



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DENISE APARECIDA DOS SANTOS SOUZA

**FUNGOS DE SOLO DO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO COMO
FONTE DE COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Serra Talhada-PE
2019

DENISE APARECIDA DOS SANTOS SOUZA

**FUNGOS DE SOLO DO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO COMO FONTE DE
COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como requisito obrigatório à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Virginia Medeiros de Siqueira

Serra Talhada-PE
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada - PE, Brasil.

S729f Souza, Denise Aparecida dos Santos
Fungos de solo do semiárido pernambucano como fonte de
compostos com atividade antibacteriana / Denise Aparecida dos
Santos Souza. – Serra Talhada, 2019.
44 f.: il.

Orientadora: Virginia Medeiros de Siqueira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado
em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, 2019.
Inclui referências.

1. Microorganismos. 2. Fungos do solo. 3. Atividade antimicrobiana. I.
Siqueira, Virginia Medeiros de, orient. II. Título.

CDD 574

DENISE APARECIDA DOS SANTOS SOUZA

**FUNGOS DE SOLO DO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO COMO FONTE DE
COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito obrigatório à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, obtendo a nota _____

Aprovada em ____/____/____

Banca examinadora

Profa. Dra. Virginia Medeiros de Siqueira (Presidente e 1º Titular)

UFRPE/UASt

Prof. Ms. Douglas Moreira de Oliveira (2º Titular)
UFRPE/CODAI

Profa. Ma. Ana Luiza da Silva (3º Titular)
UFRPE/UASt

Serra Talhada-PE

2019

Dedicatória

A minha mãe, Maria da Penha, que é o meu maior exemplo de vida, por estar sempre me incentivando, por suas orações e com os melhores conselhos. Ao meu pai, Djaílson, a quem sempre terá minha admiração, por estar sempre comigo, me ajudando e torcendo por mim. Só tenho a agradecer a Deus por ter vocês como os meus pais. Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por estar presente em cada momento da minha vida, mostrando-me o caminho certo que devo seguir, dando-me força para superar todas as dificuldades e possibilitando momentos como este de grande alegria e realização.

Aos meus pais, Djaílson e Maria da Penha, por estarem comigo em todos os momentos, mostrando-me que eu não estou sozinha nessa caminhada, por me apoiarem, por tudo que me ensinaram para ser o que sou, pelo incentivo e todo o esforço que fazem por mim. Vocês são a minha inspiração. Meu melhor exemplo!

Aos meus irmãos, Vitor, Diógenes, Djair e minha prima Diliane, pelo incentivo, por todo apoio e compreensão em todos os momentos.

A minha orientadora Profa. Dra. Virginia Medeiros de Siqueira, pela grande oportunidade de ser sua orientanda, contribuindo para a minha formação; por toda ajuda, paciência, orientação e aprendizado recebido na realização deste trabalho. Não poderia ter escolhido outra orientadora. Obrigada por tudo!

Agradeço imensamente a minha tia Diana, por todo apoio dado e por me receber em sua casa, quando precisei vir morar em Serra Talhada.

As minhas amigas Isabele e Débora, que a todo instante estiveram ao meu lado, me ajudando a tornar as coisas bem mais fáceis, pela a nossa amizade e os melhores momentos compartilhados. Sei que a partir de agora algumas coisas irão mudar, pois vamos seguir caminhos diferentes, contudo, quero que essa amizade continue assim, sabendo que podemos contar uma com a outra.

A Kerlany e Ivânia, que através do primeiro trabalho juntas, fomos nos aproximando ainda mais, trabalhos estes, que sempre deram certo. Obrigada meninas, por estarem comigo, e por fazerem parte dessa minha caminhada. Hoje, agradeço muito a Deus por colocar pessoas tão especiais em minha vida. Sem vocês nada disso seria possível!

A minha amiga Angela, que desde o primeiro dia de aula, a conheci e a partir de então, ficamos bem próximas, como durante esses anos de estágio sempre juntas, e

apesar de algumas coisas terem mudado durante o curso, nada mudou entre a gente, continuamos da mesma forma e confiança de sempre. A Sara, por me deixar fazer parte da sua vida, uma pessoa maravilhosa que Deus permitiu que eu a conhecesse, e que da mesma forma se tornou uma amiga, que na qual posso contar sempre. Passamos por tantas coisas juntas, como os estresses, saudades de casa, e também momentos de muitas risadas, como no estágio, sempre nós três. Amo vocês, minhas meninas!

A Ingrid e Ariane, por todo companheirismo no laboratório, pelos momentos de descontração, por toda a ajuda e contribuição nos experimentos.

Ao meu amigo Andrey, pela a nossa amizade, pelos momentos compartilhados, por todo o incentivo e por fazer parte dessa minha caminhada.

A minha turma, pela amizade e por todos os momentos compartilhados.

Ao professor Ricardo, pela oportunidade do estágio durante esses anos e por todo o aprendizado.

A Rodrigo e Cícero pela a disponibilidade e ajuda na realização das coletas.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada.

Aos professores do Curso de Ciências Biológicas, por todo o aprendizado que me foi proporcionado.

Agradeço também a todos aqueles que, mesmo não citados aqui, de alguma forma contribuíram para a minha formação.

RESUMO

Os microrganismos são os principais agentes das atividades bioquímicas que ocorrem no solo, sendo importantes para o bom funcionamento dos ecossistemas, além disso, vários compostos naturais são produzidos por estes microrganismos destacando-se os fungos, que são uma excelente fonte para a exploração de novos metabólitos secundários com atividade antimicrobiana, por exemplo. Desse modo, este trabalho teve como objetivo isolar, quantificar e avaliar o potencial antimicrobiano de fungos filamentosos cultiváveis isolados de solo em área preservada do semiárido Pernambucano, na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, no município de Serra Talhada – PE. Para isto, as amostras de solo foram coletadas em dois períodos (estiagem e chuva), das quais foram realizados os isolamento e quantificação de fungos em dois meios de cultura (Agar Batata Dextrose - BDA e Agar Sabouraud - SAB), a temperatura ambiente, por meio da técnica de diluição seriada. Esta etapa foi realizada com três repetições em cada período. Posteriormente, também foi realizado o teste de atividade antimicrobiana dos fungos frente a bactérias utilizando a metodologia do bloco de gelose. Como resultado, foi obtido uma maior quantificação de fungos em período de estiagem, com maior crescimento de UFCs em meio de cultura BDA com $8,6 \times 10^6$ UFC/g, seguido de $8,3 \times 10^4$ UFC/g em SAB. Foram selecionadas 31 colônias da coleta em estiagem, das quais nove foram até a presente data identificadas como *Aspergillus*, *Penicillium* ou *Eurotium* e das quais, 20 foram submetidas ao teste de atividade antimicrobiana. O isolado 05 se destacou apresentando halo de inibição de 32 mm de diâmetro frente a bactéria *Staphylococcus aureus*. Cinco outros isolados fúngicos foram ativos contra *Escherichia coli* e outros cinco contra *Klebsiella*; nenhum fungo demonstrou atividade contra *Salmonella*. Em relação ao período de chuva, foram identificados 11 isolados, como o *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis* e *Paecilomyces*. Dos isolados submetidos ao teste de atividade antimicrobiana, nenhum isolado demonstrou atividade inibitória frente as bactérias. A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar o potencial antimicrobiano apresentado pelos fungos em período de estiagem, ressaltando sua importância em busca de novos compostos de interesse da indústria farmacêutica.

Palavras-chave: Microrganismos; Fungos do solo; Metabólitos secundários; Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Microorganisms are the main agents of biochemical activities occurring in the soil, being important for the proper functioning of ecosystems, in addition, several natural compounds are produced by microorganisms belonging to the soil, especially fungi, which are an excellent source for exploration of new secondary metabolites with antimicrobial activity, for the production of antibiotics. Thus, the objective of this work was to isolate, quantify and evaluate the antimicrobial potential of filamentous fungi isolated from soil in a preserved area of the Pernambucano semi - arid region, collected at the State Conservation Park Mata da Pimenteira, in the municipality of Serra Talhada - PE. For this, the soil samples were collected in two periods (drought and rain), from which the isolation and quantification of fungi in two culture media (Dextrose Bata Agar and Sabouraud Agar - SAB) by the serial dilution technique. This step was performed with three replicates in each period. Subsequently, the test of antimicrobial activity of fungi against bacteria was also carried out using the gelose block methodology. As a result, a higher quantification of fungi was obtained in the dry season, with higher growth of CFUs in BDA culture medium with 8.6×10^6 CFU / g, followed by 8.3×10^4 CFU / g in SAB. Thirty-one colonies were selected from the collection in drought, of which nine were identified to date as *Aspergillus*, *Penicillium* or *Eurotium* and of which, 20 were submitted to the antimicrobial activity test. Isolate 05 showed a 32 mm diameter inhibition halo against *Staphylococcus aureus*. Five other fungal isolates were active against *Escherichia coli* and five against *Klebsiella*; no fungus has shown activity against Salmonella. In relation to the rainy period, 11 isolates were identified, such as *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* and *Paecilomyces*. Of the isolates submitted to the antimicrobial activity test, none of the isolates showed inhibitory activity against the bacteria. From the obtained results, it was possible to verify the antimicrobial potential presented by the fungi in the period of drought, emphasizing its importance in search of new compounds of interest of the pharmaceutical industry.

Key-word: Microorganisms; Soil fungi; Secondary metabolites; Antimicrobial activity.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Quantificação das unidades formadoras de colônias de fungos por cada repetição isolados de solo em período de estiagem de área preservada na UC Parque estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.....26
- Tabela 2. Quantificação das unidades formadoras de colônias de fungos por cada repetição isolados de solo em período de chuva de área preservada na UC Parque estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.27
- Tabela 3. Identificação dos isolados fúngicos de solos coletados na UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE, por período de coleta.29
- Tabela 4. Halos de inibição após análise da atividade antimicrobiana de fungos isolados de solo coletado em período de estiagem.....32

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Morfologia de hifas fúngicas..... 18
- Figura 2. (A) Aferimento da temperatura no solo; (B) Coleta do solo; (C) Solo acondicionado em saco plástico esterilizado.....23
- Figura 3. Representação da técnica de Diluição Seriada, realizada com solo coletado na UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE, para isolamento e quantificação de fungos.24
- Figura 4. Isolados da coleta em estiagem, identificados de *Aspergillus* sp. (I2), *Aspergillus niger* (D10), *Penicillium* sp. (A4), *Eutotium* sp. (A5).....30
- Figura 5. Isolados da coleta em período de chuva, identificados de *Paecilomyces* sp. I8(1), *Cladosporium* sp. A7(1), Micélio septado (I9), Conídios e hifas asseptadas (A5).31
- Figura 6. Isolados fúngicos que apresentaram halos de inibição contra *S. aureus*, *E.coli* e *Klebsiella*.33
- Figura 7. Isolados fúngicos que não apresentaram halos de inibição.36

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. Região Semiárida.....	15
2.2. Importância da microbiota do solo	16
2.3 Caracterização dos fungos.....	17
2.4 . Fungos como fonte de compostos com atividade antimicrobiana	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. Local de coleta e amostragem	23
3.2 . Isolamento fúngico	24
3.3 . Seleção e Identificação dos isolados	25
3.4. Avaliação da produção de metabólitos com atividade antimicrobiana	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 Isolamento e quantificação de fungos mesófilos.....	26
4.2. Seleção e identificação dos isolados fúngicos do solo.....	28
4.3 Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana	32
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

Na região semiárida, os solos são formados por um mosaico, desde solos rasos e pedregosos, aos solos arenosos e profundos, que dão lugar às caatingas e áreas desprovidas de vegetação (RODAL *et al.*,1992). Grande parte desta região encontra-se alterada pelo desmatamento e usos inapropriados dos seus recursos, acentuado pelo processo de desertificação, podendo resultar na degradação dos solos e consequentemente perda de diversidade biológica (CASTELLETTI *et al.*, 2003; LEAL, 2005). Apesar deste contexto preocupante, vários estudos têm demonstrado a importância do semiárido como fonte de uma grande diversidade de espécies vegetais e animais (LEAL *et al.*,2003) e de microrganismos, incluindo os fungos (GUSMÃO; MAIA, 2006).

