

Universidade de São Paulo
Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Microbiologia

Características gerais dos fungos



Profa. Kelly Ishida

E-mail: ishidakelly@usp.br

Atualmente...

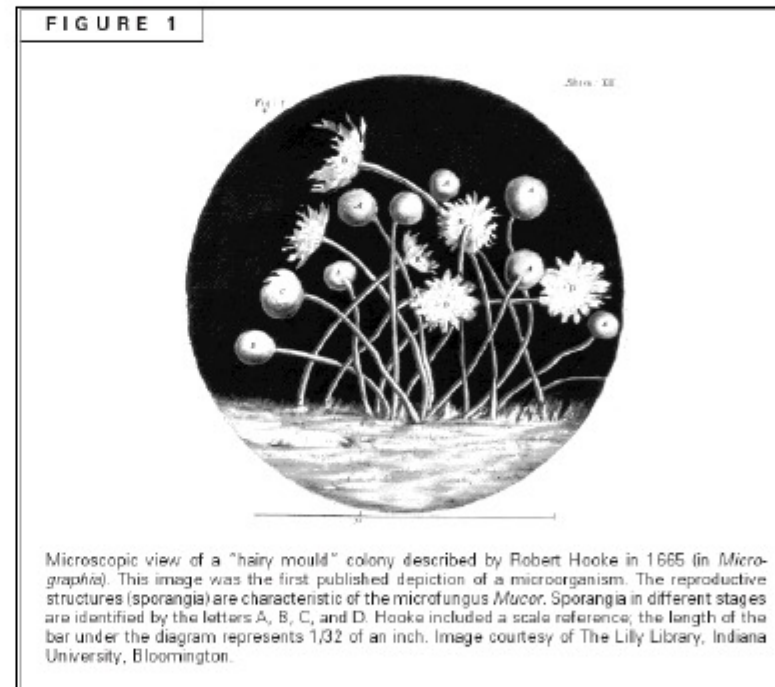
1,5 milhão de espécies Fungos

75.000 (5%) espécies foram descritos

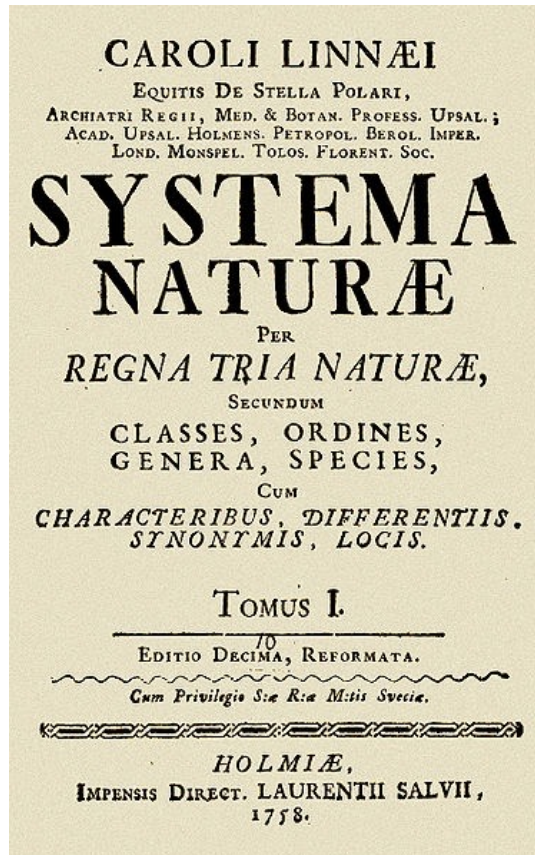
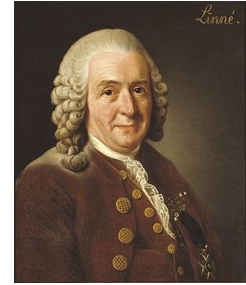
Robert Hooke (1665)

Primeira descrição
publicada de um
microorganismo

“hairy molds”.



Carolus Linnaeus (1707-1778)



Considerado o PAI DA TAXONOMIA MODERNA

De acordo com Linnaeus os seres vivos podiam ser classificados em 2 reinos: **vegetal e animal.**

Sistema hierárquico: classe, ordem, gênero, espécie e variedade.

Foi primeiro a utilizar o sistema binomial de classificação

1958 – aplicação da Nomenclatura binomial

13 Edições: 1ª. (1935) – 10 p.

13ª. (1970) – 3000 p.

Haeckel (1866)

- Haeckel apresentou um esquema que seria conhecido como a **árvore da vida**
- Classificam os seres vivos em 3 reinos: Animalia, Protista, Plantae.
- Reino Protista: para classificar "animais" e "vegetais" unicelulares.
- Neste momento, os Fungos pertenciam ao Reino Plantae

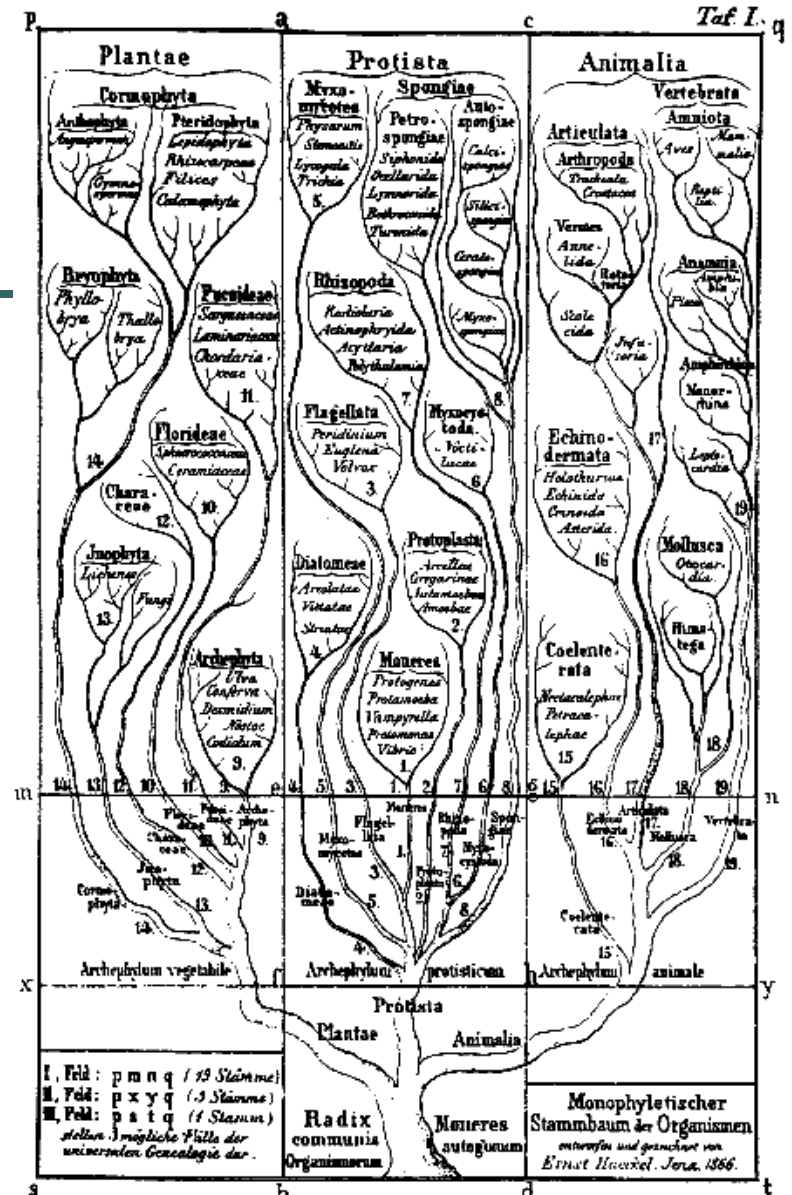


FIG. 1. Haeckel's phylogenetic tree of 1866 (76).

- A partir de 1969, reclassificação:

- Ausência de clorofila → Heterotróficos
 - Nutrição por absorção
 - Não possuem movimento próprio
- Parede celular de quitina e não de celulose
 - Armazenam glicogênio

Whittaker (1969)

Whittaker propôs dividir os seres vivos em **5 reinos**, separados, principalmente, pelas características morfológicas e fisiológicas

