

FUNGOS DE INTERESSE: APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

FUNGI OF INTEREST: BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS

JÉSSICA ALINE SOARES DE ABREU^{1*}, AMANDA FLÁVIA DA SILVA ROVIDA², JOÃO ALENCAR PAMPHILE³

1. Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ambiental - Universidade Estadual de Maringá; 2. Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ambiental - Universidade Estadual de Maringá; 3. Professor Doutor do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular da Universidade Estadual de Maringá.

* (UEM – Universidade Estadual de Maringá) – Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá, Paraná, Brasil. CEP 87020-90. jeh_abreu@hotmail.com

Recebido em 06/10/2014. Aceito para publicação em 14/10/2014

RESUMO

Os fungos são microrganismos de grande importância biotecnológica. São empregados nas indústrias farmacêuticas, utilizados na produção de alimentos e de suma importância agrícola e ecológica na manutenção do equilíbrio do ambiente. O presente trabalho, com base na literatura, mencionou aplicações de fungos filamentosos, leveduras e cogumelos de uso medicinal e industrial. Entre os fungos filamentosos destacou-se o gênero *Aspergillus*, utilizado para a produção de proteínas recombinantes, já os fungos do gênero *Monascus* são promissoras fontes de corantes naturais e redutores do colesterol. Devido à importância econômica dos processos alimentícios, os trabalhos envolvendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* foram os de maior destaque. Pesquisas recentes indicam atributos medicinais de diversas espécies de cogumelos, como efeitos antivirais, antibacterianos, antiparasitários, antitumorais, anti-hipertensivos, antiateroscleróticos, hepatoprotetores, antidiabéticos, anti-inflamatórios e moduladores do sistema imune. Neste contexto, é necessário enfatizar a importância da Biotecnologia para a obtenção de diversas substâncias por meio da manipulação de fungos para a obtenção de novas tecnologias para o benefício da saúde humana e equilíbrio ambiental.

PALAVRAS-CHAVE: Fungos, biotecnologia, saúde.

ABSTRACT

Fungi are microorganisms of great biotechnological importance. They are employed in the pharmaceutical, used in food production and short agricultural and ecological importance, preserving the environmental balance. This paper, based on the literature, mentioned applications of filamentous fungi, yeasts and mushrooms for medical and industrial use. Among the filamentous fungi, highlights the genus *Aspergillus*, used for the production of recombinant proteins. The genus of fungi *Monascus* are potential sources of natural dyes and reducing cholesterol. Due to the economic importance of food processing, works involving the yeast *Saccharomyces cere-*

visiae were the most prominent. Recent medical studies indicate attributes of several species of mushrooms such as anti-inflammatory, antihypertensive effects, antiviral, antibacterial, antiparasitic agents, antitumor, antiatherosclerotic, hepatoprotective, antidiabetics, and modulating the immune system. In this context, it is necessary to emphasize the importance of biotechnology for obtaining various substances through the manipulation of fungi for obtaining new technology to benefit human health and environmental balance.

KEYWORDS: Fungi, biotechnology, health.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos extremamente importantes. Eles são utilizados na produção de alimentos como os produtos fermentados e bebidas alcoólicas, contribuem na indústria farmacêutica, estão presentes no processo de biodegradação e tratamento biológico de efluentes, atuam na atividade enzimática, ou seja, na produção de enzimas de interesse industrial e na biotransformação. Eles também são de grande importância agrícola e ecológica, pois mantêm o equilíbrio do ambiente, decompondo restos vegetais, degradando substâncias tóxicas, auxiliando as plantas a crescerem e se protegerem contra inimigos, como outros microrganismos patogênicos. Enfim, os fungos são microrganismos de grande interesse biotecnológico.

Como descrito por Hawksworth (1991, 2001)^{1,2}, o número estimado de espécies de fungos é de 1,5 milhão. Porém outros autores estimam a existência de 8,25 milhões de espécies fúngicas^{3,4}, entretanto o número de espécies descritas até o momento é de aproximadamente 100 mil^{5,6}.