Os microrganismos são fundamentais como agentes da atividade bioquímica do solo, sendo envolvidos de modo direto em todos os processos biológicos, assim como também influenciando processos físicos e químicos do solo (CORREIA; OLIVEIRA, 2005), especialmente na ciclagem de nutrientes e decomposição de matéria orgânica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002; INPA, 2011). Associada à diversidade de grupos taxonômicos, está a diversidade bioquímica, ou seja, a diversidade de compostos produzidos pelos organismos, representada principalmente por metabólitos secundários. Estes por sua vez são produzidos em resposta a fatores bióticos e abióticos e possuem atividade biológica de interesse para a biotecnologia, como enzimas e agentes antimicrobianos (FERNANDES, 2009).

Estima-se que existam cerca de 1,5 milhões a 5,1 milhões de espécies fúngicas em todo o mundo, sendo que destas, apenas foram descritas cerca de 120 mil espécies (BLACKWELL, 2011), e cerca de 13.800 existiriam no Brasil (LEWINSOHN; PRADO, 2006). Em um levantamento sobre fungos em diferentes áreas do semiárido do nordeste brasileiro, Maia & Gibertoni (2002) mencionaram 451 espécies de fungos na caatinga, estas representando 203 gêneros dos Filos Ascomycota, Deuteromycotina, Oomycota e Zygomycota, enfatizando a alta diversidade destes organismos também em áreas do semiárido.

Além dos benefícios para os ecossistemas, o ser humano é beneficiado por inúmeros compostos naturais como enzimas, corantes e ácidos orgânicos os quais

possuem diversas aplicações na indústria alimentícia, farmacêutica e na agricultura, destacando-se os fungos como uma importante fonte destes compostos (BÉRDY, 2005), incluindo aqueles com atividade antimicrobiana (FEOFILOVA, 2001). Na natureza, os compostos de origem fúngica com atividade antimicrobiana estão envolvidos na defesa química contra a competição com outros microrganismos em ambientes ricos em espécies como por exemplo a rizosfera, bem como, quando em baixas concentrações, funcionam como moléculas para sinalização intra ou interespecífica (FARJADO; MARTÍNEZ, 2008).

Segundo Mamede (2015), a produção de antimicrobianos por fungos é conhecida há muitos anos e de grande importância. Atualmente, com o rápido desenvolvimento da resistência bacteriana frente a antibióticos, a busca por novas drogas deve ser contínua, sendo os fungos, ainda, a fonte mais promissora para combatê-la, em que essa busca também possibilita a descoberta de outros produtos inovadores. O estudo de compostos fúngicos com atividade antimicrobiana se deu através da descoberta da penicilina por Alexandre Fleming, que a partir de então, muitos compostos foram explorados por meio de microrganismos que tinham a capacidade de inibir o crescimento de outro organismo, por meio de sua atividade antimicrobiana (DEMAIN, 1999), e até comercializados.

Neste contexto, este trabalho objetivou o isolamento e quantificação de fungos de solo coletado durante período de estiagem e período chuvoso em uma área preservada na Unidade de Conservação parque Estadual Mata da Pimenteira, bem como a avaliação do seu potencial de produção de metabólitos com atividade antibacteriana. Adicionalmente, também foi realizada a identificação taxonômica dos isolados avaliados e se correlacionou os resultados obtidos com o período de coleta.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Região Semiárida

No Brasil, a região semiárida é caracterizada por possuir temperaturas médias anuais de 23° a 27 °C, com precipitações médias anuais inferiores a 800 mm e umidade relativa do ar média em torno de 50% (MOURA *et al.*, 2007), associada a curtos períodos de chuva irregulares, de 3 a 5 meses, com períodos prolongados de seca, de até 9 meses (Maia, 2004). A caatinga corresponde a uma área de aproximadamente 900.000 km² representando 11% do território Nacional e 54% da Região Nordeste, abrangendo partes dos estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Paraíba, Sudeste do Piauí, Sergipe, Alagoas, região norte e central da Bahia, Minas Gerais e Pernambuco (ANDRADE *et al.*, 2005).

O termo "caatinga" tem origem indígena (caa-mata; tinga-branca) e significa "mata branca", vegetação típica do semiárido brasileiro, considerada uma região onde predominam condições climáticas extremas, com altas temperaturas, alta incidência de radiação solar, estresse hídrico e consequente de precipitações irregulares (PIMENTEL; GUERRA, 2009). Este bioma está entre as florestas secas que ocupam 42 % das florestas tropicais e subtropicais do mundo (MOREIRA, 2006), composta por um conjunto de formas fisionômicas, como caatinga arbórea, arbustiva e caatinga espinhosa (COUTINHO, 2006). Com vegetação adaptada à seca e a mudanças climáticas, apresentando características xerofíticas (FILIZOLA; SAMPAIO, 2015; PRADO, 2003).

Apesar das características do semiárido, o solo comporta várias espécies de plantas, animais e microrganismos, destacando estes últimos, por estarem diretamente associados a estabilidade do solo, participando ativamente da decomposição de matéria orgânica (SOUTO, 2008). Tanto a vegetação como a ocorrência de secas estacionais e periódicas, acarreta o depósito de folhas, formando uma camada superficial sobre o solo, sendo denominada serrapilheira, e decomposição associada a atividade microbiana (COSTA *et al.*, 2013).

2.2. Importância da microbiota do solo

A biomassa microbiana é um importante componente ecológico, responsável pela decomposição dos resíduos vegetais, animais e microbianos no solo, sendo utilizado como fonte de energia para a formação e o desenvolvimento de suas células, bem como para a síntese de substâncias orgânicas no solo (SCHIMITZ, 2003). A diversidade de microrganismos no solo é tão vasta quanto desconhecida, na qual um grama de solo pode conter uma grande quantidade de espécies, representando milhares de microrganismos (STURSA *et al.*, 2009), sendo que a quantidade de bactérias se encontra entre 10^8 e 10^9 cels/g e a comunidade de fungos pode variar de 10^4 e 10^6 cels/g de solo (BRANDÃO, 1992).

Fungos e bactérias estão presentes em todos os ambientes e, no solo, esses microrganismos apresentam um importante papel nos ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre (POTTER; MEYER, 1990). Além disso, realizam diversas atividades como na produção de húmus, ciclagem de nutrientes, decomposição de xenobióticos e controle biológico de pragas e doenças (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Contudo, a comunidade microbiana nos solos pode ser influenciada pelas modificações ambientais ao longo das estações do ano, estando relacionados ao clima da região, estrutura, qualidade do solo e regime hídrico (CASTRO *et al.*, 2008).

Algumas modificações que interferem na permanência de microrganismos, ocorrem principalmente devido a temperatura, umidade, alterações do pH e disponibilidade de nutrientes (BERNARDES; SANTOS, 2006), pois a existência de uma população no ecossistema está condicionada a sua capacidade de adaptação e de respostas a mudanças ambientais, visto que essas modificações refletem na atividade, composição e biomassa da comunidade (BERNARDES; SANTOS, 2006). Com isto, a população de microrganismos tende a se manter mais estável ao longo do ano, se o solo apresentar um alto teor de matéria orgânica (FEDE; PANACCIONE; SEXTONE, 2001; TOLEDO *et al.*, 2009).

Por serem extremamente abundantes, quando se resulta numa diminuição na diversidade de espécies pode significar que o solo está perdendo sua qualidade, podendo afetar diretamente o equilíbrio de todo o ecossistema (ZILLI *et al.*, 2003). Com isto, os microrganismos através de estudos podem ser usados como

indicadores da qualidade do solo, já que respondem de forma rápida as alterações, podendo ser percebidas com variações na população e atividade desses microrganismos (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007). Além do mais, a quantificação de microrganismos permite a obtenção de informações importantes em relação a dinâmica da população constituinte da microbiota (FONTANA, 2010), destacando os fungos que representam a maior parte da biomassa microbiana do solo, sendo importantes para todo o equilíbrio do ecossistema (MENDES; JÚNIOR, 2004; BALDRIAN *et al.*, 2012).

A contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), a partir da inoculação de diluições seriadas de uma suspensão de solo, permite avaliar a densidade populacional de microrganismos cultiváveis e identificar grupos com importantes atividades, como produtores de celulases por exemplo (NANNIPIERI *et al.*, 2007). A importância dessa análise possibilita estabelecer relações ecológicas que acontecem no solo, como também identificar os fatores que exercem influência no equilíbrio microbiológico e na relação entre os diferentes grupos microrganismos (BJORKLOF *et al.*, 2009, BATISTA *et al.*, 2010, ABURJAILE *et al.*, 2011).

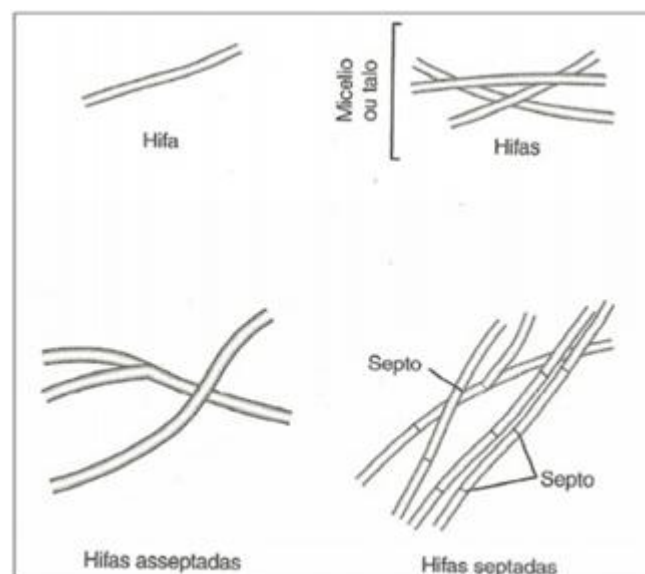
Diversos fungos são conhecidos por agir de forma patogênica nos seres vivos, como causadores de doenças no homem, animais e plantas, podendo acarretar vários prejuízos. No entanto, esses microrganismos participam de interações benéficas como a decomposição de matéria orgânica, na indústria alimentícia, farmacêutica e na biotecnologia (TORTORA, *et al.*, 2005). Entre essas interações estão a produção de enzimas e metabólitos com atividade antimicrobiana (DEACON, 2005). Além disso, algumas espécies fúngicas podem estabelecer relações simbióticas com outros organismos, como os micorrizos, associação simbiótica entre fungos e raízes de plantas, e os líquens, associações entre fungos e algas verdes e/ou cianobactérias (SCHARDL *et al.*, 2004).