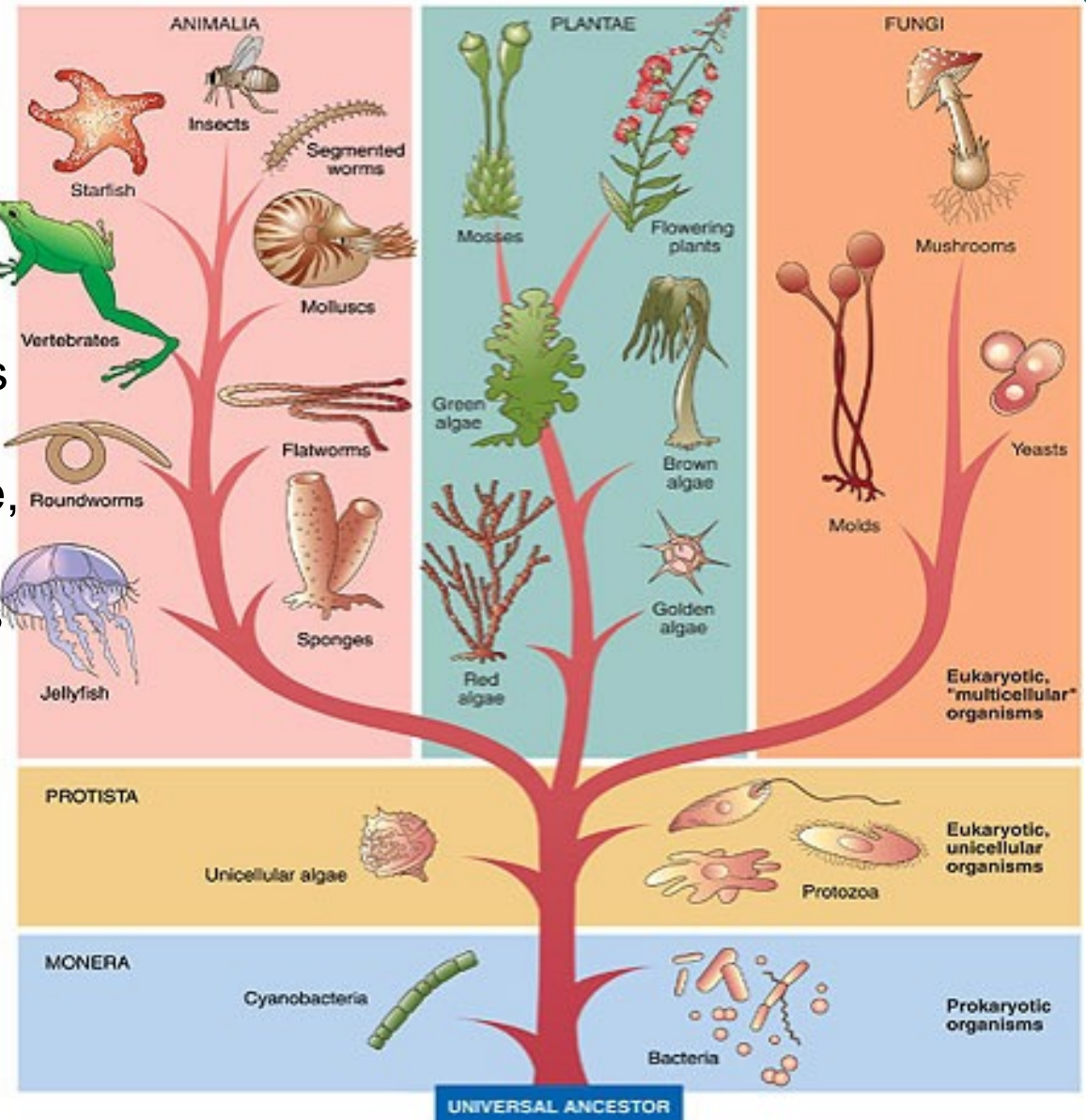
Monera: Procariotos

Protista: Eucariotos

Plantae: Vegetais

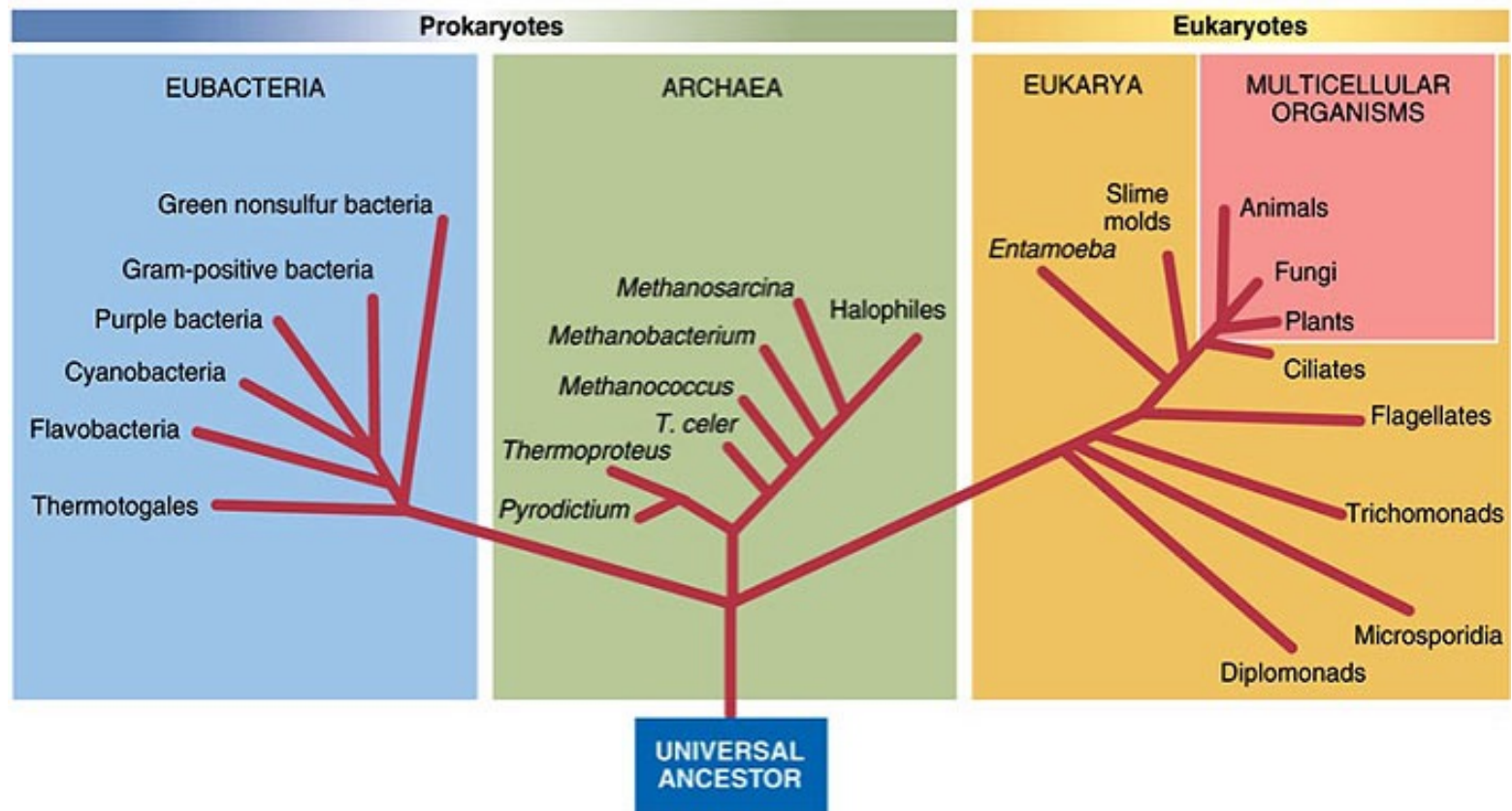
Fungi: Aclorofilados

Animalia: Animais

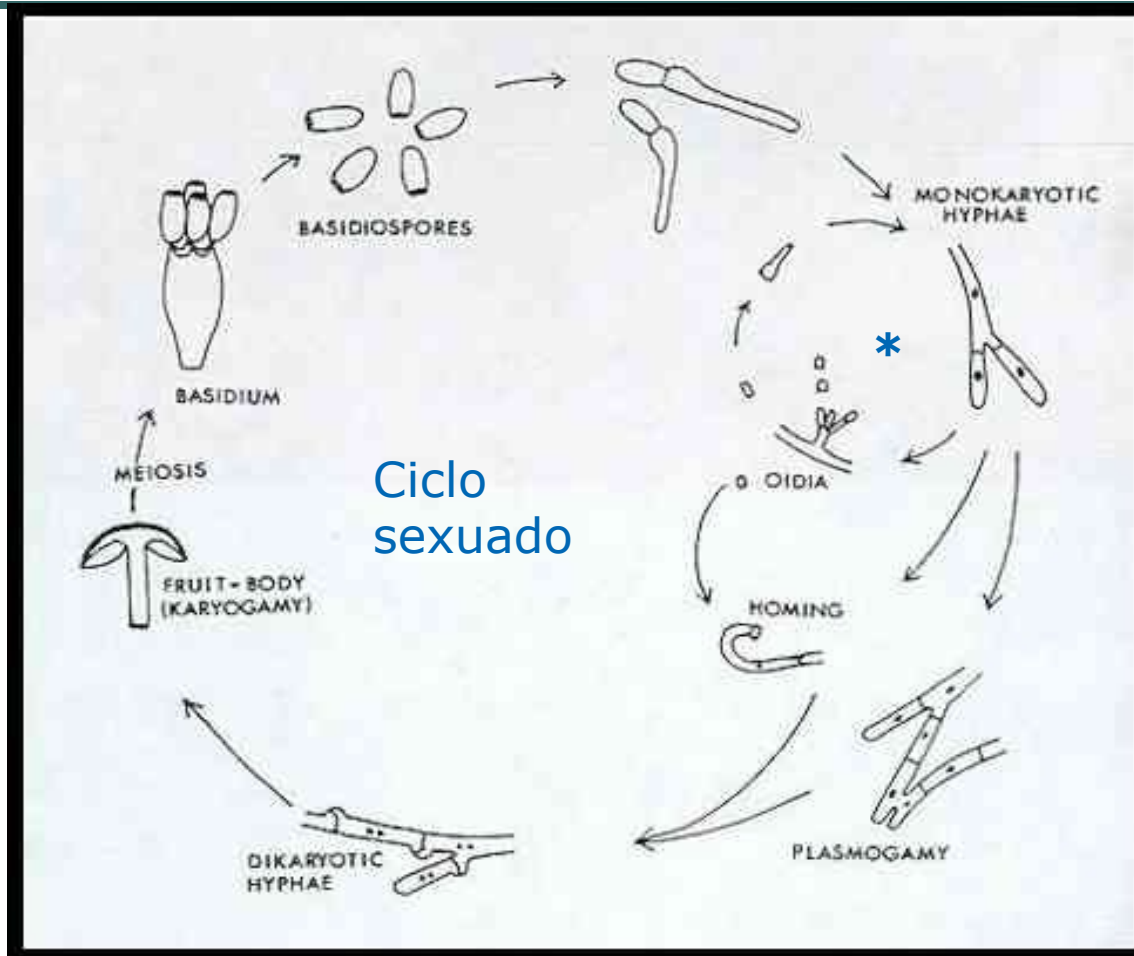


Carl Woese (1977): Domínio dos seres vivos

Aspectos Filogenéticos - Baseada no DNAríbossômico 16S



Ciclo de vida dos fungos



* Ciclo assexuado

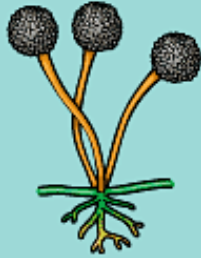
Filos

Chytrids



Chytridiomycota

Zygoete fungi



Zygomycota

Sac fungi



Ascomycota

Club fungi



Basidiomycota

Loss of flagella

Importância dos fungos

- **Ambiental**

Decompositores e reciclam matéria orgânica –
degradação de celulose e lignina



Indústria alimentícia



Processo de fermentação

Cogumelos Comestíveis:

Sem toxicidade e com Alto Valor Proteico



Valores comparativos das quantidades mínimas e máximas de nutrientes encontradas em 100g de Cogumelo (base úmida) e valores de Ingestão Diária Recomendada e valores diário de referência.

Nutriente	IDR	valor máximo em 100g de cogumelo	valor mínimo em 100g de cogumelo	Faixa de % da IDR
B1 (1)	1,2 mg	0,08 mg	0,004 mg	0,3 - 6,6
B2 (1)	1,3 mg	0,30 mg	0,04 mg	3,1 - 23,1
Ácido fólico (1)	400 ug	1014 mg*	658 mg*	164 - 253
Fósforo (2)	700 mg	113 mg	89 mg	12,7 - 16,1
Vitamina C (1)	45 mg	7,2 mg	6,3 mg	14 - 16
	VDR			Faixa da % VDR
Proteína (3)	75 g	2,3 g	1,6 g	2,1 - 3,0
Fibra Alimentar (3)	25 g	3,9 g	1,5 g	6,0 - 15,6

IDR- Ingestao Diaria Recomendada

VDR- Valor Diario de referencia (RDC no 360.23/12/2003, ANVISA)

(1) Human Vitaminum and Mineral Requirements, report 7º Joint FAO/OMS Expert Consultation Bangkok, Thailand (2001).

(2) Dietary Reference Intake, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. 1999- 2001

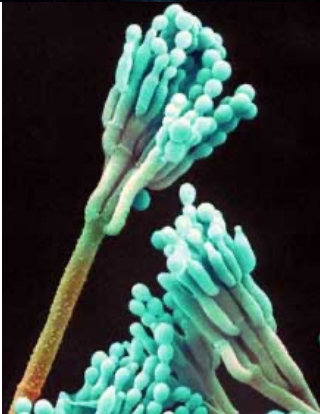
(3) FAO/OMS- Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical Report Series 916 Geneva, 2003

* Folato Total

>30 espécies cogumelos - cultivados

Indústria farmacêutica

produtores de antimicrobianos (penicilina), imunossupressores (ciclosporina) e hormônios (esteróide)



Penicillium chrysogenum

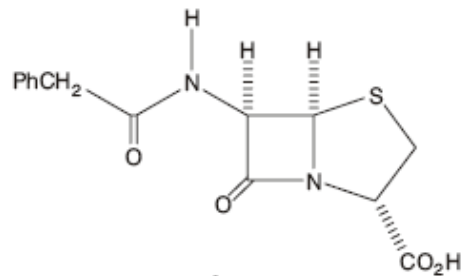
1928 - Alexander Fleming - Escocês
Biólogo e Farmacologista

Howard Walter Florey – Australiano
Farmacologista e Patologista

1945 - Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia
Descoberta da Penicilina

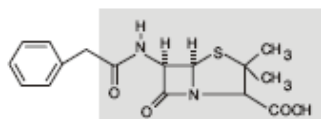
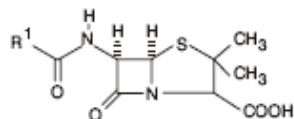


Estrutura da Penicilina

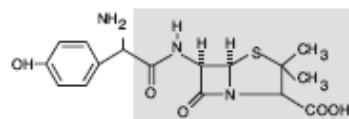


Anel β -lactâmico

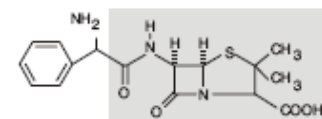
Penicilina



Benzilpenicilina

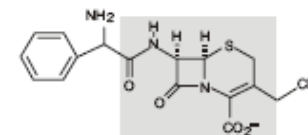
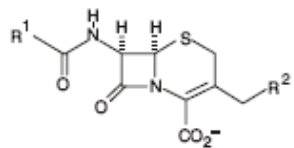


Amoxicilina

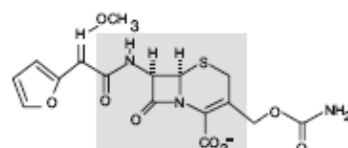


Ampicilina

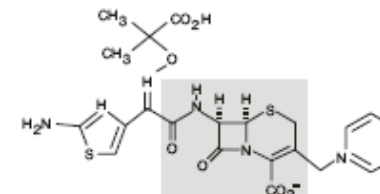
Cefalosporina



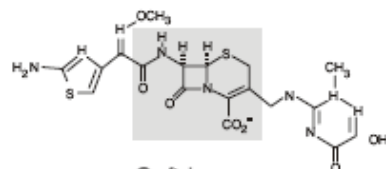
Cefaclor



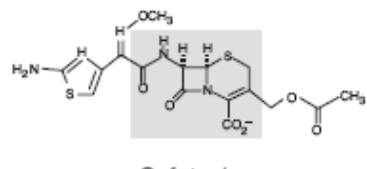
Cefuroxima



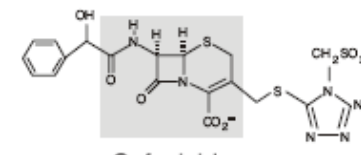
Ceftazidima



Ceftriaxona



Cefotaxima



Cefonicida

Figura 1 - Estrutura do anel beta-lactâmico e antibióticos que contêm este anel em sua estrutura³⁸

Produtores de toxinas (Ex. aflotoxina de *Aspergillus* sp.) – carcinogênicos



Amendoim, milho soja cevada e outros...

Aspergillus, Fusarium

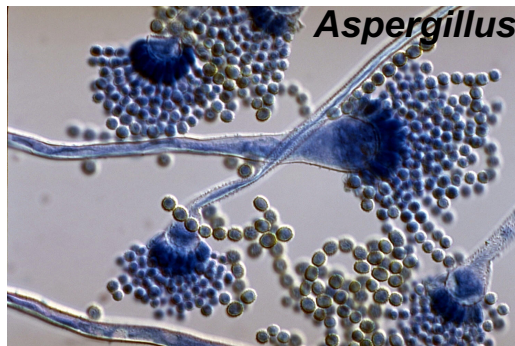
Aflatoxina

Ocratoxina A

Tricotecenos

Zearalenona

Fumonisina



Alcinógenos

Amanita muscaria

Psilocybe spp.

