



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ARIANE SUSAN SANTOS FREIRES

**Avaliação da Produção de Amilase e Protease por
Fungos Filamentosos de Solos no Semiárido
Pernambucano**

SERRA TALHADA-PE

2019

ARIANE SUSAN SANTOS FREIRES

Avaliação da Produção de Amilase e Protease por Fungos Filamentosos de
Solos no Semiárido Pernambucano

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cynthia Maria Carneiro Costa

SERRA TALHADA-PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Sistema Integrado de Bibliotecas

Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F866a Freires, Ariane Susan Santos

Avaliação da Produção de Amilase e Protease por Fungos Filamentosos de Solos no Semiárido Pernambucano / Ariane Susan Santos Freires. - 2019.

57 f. : il.

Orientadora: Cynthia Maria Carneiro Costa.

Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2020.

1. Fungos filamentosos; . 2. Solos do semiárido; . 3. Bioprospecção; . 4. Atividade enzimática; . 5. Biotecnologia.. I. Costa, Cynthia Maria Carneiro, orient. II. Título

CDD 574

Avaliação da Produção de Amilase e Protease por Fungos Filamentosos de Solos no Semiárido Pernambucano

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

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dr^a. Cynthia Maria Carneiro Costa (ORIENTADORA)

UFRPE/UAST

Profa. Ma. Ana Luiza da Silva (2º TITULAR)

UFRPE/UAST

Profa. Dr^a Viviane Martha Santos de Moraes (3º TITULAR)

UFRPE/UAST

SERRA TALHADA-PE

2019

“Os benefícios da ciência não são para os cientistas, e sim para humanidade!”
Louis Pasteur

“A melhor maneira de superar-se é enfrentar-se”
Nietzsche

Dedico este trabalho à memória de duas pessoas importantes em minha vida e peças chave para o meu desenvolvimento pessoal e intelectual

Maria Anália de Lima Santos (Vó)

José Eduardo Nunes do Nascimento (Padrinho)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que em sua infinita bondade e sabedoria me permitiu chegar até o final desse curso nunca me desamparando, mas me dando forças para continuar. A Nossa Senhora da Conceição que me acolheu em seu colo de mãe nos momentos mais difíceis e foi minha fortaleza quando tudo parecia perdido;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco em especial a Unidade Acadêmica de Serra Talhada pela oportunidade em fazer um curso de graduação;

Ao CNPq pela concessão da bolsa para realização desse estudo;

Aos meus pais Maria Suelí e Adeildo por serem minhas âncoras na vida e meus maiores incentivadores, por seu amor e paciência, sempre me apoiando em meus intentos. A minha irmãzinha Aíla Natália pelo seu amor incondicional bem como apoio quando mais precisei;

A minha amiga confidente e companheira Vanessa Lopes por seu amor, paciência e compreensão, por me amparar nos momentos ruins e me suportar em minhas chatices;

A minha orientadora Virgínia Medeiros de Siqueira por toda sua dedicação, paciência, apoio e profissionalismo durante os quase quatro anos de orientação. A minha orientadora Cynthia Costa por ter me aceitado no final do curso e por sua imensa contribuição no meu trabalho;

Aos professores Ana Luiza, Cássia Gusmão, Valdeline Atanazio, Plínio Pereira e Eduardo Ramos por serem mais que educadores e terem me ajudado nessa caminhada com seus sábios conselhos;

Aos meus amigos nas pessoas de Camila, Higor, Hugo, Andressa, Isnaelia, Denilma, Thaynara, Denise, Ingrynd, Aliny e Fabiana pelas altas risadas e choros compartilhados ao longo desses 4 anos e meio, bem como todos os abraços e palavras de incentivo; Aos meus colegas do LAPEEMI por seu carinho ao me acolher;

Aos profissionais Perpetua Almeida, Angelita Gouveia, Sr Nogueira, Sr Feliciano e Juliana por seu carinho, dedicação, boas conversas e palavras de conforto nos momentos de maior turbulência;

Enfim a todos que contribuíram direta ou indiretamente para as minhas conquistas acadêmicas o meu muito obrigada.

RESUMO

As comunidades fúngicas de solos sofrem interferência tanto quantitativas quanto em relação a diversidade ocasionada por fatores bióticos e abióticos, e em se tratando de solos do semiárido, estão sujeitas a baixa disponibilidade de água, altas temperaturas e elevadas incidências de radiação solar que influenciam diretamente no desenvolvimento desses microrganismos. Desta maneira, este trabalho teve por objetivo o isolamento e avaliação da atividade enzimática (amilase e protease) de fungos filamentosos de solos do semiárido Pernambucano coletados em diferentes épocas na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, no município de Serra Talhada – PE. As coletas do solo foram realizadas em agosto de 2018 e abril de 2019, em três pontos aleatórios. O isolamento de fungos foi realizado por meio da técnica de diluição seriada, utilizando os meios de cultura Agar Batata Dextrose (BDA) e Agar Sabouraud (SAB) acrescidos de cloranfenicol (para a inibição de crescimento bacteriano) em placas de Petri e incubados a temperatura ambiente por sete dias. Após este período, foi realizada a quantificação das colônias fúngicas e, baseado em seu morfotipo, a seleção de algumas para os testes enzimáticos de atividade de protease e amilase. Como resultado obteve-se o isolamento de 43 colônias fúngica e uma quantificação em (UFC/g) de $8,6 \times 10^6$ e $4,6 \times 10^4$ (repetição 1), $1,93 \times 10^6$ e $2,6 \times 10^4$ (repetição 2), $1,86 \times 10^6$ e $8,3 \times 10^4$ (repetição 3) nos meios de cultura BDA e SAB, respectivamente, no período de estiagem e de $2,06 \times 10^6$ e $2,23 \times 10^6$ (repetição 1), $1,9 \times 10^6$ e $2,2 \times 10^6$ (repetição 2), $1,23 \times 10^6$ e $2,07 \times 10^6$ (repetição 3), nos meios de BDA e SAB respectivamente, no período chuvoso. Em relação ao potencial enzimático 18 isolados se apresentaram como bons produtores de amilase e protease com destaque para D8 identificado como *Aspergillus* sp. o qual obteve maiores halos de degradação tanto para amilase quanto para protease, com médias de 3,5 e 3,93 cm, respectivamente; e o I3 também identificado como *Aspergillus* sp. teve maior halo de degradação para protease com 5,6 cm, ambos obtidos durante o período de estiagem. Já no período chuvoso o destacou-se os I9 (Isolado 4) e D9 (*Aspergillus* sp.) que demonstraram halos de degradação de 3,5 e 4,16 cm para amilase e protease, respectivamente. Os fungos isolados nesse trabalho possuem importância biotecnológica,

ênfatizando o quão necessária é a preservação dos habitats para a manutenção de espécies microbianas associadas aos mesmos.

Palavras-chave: Fungos filamentosos; Solos do semiárido; Bioprospecção; Atividade enzimática; Biotecnologia;

ABSTRACT

The fungal soil communities suffer both quantitative and diversity interference caused by biotic and abiotic factors, and in the case of semi-arid soils, they are subject to low water availability, high temperatures and high solar radiation influences directly on the soil. development of these microorganisms. Thus, the objective of this work was to isolate and evaluate the enzymatic activity (amylase and protease) of filamentous fungi of Pernambucano semiarid soils collected at different times in the Mata da Pimenteira State Park Conservation Unit, in the municipality of Serra Talhada - PE. Soil collections were performed in August 2018 and April 2019, at three random points. Isolation of the fungi was performed by serial dilution technique using the Potato Dextrose Agar (BDA) and Sabouraud Agar (SAB) culture media added with chloramphenicol (for the inhibition of bacterial growth) in Petri dishes and incubated at room temperature. environment for seven days. After this period, the fungal colonies were quantified and, based on their morphotype, some were selected for the enzymatic tests of protease and amylase activity. As a result, 43 fungal colonies were isolated and a (CFU / g) quantification of 8.6×10^6 and 4.6×10^4 (repeat 1), 1.93×10^6 and 2.6×10^4 (repeat 2), 1.86×10^6 and 8.3×10^4 (repeat 3) in BDA and SAB culture media, respectively, in the dry season and 2.06×10^6 and 2.23×10^6 (repeat 1), 1.9×10^6 and 2.2×10^6 (repeat 2), 1.23×10^6 and 2.07×10^6 (repeat 3) in the BDA and SAB media respectively in the rainy season. Regarding the enzymatic potential 18 isolates were good producers of amylase and protease with emphasis on D8 identified as *Aspergillus* sp. which obtained greater degradation halos for both amylase and protease, with averages of 3.5 and 3.93 cm, respectively; and I3 also identified as *Aspergillus* sp. had a larger degradation halo for protease with 5.6 cm, both obtained during the drought period. In the rainy season, I9 (Isolated 4) and D9 (*Aspergillus* sp.) Stood out, which showed degradation halos of 3.5 and 4.16 cm for amylase and protease, respectively. The isolated fungi in this work have biotechnological importance, emphasizing how necessary is the preservation of habitats for the maintenance of microbial species associated with them.