2.3 Caracterização dos fungos

Os fungos são microrganismos eucariontes pertencentes ao Reino Fungi, apresentando parede celular composta por quitina, e armazenamento de glicogênio como substância de reserva e energia (TRABULSI *et al.*, 2008). Não realizam

fotossíntese, o que caracteriza a nutrição dos fungos como heterotrófica, realizada por absorção (WEBSTER *et al.*, 2007). Na natureza, apresentam-se de duas formas: filamentosos e/ou leveduras, estando distribuídos nos mais diversos habitats, como no ar, solo, plantas e nos animais, podendo ser sapróbios, parasitas e simbiotes; a maioria tem hábito sapróbio em praticamente todos os ambientes, especialmente no solo (GUSMÃO; MAIA, 2006).

São unicelulares ou pluricelulares, caracterizados pela formação de estruturas filamentosas chamadas de hifas, podendo ser septadas ou asseptadas (cenocíticas), formando o micélio, (Figura 1), responsável pela a formação de estruturas assexuadas e/ou sexuadas que originam os esporos (PELCZAR, 1980). Os esporos são formados na superfície dos micélios, estrutura chamada de esporóforo, e pelo o esporângio os esporangiósporos são dispersos para novos habitats, outros se reproduzem através da produção de esporos chamado de conídios, originados a partir de conidióforos ou esporóforos (PELCZAR, 1980).



Fonte: Micologia. Fundamentos e Diagnósticos (2001)

Figura 1. Morfologia de hifas fúngicas.

De acordo com a classificação mais recente dos fungos, são considerados sete filos principais: Blastocladiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Microsporidia, Neocallimastigomycota, Basidiomycota e Ascomycota, com 10

subfilos, 35 classes, 12 subclasses e 129 ordens (HIBBETT *et al.*, 2007). Entre os filios, o Ascomycota apresenta uma maior quantidade de espécies fúngicas (BARREIRO *et al.*, 2012). A Mata Atlântica apresenta o maior registro de espécies de fungos (1.664 spp.), seguida pela Caatinga (734 spp.) e Amazônia (519 spp.), com menor registro no Cerrado (291 spp.), sendo a Região Nordeste a que possui maior diversidade de espécies, com cerca de 1.749 espécies (FORZZA *et al.*, 2010).

Entre os fungos filamentosos mais frequentemente encontrados no solo, destacam-se os gêneros *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Pythium*, *Verticillium* e *Alternaria* (GAMS, 2007; MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Destes, destacam-se as espécies do gênero *Penicillium* e *Aspergillus* conhecidos principalmente por suas propriedades metabólicas e poder de biodegradação, bem como presença em diversos ambientes, especialmente em regiões de clima tropical e subtropical (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

O gênero *Aspergillus* inclui cerca de 260 espécies, sendo caracterizadas pelo seu crescimento em determinadas temperaturas, coloração dos conídios e produção de metabólitos (SANSON; VARGA, 2009), usados na biotecnologia para a produção de antibióticos, enzimas e ácidos orgânicos (SAMSON *et al.*, 2014); conhecidos também por produzir micotoxinas, deteriorar alimentos e alguns descritos como patógenos (SAMSON *et al.*, 2014). As espécies desse gênero apresentam conidióforo não septado e dilatado no topo, em forma de vesícula, onde se formam fiálides, células que originam os esporos chamados conídios (FAIA, 2011).

Em relação ao gênero *Penicillium*, compreende cerca de 350 espécies descritas, sendo comumente encontradas no solo (PITT; HOCKING, 2009; VISAGIE *et al.*, 2014). Apresentam hifas septadas, do qual a partir do micélio vegetativo se desenvolvem conidióforos, estrutura em forma de estipe que pode ser alargado ou mais estreito (PITT, 1991). Algumas espécies podem ser usadas como fonte de enzimas de interesse industrial e produção de novos fármacos (PALLU, 2010), porém muitas espécies são conhecidas pela a produção de metabólitos tóxicos, entre as micotoxinas mais encontradas nos alimentos, destacam-se a citrinina, patulina e ocratoxina (FRISVAD *et al.*, 2004).

2.4. Fungos como fonte de compostos com atividade antimicrobiana

Na natureza encontra-se vários produtos naturais que apresentam algum tipo de composto que beneficiam o ser humano, entre esses estão os compostos químicos com finalidade para a saúde, na produção de antibióticos, na qual grande parte deles é produzida por microrganismos pertencentes ao solo (BÉRDY, 2005), devido a capacidade de inibir outros microrganismos, através da produção de metabólitos secundários (OSBURNE *et al.*, 2002). Esses compostos não estão relacionados com o crescimento e desenvolvimento dos organismos, mas constantemente exercem um papel importante como moléculas de defesa, e com maior produção de metabólitos quando o crescimento microbiano está na fase estacionária (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2012).

Os metabólitos secundários sintetizados pelos fungos se dão através de estímulos em suas células com várias reações bioquímicas, podendo ser vistas como uma estratégia para que consigam sobreviver ao meio em que foram expostos (NASCIMENTO *et al.*, 2014). Importantes revisões que abordam a história de antibióticos produzidos por fungos, suas aplicações e sua evolução ao longo das últimas décadas podem ser encontradas na literatura atual (CLARDY *et al.*, 2009; DU TOIT 2016; GRENNI *et al.*, 2018).

Entre os metabólitos secundários produzidos com atividade antimicrobiana, estão os peptídeos sintetase não ribossomal (NRPS) e os policetídeos (PK) não ribossômicos, produzidos pelas enzimas policetídeo sintases (PKS) (WENZEL; MULLER, 2005). Estes compostos são gerados principalmente por fungos e bactérias, podendo apresentar diversas finalidades farmacológicas, como na produção de antibióticos, antitumorais, antifúngicos, agentes imunossupressores e antivirais (YADAV; GOKHALE; MOHANTY, 2003), atuando sobre o DNA, RNA, síntese de proteínas, na função da membrana plasmática, esporulação, no transporte de elétrons, germinação, entre outros (DEMAIN, 2000).

A descoberta de metabólitos produzidos por fungos, ocorreu em 1929 com a descoberta da penicilina pelo cientista britânico Alexander Fleming, quando foi observado que colônias de *Staphylococcus aureus*, haviam sido contaminadas por

um composto produzido por um fungo, sendo identificado o *Penicillium notatum* (BALA *et al.*, 2011). Após vários anos de pesquisa esse composto foi isolado e denominado de penicilina, consolidada apenas em 1940, com uso em humanos, contribuindo para a diminuição de mortes durante toda a Guerra Mundial (BALA *et al.*, 2011). Após isso, muitos compostos foram explorados, principalmente a partir de fungos do solo e culturas de actinomicetos, proporcionando a descoberta das tetraciclinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos, macrolídeos, cloranfenicol, glicopeptídeos e rifamicinas (BÉRDY, 2005; PELÁEZ, 2006; OVERBYE; BARRETT, 2005; FERNANDES, 2006).

Dentre alguns antibióticos destacam-se os β -lactâmicos, apresentando uma grande importância para o controle de doenças infecciosas, sendo responsáveis por 50% das vendas de antibióticos em 2004 (VON *et al.*, 2006). Estes antibióticos atuam na inibição da síntese da parede celular, inibindo a enzima transpeptidase da célula bacteriana (WALSH, 2003; SUARÉZ E GUDIOL, 2009). A classe dos β -lactâmicos pode ser subdividida em 5 classes, sendo as principais, as penicilinas e cefalosporinas, sendo consideradas mais eficazes em aplicações na medicina (LIMA *et al.*, (2001).

Nos últimos anos, diferentes ecossistemas têm sido estudados, entre os quais o solo tem sido uma importante fonte para estudos de bioprospecção, com a finalidade de se detectar microrganismos produtores de novas moléculas com potencial aplicação biotecnológica (BEATTIE *et al.*, 2005).

A utilização de fungos como fonte de agentes bioativos representa uma vantagem em relação às fontes animal e vegetal, já que esses microrganismos podem ser cultivados em grande escala em fermentadores (TAKAHASHI; LUCAS, 2008). Entre os gêneros mais importantes e estudados no controle de doenças infecciosas, pode-se destacar o *Aspergillus*, *Cephalosporium* e *Penicillium* (YU; KELLER, 2005).

Segundo Pereira e colaboradores (2008), os antibióticos podem ser classificados de acordo com o tipo de cepa produtora (fungos ou bactérias), quanto a sua estrutura química, espectro de atividade e mecanismo de ação. A classificação quanto ao espectro de atividade se refere ao número e características fisiológicas do organismo que foram afetado pelo antibiótico, e em relação ao mecanismo de ação

se refere a forma como o agente antibiótico interfere no metabolismo da bactéria patogênica podendo atuar na síntese da parede celular, síntese de ácidos nucleicos, síntese de proteínas entre outras funções (PEREIRA *et al.*, 2008).

A maneira como os antibióticos têm sido utilizados na medicina, tem proporcionado uma rápida disseminação de microrganismos resistentes (CHAIT; VETSIGIAN; KISHONY, 2012). Estudos mostram que um dos principais fatores para o aumento da resistência microbiana, se dá através do uso abusivo de antibióticos e de forma indiscriminada (DOERN; TILLOTSON, 2002). Segundo Aqueveque e colaboradores (2010), a busca por novos metabólitos secundários extraídos a partir de fungos tem sido uma grande fonte de inovação química na busca de produtos naturais, com potencial antimicrobiano.

Entre os fungos microscópicos, os gêneros como *Aspergillus* e *Penicillium*, geralmente caracterizados pela formação abundante de esporos, tem sido utilizados para a busca de compostos bioativos, do qual aproximadamente 6.500 metabólitos bioativos de fungos microscópicos, mais de 30% foram obtidos destes gêneros (TAKAHASHI; LUCAS, 2008), como exemplo, o ácido micofenólico contra bactérias Gram-positivas (VINOKUROVA, 2005).