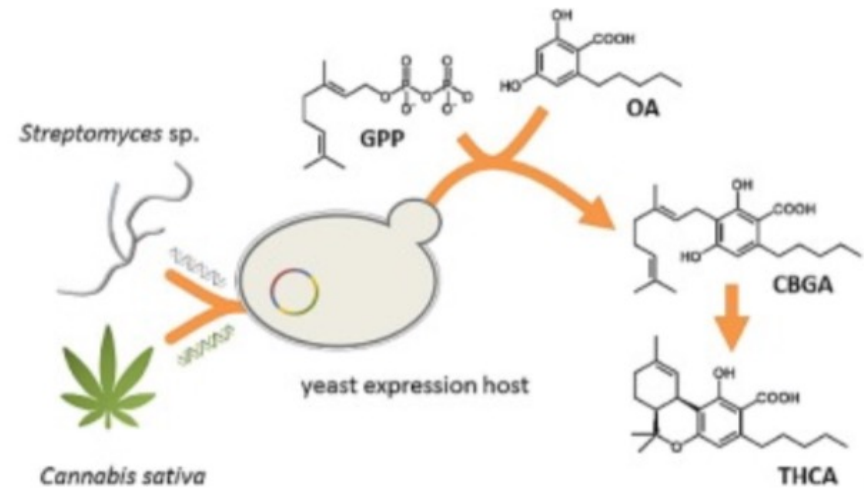


Aplicação biotecnológica

-Produção de biodiesel
primeira e segunda geração

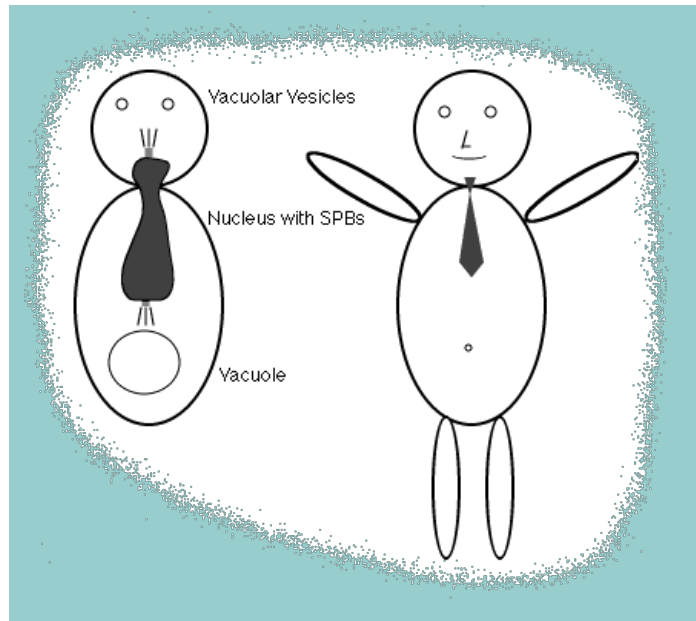
-Proteínas humanizadas

-Leveduras “breaking bad”
 Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid (THCA)
Tratamento da dor, esclerose múltipla,
diminuição da pressão ocular

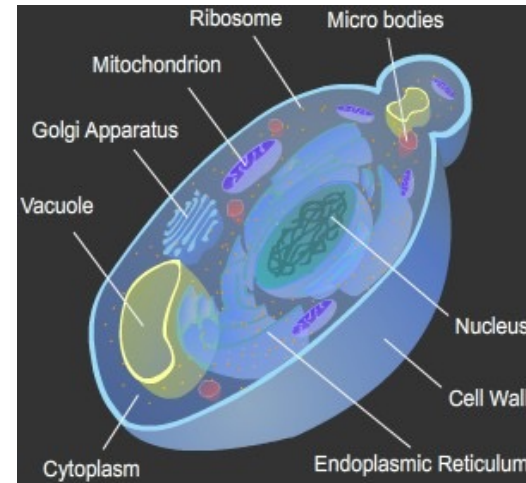


Zierpel et al. Engineering yeasts as platform organisms for cannabinoid biosynthesis. *J Biotechnol.* 10;259:204-212, 2017.

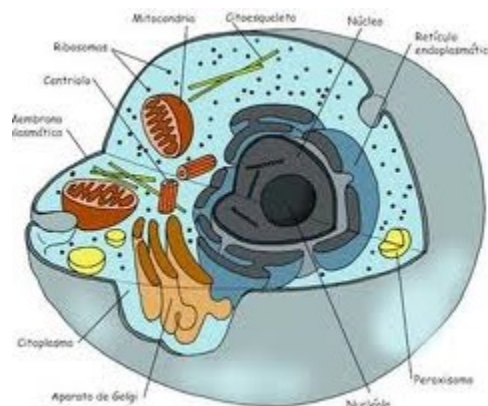
Modelos para estudo celular, molecular e genéticos dos seres eucariotos



Ex. *Saccharomyces cerevisiae*



Célula
fúngica



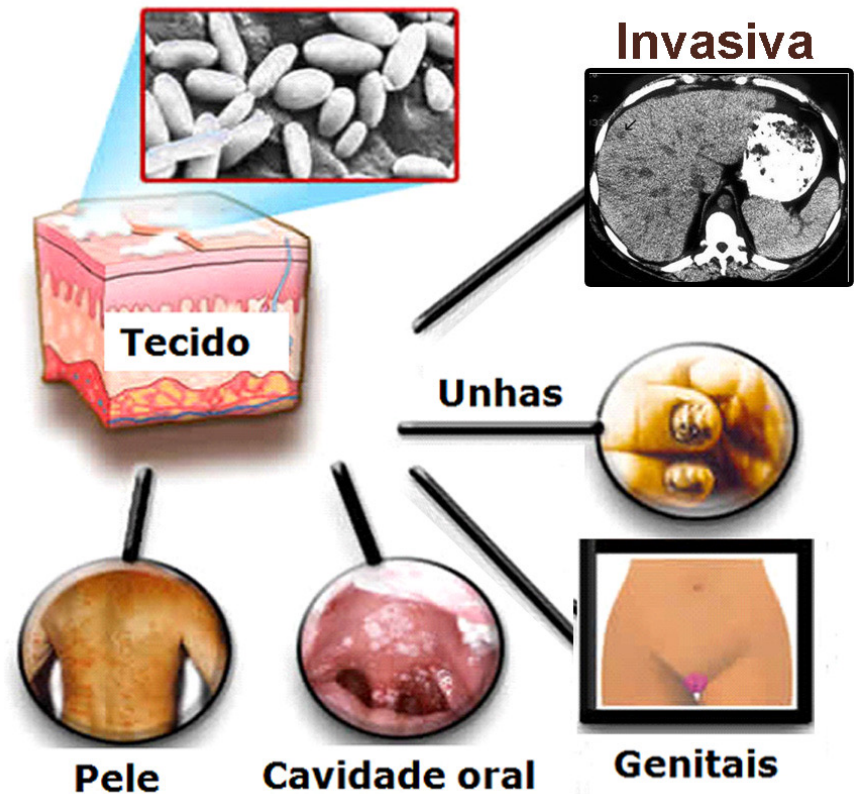
Célula
animal

Doenças em plantas e animais

Fitopatógeno: pode causar prejuízos na agricultura



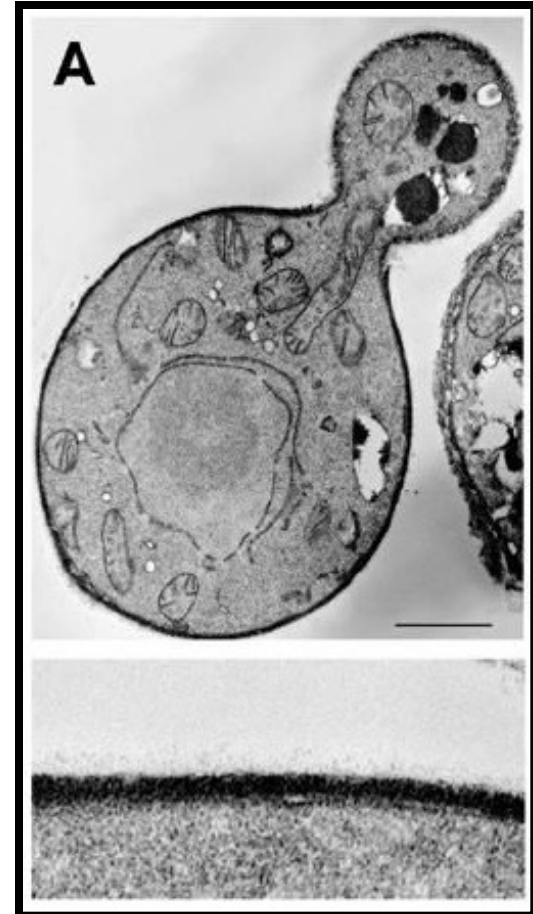
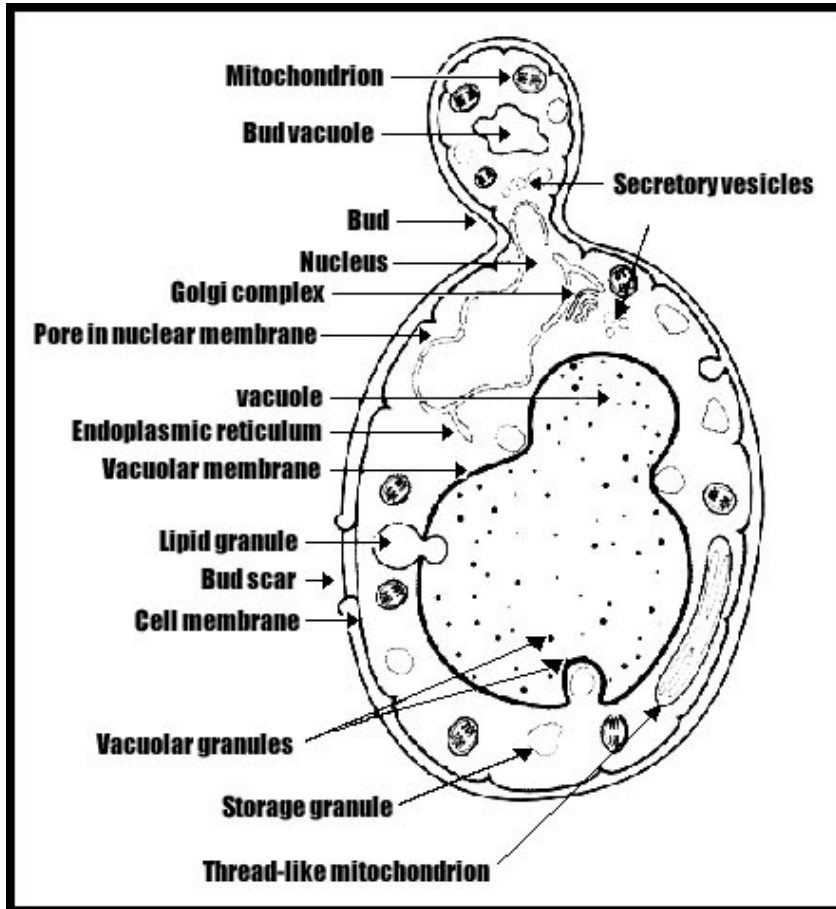
Causadores de micoses em animais



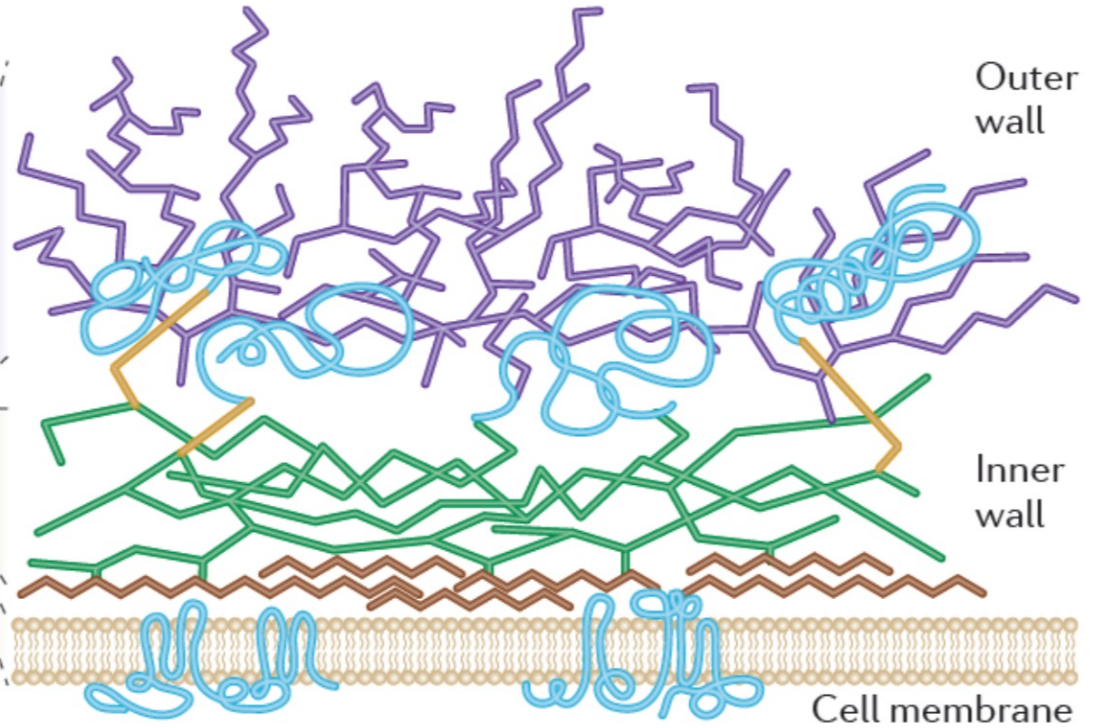
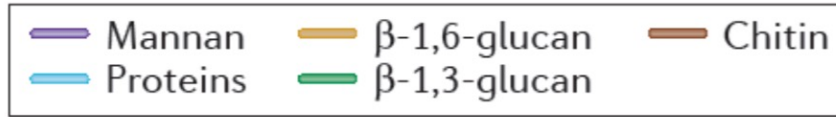
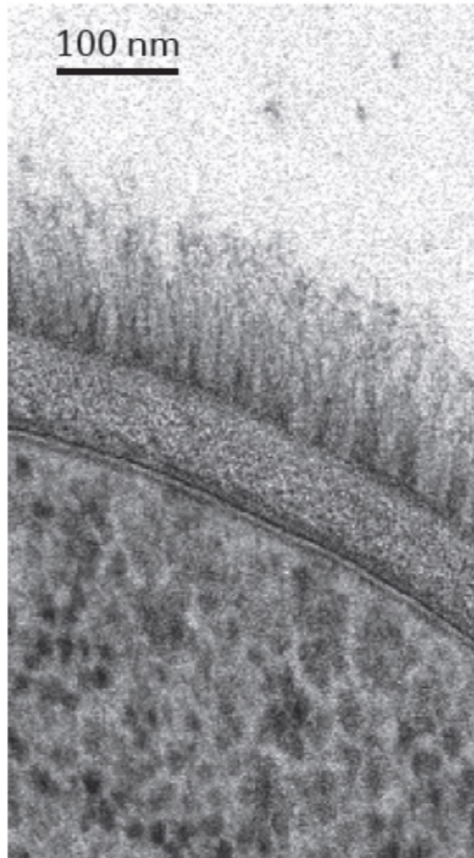
Características gerais dos fungos