Os primeiros trabalhos relacionados à transformação genética de fungos iniciaram no final da década dos anos 70 com a transformação de protoplastos de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*⁷, e do fungo *Neurospora crassa*⁸. Desde então, metodologias de transformação vem sendo

descritas para uma grande diversidade de espécies fúngicas⁹. A maioria dos estudos de biologia molecular depende do uso de estratégias de transformação genética, portanto, essa é uma etapa essencial da pesquisa moderna dos fungos. Além disso, apresenta grande relevância para o melhoramento de espécies de importância biotecnológica. Em decorrência do exposto, o número de estratégias de transformação genética tem aumentado nos últimos anos, abrindo caminho para análises moleculares mais detalhadas⁹. Portanto, o presente trabalho busca a partir de dados na literatura informações sobre transformação genética de fungos e suas aplicações na saúde.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa de revisão bibliográfica. Para tanto, foi realizada buscas em bancos de dados bibliográficos, para identificar artigos relevantes para o estudo incluindo Pubmed, Scielo, Lilacs e Google Acadêmico, usando-se como palavras-chave: Transformação genética, Fungos, Aplicações na saúde. Os artigos selecionados encontravam-se em língua portuguesa e inglesa, compreendidos principalmente a partir de 2000. Enfim, no levantamento bibliográfico, foram efetivamente utilizados 36 artigos, selecionados conforme a qualidade e relevância com o tema proposto.

3. DESENVOLVIMENTO

Fungos

Os fungos são organismos muito importantes, não somente devido a seu papel vital no ecossistema, mas também por causa da sua influência sobre os seres humanos e em atividades relacionadas. É difícil generalizar características dos fungos devido à diversidade ecológica, fisiológica e morfológica dentro do Reino Fungi, no qual são reconhecidos três grupos distintos: fungos filamentosos, leveduras e cogumelos, sendo os dois primeiros considerados fungos microscópicos e os cogumelos fungos macroscópicos^{10,11,12}.

Fungos Filamentosos

Os fungos filamentosos apresentam importantes propriedades que desempenham um papel significativo no estilo de vida humano e no ambiente pela participação na produção de alimentos, nos produtos para saúde e na reciclagem de compostos da biosfera¹³. São usados em muitos processos industriais como na produção de enzimas, vitaminas, polissacarídeos, polióis, pigmentos, lipídios e glicolipídios. Alguns destes são comercializados, enquanto outros são potencialmente valiosos em biotecnologia¹⁴.

O gênero *Aspergillus*, em particular, tem sido utilizado com muito sucesso para a produção de proteínas recombinantes, tanto de origem fúngica como de outras

fontes. Alguns exemplos são glicoamilase, quimosina bovina, lactoferrina humana, interleucina-6 humana e taumatina^{15,16}. A espécie *Monascus ruber* produz monacolina K (lovastatina, mevinolina) sob fermentação submersa. A lovastatina revolucionou o tratamento da hipercolesterolemia, sendo um potente inibidor competitivo da HMG-CoA redutase, a enzima limitante na biossíntese de colesterol. Ela é ativa na inibição da biossíntese de colesterol não somente *in vitro*, mas também *in vivo* para diminuição dos níveis de colesterol plasmático em humanos e animais. A lovastatina também tem sido produzida por outras espécies de *Monascus*, além de *Aspergillus terreus*, algumas espécies de *Penicillium*, *Hypomyces*, *Doratomyces*, *Phoma*, *Eupenicillium*, *Gymnoascus* e *Trichoderma*. Sendo que, comercialmente, esta substância é produzida pelos fungos *Aspergillus terreus* e *Monascus ruber*^{17,18}. Portanto, fungos do gênero *Monascus* são promissoras fontes de corantes naturais e redutores do colesterol. Contudo, antes de efetivamente utilizar *Monascus* em alimentos ou em suplementos dietéticos, é importante selecionar e controlar as condições de fermentação para obter grandes quantidades das substâncias requeridas como pigmentos ou lovastatina, porém com baixa concentração ou ausência de citrinina¹⁹.