Keywords: Filamentous fungi; Semi-arid soils; Bioprospecting; Enzymatic activity; Biotechnology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização do Parque Estadual Mata da Pimenteira (7°53'49"S e 38°18'14"O), Serra Talhada-PE	25
Figura 2: Coleta de solo em área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE. Período de estiagem, 17 Agosto de 2018 -A1), período chuvoso (09 Abril de 2019 -A2). Coleta e acondicionamento das amostras (B-C).	26
Figura 3: Técnica de diluição seriada utilizada para isolamento e quantificação de fungos de solo.....	27
Figura 4: Percentual de identificação dos fungos isolados do solo coletado em período de estiagem em área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE.	33
Figura 5: Percentual de identificação dos fungos isolados do solo coletado em período chuvoso em área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE.	35
Figura 6: Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de <i>Aspergillus</i> sp. (isolado I2) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE	36
Figura 7: Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de <i>Penicillium</i> sp. (isolado A4) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE	37
Figura 8: Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de <i>Eurotium</i> sp. (isolado A5) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE	37
Figura 9: Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de <i>Scopulariopsis</i> sp. (isolado A5), coleta II, em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE	38
Figura 10: Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de <i>Cladosporium</i> sp. (isolado A7(1)) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE	38.
Figura 11: Exemplos de atividade enzimática positiva (protease – A, e amilase – B) dos isolados A10; D8 e D8; I2 evidenciada pelos halos de degradação do substrato.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Temperatura aferida in loco durante os períodos de coleta de solo no Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE	27
Tabela 2: Unidades Formadoras de Colônias de fungos isoladas de solo em período de estiagem, de área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE	30
Tabela 3: Unidades Formadoras de Colônias de fungos isoladas de solo em período chuvoso, de área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.....	30
Tabela 4: Identificação dos isolados fúngicos de solos coletados na UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE, por período de coleta	36
Tabela 5: Média dos halos de potencial enzimático de amilase e protease produzidas pelos fungos isolados de solo, em período de estiagem, de área preservada da UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE	40
Tabela 6: Média dos halos de potencial enzimático de amilase e protease produzidas pelos fungos isolados de solo, em período de chuva, de área preservada da UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE	41

SUMÁRIO

RESUMO	VIII
ABSTRACT	X
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
1. Introdução	13
2. Objetivos	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3. Revisão de Literatura	16
3.1 Fungos filamentosos de solos	16
3.2 Microrganismos como indicadores da qualidade de solos do semiárido	18
3.3 Solo como habitat	20
3.4 Enzimas e importância	21
3.5 Produção enzimática por fungos e potencial biotecnológico	23
4. Material e Métodos	25
4.1 Local de coleta e amostragem	25
4.2 Isolamento e quantificação de fungos mesófilos totais	27
4.3 Seleção e purificação de fungos	28
4.4 Identificação	28
4.5 Bioprospecção	29
4.5.1 Screening de produção de enzimas	29
5. Resultados e discussão	29
5.1 Quantificação	29
5.2 Identificação	32
5.3 Bioprospecção	40
5.3.1 Atividade enzimática	40
6. Conclusões	44
7. Referências Bibliográficas	44

1. INTRODUÇÃO

Os fungos constituem um grupo de organismos amplamente diversificado e disseminado, apresentando-se na forma de bolores, cogumelos ou leveduras. Aproximadamente 100.000 espécies de fungos foram descritas, estimando-se a possibilidade de existirem mais de 1,5 milhão de espécies (MADIGAN et al., 2010). São cosmopolitas, podendo habitar os mais diversos ambientes como o solo ou matéria vegetal morta, e desempenham um papel crucial na decomposição e mineralização do carbono orgânico (ESPOSITO & AZEVEDO, 2010).

O solo é um sistema biológico dinâmico, considerado o principal reservatório da diversidade biológica, onde podemos observar uma malha estreita de inter-relações dos organismos presentes, sendo essa malha essencial para a manutenção do equilíbrio ecológico, como por exemplo, na manutenção da ciclagem de nutrientes neste ambiente bastante complexo que apresenta peculiaridades que o tornam um ecossistema único na biosfera (RAAIJMAKERS *et al.*, 2009; BERENDSEN *et al.*, 2012).

Nos solos, a diversidade microbiana, e principalmente fúngica, encontra-se diretamente relacionada com um conjunto de fatores abióticos (atmosfera, temperatura, água, pH, potencial redox, fontes nutricionais, entre outros) e bióticos (genética microbiana, a interação entre os microrganismos, entre outros) que permitem o desenvolvimento microbiano e a estruturação da comunidade viva dos solos. A interação entre esses fatores influencia diretamente na ecologia, na atividade e na dinâmica populacional de microrganismos no solo (MOREIRA & SIQUEIRA 2009).

Em relação a região do semiárido, este apresenta vários fatores ambientais extremos, como altas temperaturas, consequentemente maior incidência de radiação solar e baixa disponibilidade de água, sendo esses fatores estressantes para os microrganismos, tornando-os mais adaptáveis às condições adversas. Dessa forma, os microrganismos que suportam tais circunstâncias são de grande interesse para estudos sobre a biodiversidade e para aplicações biotecnológicas (SOARES, 2012), como bioinoculantes utilizados na produção agroflorestal, controle biológico e biorremediação, além de estarem envolvidos com a produção de fármacos, enzimas e pigmentos

(GOI; SOUZA, 2006). E ainda assim, segundo Goi & Souza (2006), a diversidade biológica dos microrganismos é pouco conhecida, dessa forma havendo uma grande disposição para sua exploração.

Os fungos do solo apresentam importância à manutenção ambiental, pois são responsáveis por uma série de processos importantes como a decomposição da matéria orgânica, estabilidade de agregados e ciclagem de nutrientes. Além disso, estabelecem relações simbióticas com as plantas, como os endófitos e as micorrizas (DASHTBAN *et al.*, 2010). O metabolismo fúngico é diverso e traz adaptabilidade para estes organismos nos diferentes ambientes. Como consequência, há a produção de diversos metabólitos secundários com atividade biológica, como por exemplo, a produção de enzimas, com importantes aplicações biotecnológicas (BELO, 2013).

Enzimas fúngicas como proteases, amilases e celulasas são empregadas em vários setores industriais como, por exemplo, alimentos, de cosméticos, de couro têxtil e como detergentes (ESPOSITO & AZEVEDO, 2010). A exploração dos metabólitos fúngicos oferece grande vantagem com relação a outras fontes como as provenientes de plantas e insetos, por exemplo, pois os fungos podem ser cultivados em larga escala, até mesmo em meios de cultura de baixo custo, produzindo grandes quantidades de metabólitos sem que haja prejuízos ao ecossistema (TAKAHASHI & LUCAS, 2008).

Desta forma, este trabalho justifica-se no fato que os solos apresentam riqueza microbiológica, incluindo fúngica, e consequentemente diversidade de metabólitos de interesse para a humanidade. Em se tratando de solos do semiárido, onde as condições são adversas, principalmente nos períodos de estiagem, o alto poder de adaptação e resiliência destes organismos podem estar diretamente associada à produção de metabólitos com atividades biológica que podem ser explorados em processos biotecnológicos. Associado à isso, é importante ressaltar a valorização dos recursos naturais do semiárido pernambucano, fortalecendo medidas de preservação destes ambientes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar fungos filamentosos isolados de solos do semiárido Pernambucano coletados na área preservada da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE, e avaliar seu potencial para a produção de enzimas com aplicações biotecnológicas.

2.2 Objetivos Específicos

- Isolar e quantificar fungos mesófilos totais de solos coletados no período de estiagem e chuvoso;
- Estabelecer a correlação da população fúngica isolada do solo com as características do local e com o período de coleta (período de estiagem e chuvoso);
- Avaliar a capacidade de produção de metabólitos de interesse biotecnológico, isto é as enzimas amilase e protease;
- Identificar taxonomicamente a nível de gêneros os isolados fúngicos selecionados nos testes de atividade enzimática.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Fungos filamentosos de solo

Os fungos podem se apresentar de duas formas: leveduriforme (unicelulares) ou filamentosa (multicelulares), sendo também, algumas espécies, capazes de apresentar dimorfismo (formas distintas) de acordo com as condições em que se encontram, especificamente as patogênicas (TORTORA; CASE; FUNKE, 2012).

O “corpo” do fungo filamentoso é formado pela união das suas células, formando hifas que podem apresentar septos (septadas) com poros para a movimentação do citoplasma, ou não septadas (cenocíticas), quando as

células são alongadas e com os vários núcleos dispersos. A união dessas hifas origina uma massa, chamada de micélio que forma o corpo (talo) do fungo. Se reproduzem de forma assexuada e/ou sexuada através do desenvolvimento de estruturas reprodutivas específicas as quais também são utilizadas como características para sua classificação taxonômica (TORTORA; CASE; FUNKE, 2017).

Os fungos apresentam elevada importância ao desenvolvimento ambiental, pois são responsáveis por vários processos relevantes como a decomposição da matéria orgânica, estabilidade de agregados e ciclagem de nutrientes (DASHTBAN *et al.*, 2010). Estes participam ativamente na nutrição e desenvolvimento vegetal por meio da mineralização de compostos orgânicos e inorgânicos, estabelecimento de associações simbióticas com plantas e biossolubilização, que são processos fundamentais por aumentarem a disponibilidade de elementos chave para o desenvolvimento vegetal (MULLER *et al.*, 2004; BUÉE, 2007; MEENA *et al.*, 2014).

Com relação à diversidade acredita-se que a população de microrganismos do bioma Caatinga seja riquíssima, com várias espécies endêmicas, porém a análise dos dados demonstra o conhecimento insuficiente sobre o assunto. Vale salientar que em relação à diversidade de microrganismos nos solos do semiárido, existem diversos relatos, entretanto estes ainda não são capazes de expressar a real dimensão da diversidade fúngica na região (QUEIROZ *et al.*, 2006).