- Eucariotos
- Quimioheterotróficos - necessitam de matéria orgânica para obtenção de energia
- Nutrição por absorção
- Armazenamento de energia: glicogênio, manitol, trealose e alcoóis
- Parede celular de quitina e glucanas
- Na maioria, são seres haplóides
- Podem se apresentar: Levedura ou hifas
- Pode ter ciclo assexuada e sexuado

A célula fúngica



Parede celular

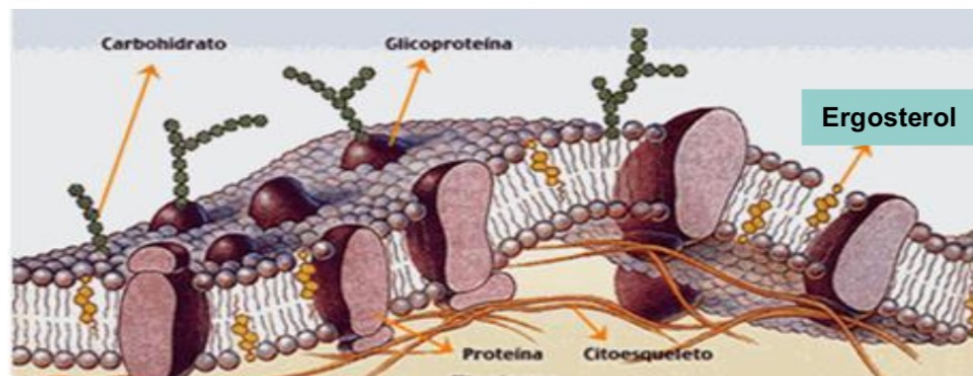


Quitina: 1 - 2%
Glucana: 50 - 60%
Proteína: 30 - 50%

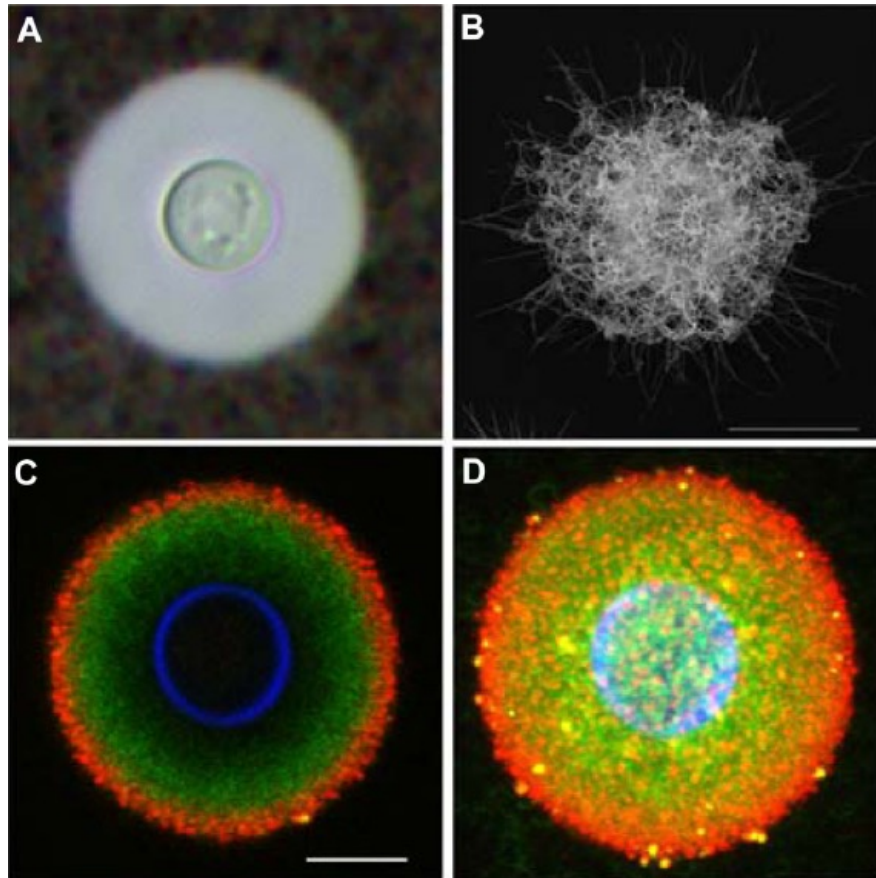
} peso seco da parede

Membrana citoplasmática

- Bicamada lipídica com proteínas transmembranas associadas,
- Controla entrada de nutrientes/substâncias (permeabilidade seletiva)
- Ancoram importantes enzimas: glucana sintase e quitina sintase
- Transdução de sinais do meio externo para a célula
- **Ergosterol** como principal esteroide de membrana de fungos
 - Vital para a sobrevivência dos fungos – principal alvo dos agentes antifúngicos

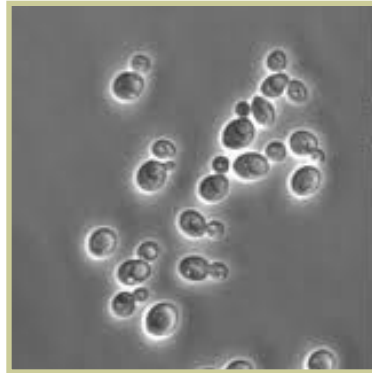


Cápsula mucopolissacarídica *Cryptococcus* spp.



Morfologia – organização fúngica

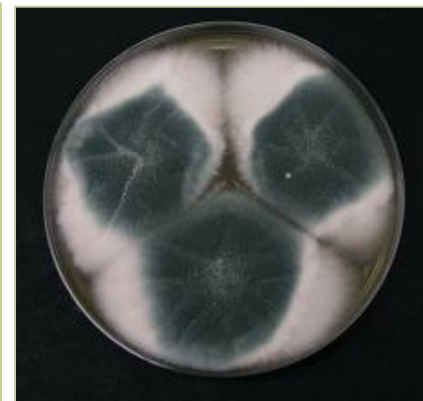
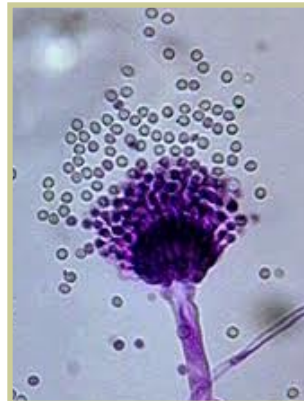
- Unicelulares → fungos leveduriformes



- Pluricelulares → fungos filamentosos (“bolor”)

Hifa – unidade básica do fungo

Micélio – conjunto de hifas



Leveduras...

Característica macroscópica

Coloração e Consistência



FORM



Punctiform



Circular



Filamentous



Irregular



Rhizoid



Spindle

ELEVATION



Flat



Raised



Convex



Pulvinate



Umboate

MARGIN



Entire



Undulate



Lobate



Erose



Filamentous

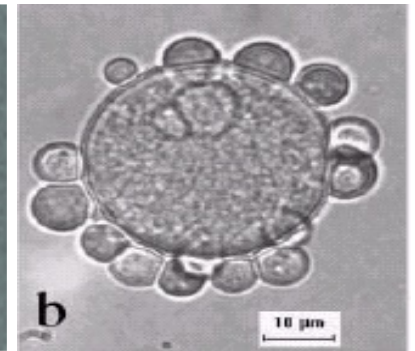
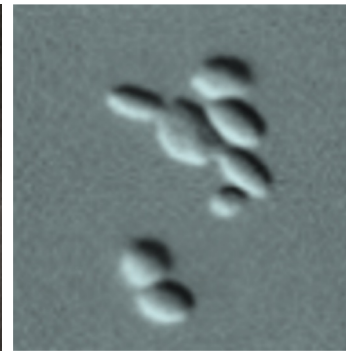
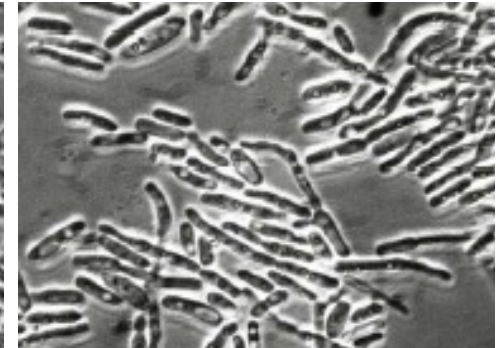
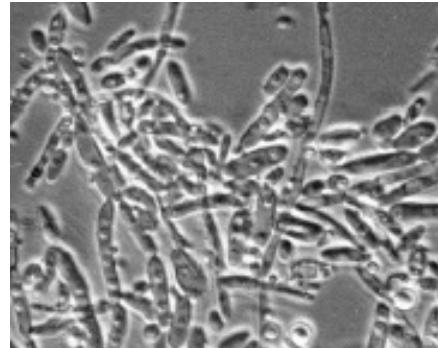
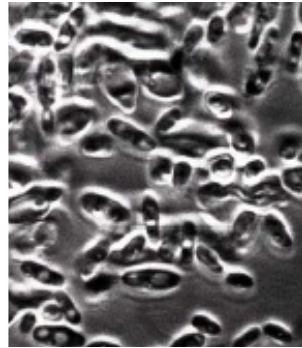
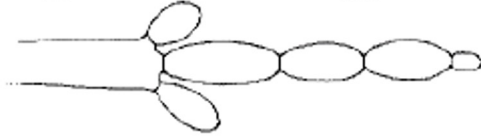


Curled

Forma, superfície, margem, coloração, aspecto (seco, úmido),
Tamanho – dependem do tempo de incubação, meio e temperatura

Leveduras...

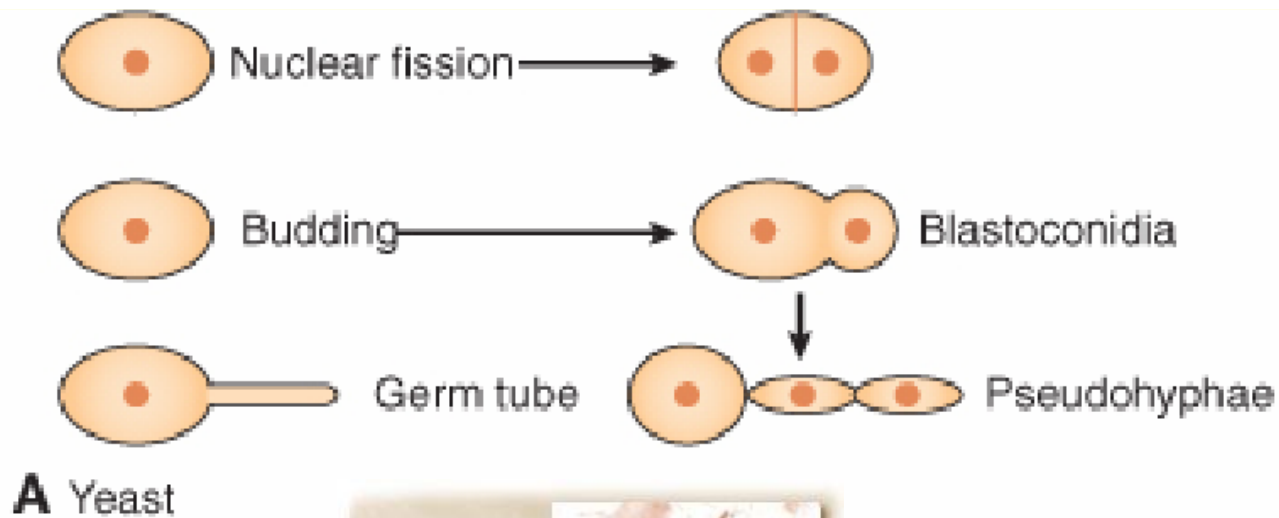
Característica microscópica



Leveduras...

Reprodução assexuada – Formação Blástica

Brotamento / fissão binária



Fungos Filamentosos...