Conforme Kozlovsky e colaboradores (2012), o gênero *Penicillium* produz metabólitos secundários de várias classes de compostos como alcaloides, diquetopiperazinas, benzodiazepinas, quinolinas, poliquetídeos e quinazolininas. Entre outros compostos, ressalta os metabólitos extraídos de Basidiomycota que apresentam fonte de produtos naturais, com ação antitumoral, antibacterianos, antifúngicos, antivirais, alucinógenos, citostáticos e enzimas reguladoras (SUAY *et al.*, 2000).

Considerando a produção de metabólitos por outros gêneros de fungos, destaca-se o *Phomopsis*, encontrado principalmente como endófito em plantas medicinais (GARCIA *et al.*, 2012), com atividade antimicrobiana contra vários agentes patogênicos, como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Micrococcus luteus* e *Candida albicans* (JAYANTHI *et al.*, 2011).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de coleta e amostragem

As coletas de solo foram realizadas em área caracterizada como preservada da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, localizada no município de Serra Talhada-PE. A primeira coleta foi realizada em período de estiagem (agosto de 2018) e a segunda em período de chuva (abril de 2019).

Durante as coletas foi aferido a temperatura do solo através do termômetro digital (Figura 2A) e, posteriormente o solo foi coletado em três pontos equidistantes, a uma profundidade de 0-20 cm, com auxílio de uma pá (Figura 2B), e armazenado em sacos plásticos previamente esterilizados (Figura 2C), etiquetados e encaminhados para o laboratório de Microscopia em recipientes isotérmicos para realização de análises microbiológicas. A partir das três amostras de solo de cada período (estiagem e Chuva), foi preparada uma amostra composta que foi utilizada para fazer o isolamento dos fungos.



Figura 2. (A) Aferimento da temperatura no solo; (B) Coleta do solo; (C) Solo acondicionado em saco plástico esterilizado.

3.2. Isolamento fúngico

Para o isolamento e quantificação de fungos, a amostra de solo foi submetida a técnica de diluição seriada, a qual consiste em adicionar 25g do solo em um frasco Erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada (1%) previamente autoclavado (diluição 10^{-1}) e homogeneização por 1 min de agitação. A partir desta primeira diluição, foram realizadas diluições seriadas transferindo-se 1 mL desta para tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada e esterilizada, e assim sucessivamente até a diluição 10^{-4} . Das últimas três diluições, foi semeado 0,1 mL em placas de Petri pelo método de espalhamento em superfície (Figura 3), contendo os meios de cultura Agar Batata Dextrose (BDA) e Agar Sabouraud (SAB) acrescidos de cloranfenicol para supressão bacteriana, todos em triplicata. Esta fase do experimento foi realizada em três repetições.

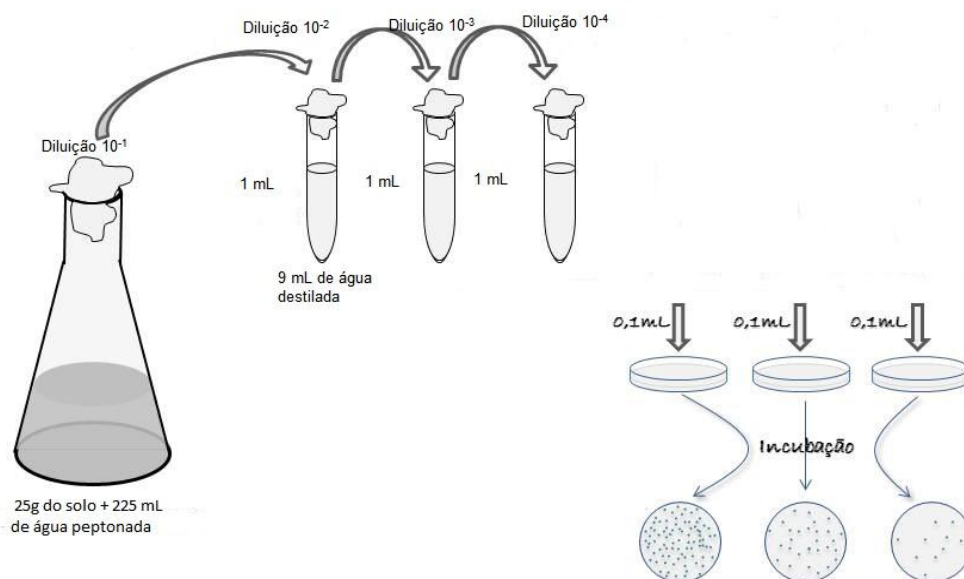


Figura 3. Representação da técnica de Diluição Seriada, realizada com solo coletado na UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE, para isolamento e quantificação de fungos.

Posteriormente, as placas de Petri foram incubadas a 28 °C para contagem de fungos mesófilos por até 7 dias. A quantificação foi feita nas placas de Petri que

apresentaram entre 20 e 200 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), sendo os resultados expressos em UFC por grama de solo.

3.3. Seleção e Identificação dos isolados

Dentre os isolados, foram selecionadas colônias de fungos, macromorfolologicamente distintas. Estes isolados foram purificados e mantidos em tubos de ensaio e sob refrigeração, até a realização dos ensaios de atividade antimicrobiana. Para a identificação dos isolados purificados foi observando características macroscópicas das colônias, identificando o tipo de textura da colônia, produção de pigmentação, bem como características microscópicas como estruturas reprodutivas assexuadas e sexuadas.

3.4. Avaliação da produção de metabólitos com atividade antimicrobiana

Os isolados fúngicos selecionados e purificados foram submetidos ao teste de atividade antimicrobiana, baseado na metodologia de Ichikawa *et al.*, (1971). Para tal, os fungos foram cultivados em placas de Petri com meio Agar Sabouraud, deixando crescer por pelo menos sete dias a temperatura ambiente. Além disso, foram repicadas bactérias com meio Agar Nutriente, sendo as bactérias utilizadas para os testes antimicrobianos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Klebsiella pneumoniae*.

Após esse tempo, as colônias de fungos foram cortadas em forma de disco e transferidas para superfície do meio de cultura Agar Mueller Hinton (composição g/L: Peptona de caseína 17,5; Peptona 3,0; Agar 15 Ca²⁺ 20-25; Mg²⁺ 10-12,5; pH 7,4), em placas de Petri, contendo as bactérias previamente semeadas com auxílio de swab estelilizado. Após 24 horas a atividade antimicrobiana foi analisada a partir da formação de halos de inibição, dos quais foram medidos seus diâmetros e expressos em mm.

Os testes foram realizados em triplicata, sendo então, as medidas dos halos representadas pelas médias das triplicatas. Os fungos que apresentaram halos de inibição >20 mm foram considerados bons produtores de compostos antibacterianos, com halos de inibição >10 mm e <20 mm foi considerado produtores medianos, e

halos <10 mm foram classificados como fracos produtores de compostos antibacterianos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Isolamento e quantificação de fungos mesófilos

Para o isolamento e quantificação de fungos realizados a partir da coleta de solo em período de estiagem, foi possível verificar que o meio de cultura que permitiu maior crescimento de UFCs foi o BDA, nas três repetições realizadas, quando comparado com o meio de cultura agar SAB (Tabela 01). O maior valor obtido foi de $8,6 \times 10^6$ UFC/g da repetição 1 no meio de cultura BDA, e o menor foi de $2,6 \times 10^4$ UFC/g na repetição 2 e meio de cultura SAB.

Tabela 1. Quantificação das unidades formadoras de colônias de fungos por cada repetição isolados de solo em período de estiagem de área preservada na UC Parque estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

Grupo dos isolados	Meio de cultura	Quantificação* (UFC/g)
Repetição 1 (D1 a D10)	BDA	$8,6 \times 10^6$
	SAB	$4,6 \times 10^4$
Repetição 2 (A1 a A10)	BDA	$1,93 \times 10^6$
	SAB	$2,6 \times 10^4$
Repetição 3 (I1 a I11)	BDA	$1,86 \times 10^6$
	SAB	$8,3 \times 10^4$

*Os valores representam as médias das triplicatas de cada repetição

No isolamento e quantificação de fungos realizados a partir da coleta de solo em período de chuva, foi observado uma maior quantidade de UFCs em meio de cultura SAB, quando comparado com o meio de cultura BDA, nas três repetições realizadas (Tabela 02). A maior quantificação foi de $2,23 \times 10^6$ UFC/g da repetição 1 em meio de cultura SAB, e o menor valor obtido foi de $1,23 \times 10^6$ UFC/g da repetição 3 em meio de cultura BDA.

Tabela 2. Quantificação das unidades formadoras de colônias de fungos por cada repetição isolados de solo em período de chuva de área preservada na UC Parque estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

Grupo dos isolados	Meio de cultura	Quantificação* (UFC/g)
Repetição 1 (D1 a D10)	BDA	2,06 x 10 ⁶
	SAB	2,23 x 10 ⁶
Repetição 2 (A1 a A10)	BDA	1,9 x 10 ⁶
	SAB	2,2 x 10 ⁶
Repetição 3 (I1 a I11)	BDA	1,23 x 10 ⁶
	SAB	2,07 x 10 ⁶

*Os valores representam as médias das triplicatas de cada repetição

A partir desses dados, é possível notar que o solo analisado apresenta uma grande biomassa fúngica, porém, a quantidade de UFCs foi maior em período de estiagem, mesmo diante de temperaturas altas existentes na região, com temperatura média do solo de 28,5 °C, podendo se dizer que esses microrganismos são tolerantes a temperaturas mais elevadas. Por outro lado, por se tratar de uma área preservada, a presença de serrapilheira minimiza outros fatores como umidade e incidência de radiação solar.

A temperatura do solo obtida em período de chuva foi de 24,1 °C. Na tabela 2, observa-se que a quantidade de UFCs de fungos foi menor em período chuvoso, este resultado é semelhante ao encontrado por Rodrigues *et al.*, (2010) e Silva *et al.* (2010) onde a população de fungos foi maior no período seco. A quantidade de fungos presentes no período de estiagem pode estar relacionado com as características da parede celular desses microrganismos, já que possuem uma parede celular rígida que permite suportar altas taxas de temperaturas (DALLACORT *et al.*, 2009). Souto, (2006) em um estudo realizado para determinação da população fúngica, também verificou um maior crescimento de fungos em períodos mais secos.

É sabido que diversos fatores como a salinidade, temperatura e o pH interferem diretamente no desenvolvimento microbiano, ou seja, influenciando a atividade metabólica dos microrganismos de acordo com as condições a que foram expostos (BONONI, 2015; SOUTO *et al.*, 2008), sendo esperada uma variação na

quantidade de fungos ali presentes quando comparados os valores encontrados em outros trabalhos (RECH *et al.*, 2013). MENEZES *et al.*, (2012) em seu estudo com microrganismos de solos da região semiárida, comprovaram essa variabilidade, o que corrobora para justificar as diferenças entre as populações fúngicas do solo coletado nos dois períodos do presente estudo.