De acordo com Maia *et al.* (2015), a região Nordeste possui uma grande riqueza de espécies fúngicas, quando relacionada a outras regiões brasileiras, com cerca de 2.617 espécies catalogadas. Sendo a caatinga classificada em terceiro lugar quanto ao bioma, com 999 registros de espécies. O registro de fungos na região do semiárido cresceu em mais 955 de espécies, como predomínio de fungos conidiais e do Filo Ascomycota, com cerca de 407 e 179 espécies, respectivamente (GUSMÃO E MAIA, 2006).

Alguns trabalhos sobre fungos filamentosos de solos foram desenvolvidos em áreas do semiárido nordestino, destacando-se o estudo desenvolvido por Maia e Gibertoni (2002), com 451 espécies de fungos,

correspondendo a 203 gêneros, em diversos municípios, com base em dados de herbários e publicações. Estima-se que atualmente tenha-se 954 táxons, representados em 407 espécies de fungos conidiais (GUSMÃO E MAIA, 2006).

Existem relatos de pesquisas desenvolvidas sobre fungos encontrados no solo da região semiárida como o de Cavalcanti et al. (2006) que cita Hyphomycetes isolados do solo em Xingó com predominância de espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*. Costa et al. (2006) registraram nos seus estudos de solos também da região do Xingó 16 gêneros e 65 espécies de fungos.

Simões e Tauk-Tornisielo (2006) demonstraram a produção de xilanases por *Aspergillus japonicus* encontrado em solos de área de Caatinga, no estado da Bahia. Moura (2007) estudando solos do Vale do Catimbau isolou 44 espécies, com predominância de *Penicillium* e *Aspergillus*, tendo 16 e 8 representantes respectivamente de cada gênero.

A grande diversidade e quantidade microbiana do solo são fatores determinantes para identificar a sua preservação ou degradação, podendo ser utilizados como indicadores de qualidade (BARTELEGA; ALMEIDA; CUNHA, 2015).

3.2 Microrganismos como indicadores da qualidade de solos do semiárido

A dependência da humanidade em relação ao solo vem se intensificado com o decorrer dos anos, seja por conta do aumento na demanda de alimentos para a grande população mundial atual ou ainda pela própria manutenção do equilíbrio ecológico. Existe ainda a necessidade de preservação, evitando a degradação do meio ambiente, da biodiversidade e dos recursos naturais (MENDES; SOUZA; REIS JÚNIOR, 2015). Práticas de degradação levam a mudanças na estabilidade do solo, por conseguir alterar suas características físicas, químicas ou biológicas, e consequentemente, alterar sua qualidade (NIERO et al., 2010).

A região semiárida é marcada por uma série de características próprias

como baixo índice pluviométrico anual com cerca de 800 mm, sendo os períodos de chuvas de apenas três ou quatro meses ao ano, além disso, a temperatura possui uma variação entre 23°C e 27°C podendo atingir 40°C devido à alta incidência de raios solares. O solo do semiárido é rochoso, arenoso e raso, que adicionado ao clima da região é indicativo favorável ao processo de desertificação. A caatinga está integrada ao semiárido, bioma totalmente pertencente ao Brasil ocupando em torno de 10% do território se tornando um ambiente bastante rico e diversificado em relação a biodiversidade de espécies, adaptadas às condições da região (ANDRADE, 2007; DRUMOND, 2000; PRADO, 2003; CASTELETTI et al., 2004).

Os fungos são microrganismos que estão diretamente ligados a vários processos de estabilidade do solo, como a ciclagem de nutrientes que ocorre por meio da degradação da matéria orgânica. Em vista disso, estresses decorrentes de algum tipo acarretam em efeitos negativos ligados a densidade e diversidade desses microrganismos (SILVEIRA; MELLONI; MELLONI, 2006). Assim, é de interesse que sejam mantidas as atividades desses microrganismos uma vez que estes favorecem a mineralização de nutrientes e proporciona a assimilação dos mesmos pelas plantas, beneficiando o desenvolvimento das mesmas e mantendo a qualidade do solo (CORREIA; OLIVEIRA, 2005).

De acordo com Araújo e Monteiro (2007) em seu trabalho, qualquer tipo de alteração sofrida pelo solo irá refletir na sua composição. Já que estes componentes podem ser utilizados como indicadores de qualidade do solo, sendo possível, por seu intermédio, perceber e mediar algum tipo de desequilíbrio no ecossistema. Portanto, os microrganismos podem ser aplicados como bioindicadores na verificação da qualidade de solos que foram ou estão sendo expostos a situações extremas.

Essa mesma ideia é ressaltada e reforçada por Doran e Parkin (1994), que afirmam que cada componente do solo possui um fator que se destaca e pode ser utilizado para indicar a qualidade do solo. No caso dos componentes biológicos, os mais relevantes são: a biomassa microbiana, a atividade de mineralização de nutrientes (nitrogênio, fósforo e enxofre), a taxa de respiração do solo, a fixação biológica de nitrogênio e a atividade enzimática do solo.

3.3 Solo como habitat

Ao resultado da ação de vários processos sobre as rochas, como ventos, temperatura, chuva, sais, microrganismos, raízes de plantas, entre outros se denomina de solo. Esses processos em conjunto é chamado de intemperismo, o que leva à fragmentação das rochas e à formação de solos com características diferentes que possibilitam distingui-los com base na composição de suas camadas, nomeadas horizontes. As duas primeiras camadas do solo são as mais férteis, nas quais se encontra maior quantidade de matéria orgânica e, por conseguinte, maior diversidade de organismos vivos (ANDREOLI; ANDREOLI; JUSTI JUNIOR, 2014).

Constitui-se como um habitat de natureza dinâmica, heterogênea e complexa, devido a essas características pode ser considerado um dos ecossistemas terrestres com maior diversidade biológica (NANIPIERI, 2003). Sua matriz é formada basicamente por areia, silte e argila, dispostos em horizontes. Essa constituição proporciona ao solo agregados de diferentes tamanhos, formatos e características químicas que juntamente com os microrganismos resultarão nas características de cada tipo de solo (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Os espaços existentes entre os agregados (poros) vão conter água e gases que proporcionaram o desenvolvimento dos microrganismos, estes por sua vez utilizaram partículas de matéria orgânica como fonte de nutrientes (DANIEL, 2005).

Segundo Araújo e Monteiro (2007), o solo também é composto por minerais inorgânicos e compostos orgânicos resultantes da decomposição realizada pela macro e microfauna (minhocas, insetos), microrganismos (bactérias, fungos, nematoides e algas) e por gases (oxigênio, dióxido de carbono, nitrogênio e óxidos de nitrogênio). Esta composição possibilita a areação e disponibilidade de nutrientes, propiciando a formação de micro-habitat, através de agregados de solo, onde permitem a aderência de microrganismos (DUCHIELA *et al.*, 2013).

Nos solos, a diversidade microbiana, e principalmente fúngica, encontra-se diretamente relacionada com um conjunto de fatores abióticos (atmosfera, temperatura, água, pH, potencial redox, fontes nutricionais, entre outros) e bióticos (genética microbiana, a interação entre os microrganismos, entre

outros) que permitem o desenvolvimento microbiano e a estruturação da comunidade viva dos solos. A interação entre esses fatores influencia diretamente na ecologia, na atividade e na dinâmica populacional de microrganismos no solo (MOREIRA & SIQUEIRA 2009).

Além dos fatores já supracitados a disponibilidade de nutrientes no solo varia de acordo com a região, as quais são conhecidas como “hot spots”, nas quais se encontra maior quantidade de organismos e, conseqüentemente, maior metabolismo microbiano. Assim, essas regiões mais ativas são as que também possuem maior disponibilidade de nutrientes (MOREIRA; SIQUIERA, 2002; CARDOSO; ANDREOTE, 2016). À vista disso, o solo auxilia e traz equilíbrio para os ecossistemas terrestres, já que o mesmo está envolvido com fatores físicos, químicos e biológicos (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007), isto é, através da degradação de compostos orgânicos (restos animais e vegetais) e reciclagem de inorgânicos (nitrogênio, fósforo, etc), tanto para a atmosfera quanto para as plantas na forma de nutrientes (CORREIA; OLIVEIRA, 2005).

A riqueza do solo é tanta que chega a ser considerado um dos principais habitats para o desenvolvimento de microrganismos (bactérias e fungos) e, dentre a microbiota do solo, normalmente, os fungos são os mais abundantes em relação à biomassa e atividade fisiológica como, por exemplo, a produção de enzimas (BILLS *et al.*, 2004).

3.4 Enzimas e importância

Enzimas são caracterizadas como moléculas majoritariamente de caráter proteico e que atuam como catalisadoras de reações químicas, sendo essenciais para o sistema metabólico de todos os organismos vivos (ORLANDELLI *et al.*, 2012). Dentre outras funções as enzimas, são capazes de decompor moléculas complexas em unidades menores, como polissacarídeos em açúcares, além de diminuir o tempo de ocorrência dessa reação (SOARES *et al.*, 2010).

Uma grande variedade de enzimas, principalmente as hidrolases, que catalisam a clivagem hidrolítica de ligações como C-O, C-N, C-C, podem ser produzidas por fungos, como é o caso das proteases e endonucleases que são extremamente necessárias para o crescimento e manutenção do organismo,

em quaisquer condições, já outras podem ser excretadas preferencialmente por algumas espécies de fungo quando submetidas a condições de ambientes específicas como é o caso das carboidrases, com enfoque para as amilases, detectadas em altos níveis somente quando o organismo está exposto a um ambiente com déficit em açúcares (ESPOSITO & AZEVEDO, 2010).

