 5:** Crescimento radial de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson adicionado de 0, 2, 4, 6 e 8% de NaCl e incubados à 30°C durante 72 horas. 51
- FIGURA 6:** Crescimento radial de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson adicionado de 0, 2, 4, 6 e 8% de NaCl e incubado à 35°C durante 120 horas. 52

LISTA DE FIGURAS (CONTINUAÇÃO)

| | PÁG. |
|--|------|
| FIGURA 7: Aspecto morfológico macroscópico de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) à 30°C: A. Meio controle (sem NaCl); B. Meio com 2% de NaCl; C. Meio com 4% de NaCl; D. Meio com 6% de NaCl; E. Meio com 8% de NaCl (40 X). | 53 |
| FIGURA 8: Padrão de ramificação das hifas de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) incubado à 30°C: A. Meio controle (sem NaCl); B. Meio com 2% de NaCl; C. Meio com 4% de NaCl; D. Meio com 6% de NaCl; E. Meio com 8% de NaCl (20 X). | 57 |
| FIGURA 9: Clamidosporos de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) incubado à 20°C: A. Meio com 6% de NaCl; B. Meio com 8% de NaCl (40X). | 58 |
| FIGURA 10: Variações morfológicas dos esporângios de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl incubado à 20°C. | 59 |
| FIGURA 11: Variações morfológicas dos esporângios de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl incubado à 25°C. | 60 |
| FIGURA 12: Tamanho médio dos esporângios de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl incubado à 30°C. | 61 |

LISTA DE FIGURAS (CONTINUAÇÃO)

PÁG.

- FIGURA 13:** Variações morfológicas dos esporangíolos de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl incubado à 35°C. 62
- FIGURA 14:** Esporangíolos de *Cunninghamella elegans* em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) incubado à 20°C: A. Meio controle (0% de NaCl); B. Meio com 2% de NaCl; C. Meio com 4% de NaCl; D. Meio com 6% de NaCl; E. Meio com 8% de NaCl. 63

| LISTA DE TABELAS | PÁG. |
|--|-------------|
| TABELA 1: Médias e porcentagens do crescimento radial (cm) de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio Hesseltine & Anderson controle e nas concentrações de 2, 4, 6 e 8% de cloreto de sódio incubada à 20°C durante 214 horas. | 49 |
| TABELA 2: Médias e porcentagens do crescimento radial (cm) de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio Hesseltine & Anderson controle e nas concentrações de 2, 4, 6 e 8% de cloreto de sódio incubada à 25°C durante 72 horas. | 50 |
| TABELA 3: Médias e porcentagens do crescimento radial (cm) de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio Hesseltine & Anderson controle e nas concentrações de 2, 4, 6 e 8% de cloreto de sódio incubada à 30°C durante 72 horas. | 51 |
| TABELA 4: Médias e porcentagens do crescimento radial (cm) de <i>Cunninghamella elegans</i> em meio Hesseltine & Anderson controle e nas concentrações de 2, 4, 6 e 8% de cloreto de sódio incubada à 35°C durante 120 horas. | 52 |
| TABELA 5: Tamanho médio dos esporangiólos de <i>C. elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl à 20°C. | 59 |
| TABELA 6: Tamanho médio dos esporangiólos de <i>C. elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl à 25°C. | 60 |

| LISTA DE TABELAS (CONTINUAÇÃO) | PÁG. |
|---|-------------|
| TABELA 7: Tamanho médio dos esporangíolos de <i>C. elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl à 30°C. | 61 |
| TABELA 8: Tamanho médio dos esporangíolos de <i>C. elegans</i> em meio de cultura Hesseltine & Anderson (1957) controle e adicionado de 2, 4, 6 e 8% de NaCl à 35°C. | 62 |

RESUMO

Estudos foram realizados sobre a influência da salinidade (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12% de NaCl) e temperaturas (20, 25, 30 e 35°C) na germinação dos esporângios, no crescimento radial e na morfofisiologia de *Cunninghamella elegans* isolada de sedimentos de mangue. A germinação e o crescimento radial foram realizados no meio Hesseltine & Anderson, modificado pela adição de diferentes concentrações de NaCl, incubadas sob distintas temperaturas. As análises morfológicas foram realizadas acompanhando as alterações na forma e tamanho dos esporângios no microscópio de luz. Observou-se que a elevação da salinidade retardou a emissão do tubo germinativo dos esporângios e reduziu o crescimento radial de *C. elegans*. A germinação e o crescimento foram também influenciados pela temperatura, sendo as temperaturas de 35°C e 30°C ótimas para germinação e crescimento, respectivamente. Observou-se um perfil distinto para o crescimento de *C. elegans* à 35°C, verificando-se um comportamento halofílico, com crescimento superior nos meios contendo 2 e 4% de NaCl quando comparado ao controle (0% de NaCl). Com a elevação da salinidade os esporângios tornaram-se em sua maioria elipsóides e de tamanhos aumentados em relação ao controle, onde os mesmos apresentaram-se em maior parte globosos. Os resultados sugerem que *C. elegans* apresenta comportamento halotolerante e/ou halofílico, possivelmente por ser proveniente de estuário, sendo as alterações morfológicas possivelmente mediadas pelo aumento da permeabilidade celular nas diferentes concentrações salinas.

Palavras-chave: *Cunninghamella elegans*, estuário, salinidade, temperatura.

ABSTRACT

Influence of salinity (0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12%) and temperature (20, 25, 30 and 35°C) on esporangiole germination, radial growth and morphophysiology of *Cunninghamella elegans* isolated from mangrove sediments have been studied. The germination and radial growth were made in Hesseltine & Anderson media changed by different concentrations of NaCl in several temperatures. The morphological analysis were made by accompanying the alterations in shape and size of sporangioles in light microscope. The increase of salinity has retarded the emission of the germ tubes of sporangioles and has decreased the radial growth of *C. elegans*. The germination and radial growth were also affected by temperature, being 35°C and 30°C optima to germination and growth, respectively. It was observed a distinct profile for growth of *C. elegans* at 35°C, which showed a halophilic behavior, with higher growth in 2 and 4% of NaCl media than the control. With the elevation of salinity, the esporangioles have become ellipsoidal in majority, and with higher size in relation to control, in which these cellules were mostly globose. These results have suggested that *C. elegans* shows a halotolerant/halophilic behavior, possibly by its origin from estuary, and these morphological alterations were probably caused by increase of cellular permeability in different saline concentrations.

Key words - *Cunninghamella elegans*, estuary, salinity, temperature