4.2. Seleção e identificação dos isolados fúngicos do solo

Para o isolamento de fungos realizado com o solo da coleta em período de estiagem, foram selecionadas e purificadas 31 colônias fúngicas, e do solo da coleta no período de chuva foram selecionadas 11 colônias fúngicas. Estes isolados foram identificados a partir de suas características macro e micromorfológicas, a nível de gênero (Tabela 3).

Alguns gêneros de fungos apresentam espécies mais representativas na maioria dos tipos de solo, entre eles então os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (MACHERONI *et al.*, 2004). Com os resultados obtidos a partir da primeira coleta (período de estiagem), foi observado uma maior incidência de fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus* na maioria dos isolados, o *Penicillium* apenas no isolado A4, e *Eurotium* no isolado A5 (Figura 4).

Tabela 3. Identificação dos isolados fúngicos de solos coletados na UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE, por período de coleta.

Nº do isolado	Período de estiagem Identificação	Nº do isolado	Período de chuva Identificação
A1	<i>Aspergillus</i> sp.	A5	<i>Scopulariopsis</i> sp.
A2	<i>Aspergillus</i> sp.	A7(1)	<i>Cladosporium</i> sp.
A3	<i>Aspergillus niger</i>	A7(2)	SI
A4	<i>Penicillium</i> sp.	A8	SI
A5	<i>Eurotium</i> sp.	A9	<i>Paecilomyces</i> sp.
A9	<i>Aspergillus</i> sp.	D7	<i>Penicillium</i> sp.
A10	<i>Aspergillus</i> sp.	D9	<i>Aspergillus</i> sp.
D8	<i>Aspergillus</i> sp.	I7	<i>Aspergillus niger</i>
D10	<i>Aspergillus niger</i>	I8(1)	<i>Paecilomyces</i> sp.
I2	<i>Aspergillus</i> sp.	I8(2)	SI
I3	<i>Aspergillus</i> sp.	I9	SI

SI = sem identificação.

Estes resultados corroboram com Klinch (2002), onde os fungos do gênero *Aspergillus* sp. veem sendo isolados com mais frequência em áreas com temperaturas superiores a 25 °C, consideradas quentes. As espécies desse gênero são de fácil distribuição no ambiente (ABARCA, 2000), podendo ser classificados como organismos cosmopolitas, pela propensão a dispersão de seus esporos assexuados. Conforme Ritter (2007), esse gênero se desenvolve melhor em clima tropical, por conta da variação de temperatura, sendo esses fungos termotolerantes, com o potencial de se desenvolver em temperaturas superiores a 37°C (BOFF *et al.*, 2012).

Em relação aos resultados obtidos no período de chuva, foi verificado a presença de fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Cladosporium* e *Paecilomyces* (Figura 5). Conforme Lacaz *et al.*, (2002), dentre os principais gêneros de fungos anemófilos amplamente encontrados no ar e na poeira,

destaca-se o gênero *Cladosporium*, com maior ocorrência em relação aos demais. Este gênero é considerado um dos mais cosmopolitas, presente nos mais diversos ambientes e substratos (MENEZES *et al.*, 2006). Sendo em sua maioria espécies saprófitas, incluindo espécies responsáveis por algumas doenças em plantas, animais e humanos, referidos como bioalérgeno (LACAZ *et al.*, 2002; TRABULSI *et al.*, 2005).

O gênero *Paecilomyces* pode ser encontrado naturalmente em diversos tipos de solo. Seus conidióforos são ramificados em grupos de bifurcações irregulares, apresentando cerca de 600 µm de comprimento, e conídios separados das fiálides em forma de corrente (DOMSCH *et al.*, 1980).

Em um levantamento com fungos filamentosos isolados de solos de municípios da região de Xingó, Cavalcanti *et al.*, (2006), observaram uma maior representatividade entre os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Moura, (2007) em seu estudo com fungos de solo no Vale do Catimbau, também registrou 44 espécies com maior predominância dos gêneros *Aspergillus* com 16 espécies e *Penicillium* com 8, assim como em outros estudos no semiárido brasileiro, Cavalcanti e Maia (1994) e Costa *et al.*, (2006) demonstraram, em sua maioria, fungos representados por ambos gêneros.

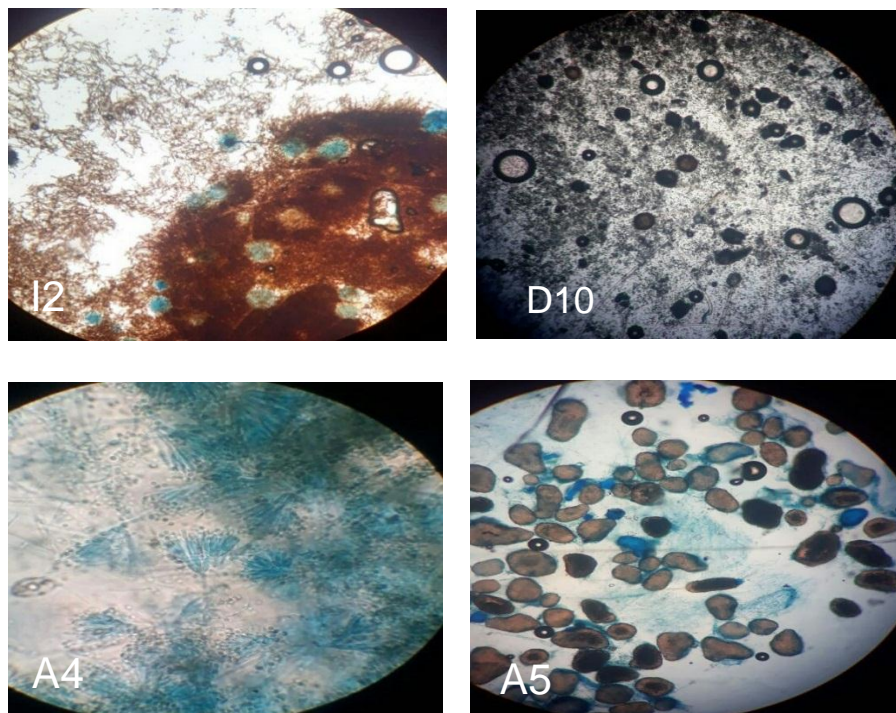


Figura 4. Isolados da coleta em estiagem, identificados de *Aspergillus* sp. (I2), *Aspergillus niger* (D10), *Penicillium* sp. (A4), *Eurotium* sp. (A5).

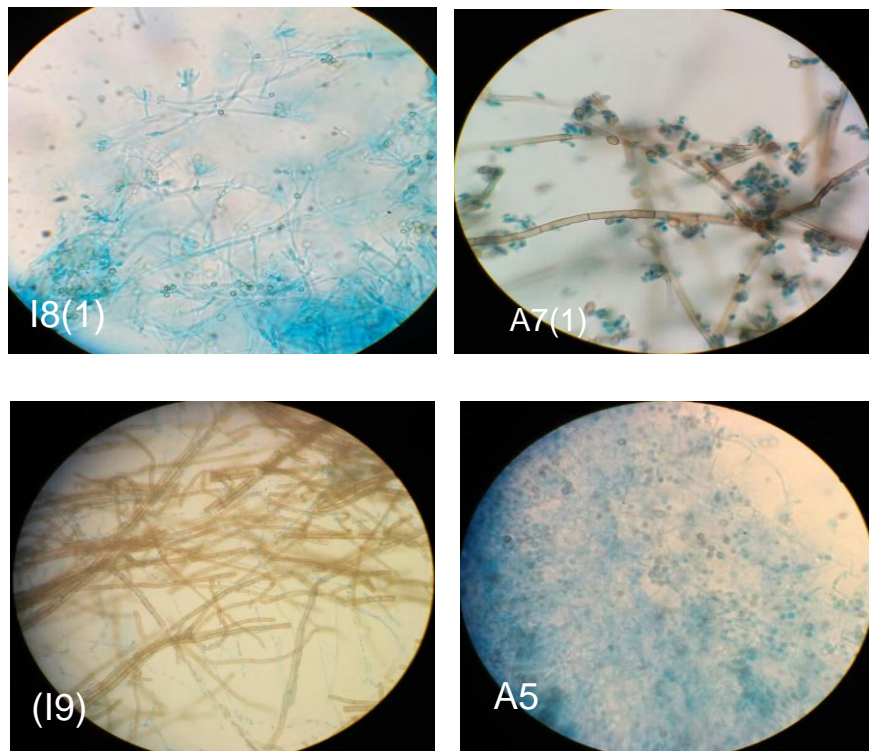


Figura 5. Isolados da coleta em período de chuva, identificados de *Paecilomyces* sp. I8(1), *Cladosporium* sp. A7(1), Micélio septado (I9), *Scopulariopsis* sp. (A5).

Gochenaur (1975), em seu estudo com solos das Bahamas concluiu que *Aspergillus* e *Penicillium* podem colonizar ambientes com baixo potencial hídrico comparados a outros fungos, porém o *Aspergillus* mais tolerante a condições áridas, sendo considerado mais xerotérmico que *Penicillium*.

Outro dado importante observado no presente estudo, é que os isolados selecionados da coleta realizada em período de estiagem, apesar de em maior número, foram menos diversos (três gêneros) quando comparados aos isolados obtidos da coleta realizada em período de estiagem, com um total de cinco diferentes gêneros identificados até a presente data. Este resultado salienta que o período de coleta, associado a outros fatores como temperatura e disponibilidade de água, influenciam na comunidade fúngica presente no solo. Assim, é interessante salientar a importância da condição hídrica, uma vez que nestas há melhores condições para manutenção de diversidade, como constatado em outros trabalhos

que abordaram a diversidade de microrganismos de solos (SANTOS *et al.*, 2014; MOURA *et al.*, 2015; GOBERNA *et al.*, 2005)

4.3 Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana

A produção de compostos fúngicos a partir dos ensaios da primeira coleta (período de estiagem), verificou-se que dos 20 fungos testados, 15 apresentaram atividade inibitória contra *Staphylococcus aureus*, *E.coli* e *Klebsiella* (Tabela 4).

Tabela 4. Halos de inibição após análise da atividade antimicrobiana de fungos isolados de solo coletado em período de estiagem.				
N° do isolado/ Gênero (coleta estiagem)	Bactérias			
	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>E. coli</i>
A4- <i>Penicillium</i> sp.	SA	26 mm	SA	15mm
D8- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	28mm	SA	SA
D1	SA	30 mm	SA	SA
A10- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	26 mm	SA	SA
A9- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	32 mm	20mm	SA
A10- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	30 mm	SA	SA
I2- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	SA	SA	SA
D1	SA	SA	SA	17mm
D1	SA	SA	SA	19 mm
A2- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	SA	SA	17mm
I8	SA	SA	SA	16mm
A5- <i>Eurotium</i> sp.	SA	SA	SA	SA
A1- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	SA	18 mm	SA
D4	SA	SA	16 mm	SA
A3- <i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	SA	SA	SA	SA
A1- <i>Aspergillus</i> sp.	SA	SA	18 mm	SA

I3- <i>Aspergillus</i> <i>sp.</i>	SA	SA	SA	SA
D5	SA	SA	SA	SA
I9	SA	SA	SA	SA

SA = sem atividade;

Pode-se notar que dos isolados, 6 fungos apresentaram atividade contra a bactéria Gram-positiva *S. aureus*, sendo o maior número de fungos entre os testes observados, e com o maior halo de inibição de 32 mm de diâmetro, gerado pelo isolado 5 (*Aspergillus* sp.). O gênero *Aspergillus*, tem distribuição mundial, comumente isolado de diversos substratos orgânicos, e destaca-se por sintetizar diversos compostos bioativos, entre os quais já foram identificados antimicrobianos (JAHROMI *et al.*, 2012).