Tabela 1. Metabólitos secundários de importância industrial produzidos por fungos filamentosos

Composto	Fungos Filamentosos	Principal área de aplicação
Alcalóides do Ergot	<i>Claviceps purpurea</i>	Indústria farmacêutica (tratamento para enxaqueca)
Cefalosporina	<i>Acremonium chrysogenum</i>	Indústria farmacêutica (antibiótico)
Ciclosporina	<i>Tolypocladium niveum</i>	Indústria farmacêutica (imunossupressor)
Giberelina	<i>Fusarium moniliforme</i>	Indústria agrônômica (Hormônio de crescimento de plantas)
Griseofulvina	<i>Penicillium griseofulvum</i>	Indústria farmacêutica (agente antifúngico)
Lovastatina	<i>Monascus ruber</i> , <i>A. terreus</i>	Indústria farmacêutica (hipocolesterolemiante)
Penicilina	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Indústria farmacêutica (antibiótico)

Fontes: ^{22,23} e ²⁴

A partir do metabolismo fúngico, pode-se dispor de diversos compostos naturais apresentando atividades biológicas. O metabolismo dos fungos pode ser dividido em metabólitos primários que são pequenas moléculas produzidas ao longo do crescimento vegetativo e são usados em indústrias alimentícias e de ração²⁰, e metabólitos secundários que são sintetizados quando o crescimento microbiano está na fase estacionária. Estes são frequentemente bioativos e de baixa massa molecular. Apresentam grande importância à humanidade, devido às atividades antibióticas e de importância farmacêutica, bem como atividades imunossupressoras e tóxicas²¹.

Alguns exemplos de fungos filamentosos e sua produção de metabólitos secundários estão apresentados na Tabela 1.

Leveduras

Entre os fungos microscópicos, as leveduras são os micro-organismos mais intensamente utilizados em indústrias. Estas são cultivadas visando à obtenção das células propriamente ditas, seus componentes celulares e os produtos finais durante a fermentação alcoólica. As células de leveduras são também empregadas na produção de pães e como fontes de alimentos, vitaminas e outros fatores de crescimento. A fermentação em larga escala realizada por leveduras é responsável pela produção de álcool para uso industrial, porém, são mais conhecidas por seu papel na produção de bebidas alcoólicas²⁵. Além disso, têm sido utilizadas desde o começo da década de 1980 para a produção heteróloga em larga escala de proteínas intra e extracelulares de humanos, animais e plantas²⁶. Devido à importância econômica dos processos biotecnológicos envolvendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, seja na panificação, na produção de cerveja, vinho e outras bebidas alcoólicas ou ainda na produção de um combustível alternativo e renovável (bioetanol), este micro-organismo pode ser considerado o eucarioto mais estudado e cujo metabolismo é o mais conhecido²⁷.

Cogumelos

As propriedades medicinais ou nutracêuticas de alguns cogumelos também vêm incrementando o seu valor agregado. Os cogumelos já eram utilizados desde os tempos mais remotos com finalidades medicinais para combater hemorragias, cólicas, feridas, asma e outros problemas. Algumas tribos indígenas brasileiras usavam *Pycnoporus sanguineus* (orelha-de-pau, cor vermelho intenso) para cicatrização de feridas²⁸. Pesquisas recentes indicam atributos medicinais de diversas espécies de cogumelos, como efeitos antivirais, antibacteriano, anti-parasitários, antitumorais, anti-hipertensivos, antiateroscleróticos, hepatoprotetores, antidiabéticos, anti-inflamatórios e moduladores do sistema imune²⁹. Contudo, algumas espécies destes fungos podem ser venenosas ou com substâncias alucinógenas³⁰.

Recentemente, estudos realizados no Japão com cobaias em laboratório, utilizando frações de extratos hidroalcoólicos de *Agaricus blazei*, apontaram para uma substância com forte atividade antitumoral, polissacarídeos de ligação beta (β glicanas) associados a proteínas, formando um complexo glicoproteico de ligação (1 \rightarrow 6) β -D-glican-proteína^{31,32}.

Efeito de extratos de cogumelos na radiorresposta:

Biondo e Cols. (2000)³³ avaliaram o efeito de três li-

nhagens de *Shiitake* (L1= LE-96/17, L2=LE-95/01 e L3=JabL1) na neutralização dos radicais livres formados durante a exposição de ratos a doses elevadas de radiação ionizante. A linhagem L1 foi capaz de proteger 10% da população irradiada, enquanto que a L2 não mostrou efeito perante a radiação e, com a linhagem L3, houve sensibilização das células normais elevando à mortalidade dos indivíduos irradiados. Essa interdependência entre as linhagens e radiorresposta revela que devem ser tomados cuidados no uso de uma determinada linhagem de *Shiitake* (L3, p. ex., seria usada para sensibilizar as células tumorais durante a radioterapia), mas, para se chegar a esse tipo de uso terapêutico, há a necessidade de estudos específicos. Os mesmos estudos também estão sendo feitos com *Agaricus blazei*³⁴.