As amilases podem ser derivadas das mais diversas fontes desde plantas, animais e principalmente microrganismos, entretanto as produzidas por fungos e bactérias destacam-se no setor industrial tanto na produção quanto ao menor tempo para isso. As amilases estão entre as enzimas mais importantes industrialmente, especialmente as de origem microbiana, fazendo com que possuam um grande valor biotecnológico agregado, pois substituem os produtos químicos utilizados na hidrólise do amido (PANDEY et al., 2000; GUPTA et al., 2003; SOARES et al., 2010; SOUZA; MAGALHÃES, 2010).

Atualmente as amilases possuem aplicações nas indústrias têxteis, de alimentos, na panificação, produção de rações animais, entre outras. Assim com a expansão das fronteiras da biotecnologia, as possibilidades de aplicação dessa enzima serão expandidas para muitos outros campos como a química clínica, medicina e analítica (SOARES et al., 2010).

Numa escala mundial de rentabilidade na produção de enzimas industriais teve um crescimento de 7,1 bilhões de dólares em 2018 e espera-se um aumento para 7,6 bilhões até 2020. Dentre as enzimas industriais, 75% pertencem ao grupo das hidrolíticas, e dessas 2/3 são proteases, espera-se um crescimento maior de aplicação desse grupo devido sua utilização em produtos farmacêuticos, detergentes, e químicos, em vários países principalmente a China, Índia e Brasil (SAVITHA et al., 2011; GRAND VIEW RESEARCH, 2014).

Usualmente em indústrias são mais empregadas as enzimas dos grupos: hidrolases, carboidrases, lipases e proteases (GAMBÔA, 2010; BITTENCOURT, 2014). As proteases desempenham uma série de processos fisiológicos por meio do controle da síntese e degradação de proteínas, catalisando a hidrólise de aminoácidos específicos dentro de polipeptídeos (RAO et al., 1998; FARO, 2008; MORYA et al., 2012).

Em outras palavras elas possuem a capacidade de quebrar ligações peptídicas de cadeias proteicas. Pode-se dizer que estão amplamente distribuídas na natureza e além de estarem associadas a importantes

processos biológicos tais como: a digestão proteica, coagulação sanguínea e morte celular. As enzimas proteolíticas possuem várias aplicações tanto comercial quanto industrial, estando entre os três maiores grupos de enzimas industriais (Romero et al., 2001). Estas enzimas são amplamente utilizadas na indústria de detergentes, couro, alimentos, química, tratamento de resíduos industriais e domésticos, medicamentos, cosméticos entre outras (Gupta et al., 2002).

São fontes de proteases, os vegetais, animais e microrganismos (fungos e bactérias) (NEVES; PORTO; TEIXEIRA, 2006; LADEIRA, et al., 2010; RADHA et al, 2011). Os microrganismos são excelentes fontes para a produção de enzimas, pois possuem uma enorme diversidade bioquímica e são passíveis à manipulação genética (SOUZA, 2015).

Segundo Barata et al., (2002) as proteases de origem microbiana são importantes, pois atuam em diversos substratos específicos, o que faz com que possam ser utilizadas em diversas áreas da bioquímica e da biotecnologia.

Os microrganismos podem ser considerados uma fonte atrativa na produção de protease pela possibilidade de cultivo em processos fermentativos de forma a serem produzidos em um tempo reduzido e em grandes volumes. Proteases oriundas de microrganismos têm uma validade mais longa e, quando armazenadas em condições adequadas, não sofrem perdas significativas da atividade (YOUSIF; MCMAHON; SHAMMET, 1996; YU e CHOU, 2005; NEVES, 2014).

As proteases juntamente com as carboidratases e lipases são utilizadas na indústria alimentícia para redução de custos e melhorias na qualidade, encontram grande aplicação na panificação, laticínios e produtos congelados, amaciantes de carne, e flavorizantes, na formulação de fórmulas infantis, na síntese do adoçante aspartame, etc (DEMAIN; SANCHEZ, 2009; LLORENTE et al., 2015; MOHAMMADI et al., 2015).

3.5 Produção enzimática por fungos e potencial biotecnológico

Alguns seres vivos como: animais, vegetais e microrganismos (fungos e bactérias) produzem várias enzimas, sendo os fungos os produtores de maior interesse para indústrias. Isso ocorre por esses possuírem o potencial de

produzir enzimas, como proteases, celulasas e amilases (entre outras). As enzimas podem ser extraídas e utilizadas em vários processos biotecnológicos, por serem fornecidas em maior quantidade, diversidade, com manuseio genético simples e, ainda, dispor de baixo custo financeiro (FERNANDES, 2009; PEREIRA, 2012).

Os fungos produzem enzimas extracelulares para que possam conseguir degradar e absorver o seu alimento. Bem como, também são capazes de produzir metabólitos para se defender ou competir com outros organismos, como o que acontece com a produção de antimicrobianos, ou seja, substâncias com a capacidade de destruir ou impedir que um microrganismo possa se desenvolver, sejam esses bactérias, fungos, vírus ou protozoários (ACAR, 2002). Além de também produzirem ácidos orgânicos e pigmentos, entre outros que são de interesse biotecnológico (FERNANDES, 2009).

Devido à produção de metabólitos secundários os fungos têm sido utilizados na biotecnologia há muitos anos. A espécie *Aspergillus niger*, por exemplo, tem sido utilizada na produção de ácido cítrico para alimentos e bebidas desde 1914. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é utilizada na produção de pão e vinho. Também foi geneticamente modificada para produzir uma variedade de proteínas, incluindo a vacina para a hepatite B (TORTORA; CASE; FUNKE; 2017).

Nas últimas décadas, a utilização de fungos em bioprocessos ganhou importância devido à produção de enzimas com características físico-químicas variadas, potencial de produção em grande escala, e a capacidade de secretar as enzimas produzidas para o meio extracelular (Papagianni, 2004). Entre as enzimas microbianas com ampla aplicação biotecnológica destacam-se as amilases e proteases

Os fungos do solo apresentam um metabolismo secundário e produção enzimática muito diversificada. A exploração dos metabólitos fúngicos oferece uma grande vantagem com relação a outras fontes como as provenientes de plantas e insetos, por exemplo, pois os fungos podem ser cultivados em larga escala, até mesmo em meios de cultura de baixo custo, produzindo grandes quantidades de metabólitos sem que haja prejuízos ao ecossistema (TAKAHASHI & LUCAS, 2008). Os metabólitos produzidos por

fungos são amplamente explorados em uma extensa gama de processos biotecnológicos na indústria, medicina, meio ambiente e agrícola.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de coleta e amostragem

A Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira está localizada no município de Serra Talhada, nas coordenadas geográficas de (7°53'49"S e 38°18'14"O), no semiárido pernambucano e ocupa 887,24 ha (Santos et al. 2013) (Figura 1). O clima é quente e seco do tipo BSw^h' (Köppen 1948), a temperatura média é de $23,8 \pm 0,92$ °C e apresenta baixo nível pluviométrico anual (653,2 mm). A altitude varia de 500-820 m e as principais classes de solos são os cambissolos, litólicos e podzólicos (Silva & Almeida 2013). A vegetação é composta por caatinga, que varia de herbácea, arbustiva-arbórea até arbórea, sobre afloramentos rochosos (Melo et al. 2013).

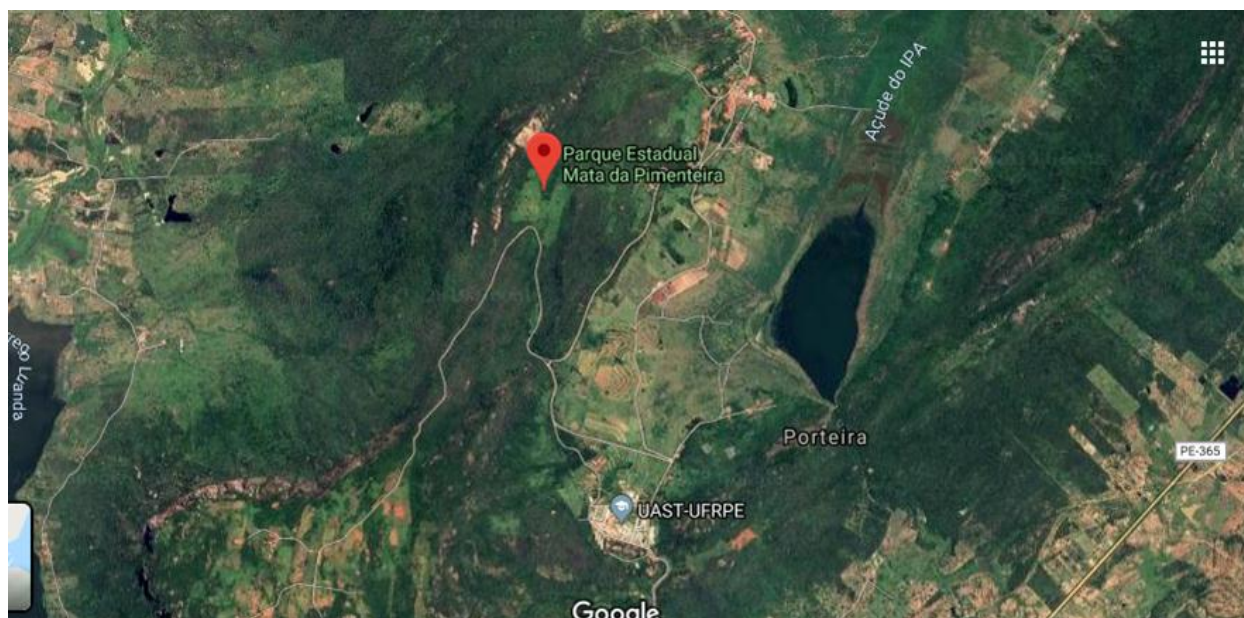


Figura 1. Localização do Parque Estadual Mata da Pimenteira (7°53'49"S e 38°18'14"O), Serra Talhada-PE