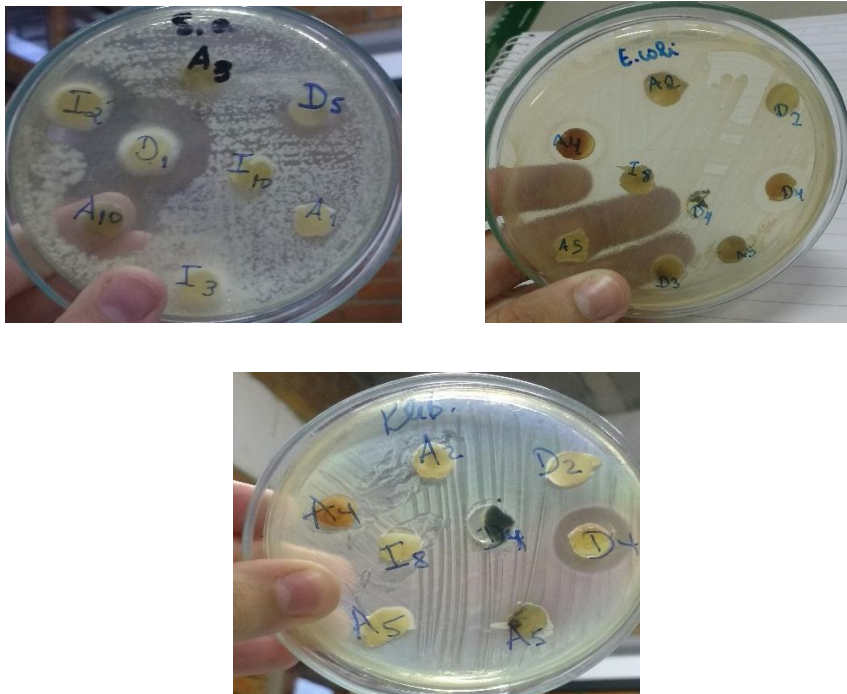


Figura 6. Isolados fúngicos que apresentaram halos de inibição contra *S. aureus*, *E.coli* e *Klebsiella*.

Para a *E. coli*, 5 fungos mostraram atividade contra a bactéria, com crescimento de halo de inibição médio entre 14 mm e 19 mm. Bactéria gram-negativa que pode sobreviver em partículas fecais, poeira e água por semanas, porém seu ambiente normal é o trato intestinal (ANDRADE, 2005; SAVIOLLI, 2010) sendo responsável por um grande número de infecções (CLEMENTINO *et al.*, 2015). Quatro fungos apresentaram contra a *Klebsiella*, com halo de crescimento de 16 mm a 20 mm.

Quanto a bactéria *Salmonella*, nenhum isolado fúngico mostrou atividade inibitória, este resultado pode estar relacionado ao fato de que as bactérias Gram-negativas possuem uma estrutura diferenciada das Gram-positivas no que diz respeito à parede celular: as bactérias Gram-negativas são mais resistentes à ação dos antibióticos, devido apresentarem uma membrana externa constituída de lipopolissacarídeos que funciona como uma barreira contra a entrada de drogas antimicrobianas (HANCOCK, 1997), além de enzimas no espaço periplasmático (entre a parede celular e a membrana externa), pois a resistência pode estar relacionado a enzimas inativadoras e modificadoras, onde compostos produzindo pelos isolados do solo poderiam ser destruído por enzimas de bactérias Gram-negativas (LEVY; MARSHALL, 2004). A resistência de *S. aureus* aos antibióticos também tem demonstrado ser um grave problema de saúde pública, se destacando como um grande desafio na busca de novos compostos químicos para controlar os efeitos patogênicos desta bactéria (MORELL; BALKIN, 2010).

Diante dos resultados, a maioria dos fungos apresentaram halos de inibição médio entre 15 mm e 32 mm de diâmetro, com isso, sendo classificados como bons produtores de compostos antibacterianos. Estes resultados corroboraram com Queiroz e colaboradores (2014), em seu estudo de prospecção de fungos da caatinga produtores de antibióticos, na qual os isolados fúngicos apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*, com halos de inibição superior a 20 mm, e maior halo de inibição contra *E. coli* com 33 mm de diâmetro. Este resultado também concorda com o encontrado por Clementino *et al.*, (2015), onde as linhagens fúngicas apresentaram halos de inibição maiores que 10 mm.

Com relação aos isolados da coleta em período chuvoso, nota-se que dos 11

isolados fúngicos submetidos ao teste de atividade antimicrobiana, nenhum isolado demonstrou atividade inibitória frente as bactérias testes utilizadas.

De acordo com Lee *et al.*, (2004) a temperatura é um dos principais fatores que podem influenciar na produção de compostos bioativos. Este fato foi verificado em um estudo realizado por Clementino *et al.*, (2015), em que os resultados mostraram que na temperatura a 28 °C e 37 °C a maioria apresentaram halos de inibição, porém, a uma temperatura de 45 °C houve uma maior produção de metabólitos secundários. Algumas alterações nas condições de cultivo, tais como, disponibilidade de nutrientes, pH, tempo de incubação, ausência ou presença de luz e agitação influenciam diretamente para a produção de metabólitos fúngicos (SUAY *et al.*, 2000).

A busca de novos antimicrobianos tem mostrado que há maior dificuldade na descoberta de novos metabólitos bioativos contra bactérias Gram-negativas do que contra as Gram-positivas. Entre essas estão *E. coli*, *K. pneumoniae* (RICE, 2008; BASSETTI; FRANCESCA; MALGORZATA, 2011). Esta afirmação, corrobora com Josy *et al.*, (2010) em seu estudo realizado com 60 cepas de *Penicillium*, demonstraram maior capacidade de inibição em bactérias Gram-positivas.

Este cenário e a falta de novos antimicrobianos tem ocasionado novos investimentos direcionados às pesquisas com solo, inclusive com apoio das ferramentas da biologia molecular (BUSTI *et al.*, 2006), na busca de novos compostos, sendo os fungos ainda considerados boas fontes destes compostos.

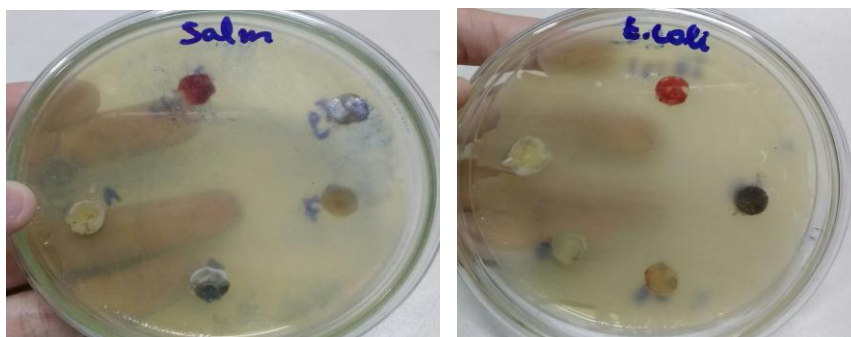




Figura 7. Isolados fúngicos que não apresentaram halos de inibição.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A quantificação de UFCs por período de coleta não demonstrou grande diferença, apesar dos valores serem um pouco maiores em solo coletado em período de estiagem. O meio de cultura utilizado influenciou a quantidade de UFC de fungos, principalmente em período de estiagem.
- Na coleta em período de estiagem, foram identificados os gêneros *Aspergillus*, *Eurotium* e *Penicillium*, dentre os quais *Aspergillus* foi o que mais se destacou, com oito representantes. Em período de chuva, foram identificados os gêneros *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus* e *Penicillium*. O que mostra a influência de fatores como temperatura e disponibilidade de água na diversidade de fungos que habitam os solos.
- Com os ensaios da primeira coleta, quinze isolados demonstraram atividade antimicrobiana, sendo assim, classificados como bons produtores de compostos antibacterianos importantes para futuras aplicações biotecnológicas, em especial na indústria farmacêutica.
- A produção de metabólitos secundários com atividade antibacteriana pode ser influenciada pelo período de coleta, uma vez que os isolados da coleta em

período de chuva não mostraram nenhuma atividade inibitória frente às bactérias teste.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABARCA, M.L. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Rev Iberoam Micol*, v. 17, n. 3, p. S79-S84, 2000.
- ABURJAILE, S.B.; SILVA, M.P. da; BATISTA, E.A.F.S.; BARBOSA, L.P.J.L.; BARBOSA, F.H.F. Pesquisa e caracterização da diversidade microbiológica do solo, na região de São José do Buriti-MG, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa (cerrado) por plantações de eucalipto. *Ciência Equatorial*, v. 1, n.2, p. 1-18, 2011.
- ANDRADE, C. L. Histopatologia e identificação da *escherichia coli* como agente causal da celulite aviária em frangos de corte. 62 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Med. Veterinária)- Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro. 2005.
- ANDRADE, L.A.; PEREIRA, I.M.; LEITE, U.T.; BARBOSA, M.R.V. Análise da cobertura de duas fitofisionomias da caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, Estado da Paraíba. *Cerne*, v. 11, n.3, p. 253-262, 2005.
- AQUEVEQUE, P.; ANKE, T.; SAÉZ, K.; SILVA, M.; BECERRA, J. Antimicrobial activities of submerged cultures of Chilean Basidiomycetes. *Planta Med.* 76: 1787–1791. 2010. z
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo - biological indicators of soil quality. *iosci. J.*, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, July./Sept. 2007.
- BALA, N, AITKEN, E.A.B.; FECHNER, N.; CUSACK, A.; STEADMAN, K.J. Evaluation of antibacterial activity of Australian basidiomycetous macrofungi using a high-throughput 96-well plate assay. *Pharmaceutical Biology*, 49: 492–500. 2011.
- BALDRIAN, P.; MERHAUTOVÁ, V.; PETRÁNKOVÁ, M.; CAJTHAML, T.; SNAJDR, J. Distribution of microbial biomass and activity of extracellular enzymes in a hardwood forest soil reflect soil moisture content. *Applied Soil Ecology* 46: 177–182. 2010.
- BARREIRO, C.; MARTÍN, J.F.; GARCÍA-ESTRADA, C. Proteomics shows new faces for the old penicillin producer *Penicillium chrysogenum*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*: 1–15. 2012.
- BASSETTI, M.; FRANCESCA, G.; MALGORZATA, M. “New Treatment Options against Gram-Negative Organisms.” *Critical Care*, v. 15, n. 2, p. 1-9, 2011.
- BATISTA, S.B.; SOUSA, O.V. Análise fenotípica e genotípica de bactérias isoladas do solo da floresta nacional dos Tapajós, Pará, Brasil, sob efeito de estresse