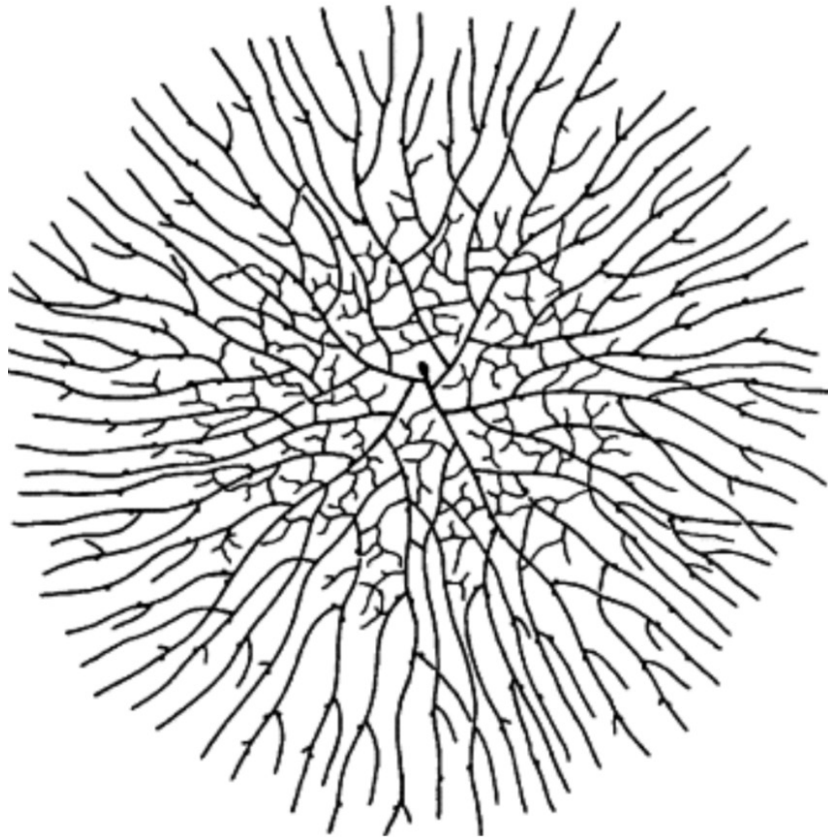
Característica macroscópica



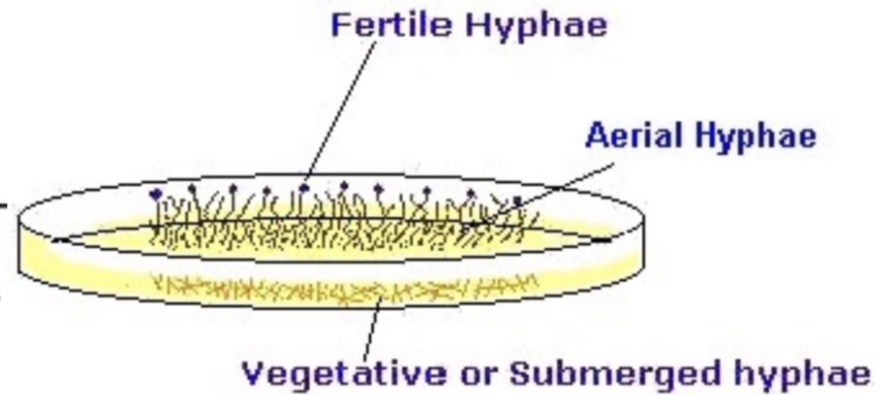
K. Nishimura

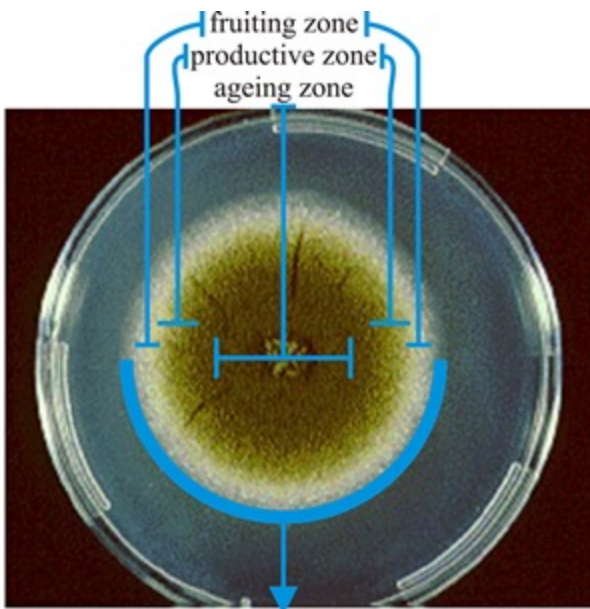
Forma, superfície, margem, coloração verso e reverso, aspecto (seco, úmido), tamanho – dependem do tempo de incubação, meio e temperatura

Crescimento radial

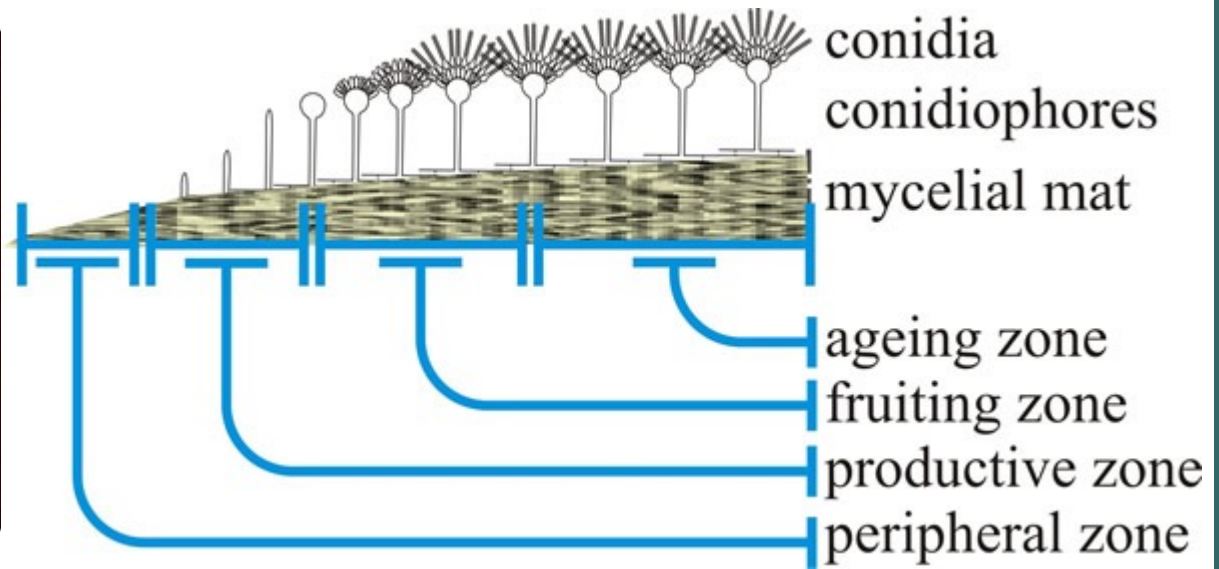


Tipos de hifas





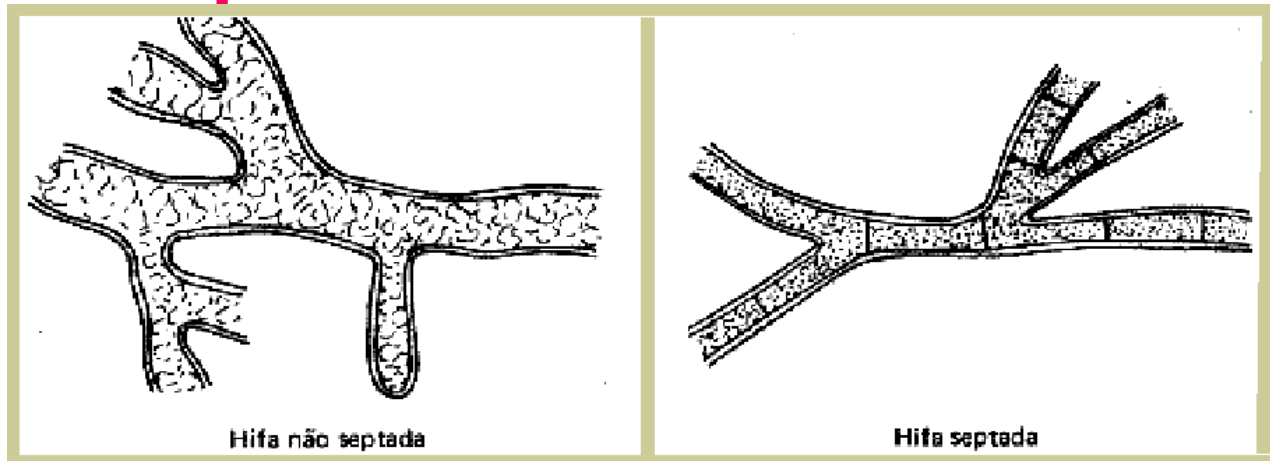
Exponential growth is limited to the peripheral growth zone, which is the width of the colony margin that contributes to growth



Fungos Filamentosos...

Característica microscópica

- Micélio {
 - Vegetativa**
 - Reprodutiva**

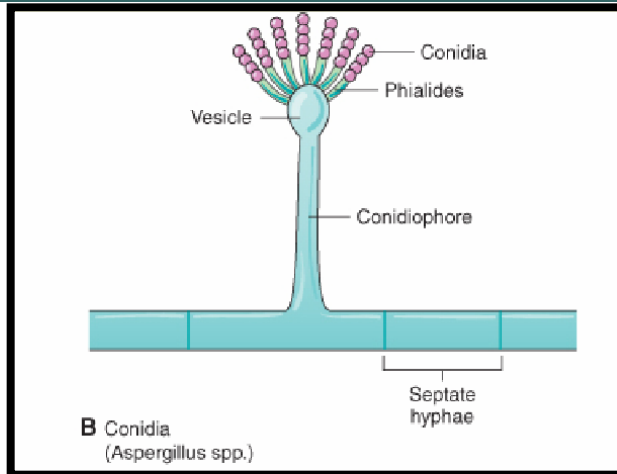


- Não-septadas /Contínuas
- Septadas/cenocíticas
- Hialino X Demáceo
- Espessa X Delgada

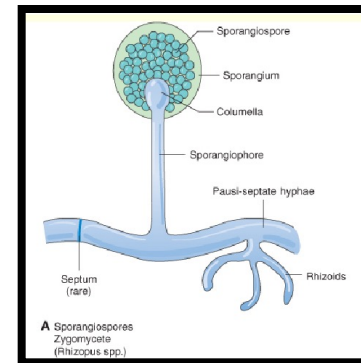
Fungos Filamentosos...

Reprodução assexuada – Hifa reprodutiva

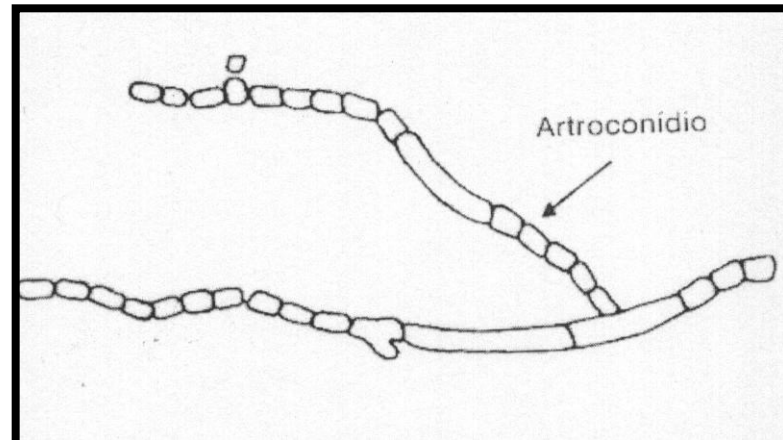
- Formação Blástica



- Formação de Esporângios

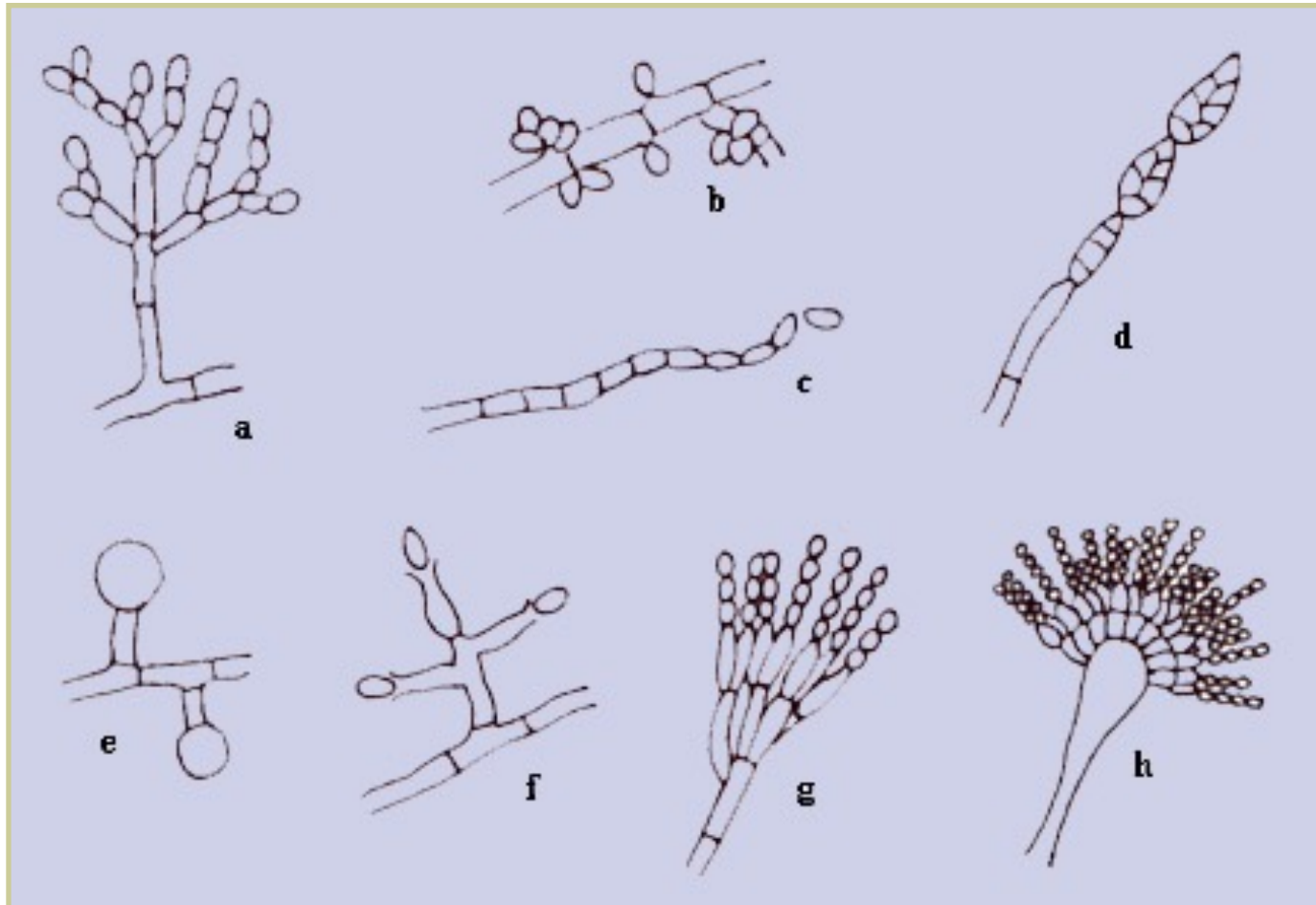


- Formação Tálica
Artroconídios



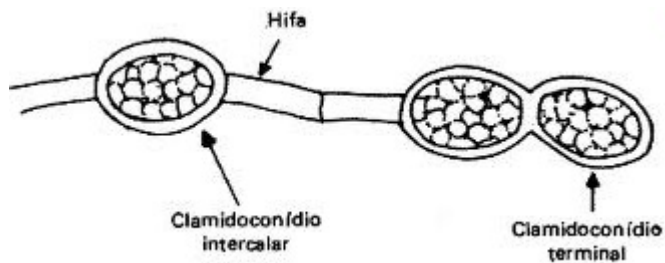
Fungos Filamentosos...