As amostras de solo foram coletadas em uma área preservada do Parque (7°53'29,938"S e 38°18'15,6"O; 7°54'28"S e 38°17'56"O), em dois períodos, um correspondente a época de estiagem (agosto 2018) e o outro ao

período chuvoso (abril 2019). No local da coleta foi demarcado um quadrado de 2 m x 2 m onde foram escolhidos três pontos equidistantes correspondentes a uma amostra composta. O solo foi coletado numa profundidade de 0-20 cm da camada superior, acondicionado em sacos plásticos previamente esterilizados (Figura 2), etiquetados, conservados em caixas isotérmicas e encaminhados para o Laboratório de Microscopia da Unidade Acadêmica de Serra Talhada - PE, onde realizou-se as análises microbiológicas.

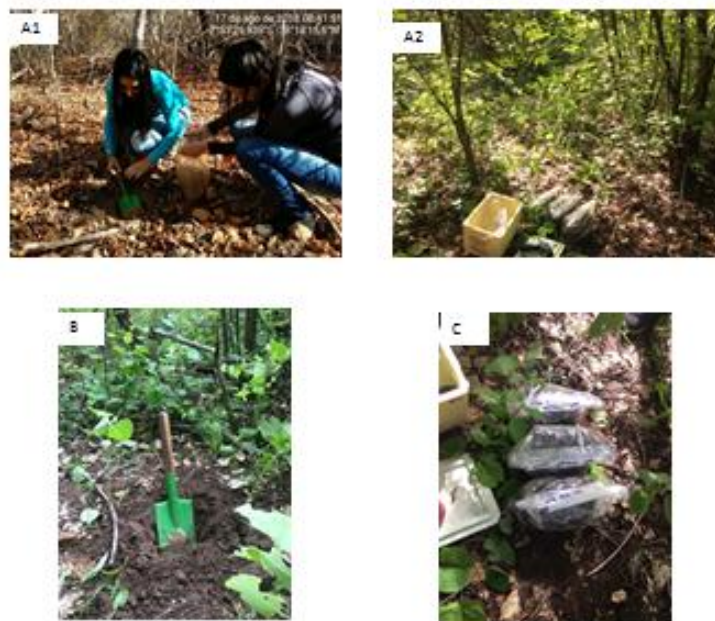


Figura 2: Coleta de solo em área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE. Período de estiagem, 17 Agosto de 2018 - A1), período chuvoso (09 Abril de 2019 - A2). Coleta e acondicionamento das amostras (B-C).

Na ocasião das coletas foram aferidas as temperaturas superficiais do solo em cada ponto demarcado (Tabela 1).

Tabela 1: Temperatura aferida *in loco* durante os períodos de coleta de solo no Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE

Coleta I 17/08/2018 (estiagem)		Coleta II 09/04/2019 (chuvoso)	
Pontos	T(°C)	Pontos	T(°C)
P1	30,6°	P1	24°
P2	27°	P2	24,8°
P3	27,9°	P3	23,6°
Média das temperaturas	28,5°	Média das temperaturas	24,1°

4.2 Isolamento e quantificação de fungos mesófilos totais

Para isolamento e quantificação utilizou-se a técnica de diluição seriada (Clark, 1965), onde pesou-se 25 g do solo, o qual foi adicionado em Erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada (1%) previamente autoclavada (diluição 10^{-1}). Desta diluição inicial, foi transferido 1 mL para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada esterilizada a 1%, até a diluição 10^{-4} . Das três últimas diluições, foi semeado 0,1 mL em placas de Petri com Ágar Sabouraud –SAB acrescido de cloranfenicol e Ágar Batata Dextrose -BDA, pelo método de espalhamento em superfície, totalizando três repetições para cada diluição (Figura 3).

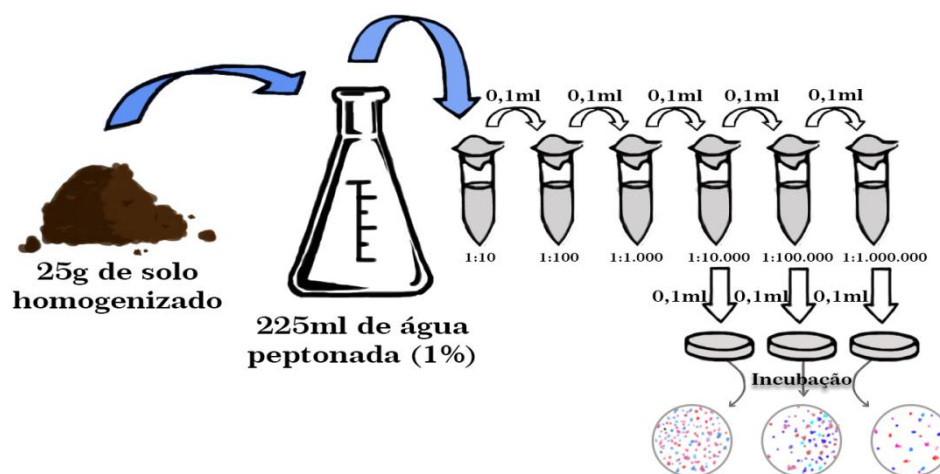


Figura 3: Técnica de diluição seriada utilizada para isolamento e quantificação de fungos de solo.

As placas de Petri foram incubadas a temperatura ambiente (em média $28,5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$) por até sete dias para contagem das colônias fúngicas. A quantificação foi realizada nas placas que apresentaram de 20 a 200 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), sendo os resultados expressos pela média aritmética de cada triplicata, considerando UFC/grama de solo.

4.3 Seleção de microrganismos

Após crescimento dos fungos, resultantes das coletas tanto do período de estiagem como do período chuvoso, as colônias que apresentaram macromorfologia distinta foram selecionadas para o processo de purificação e mantidas em tubos de ensaio com Ágar Sabouraud sob refrigeração, até a realização dos ensaios de atividade enzimática.

4.4 Identificação

A identificação dos isolados purificados foi realizada por meio da taxonomia clássica com a utilização de literaturas específica (BUTTON 1980; BARNETT & HUNTER 1987; HANLIN 2000). Observando características macro e microscópicas da colônia, textura, relevo e produção de pigmentação correspondentes ao gênero.

4.5 Bioprospecção

4.5.1 *Screening* de produção enzimática

Após obtenção de cultura pura em ágar Sabouraud, por 72 horas, os isolados que apresentaram melhor crescimento foram testados quanto ao potencial enzimático para a produção de Amilase e Protease (Dingle, Tied e Solomons, 1953).

Para os testes de produção de amilase (ágar -1,5%; amido-1%; tampão citrato-fosfato 0.1M; pH 5,0 – 0,5L) foi utilizado uma solução de iodo 0,1 M, aplicada sobre a superfície do meio por 10 minutos. As reações positivas foram identificadas pela formação de um halo translúcido ao redor das colônias.

Para determinação de proteases (ágar -1,5%; gelatina incolor 1%; leite desnatado 1%; tampão citrato-fosfato 0.1M; pH 5,0 - 0,5 L), a reação enzimática foi detectada pela modificação química do meio de cultura, sendo considerada positiva quando visualizado a formação de halo translúcido ou esbranquiçado, sem a necessidade de adição de revelador.

A determinação enzimática foi expressa em índice enzimático (IE) que foi calculado por meio da relação do diâmetro médio do halo de degradação do substrato e o diâmetro médio da colônia, medidos utilizando-se uma régua foram considerados como bons produtores enzimáticos os fungos que produziram halos de degradação maiores ou igual a 2,0 cm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1.Quantificação

Maiores quantificações de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram observadas no solo coletado no período de estiagem quando semeado em Ágar Batata Dextrose - BDA ($8,6 \times 10^6$), seguido da repetição 3 que apresentou $8,3 \times 10^4$ UFC/g com crescimento em Ágar Sabouraud – SAB (Tabela 2).

Tabela 2. Unidades Formadoras de Colônias de fungos isoladas de solo em período de estiagem, de área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

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

*Os valores representam as médias das triplicatas de cada repetição

Do solo coletado no período chuvoso observou-se maiores UFCs nas repetições 1 e 2, com valores de $2,23 \times 10^6$ e $2,2 \times 10^6$, respectivamente, entretanto o meio de crescimento foi SAB (Tabela 3).