- hídrico. Revista UNIARA, v. 13, n.1, p. 36-48, 2010.
- BEATTIE, A.J.; BARTHLOTT, W.; ELISABETSKY, E.; FARREL, R.; KHENG, C.T.; PRANCE, I.; ROSENTHAL, J.; SIMPSON, D.; LEAKEY, R.; WOLFSON, M.; TEN KATE, K.;. New products and industries from biodiversity. In: HASSAN, R.; SCHOLE, R.; ASH, N. (Eds.), *Ecosystems and Human Well-Being: Current State and Trends*, Island Press, Washington, DC, p. 271e 296, 2005.
- BÉRDY, J. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot*, v. 58, p. 1–26, 2005.
- BJORKLOF, K.; KARLSSON, S.; FROSTEGARD, A.; JORGENSEN, K.S. Presence of actinobacterial and fungal communities in clean and petroleum hydrocarbon contaminated subsurface soil. *The Open Microbiology Journal*, v. 3, p. 75-86, 2009.
- BLACKWELL M. The fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species? *American Journal of Botany*, 98 (3): 426–438. 2011.
- BOFF C, BRUN CP, MIRON D, ZOPPAS BC, PASQUALOTTO AC. The effect of different incubation temperatures on the recovery of *Aspergillus* species from hospital air. *American Journal of Infection Control* ;40(10):10161017.2012.
- BONONI, L. Impacto da umidade do solo sobre a estrutura das comunidades bacterianas e sobre as atividades enzimáticas em solos da Caatinga e da Mata Atlântica. *Embrapa Meio Ambiente-Tese/dissertação (ALICE)*, 2016.
- BRANDÃO, E.M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: Cardoso, E.J.B.N., *Microbiologia do solo*. Campinas, Soc. Brasileira de Ciência do Solo, p.1-16.1992.
- BUSTI, E.; CAVALETTI, L.; MONCIARDINI, P.; SCHUMANN, P.; ROHDE, M.; SOSIO, M.; DONADIO, S. *Catenulispora acidiphila* gen. nov., sp. nov., a novel, mycelium-forming actinomycete, and proposal of *Catenulisporaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. v. 56, p. 1741-1746, 2006.
- CASTELLETTI, C.H.M.; SILVA, J.M.C, TABARELLI, M.; SANTOS A.M.M. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. In: SILVA, J.M.C. 2003.
- CASTRO, A.P. et al. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields. *Archieve Microbiology*, Paris, v. 190, n.2, p.129-139, 2008.
- CAVALCANTI M.A.Q.; OLIVEIRA L.G.; FERNANDES M.J.; LIMA D.M. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. *Acta bot. bras.* 20(4): 831-837, 2006.
- CAVALCANTI, M.A.; MAIA, L.C. Cellulolytic fungi isolated from alluvial soil in semi-arid area of the northeast of Brazil. *Revista de Microbiologia* 25: 251-254. 1994.
- CAVALCANTI, M.A.; MAIA, L.C. Cellulolytic fungi isolated from alluvial soil in semi-arid area of the northeast of Brazil. *Revista de Microbiologia* 25: 251-254, 1994.
- CHAIT, R.; VETSIGIAN, K.; KISHONY, R. What counters antibiotic resistance in nature? *Nat. Chem. Biol.*, v. 8, p. 2-5, 2012.
- CLARDY, J., FISCHBACH, M.; CURRIE, C. The natural history of antibiotics. *Curr Biol*. 2009 June 9; 19(11): R437–R441. doi:10.1016/j.cub.04.001.2009.
- CLEMENTINO, L.C.; BARBOSA, C.C.; SILVA, D.P.D; SILVA F.D, QUEIROZ J.C.F. bioprospecção de antibióticos produzidos por fungos da caatinga. *Evidência*,

- Joaçaba v. 15, n. 1, p. 37-56, jan./jun. 2015.
- COOPER, M.A.; SHLAES, D. Fix the antibiotics pipeline, *Nature*, v.472, 2011.
- CORREIA, M. E. F.; OLIVEIRA, L. C. M. Importância da Fauna de Solo para a Ciclagem de Nutrientes. In: AQUINO, A. M., ASSIS, R. L. (Ed.). *Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para a agricultura sustentável*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 18-29, 2005.
- COSTA, C.C.A.; OLIVEIRA, F.L.; CAMACHO, R.G.V.; DANTAS, I.M.; MARACAJÁ, P.G. Entomofauna presente no conteúdo da serapilheira em área de caatinga na floresta nacional do Açu-RN. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 8, n.4, p. 50-56, 2013.
- COSTA, I.P.M.W.; CAVALCANTE, M.A.Q.; FERNANDES M.J.S.; LIMA D.M.M. Hyphomycetes from soil of an area affected by copper mining activities in the state of Bahia, Brasil. *Braz. J Microbiol.* 37:290-295, 2006.
- COUTINHO, L.M. O conceito de bioma. *Acta Botanica Brasilica*, v. 20, n.1, p. 13-23. 2006.
- DALLACORT, R.; CARVALHO, I. F.; GARCIA, W. M.; SILVA, F. P.; Sazonalidade de *Cladosporium* sp. (fungo anemófilo) na cidade de Tangará da Serra – MT em função dos fatores ambientais no período de um ano. Universidade do Estado do Mato Grosso, 2º jornada científica da UNEMAT, Barra do Bugres – MT, 2009.
- DEACON, J.W. *Fungal Biology*. 4 ed. Blackwell Publishing, 384 p. 2005.
- DEMAIN, A.L. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52:455-463, 1999.
- DEMAIN, A.L. Small bugs, big business: The economic power of the microbe, *Biotechnology Advances*, 18:499-514, 2000.
- DOERN, G. V.; TILLOTSON G. S. What have we learned about antimicrobial prescribing? *Antimicrob. Infect. Dis. Newsl*, v. 18, p. 81- 86, 2002.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. *Compendium of soil fungi*. CRC Press, London. 630 p.1980.
- DU TOIT, A. A key regulator of secondary metabolites. *Nature Reviews Microbiology*, v. 14, p. 727, 2016.
- FAIA, A. M. Isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduras em alguns pontos de uma rede de distribuição de água. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. -Tese de Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia, 2011.
- FAJARDO, A.; MARTÍNEZ, J.L. Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Current Opinion in Microbiology*. 11(2):161 67. 2008.
- FEOFILOVA, E. P. The Kingdom fungi: Heterogeneity of physiological and biochemical properties and relationships with plants, animals, and prokaryotes (Review). *Appl. Bioch. and Microbiol.*, v. 37, p. 124 – 137, 2001.
- FERNANDES, A.N. Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos isolados de diferentes fontes. Lavras: UFLA, 2009.
- FERNANDES, P. Antibacterial discovery and development - the failure of success? *Nat Biotechnol*, v.24,p. 1497-503, 2006.
- FILIZOLA, B. C.; SAMPAIO, M. B. Boas Práticas de Manejo para o Extrativismo

- Sustentável de Cascas. Brasília: Instituto; Sociedade, População e Natureza; ISBN 978-85-63288-17-2. 2015.
- FONTANA, N. N. Avaliação de três diferentes meios de cultura para a quantificação de microrganismos do solo em sistema de plantio direto e convencional. 2010. 42 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Faculdade Dinâmica das Cataratas (UDC). Foz do Iguaçu – PR, 2010.
- FORZZA, R.C.; LETTMAN, P.M.; COSTA, A.; CARVALHO JR, A.A.; PEIXOTO, A.L.; WALTER, B.M.T.; SOUZA, V.C. Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Vol1, 2010.
- FRISVAD, J.C., SMEDSGAARD, J., LARSEN, T.O., SAMSON, R.A. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus. *Studies in Mycology* 49: 201-242. 2004.
- GARCIA, A. et al. Diversity of foliar endophytic fungi from medicinal plant *Sapindus saponaria* L. and their localization by scanning electron microscopy. *Biological Research*, v.45, n.2, p.149-158. 2012.
- GOBERNA, M. INSAM, H. KLAMMER, S.; PASCUAL, J. A.; SÁNCHEZ, J. Microbial community structure at different depths in disturbed and undisturbed semiarid Mediterranean forest soil. *Microbial Ecology*, v. 5 , p. 315-326, 2005.
- GOCHENAUR, S.E. Distributional patterns of mesophilous and termophilous microfungi in two Bahamia soils. *Mycopathologia* 57: 155-164, 1975.
- GRENNI, P.; ANCONA, V.; CARACCILOLO, A.B. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchemical Journal* 136. 25–39. 2018.
- GUSMÃO, L.P.; MAIA, L.T. Os fungos (capítulo II). In: GUSMÃO, L.F.P.; MAIA, L.C. (Org.) *Diversidade e caracterização dos fungos do semiárido Brasileiro*. 1º ed. Recife, Associação plantas do Nordeste- APNE, 2:27 47. 2006.
- HANCOCK, R. E.: The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends in Microbiology*, v. 5, p. 37-42, 1997.
- HIBBETT, D.S. et al. A Higher-level Phylogenetic Classification of the Fungi. *Mycological Research* 111: 509-547. 2007.
- ICHIKAWA, T.; Date, M.; ISHIKURA, T.; Ozaki, A. Improvement of Kasigamycin-producing strain by the agar piece method and the prototroph method. *Folia Microbiol* 16; 218, 1971.
- Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Apostila de manejo. Parte I: O Mínimo de ecologia para o manejo florestal. 2011.
- JAHROMI, M. F.; J. B. LIANG, Y. W. HO, R. MOHAMAD, Y. M. GOH & P. SHOKRYAZDAN, 2012. Lovastatin production by *Aspergillus terreus* using agro-biomass as substrate in solid state fermentation. *Journal of Biomedicine & Biotechnology* 2012.
- JAYANTHI, G. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of the endophytic fungus *Phomopsis* sp. GJJM07 isolated from *Mesua ferrea*. *International Journal of Current Science*, v.1, p. 85-90, 2011.
- JOSY, C. da S.; ORMEZINDA C.C.F.; MICHEL da S.M.; ARMANDO da C.R.JR.; MARIA, F.S.T. Atividade antimicrobiana de espécies de *Penicillium* mantidas sob duas condições de preservação, *Revista de la Sociedad Venezolana de*