Estruturas de reprodução assexuada



Outras estruturas fúngicas

Reprodução Assexuada



Parede celular espessa
Reserva de nutrientes
Metabolismo lento
Estrutura de resistência

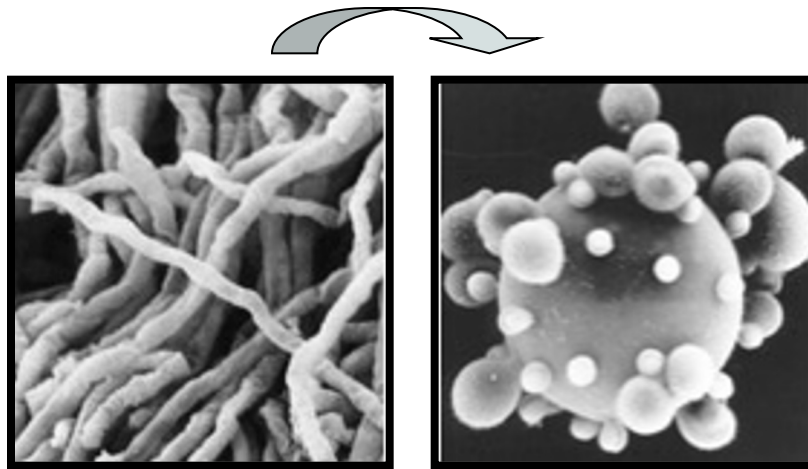


Clámidio – *C. albicans*

Dimorfismo térmico

Capacidade de um fungo em possuir duas formas distintas dependendo das condições ambientais.

Importante na patogênese do fungo



25-28 °C

saprofítico

37 °C

patogênico

***Paracoccidioides
brasiliensis***

***Blastomyces
dermatitidis***

Histoplasma capsulatum

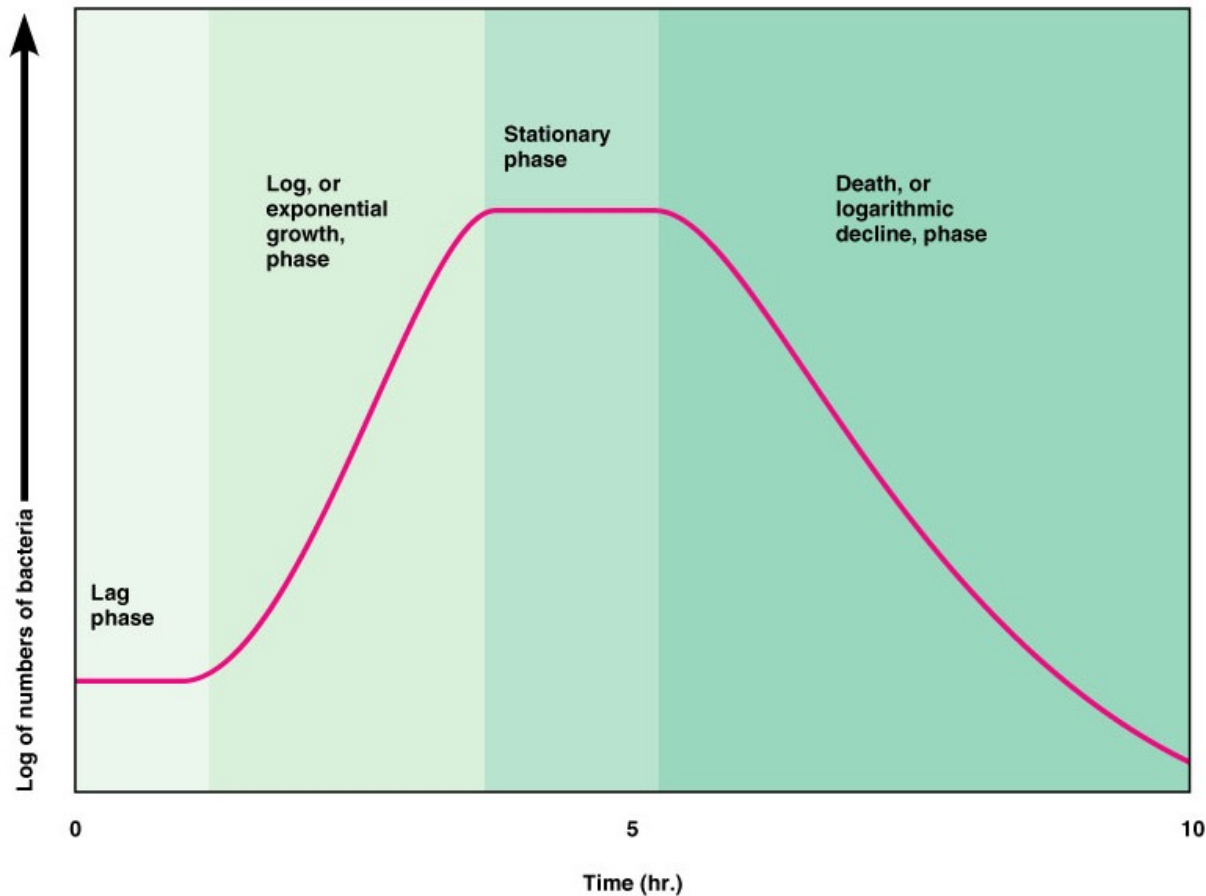
Coccidioides immitis

Sporothrix schenkii

Penicillium marneffe

Principal fator regulador do dimorfismo: TEMPERATURA

Curva de crescimento fúngico



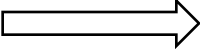
Umidade
Nutrientes

Cinética de crescimento fúngico

- Crescimento – aumento balanceado do no. de células/biomassa com o tempo
- Taxa de crescimento durante o crescimento exponencial é chamada de taxa de crescimento específico (μ)
- $\mu = [(\log_{10} N_t - \log_{10} N_0) / t - t_0] \times 2,303$
 - N - nº células/biomassa
- Tempo de geração = $\log_e 2 / \mu$

Condições ambientais para o crescimento fúngico

● Temperatura

- Psicotolerante - abaixo de 5 °C
- Psicrófilo - 5–20 °C
- **Mesófilo - 20–30 °C** 
- Termófilo - 30–50 °C

Fungos de importância médica

Mudança na temperatura leva alteração da composição, principalmente, de lipídios.

Fungos que crescem a 60–65 °C

T °C mín. depende das propriedades físico-químicas do sistema solvente aquoso

pH

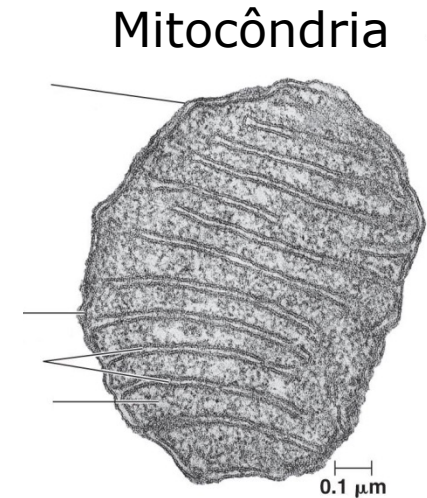
- Variável (1,5-11)
- pH ótimo: 5-7
- Muitos fungos são ácidos tolerantes
 - Possui alta capacidade tamponante:
 - Bombas de prótons
 - Troca de material entre o citosol e os vacúolos (conteúdo ácido)
 - Interconversão de açúcares e polióis com manitol, que envolve o sequestro e a liberação de H⁺

● Oxigênio

- Aeróbios obrigatórios (a maioria)
 - Aeróbios facultativos
-
- Obrigatoriamente fermentativo
 - Obrigatoriamente anaeróbio
 - Intolerância ao O₂: formação de espécies reativa de O₂ – toxico!!!

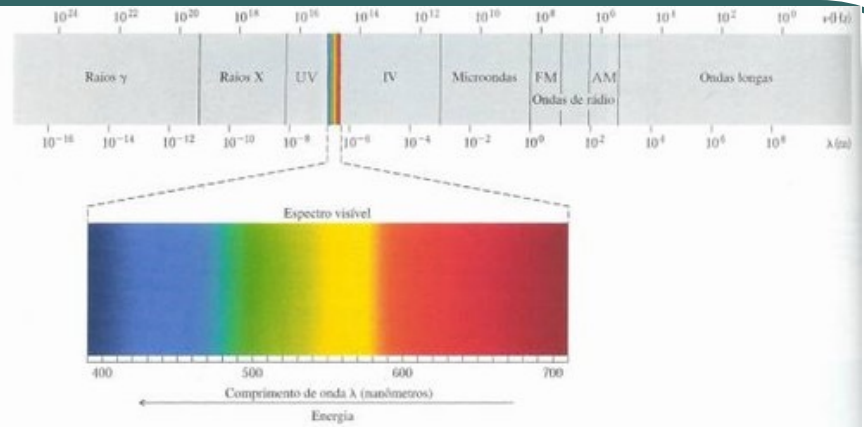
- Os aeróbios possuem sistemas enzimáticos que evitam essa formação (superóxido redutase e catalase).

- Fermentação ácida: ác. fórmico, ác.lático, etanol CO₂ e H₂O.



● CO₂

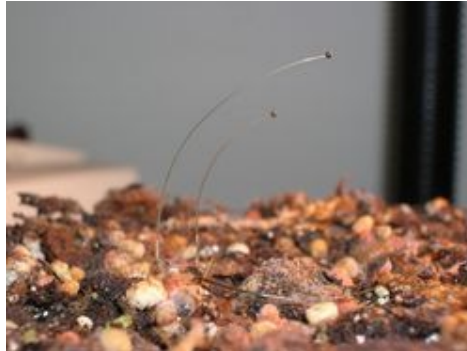
- Necessários para as reações de carboxilação – síntese de ácidos graxos
- Em altas concentrações – inibe o crescimento
- Deve agitar bem o sistema para que o O₂ se difunda pelo meio, já que o CO₂ difunde muito mais rápido no meio
- CO₂ também é importante na diferenciação celular – Ex. dimorfismo de *P. brasiliensis* e *C. albicans*



● Luz

- Visível (380-720 nm)
 - não afeta no crescimento, pode estimular a pigmentação
- Luz azul – produção de carotenóides
- A luz tem efeito na diferenciação do fungo – reprodução sexual ou assexual
- Fototropismos de Zygomycota e Ascomycota

Phycomyces spp.



● Água

- Todos necessitam de água para a absorção de nutrientes
- Excassez: o fungo responde gerando baixo potencial osmótico interno, acumulando íons e derivados de açúcares (glicerol). Altera a fluidez de membrana (↑lipídios saturados). Pode formar esporos.
- Os esporos necessitam de água para germinarem

ALIMENTOS	% H₂O
<i>FRUTAS:</i> Laranja	90
Melancia	95
Banana	75
Morango	90
Abacate	70
<i>VEGETAIS:</i> Brócolis	85
Cenoura	85
Alface	95
Repolho	90
Batata	80
CARNE	50-75
PEIXE	70-80
LEITE	85-90
OVO	70-75

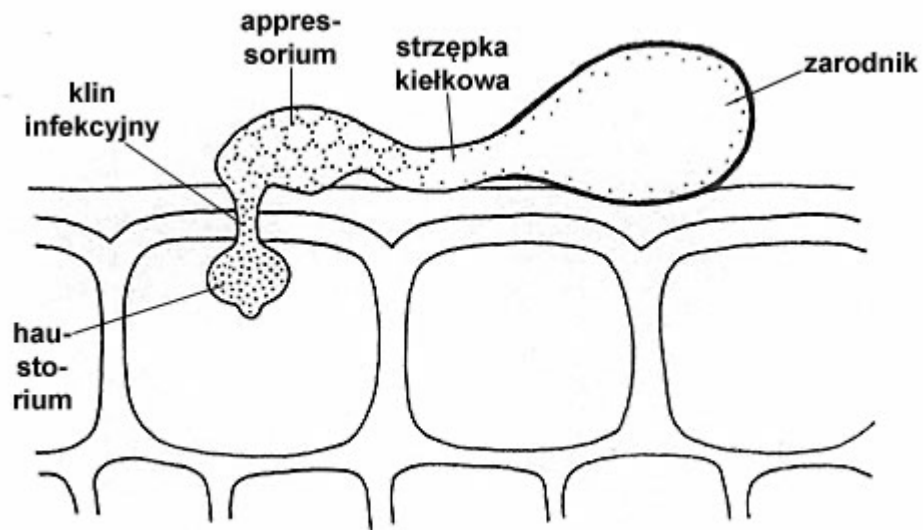
Nutrição

Elementos essenciais para o crescimento, mas não ideais para obter um crescimento ótimo.