Tabela 3. Unidades Formadoras de Colônias de fungos isoladas de solo em período chuvoso, de área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

Grupo dos isolados	Meio de cultura	Quantificação* (UFC/g)
Repetição 1	BDA	$2,06 \times 10^6$
	SAB	$2,23 \times 10^6$
Repetição 2	BDA	$1,9 \times 10^6$
	SAB	$2,2 \times 10^6$
Repetição 3	BDA	$1,23 \times 10^6$
	SAB	$2,07 \times 10^6$

*Os valores representam as médias das triplicatas de cada repetição

Vários fatores influenciam o crescimento dos fungos, dentre estes os fatores ambientais têm grande importância especialmente quando se fala em fungos do solo. As condições sazonais influenciam diretamente na produção de células germinativas (CAVALCANTI *et al.* 2006; BOMFIM *et al.* 2010;), pois em condições de estresse, como período de estiagem, os fungos precisam

esporular para assegurar a sobrevivência da espécie. Esses resultados podem ser constatados nos trabalhos de Guaderrama e Álvarez-Sanchez (2009) e Maia (2015) em ambientes de Caatinga. No presente trabalho, as maiores quantificações de UFCs foram observadas na coleta de solo no período de estiagem, reforçando assim mais uma vez os relatos da literatura.

Por outro lado, Silva (2018) obteve resultados contrários quando avaliou fungos filamentosos em solos do semiárido em Serra Talhada-PE, quando observou maior quantificação a coleta no período chuvoso. Esse fato, evidencia que a sazonalidade influencia de forma importante no desenvolvimento dos fungos, pois a disponibilidade de água no solo e a temperatura são fatores fundamentais para o metabolismo fúngico.

Em relação ao meio de cultivo, quando comparado o período chuvoso com o período de estiagem, observou-se maior quantificação em meio Ágar Sabouraud (SAB), entretanto, a média entre os dois meios demonstra que esse resultado não foi tão expressivo, pois foi praticamente igual quando comparado com Ágar Batata Dextrose (BDA). Provavelmente a disponibilidade de água no período chuvoso fez com que os fungos produzissem menos esporos, assim o meio de cultura não influenciou na quantificação.

A área de estudo utilizada para coleta apesar de ser considerada uma Unidade de Conservação, ainda sofre reflexo indireto de antropização e poluição. Esses fatores atrelados às condições extremas de solos do semiárido podem contribuir negativamente na composição e estrutura da comunidade microbiana, resultando em menor número quando comparado com a quantificação de fungos de mata nativa em recuperação, no semiárido pernambucano. Esses dados foram constatados por Silva (2018) e Leitão (2018) que embora tenham trabalhado na mesma Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, encontraram resultados diferentes quando avaliaram fungos filamentosos do solo em diferente estágio de conservação.

É sabido que fatores como a umidade, temperatura e pH interferem diretamente no desenvolvimento microbiano, ou seja, influenciando a atividade metabólica de acordo com as condições as quais estão expostas (BONONI, 2015). Neste estudo, apesar da coleta II ter uma menor quantificação quando

comparado ao período de estiagem, o fator umidade em decorrência das precipitações iniciais pode estimular a atividade desses organismos, pois facilita a sua dispersão em forma de esporos, melhorando a decomposição da matéria orgânica e do carbono liberado, como também do dióxido de carbono, o que indica que quanto maior a disponibilidade de água no solo maior a capacidade de originar células germinativas, entretanto, essa condição não foi observada neste trabalho.

Segundo Pedrotti *et al.* (2015), em regiões semiáridas a salinização do solo é uma característica comum por conta do clima da região. Sendo também ocasionada com o decorrer da formação do solo, por meio do intemperismo das rochas, onde ocorre a liberação de sais. Conforme Pereira *et al.* (2015), a salinização pode desencadear a alteração de íons presentes no solo, provocando a perda da capacidade do solo em manter a água. Além de promover instabilidade no desenvolvimento dos organismos vivos, como os fungos.

5.2 Identificação

Um total de 43 isolados fúngicos foi cultivado em cultura pura, dentre estes, 31 foram obtidos do solo coletado em período de estiagem, entretanto, apenas 11 foram testados quanto ao potencial enzimáticos e baseado nas estruturas de reprodução estes foram identificados como pertencentes a três gêneros: *Aspergillus*, *Eurotium* e *Penicillium* (Tabela 3), predominando o gênero *Aspergillus*, com nove isolados obtidos da coleta I (Figura 4).

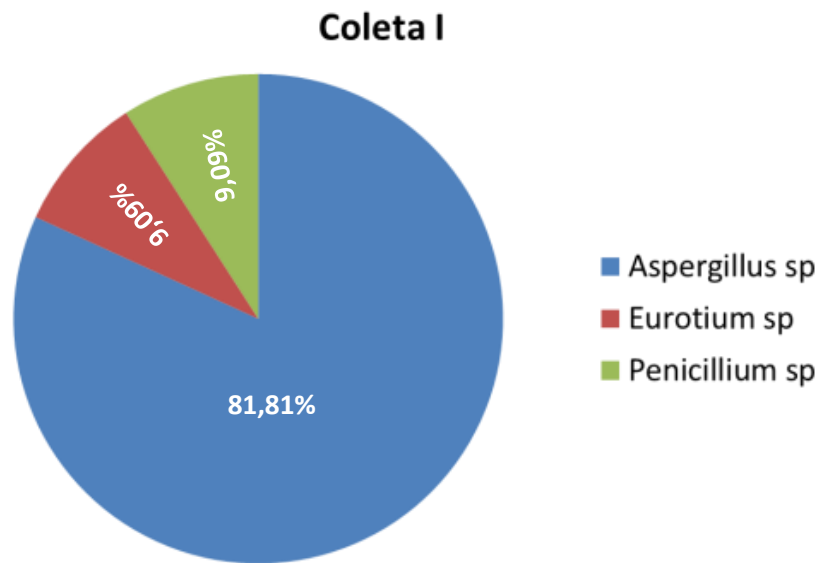


Figura 4: Percentual de identificação dos fungos isolados do solo coletado em período de estiagem em área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE.

Apesar do período de estiagem ter apresentado maiores quantificações de fungos, demonstrando o quão adaptados estes estão em seu habitat, mesmo sob condições de estresse, ainda conseguem desenvolver-se normalmente, por outro lado, apenas três gêneros foram identificados. Tal resultado pode está relacionado com o período da coleta, uma vez que a estiagem ocasiona baixa disponibilidade de água no solo, corroborando com os resultados obtidos por Silva (2018) e Leitão (2018) que evidenciaram menor diversidade em coletas de solo realizada no período de estiagem com expressivo isolamento do gênero *Aspergillus*. Diante disso, esses resultados indicam o potencial de adaptabilidade dos fungos filamentosos de solos do semiárido a condições de estresse.

Estudos relatam que solos de áreas que sofrem interferências constantes, seja por ação antrópica ou por fatores ambientais, como altas temperaturas e baixa umidade, podem sofrer com a perda de parte da sua microbiota, havendo seleção de determinados grupos mais adaptados, ou seja, que possuam fisiologia com capacidade de sobressair em condições extremas ou estressantes (ALENCAR & COSTA, 2000; BOTTOMLEY,1999; SILVA *et al.* 2006; SIQUEIRA *et al.*,1994).

O Nordeste brasileiro, quando comparado às outras regiões, se destaca pela diversidade de espécies fúngicas catalogadas, com cerca de 2.617 exemplares, classificando a Caatinga em terceiro lugar, com o registro de 999 espécies, com abundância dos fungos conidiais com aproximadamente 407 espécies e do Filo Ascomycota, com cerca de 179 espécies (GUSMÃO e MAIA, 2006; MAIA *et al.*, 2015).

Oliveira (2013) ao realizar uma revisão sobre a diversidade de fungos no semiárido brasileiro observou escassez de trabalhos desenvolvidos nesta área. Neste levantamento, foram obtidas as informações sobre a diversidade da ocorrência de gêneros de vários fungos conidiais, como *Curvularia*, *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo esses dois últimos os mais recorrentes bem como neste trabalho.

Recentemente uma nova espécie fúngica foi descrita na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira sendo denominada de *Aspergillus serratalhadensis* (OLIVEIRA *et al.*, 2018), reforçando assim a diversidade existente nessas áreas e a necessidade de trabalhos para o conhecimento dessa Micobiota específica.

Os resultados obtidos por Silva (2018) corroboram com este trabalho, estudou a quantificação e diversidade de fungos filamentosos da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira e identificou 17 isolados em nível de gênero obtendo uma maior incidência de *Aspergillus* (9), seguido de *Fusarium* (5), *Curvularia* (2) e *Cunninghamella* (1).

Com relação à identificação dos fungos que cresceram no solo coletado no período chuvoso, obteve-se um total de 12 isolados, destes, sete foram identificados em nível de gênero: *Scopulariopsis* (1), *Cladosporium* (1), *Paecilomyces* (2), *Penicillium* (1) e *Aspergillus* (2) (Figura 5). Os quatro isolados restantes não apresentaram estruturas reprodutivas que viabilizasse a identificação.

Apesar dos fungos isolados neste período do ano ter apresentado uma quantidade menor de UFCs, observou-se maior variedade quanto aos gêneros obtidos quando comparado ao período de estiagem (Tabela 4).