- Microbiologia, 2010.
- KLINCH, M. A. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. *Mycologia*, v.94, p.21-27. 2002.
- LACAZ, C. S; PORTO, E; MARTINS, J. E. C.; VACCARI, E. M. H.; MELO, N. T. Tratado de micologia médica. 9ª ed. São Paulo. Sarvier, 1104. 2002.
- LEAL, I. R.; SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; LACHER JUNIOR, T. E. Mudando a o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. *Megadiversidade*, v.1, p. 139-146. 2005.
- LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. Ecologia e Conservação da Caatinga. Universitária, UFPE, pp.822. 2003.
- LEWINSOHN T.M. & PRADO P.I. Síntese do conhecimento atual da biodiversidade brasileira. In: Lewinsohn T.M. (org.). Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 2006.
- MACCHERONI, J.R. W.; ARAÚJO,W.L.; LIMA, A.O.S. Ecologia: Habitat e interações fúngicas com plantas, animais, fungos e bactérias. In AZEVEDO, J.L. & ESPOSITO, E.. Fungos: Uma introdução a Biologia Bioquímica e Biotecnologia. Caxias do Sul: EDUCS, p.451- 490. 2004.
- MAIA, G.N. Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades, 1ª ed. Computação Gráfica e Editora, São Paulo. 2004.
- MAIA, L. C.; GILBERTONI, T. B. Fungos registrados no semi-árido nordestino. In: SAMPAIO, E. V.B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGINIO, J.; GAMARRA ROJA, C.F.L. (eds.). Vegetação e flora da Caatinga. Associação de Plantas do Nordeste – APNE, Centro Nordestino de Informações sobre plantas – CNIP, Recife, Pp. 163-176, 2002.
- MAMEDE, A.L.C.P. et al. Atividade biológica do fungo *Pisolithus microcarpus*. 2015.
- MENDES, I.C.; JÚNIOR, F.B.R. Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. Distrito Federal, Embrapa Cerrados. 2004.
- MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; GIONGO, V.; PÉREZ-MARIN, A.M. Biogeochemical cycling in terrestrial ecosystems of the Caatinga Biome. *Brazilian Journal of Biology*, v. 72, n.3, p. 643-653, 2012.
- MENEZES.E. A., et al. Fungos anemófilos na sala de periódicos da biblioteca de ciências da saúde da Universidade Federal do Ceará. *RBAC*, Ceará, vol. 38(3): 155- 158, 2006.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2.ed. Lavras: UFLA, 729 p. 2006.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras, UFLA. 626p. 2002.
- MOREIRA, J. N.; LIRA, M. DE A.; DOS SANTOS, M. V. F.; FERREIRA, M. DE A.; GHERMAN, G. L. DE A.; GHERMAN G. L.; FERREIRA, R. L. C.; DA SILVA, G. C. Caracterização da vegetação de caatinga e da dieta de novilhos no sertão de Pernambuco. *Pesq. agropec. bras.* v.41, n.11, p.1643-51, 2006.
- MORELL, E. A.; BALKIN, D. M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a pervasive pathogen highlights the need for new antimicrobial development. *Yale J*

- Biomol Med, v. 83, p. 223-233, 2010.
- MOURA, M.S.; GALVINCIO, J.D.; BRITO, L.T.L.; SOUZA, L.S.B.; SÁ, I.I.S.; SILVA, T.G.F. Clima e água de chuva no semiárido. In: BRITO, L.T.L.; MOURA, M.S.; GAMA, G.F.B. Potencialidades da água de chuva no Semiárido brasileiro. Embrapa. 1ª Edição, pp. 37-59. 2007.
- MOURA, Q.L. et al. variação sazonal da população de bactérias e fungos e dos teores de nitrato e amônio do solo nos sítios do IBA e Ppbio, na Amazônia oriental. *Revista Brasileira de Meteorologia*, v. 30, n. 3, 265 - 274, 2015.
- NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G.; VALORI, F. Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere. *Suelo*, v. 25, n.1, p. 89-97, 2007.
- NASCIMENTO, R. F.Q. et al. pProspecção de fungos da caatinga produtores de antibióticos. *Revista Saúde & Ciência Online*, v. 3, n. 3, p. 76-85, 2014.
- OSBURNE, M. S.; GROSSMAN, T. H.; AUGUST, P. R.; MACNEIL, I. A. Tapping into microbial diversity for natural product drug discovery. *ASM*, v. 66, p. 411- 417, 2002.
- OVERBYE, K. M.; BARRETT, J.F., Antibiotics: where did we go wrong? *Drug Discovery Today*, v. 10, p. 45, 2005.
- PALLU, A.P.S. Potencial biotecnológico de fungos do gênero *Penicillium* e interação com cana-de-açúcar. 2010. 129 p.Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- PELÁEZ, F. The historical delivery of antibiotics from microbial natural products can history repeat. *Bioch. Pharmacol.*, v. 71, p. 981-990, 2006.
- PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E.C.S.; *Microbiologia*, São Paulo: Mc Graw-Hill do Brasil. V. 1, 1980.
- PEREIRA, J.R.; NEI, B.O.N.; SILVA, E.P.; FERRARA, M. A. Séries em Biotecnologia, volume I, Tecnologia de bioprocessos – Rio de Janeiro: Escola de Química/UFRJ, 2008.
- PIMENTEL, J.V.F.; GUERRA, H.O.C. Semiárido, caatinga e legislação ambiental. UFPB, 2009.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. *Fungi and food spoilage*. 3rd ed. New York: Dordrecht Springer, 503 p. 2009.
- PITT, J.I. *A laboratory Guide to Common Penicillium Species*. North Wales: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing. 1991.
- POTTER, C. S.; MEYER, R. E. The Role of Soil Biodiversity in Sustainable Dryland Farming Systems. *Adv. Soil Sci.*, v.13, p. 241-5, 219. 1990.
- PRADO, D.E. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, R.I.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. *Ecologia e conservação da Caatinga*. Recife: Ed. Universitária da UFPE, p.823. 2003.
- QUEIROZ, J.C.F. et al. Prospecção de fungos da caatinga produtores de antibióticos, *revista saúde e ciência On line*; 3(3):76-85, set-dez, 2014.
- RECH, Morgana et al. Microbiota do solo em vinhedos agroecológico e convencional e sob vegetação nativa em Caxias do Sul, RS. *Revista Brasileira de*

- Agroecologia, v. 8, n. 3, 2013.
- RICE, L. B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE. *Journal of Infectious Diseases*, v. 197, n. 8, p. 1079-108, 2008.
- RITTER, Ana Carolina. Potencial toxigênico de *Aspergillus flavus* testado em diferentes meios e condições. 2007.
- RODAL, M.J.N.; SAMPAIO, E.V.S.B.; FIGUEIREDO, M.A. Manual sobre métodos florísticos e fitossociológicos. Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 24p. 1992.
- RODRIGUES, H. B.; RUIVO, M. L.; LÔLA, A. C.; MELLO, I. F.; MOURA, Q. L.; VIANA, R.S. Variabilidade quantitativa de populações microbiana observada em solo de floresta tropical úmida, associada às condições microclimáticas. 2010.
- SAMSON, R.A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*. v. 78, p. 141-173, 2014.
- SANTOS R.S.; BARRETO P.A.B; SCORIZA R.N. Efeito da sazonalidade na comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em um fragmento de mata de cipó em Vitória da Conquista, Bahia. *R. bras. Bioci.*, Porto Alegre, v. 12, n. 1, p. 46-51, 2014.
- SAVIOLLI, J.Y. Pesquisa e caracterização de *Escherichia coli* patogênica (E. coli produtora de toxina Shiga – STEC; E. coli aviária patogênica - APEC) de fragatas (*Fregata magnificens*) da Costa do Estado de São Paulo. 84 f. Dissertação mestrado. Universidade de São Paulo. 2010.
- SCHARDL, C. L.; LEUCHTMANN, A.; SPIERING, M. J. Simbiosys of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review of Plant Biology*, v.55, p. 315-340, 2004.
- SCHIMITZ, J.A.K. Indicadores biológicos da qualidade do solo. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. (Tese de doutorado). 2003.
- SILVA, R. B.; MOURA, Q.; RODRIGUES, H.; BARRETO, P.; NUNES, H.; RODRIGUES, R.; SANTOS, S.; RUIVO, M. L.; Estudo das colônias de fungos e bactérias em solos de floresta tropical associada a variação das chuvas na região. 2010.
- SOUTO, P. C. Acumulação e decomposição da serapilheira e distribuição de organismos edáficos em área de caatinga na Paraíba, Brasil. 110 f. 2006. Tese (Doutorado em Biologia) – UFPB, 2006.
- SOUTO, P.C. et al. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob caatinga no semiárido da Paraíba. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, n. 1, 2008.
- STURSA, P. et al. Approaches for diversity analysis of cultivable and non-cultivable bacteria in real soil. *Plant Soil and Environment*, Praha, v.55, n.9, p.389-396, Sept. 2009.
- SUARÉZ, C.; GUDIOL, F.; *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*. 2009, 27, 116.
- SUAY LEVY S. B.; MARSHALL, B., Antibiotic resistance worldwide: cause, challenges and response. *Nat. Med.*, v.10, p. 122-129, 2004.
- SUAY, I.; ARENAL, F.; ASENSIO, F.J.; BASILIO, A.; CABELLO, M.A, DIEZ, M.T.;

- GARCIA, J.B, GONZALEZ, D.E.L.; VAL, A.; GORROCHATEGUI, J.; HERNANDEZ, P.; PELAEZ, F.; VICENTE, M.F. Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78: 129–139. 2000.
- TAKAHASHI, J.A.; LUCAS, E.M.F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica, *Química Nova*, 31 (7) 1807-1813, 2008.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R., CASE, C. L. *Microbiologia*. Porto Alegre, 8ª ed. 2005.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; *Microbiologia*. 4 ed. São Paulo. Atheneu. 717p 2005.
- TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 5 ed. São Paulo: Atheneu. 760 p. 2008.
- VINOKUROVA, N.G, Ivanushkina NE, Kochkina GA, Arinbasarov MU, Ozerskaya SM. Production of mycophenolic acid by fungi of the genus *Penicillium* link. *Appl Biochem Microbiol*. 41: 83-86. 2005.
- VISAGIE, C.M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, v. 78, p. 343-371, 2014.
- VON, N.F.; BRANDS, M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S.; HABICH, D.; *ANGEW. CHEM., Int. Ed.* 2006, 45, 5072.
- WALSH, C.; *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*; ASM - Washington, 2003.
- WEBSTER, J.; WEBBER, R. *Introduction to Fungi*. 3 ed. Cambridge University Press. 841 p. 2007.
- WENZEL, S. C.; MULLER, R. Formation of novel secondary metabolites by bacterial multimodular assembly lines: deviations from textbook biosynthetic logic. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, v. 9, p. 447-458, 2005.
- YADAV, G.; GOKHALE, R. S.; MOHANTY, D. Computational approach for prediction of domain organization and substrate specificity of modular polyketide synthases. *J Mol Biol*, v. 328, p. 335-363, 2003.
- YU, J.H.; KELLER, N. Regulation of secondary metabolism in filamentous fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 43:437-458, 2005.
- ZILLI, J.E. et al. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.