Avaliação do potencial anticarcinogênico *in vivo*:

A quimioproteção do cogumelo *Agaricus blazei* (linhagem AB99/26) está sendo estudada em lesões pré-neoplásticas no fígado de ratos machos Wistar, nas etapas de pré e pós-iniciação, induzidas pela dietilnitrosamina. Os resultados de acordo com Barbisam et al. (2000)³⁵ indicam que o tratamento com as soluções aquosas de *Agaricus blazei* não causaram toxicidade hepática e renal, mas seus possíveis efeitos protetores ainda estão sendo analisados.

4. CONCLUSÃO

O uso de estratégias de transformação genética é uma etapa primordial na pesquisa com fungos. A vasta diversidade fúngica apresenta grande potencial seja para estudos de aplicações biotecnológicas, podendo ser utilizado no biocontrole, secreção de metabólitos secundários, micoparasitismo, fonte de novos fármacos para a indústria farmacêutica, fonte de enzimas de interesse industrial, como para descrição e melhoramento de novas espécies. A descoberta de novos metabólitos ativos de origem microbiana é um desafio que pode trazer benefícios substanciais. Segundo Hundley (2004)³⁶, os fungos são essenciais para a saúde e prosperidade de muitos ecossistemas terrestres, sendo essenciais para a sustentabilidade e biodiversidade dos mesmos. Neste contexto, é necessário enfatizar a importância da Biotecnologia para a obtenção de diversas substâncias por meio da manipulação de fungos para a obtenção de novas tecnologias para benefícios da saúde humana e equilíbrio ambiental.

5. FINANCIAMENTO

Fundação Araucária e CAPES.