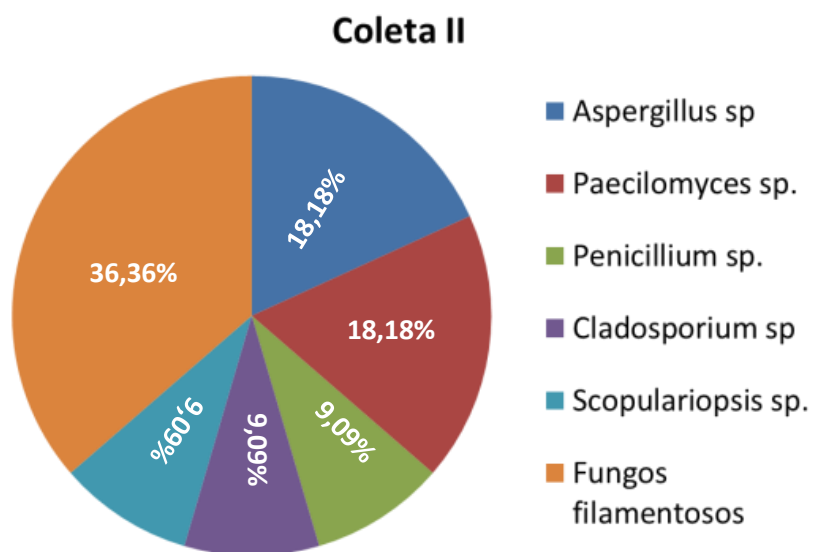


Figura 5: Percentual de identificação dos fungos isolados do solo coletado em período chuvoso em área preservada do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE.

Dos 43 fungos isolados durante esse estudo foram identificados apenas 22, estes pertencentes a seis gêneros com predominância do gênero *Aspergillus* tanto na coleta I (81,81%) como na coleta II (18,18%) totalizando 11 representantes, seguido dos gêneros *Paecilomyces* e *Penicillium* que apresentaram um percentual de 18,18%, com dois isolados cada um (Tabela 4).

Tabela 4. Identificação dos isolados fúngicos de solos coletados na UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE, por período de coleta.

Período de estiagem		Período de chuva	
Nº do isolado	Identificação	Nº do isolado	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)	Isolado 1*
A4	<i>Penicillium</i> sp.	A8	Isolado 2*
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)	Isolado 3*
I3	<i>Aspergillus</i> sp.	I9	Isolado 4*

*Sem identificação

As características macroscópicas das colônias bem como as estruturas microscópicas dos fungos, resultantes das duas coletas, foram utilizadas para a identificação dos seis gêneros e de uma espécie encontrados neste trabalho (Figuras 6 - 10).

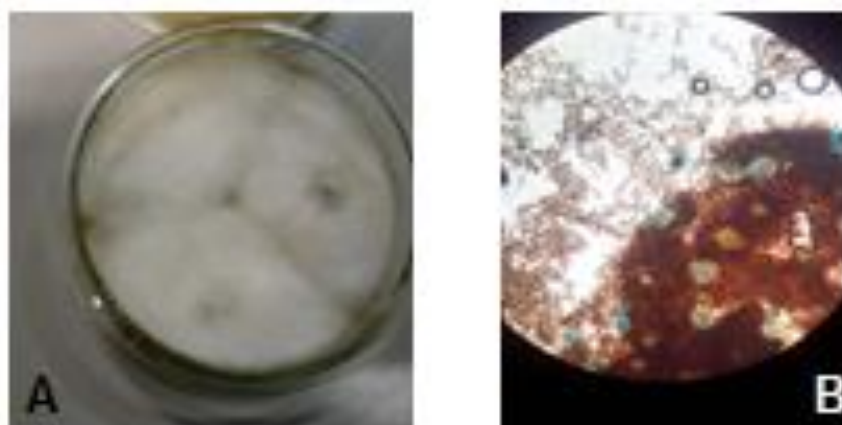


Figura 6. Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de *Aspergillus* sp. (isolado I2) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE

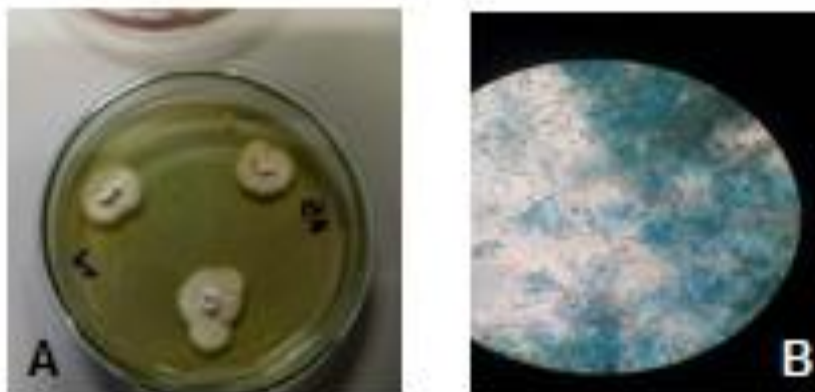


Figura 7. Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de *Penicillium* sp. (isolado A4) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE

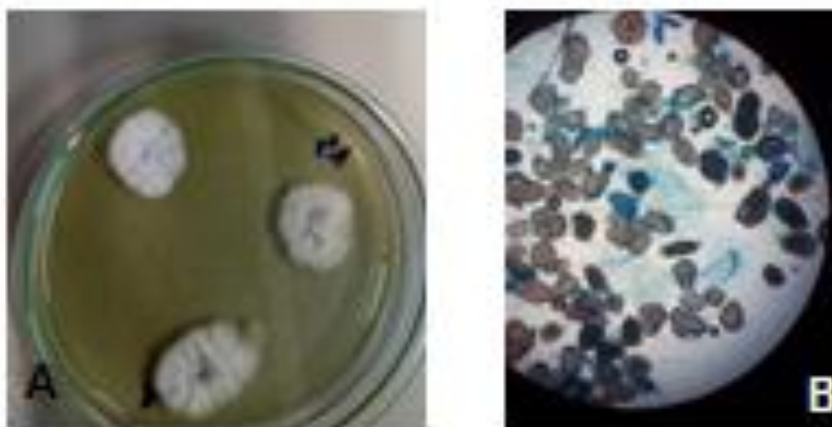


Figura 8. Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de *Eurotium* sp. (isolado A5) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE

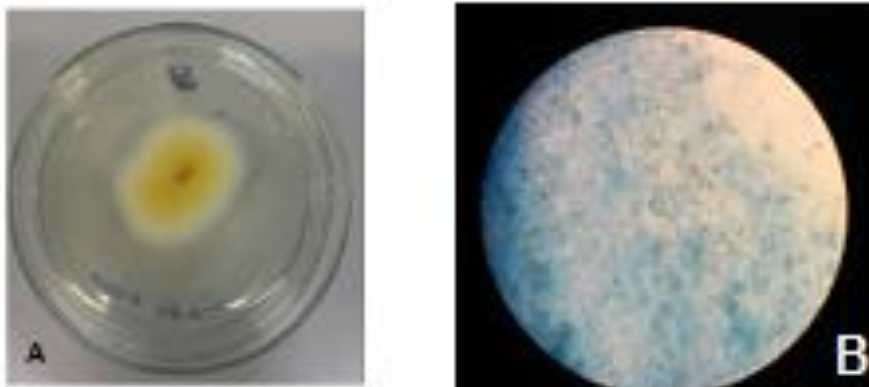


Figura 9. Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de *Scopulariopsis* sp. (isolado A5), coleta II, em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE

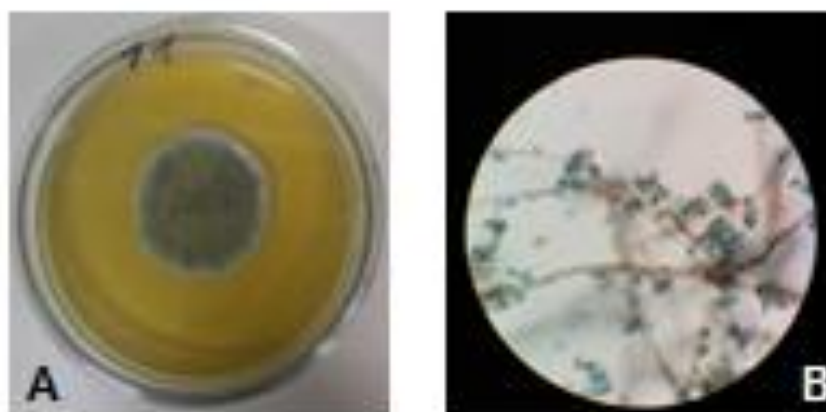


Figura 10. Aspectos macroscópico (A) e microscópico (B) de *Cladosporium* sp. (isolado A7(1)) em Agar Sabouraud, do solo da Unidade de Conservação do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE.

As espécies do gênero *Aspergillus* são de fácil distribuição no ambiente (ABARCA, 2000), podendo ser classificado como organismo cosmopolita, pela propensão a dispersão dos esporos assexuados, chamados de conídios. Conforme Ritter (2007), esse gênero se desenvolve melhor em clima tropical, devido à variação de temperatura, sendo considerado termotolerante, com potencial de se desenvolver em temperaturas superiores a 37°C (BOFF et al., 2012). Portanto, se torna evidente a capacidade que *Aspergillus* também possui em se adaptar a circunstâncias diferentes como ocorreu neste trabalho,

o qual foi identificado nas duas coletas e sendo predominante na coleta I realizada em período de estiagem.

As várias espécies desse gênero são de grande importância econômica para o homem, atuando desde a deterioração de alimentos, causando doenças, produzindo micotoxinas como também em vários ramos da indústria e na área biotecnológica (SAMSON, 2014).