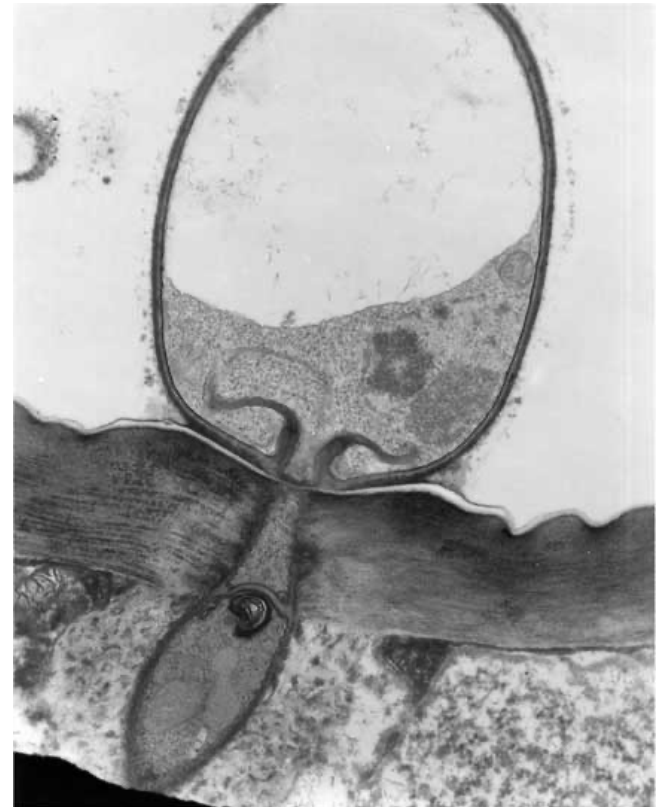
- Condições básicas de crescimento
 - Meio rico em carboidratos
 - pH levemente ácido (5-6)
 - Diferente das bactérias (N, pH básico)
 - Nutrientes essenciais: C, N e íons (NaNO_3 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , CaCl_2 , KCl , FeSO_4 , ZnSO_4 , CuSO_4)
 - Fonte de Carbono: açúcares em geral
 - Fonte de Nitrogênio: fonte mineral ou orgânica (proteína)
 - Meios: ágar batata dextrose, ágar extrato de malte, ágar milho dentre outros.

- **Apressoria – estrutura de absorção**

Invasão do tecido vegetal!



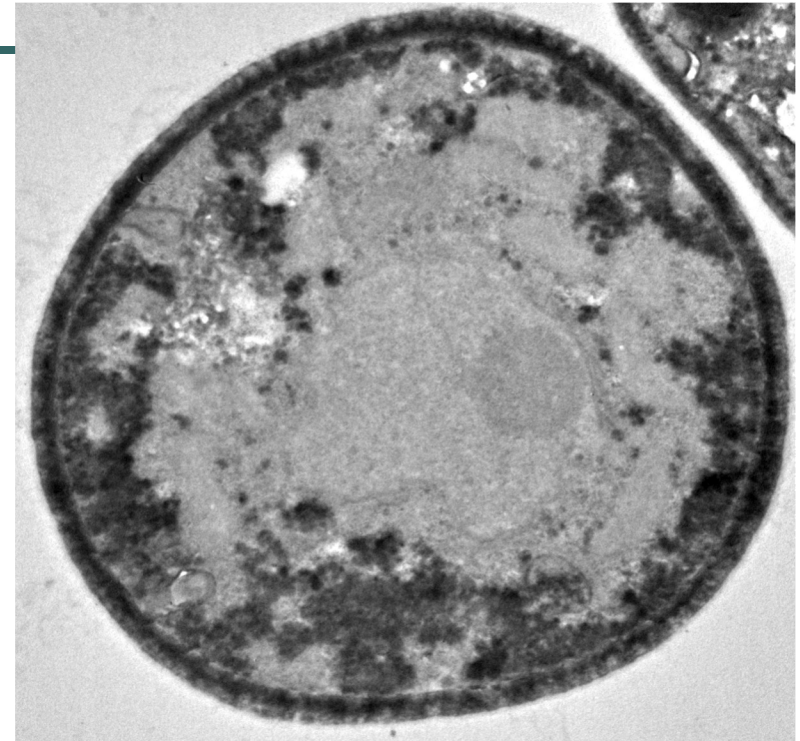
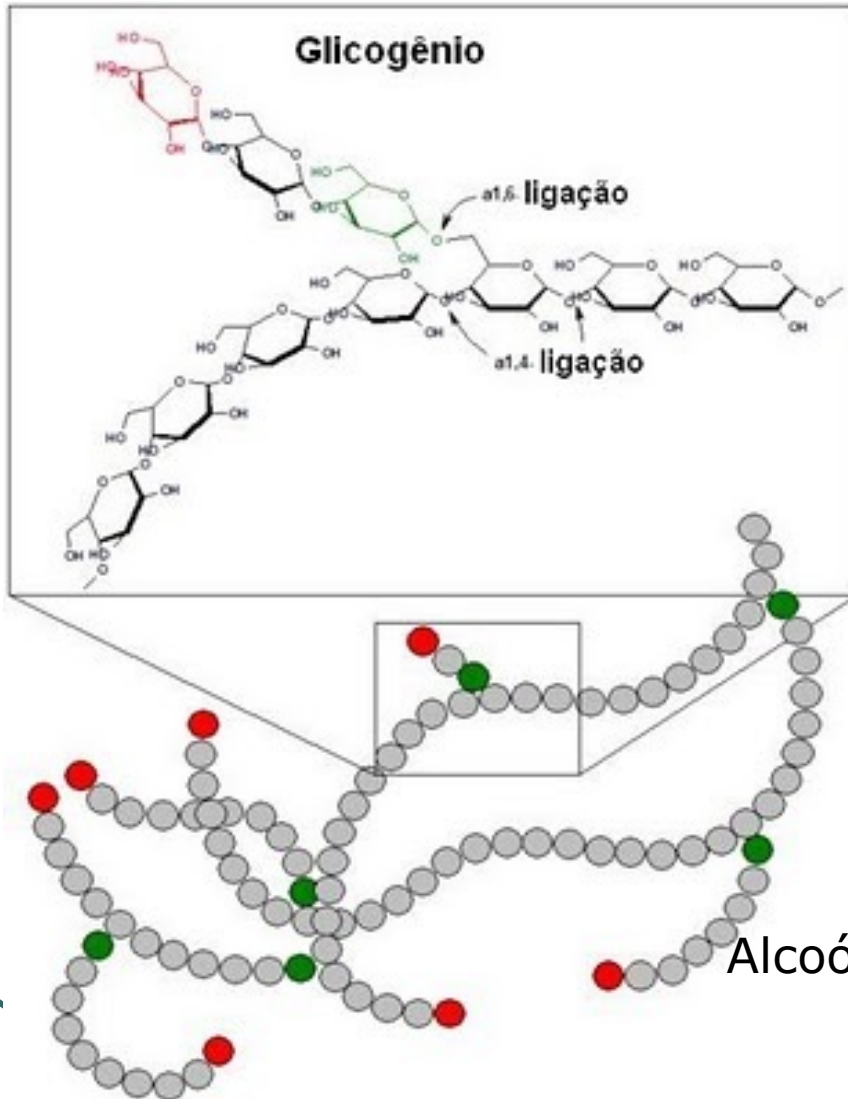
Secreção de Enzimas: celulases, proteases, fosfolipases, esterases entre outras



Carbono fonte de energia para o fungo

- **Nutrição por processo de absorção**
- CH₄ → celulose/lignina
- Os fungos podem adquirir C de várias fontes, no entanto, é necessário que o nutriente seja o mais simples para ser absorvido
- Pequenas moléculas como monossacararídeos, aminoácidos, peptídios podem passar pela parede celular
- Processo de difusão passiva e ativa (proteínas transportadoras)