REFERÊNCIAS

- [1] Hawksworth DL. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological research*. 1991; 95(6):641-55
- [2] Hawksworth DL. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological research*. 2001; 105(12) (2001):1422-32.
- [3] Arnold AE, Maynard Z, Gilbert GS, Coley PD, e Kursar TA. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse?. *Ecology letters*. 2000; 3(4):267-74.
- [4] Fröhlich J and Kevin DH. Biodiversity of palm fungi in the tropics: are global fungal diversity estimates realistic?. *Biodiversity & Conservation*. 1999; 8(7):977-1004.
- [5] Hawksworth DL. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Stud Mycol*. 2004; 50:9-18.
- [6] Nakayashiki H, *et al.* RNA silencing as a tool for exploring gene function in ascomycete fungi. *Fungal Genetics and Biology*. 2005; 42(4): 275-83.
- [7] Hinnen A, James B. Hicks, and Gerald R. Fink. Transformation of yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1978; 75(4):1929-33.
- [8] Case ME, *et al.* Efficient transformation of *Neurospora crassa* by utilizing hybrid plasmid DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1979; 76(10):5259-63.
- [9] Ruiz-Díez B. Strategies for the transformation of filamentous fungi. *Journal of applied microbiology*. 2002; 92(2):189-95.
- [10] Azevedo JL. "Fungos: Genética e Melhoramento de Fungos na Biotecnologia." *Biotecnologia, Ciência, Desenvolvimento*. 1997; 1:12-15.
- [11] Esposito E, and JL de Azevedo. "Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia." *Caxias do Sul: Educ.* 2004; 11.
- [12] Mueller GM, and John PS. "Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?." *Biodiversity and Conservation*. 2007; 16(1):1-5.
- [13] Hajjaj H, *et al.* "Kinetic analysis of red pigment and citrinin production by *Monascus ruber* as a function of organic acid accumulation." *Enzyme and microbial technology*. 2000; 27(8):619-25.
- [14] Adrio JL, and Arnold LD. "Fungal biotechnology." *International Microbiology*. 2003; 6(3):191-9.
- [15] Wang L, *et al.* "Bioprocessing strategies to improve heterologous protein production in filamentous fungal fermentations." *Biotechnology advances*. 2005; 23(2):115-129.
- [16] Sharma R, *et al.* "Approaches for refining heterologous protein production in filamentous fungi." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2009; 25(12): 2083-94.
- [17] Chang YN, *et al.* "Use of response surface methodology to optimize culture medium for production of lovastatin by." *Enzyme and Microbial Technology*. 2002; 30(7): 889-94.
- [18] Seraman S, Aravindan R, and Viruthagiri T. "Statistical optimization of anticholesterolemic drug lovastatin production by the red mold *Monascus purpureus*." *Food and Bioproducts processing*. 2010; 88(2):266-76.
- [19] Pattanagul P, *et al.* "Review of anjak production (*Monascus purpureus*)." *Chiang Mai J Sci*. 2007; 34:319-28
- [20] Rajasekaran R. "Microbial biotechnology Rapid Advances in an area of massive impact." *Microbial biotechnology Rapid Advances in an area of massive impact*. 2008; 7(05):19-25.
- [21] Nigam PS. "Production of bioactive secondary metabolites." *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization*. Springer Netherlands. 2009; 129-45.
- [22] Bennett JW. "Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology." *Journal of biotechnology*. 1999; 66(2): 101-7.
- [23] Jiang Zhi-Dong, and Zhiqiang An. "Bioactive fungal natural products through classic and biocombinatorial approaches." *Studies in Natural Products Chemistry*. 2000; 22:245-72.
- [24] Mapari SAS, Anne S. Meyer, and Ulf Thrane. "Evaluation of *Epicoccum nigrum* for growth, morphology and production of natural colorants in liquid media and on a solid rice medium." *Biotechnology letters*. 2008; 30(12):2183-90.
- [25] Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Biologia Celular eucariótica e microorganismos eucarióticos*, In: *Microbiologia de Brock*, Prentice Hall, 10ed, São Paulo, 2004
- [26] Cereghino GPL, and James MC. "Applications of yeast in biotechnology: protein production and genetic analysis." *Current opinion in biotechnology*. 1999; 10(5): 422-7.
- [27] Guimarães TM. "Isolamento, identificação e seleção de cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elaboração de vinho." *Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná*. 2005.
- [28] Bononi VLR, Capelari M, Mazieiro R, Trufem SFB, 1995 *Cultivo de cogumelos comestíveis*. São Paulo, Ícone. 206p.
- [29] Philippoussis AN. *Production of mushrooms using agro-industrial residues as substrates*. *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation*. Springer Netherlands, 2009; 163-96.
- [30] Eira AF, Elisa E, and JL, Azevedo. *Fungos comestíveis*. Esposito, e Azevedo, JL (ed.) *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. 2004:15-46.
- [31] Mizuno T, *et al.* "Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from" *Hime-matsutake*", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murrill." *Agricultural and Biological Chemistry*. 1990; 54(11):2889-96.
- [32] Mizuno T. "Kawariharatake, *Agaricus blazei* Murrill: Medicinal and dietary effects." *Food Reviews International*. 1995; 11(1):167-72.
- [33] Biondo SR, Sakate M, Georgete JC, Lopes LA. 2000. *Estudos dos efeitos radiobiológicos nos animais tratados com diferentes linhagens de *Lentinula edodes* (L1, L2 e L3)*. 15ª Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – Caxambu.
- [34] Eira AF, Rodrigues Filho E, Yida-Sakate AT, Ribeiro LR, Kaneno R, Pascholati SF. 1998. *Cogumelos comestíveis e medicinais: tecnologia de cultivo, caracterização bioquímica e efeitos protetores dos cogumelos *Agaricus blazei* Murrill (cogumelo-do-sol) e *Lentinula edodes**

- (Berk.) Pegler (shiitake). Projeto temático da FAPESP (Processo 98/07726-5) Unesp/ FCA, Botucatu, SP
- [35] Barbisan LF, Camargo JLV, Ribeiro LR, Salvadori DM.F, Spinardi-Barbisan ALT, Eira AF. Efeito do cogumelo *Agaricus blazei* Murrill sobre a etapa de pós-iniciação da hepatocarcinogênese química em ratos Wistar machos. Rev. Bras. Toxicol. 2000; 13:31
- [36] Hundley N. Endophytes- the chemical synthesizer inside plants. Science Progress, London. 2004; 87:79-99.