Estoque de energia



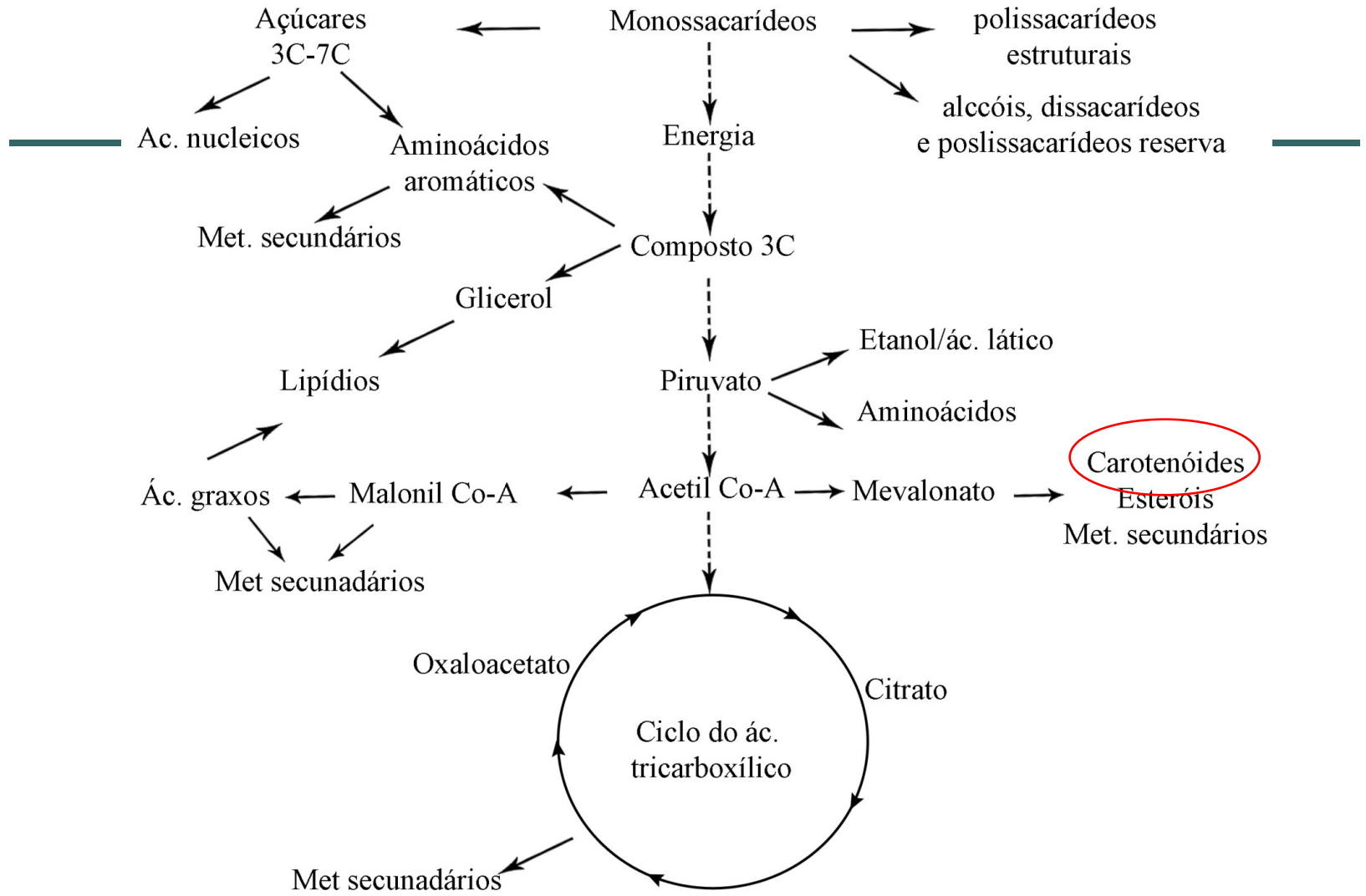
C. neoformans CAP67 – arquivo pessoal

Dissacarídios: trealose

Alcoóis de cadeia curta: manitol e arabitol

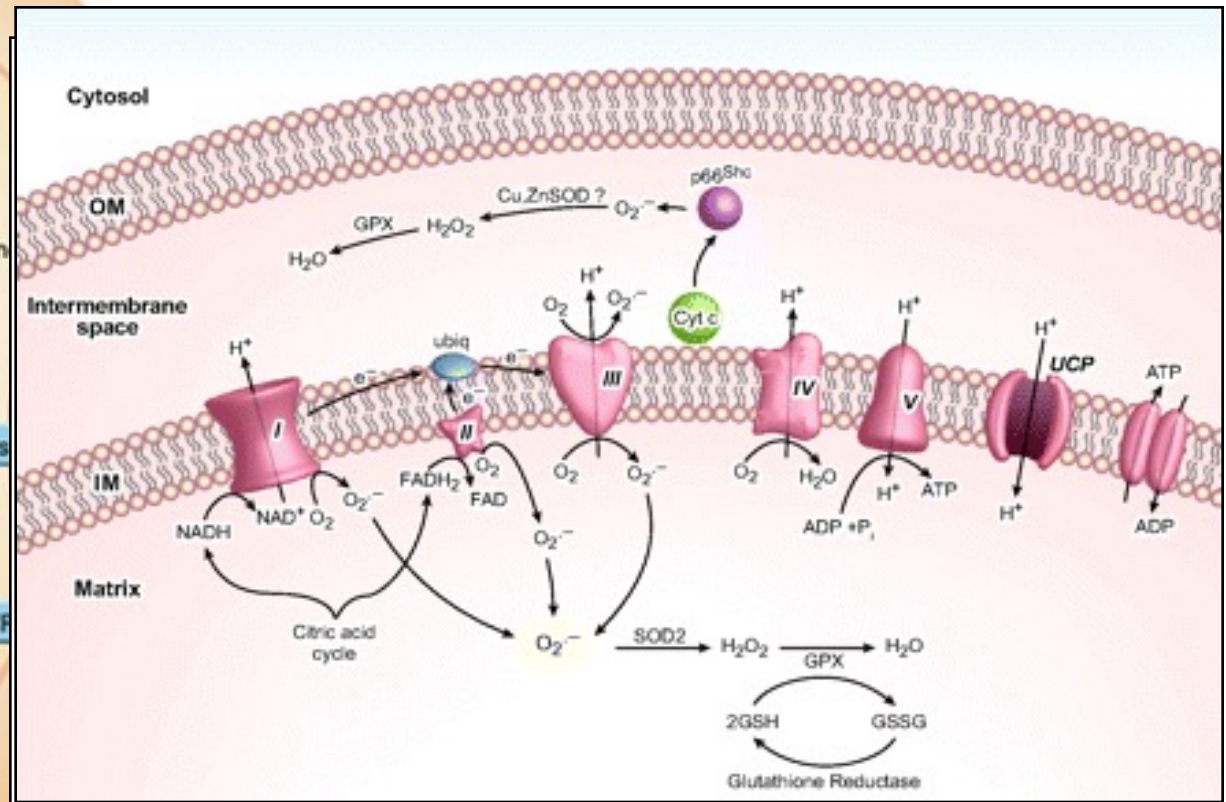
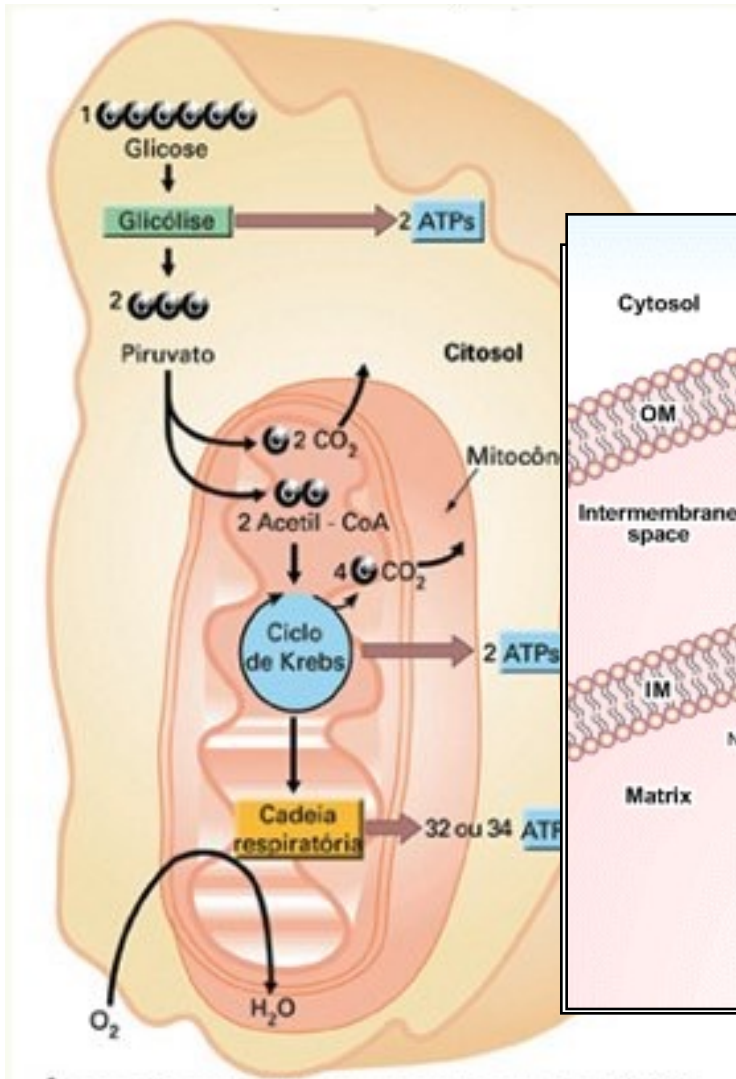
Metabolismo fúngico

Uma visão geral das vias metabólicas

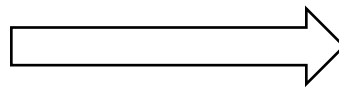


Obtenção de energia

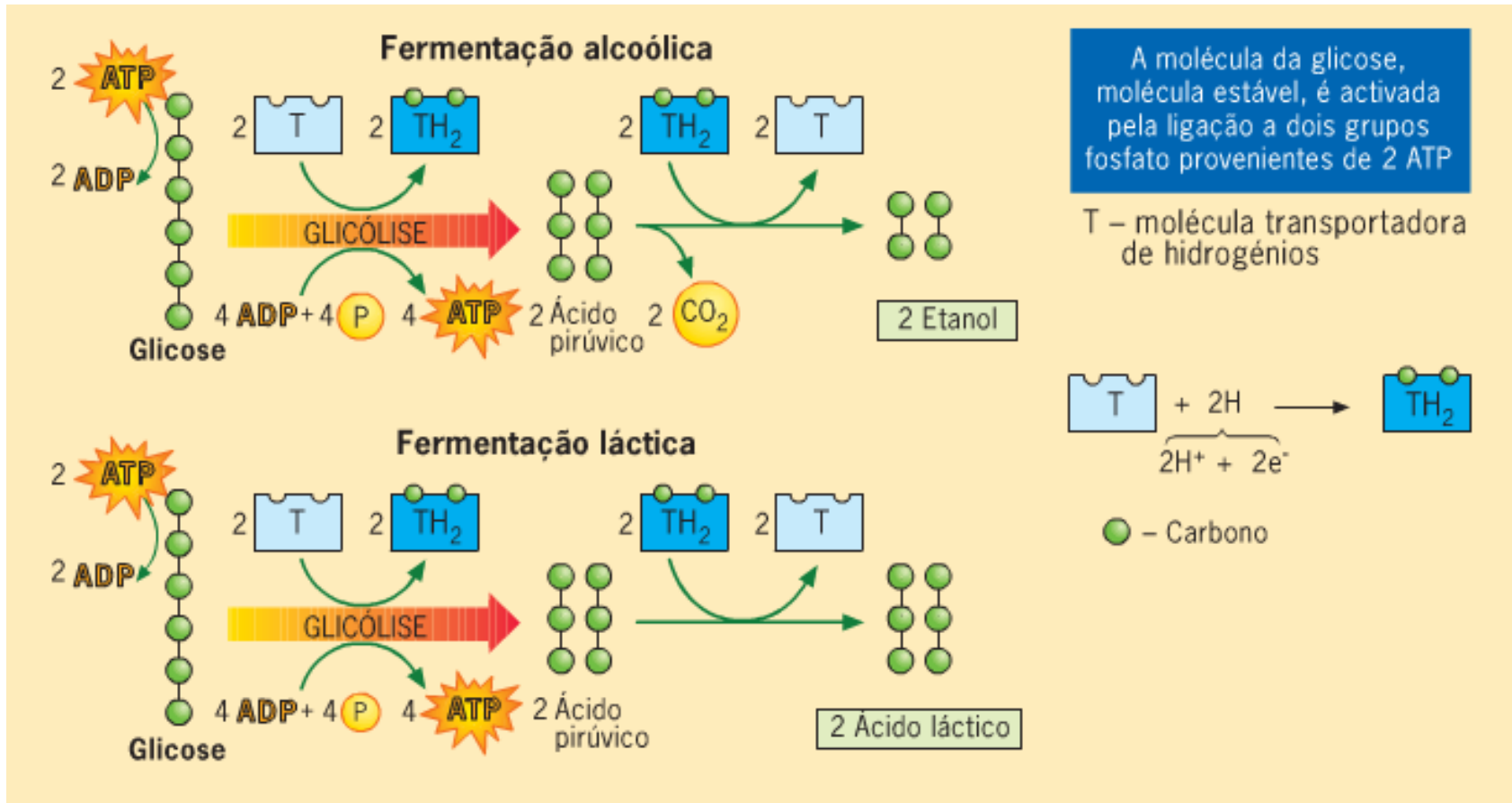
Assimilação de carboidratos - Aerobiose



Anaerobiose



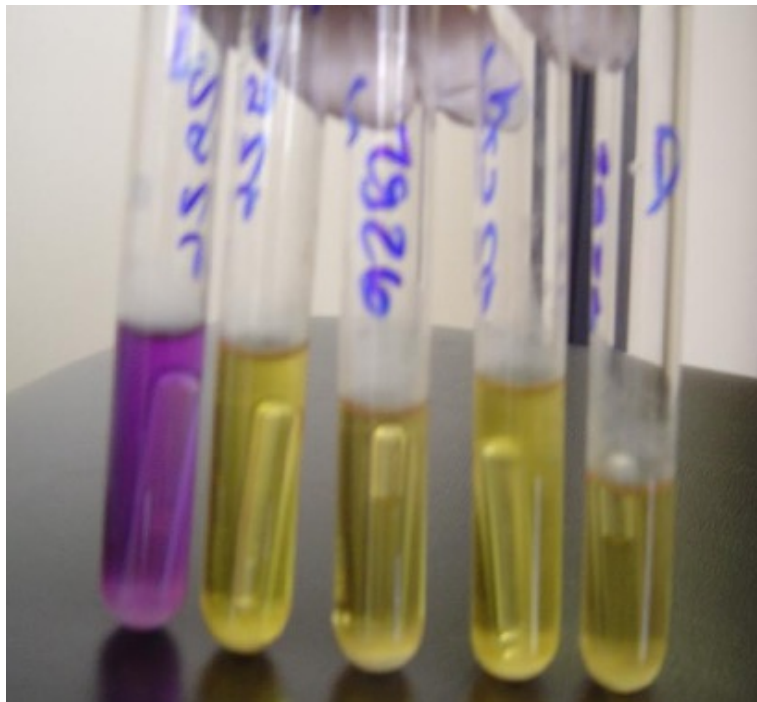
Fermentação de carboidratos



Metabolismo do açúcar como fonte de Carbono

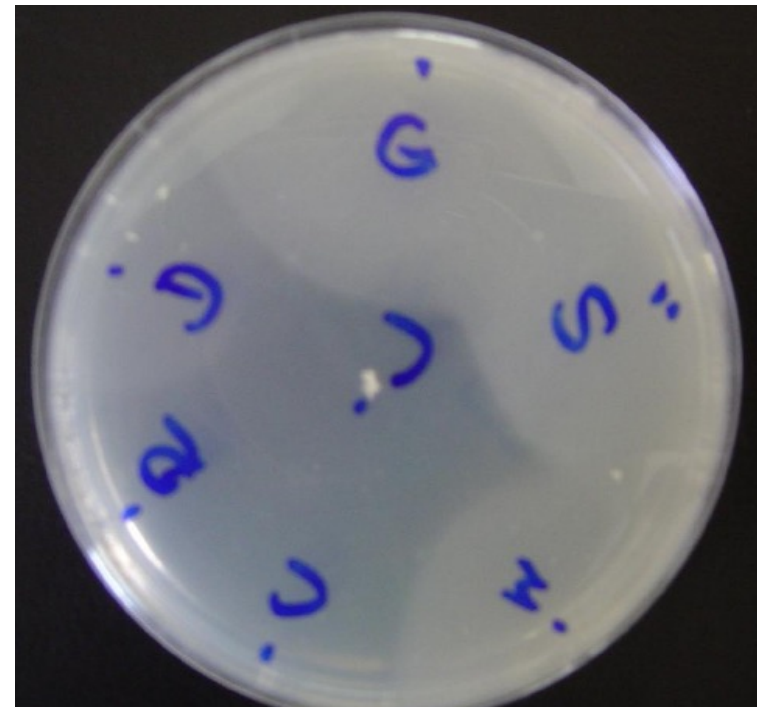
Fermentação de carboidratos

Zimograma



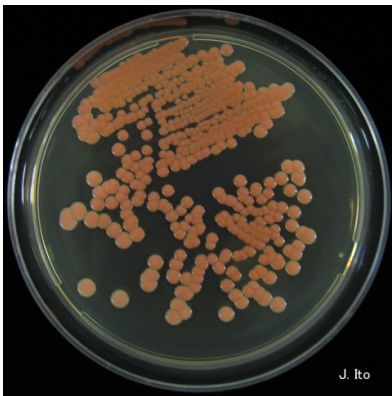
Assimilação de fontes de C e N

Auxanograma

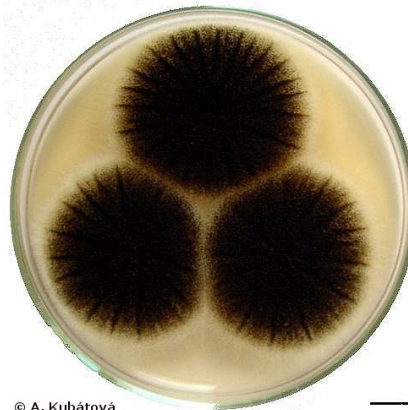


Fungos produzem pigmentos

Rhodotorula spp.



Aspergillus niger



Aspergillus fumigatus



Trichophyton rubrum



Microsporium canis



Metabólitos secundários

- São produzidos durante o crescimento normal do fungo
- Não são necessariamente essenciais para o desenvolvimento
- São produzidos na fase exponencial do crescimento em uma cultura
- Quimiotaxonomia
- Fatores ambientais influenciam na produção dos metabólitos secundários – solo, temperatura, nutrientes entre outros
- Vias de síntese principais:
 - Polyketide
 - Via dos isoprenóides
 - Via do ácido chiquímico

Importância:

Ambiental – Proteção do fungo

Comercial – Toxinas

Farmacêutico

Pigmentos

Hormônios

- Aflatoxina
- Alcalóides do Ergot
- Fuminosinas
- Ocratoxina A
- Patulina
- Tricotecenos
- Zearalenona

Produtos do metabolismo fúngico - Produtos industriais

- Processo de fermentação – álcool etílico e ácido cítrico são os mais importantes produtos em termos de quantidade
- Produtos fúngicos:
 - Metabólitos primários: ác. graxos e ác. Orgânicos (Ex. ácido cítrico e ác. araquidônico)
 - Metabólitos secundários: penicilina, cefalosporina, ciclosporina, estatina
 - Enzimas: celulasas, amilases, lipases, proteinases, pectinases

-
- *Aspergillus niger*: glicoamilase, ác. cítrico e outros
 - *Aspergillus oryzae*: alfa-amilase
 - *Trichoderma reesei*: celulase
 - *Penicillium chrysogenum*: penicilina
 - *Cephalosporium acreminium*: cefalosporina
 - *Mortierella* spp.: Ác. araquidônico

Referências

- Deacon, J. Fungal Biology. 4th edition, 2005.
- Trabulsi e Alterthum. Microbiologia. 4^a. Ed. 2004.
- Artigos científicos e sites citados durante a apresentação.