Em uma extensa e recente revisão sobre diversidade fúngica e seu papel na manutenção de solos saudáveis, gêneros do Filo Ascomycota, como *Aspergillus* e *Penicillium*, são citados como importantes decompositores de matéria orgânica, bem como antagonistas de outros microrganismos fitopatogênicos por esse motivo são frequentemente encontrados em solos principalmente de áreas preservadas corroborando com os resultados obtidos nesse trabalho (FRAC *et al.*, 2018). Todos os gêneros de fungos identificados neste trabalho pertencem ao Filo Ascomycota

Cavalcanti *et al* (2006) realizaram um estudo de isolamento de fungos filamentosos de solo na região do Xingó, uma região caracterizada por apresentar ecossistema do tipo Caatinga. Esses autores compararam o período de estiagem e chuvoso, com coletas de superfície variando de 0-20 cm de profundidade e obtiveram 96 táxons pertencentes a oito espécies do Filo Ascomycota, oito de Zygomycota e 80 espécies mitospóricas.

Silva (2018) e Leitão (2018), também evidenciaram maior predominância do gênero *Aspergillus* em solos coletados no Parque Estadual Mata da Pimenteira, no período de estiagem, bem como maior diversidade dos gêneros: *Cladosporium*, *Curvularia*, *Scopulariopsis* em isolamento feito a partir de solo coletado no período chuvoso. Esses resultados estão de acordo com os encontrados neste trabalho.

5.3 Bioprospecção

5.3.1 Atividade enzimática

Do total de 43 isolados fúngicos, 22 destes foram submetidos a testes enzimáticos para investigar o potencial enzimático de amilase e protease.

Os fungos que apresentaram maior atividade de amilase em período de estiação foram apenas os isolados denominados D8 (3,5cm), I2 (3,46cm) e A10(3,26cm) todos pertencentes ao gênero *Aspergillus*. Quando analisado o potencial para protease se destacaram os isolados I3 (5,6cm), D8 (3,93cm), A10 (3,73cm) também pertencentes ao gênero *Aspergillus* (Tabela 5).

Tabela 5. Média dos halos de potencial enzimático de amilase e protease produzidas pelos fungos isolados de solo, em período de estiação, de área preservada da UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE.

Nº do isolado fúngico	Amilase(Ø cm)	Protease (Ø cm)
A1 (<i>Aspergillus</i> sp.)	2,16	3,06
A2 (<i>Aspergillus</i> sp.)	2,67	2,6
A3 (<i>Aspergillus niger</i>)	2,3	0
A4 (<i>Penicillium</i> sp.)	3,06	2,16
A5 (<i>Eurotium</i> sp.)	1,86	2,6
A9 (<i>Aspergillus</i> sp.)	0	0
A10 (<i>Aspergillus</i> sp.)	3,26	3,73
D8 (<i>Aspergillus</i> sp.)	3,5	3,93
D10 (<i>Aspergillus niger</i>)	2,53	1,93
I2 (<i>Aspergillus</i> sp.)	3,46	2,83
I3 (<i>Aspergillus</i> sp.)	2,03	5,6

Os valores estão expressos em centímetros e representam as médias das triplicatas de cada índice enzimático obtido.

O isolado D8 (*Aspergillus* sp.) é considerado um bom produtor tanto de amilase quanto de protease, pois segundo Oliveira *et al.* (2006) apresenta halos de degradação $\geq 2,0$ cm para cada enzima testada. Entretanto, o isolado denominado A9 (*Aspergillus* sp.) não apresentou reação a nenhuma das enzimas testadas assim como o A3 (*Aspergillus niger*) que não reagiu ao teste de protease (Tabela 5).

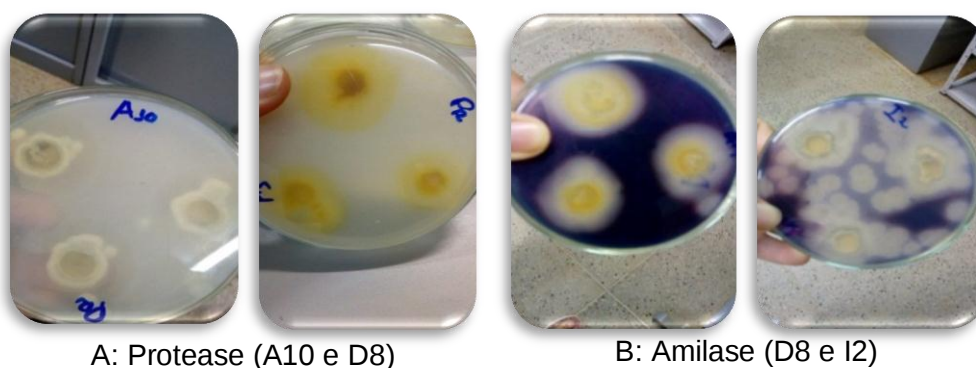
Tabela 6. Média dos halos de potencial enzimático de amilase e protease produzidas pelos fungos isolados de solo, em período de chuva, de área preservada da UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE.

Nº do isolado fúngico	Amilase(Ø cm)	Protease (Ø cm)
A5 (<i>Scopulariopsis</i> sp.)	2,26	0
A7(1)(<i>Cladosporium</i> sp.)	2,5	3,76
A7(2) Isolado.1	0	1,64
A8 Isolado 2	2,73	2,23
A9 (<i>Paecilomyces</i> sp.)	2,1	1,86
D7 (<i>Penicillium</i> sp.)	2,4	1,93
D9 (<i>Aspergillus</i> sp.)	2,2	4,16
I7 (<i>Aspergillus niger</i>)	2,23	1,9
I8(1) (<i>Paecilomyces</i> sp.)	2,03	2,93
I8(2) Isolado 3	0	0
I9 Isolado 4	3,5	0

Os valores estão expressos em centímetros e representam as médias das triplicatas de cada índice enzimático obtido.

No período chuvoso os isolados que apresentaram maiores índices enzimáticos para amilase foram o I9 (3,5cm), A8 (2,73cm), sem identificação, e A5 (2,26cm) identificado como *Scopulariopsis* sp. Já para protease os isolados que evidenciaram maiores halos de degradação foram D9 (4,16cm), A7(1)(3,76cm) e I8(1) (2,93cm), entretanto, o isolado I8 (2) não formou halo para nenhuma enzima (Tabela 6).

A positividade para as enzimas analisadas é vista pela formação de halo de degradação do substrato no meio de cultura (Figura 11).



A: Protease (A10 e D8)

B: Amilase (D8 e I2)

Figura 11. Exemplos de atividade enzimática positiva (protease – A, e amilase – B) dos isolados A10; D8 e D8; I2 evidenciada pelos halos de degradação do substrato.

Os fungos são importantes produtores de enzimas hidrolíticas, como as proteases, amilases e celulasas que são empregadas em vários setores industriais como, por exemplo, na indústria de alimentos, farmacêutica, cosméticos, couro têxtil, detergentes, engenharia genética e meio ambiente (ESPOSITO & AZEVEDO, 2010). Também são explorados como produtores de vitaminas, polissacarídeos, polialcóis, lipídios, glicolipídios e pigmentos. Muitos destes produtos já são comercializados, enquanto outros ainda estão em alguma fase de prospecção e desenvolvimento, mas ambos são potencialmente valiosos para a biotecnologia, e de um modo geral têm um grande impacto econômico (ADRIO & DEMAINE, 2003).

As enzimas de origem microbiana são amplamente estudadas uma vez que, quando comparadas com enzimas de origem vegetal e animal, apresentam vantagens como diversidade bioquímica dos microrganismos, facilidade de manipulação e principalmente baixo custo de produção. Além disso, as possibilidades de aplicação são inúmeras, indo desde a sua adição em detergentes, produção de alimentos e em processos de biorremediação (PEREIRA, 2012).

Adicionalmente, microrganismos isolados em condições extremas, como altas temperaturas, podem produzir enzimas capazes de se manter íntegras mesmo em temperaturas mais elevadas, sem que sejam desnaturadas. A *Taq* polimerase, enzima termoestável é amplamente utilizada em reações de amplificação do DNA em laboratórios, produzida pela bactéria extremófila *Thermus aquaticus* é um exemplo de sucesso em pesquisas nesta área (MADIGAN, 2016).

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são considerados os mais importantes economicamente. Pertencem à família Aspergillaceae, sendo importantes produtores de vários metabólitos e enzimas de importância biotecnológica como celulases, amilases e proteases (HOUBRAKEN *et al.*, 2014). Esses são classificados como GRAS (Geralmente Reconhecidos Como Seguros) devido à sua baixa toxicidade. Além disso, são produtores de uma gama de substâncias bioativas e podem ser utilizados para produção de enzimas hidrolíticas como as proteases (FERNANDES, 2009; VARGA *et al.*, 2007).

Em estudo realizado por Griebeler *et al.* (2015) foram isolados fungos filamentosos de vários substratos, incluindo solo, para verificar a produção das enzimas amilase, protease, celulase e pectinase, obtendo em relação às três primeiras enzimas índice enzimático (IE) de 7,08 mm, 10,62 mm e 13,86 mm, respectivamente. Com o mesmo objetivo de testar potencial enzimático Belo (2013), também observou a predominância de *Aspergillus* em degradar protease.

Segundo Guimarães *et al.* (2006), a primeira aplicação em escala industrial de enzimas microbianas foi a utilização de enzimas degradadoras de amido. Sendo que as amilases estão entre as mais importantes enzimas industriais, apresentando grande importância biotecnológica, principalmente no processo de hidrólise do amido.

Já as proteases são extremamente importantes no metabolismo de quase todos os organismos vivos (RAO *et al.* 1998), apresentando grande importância na fisiologia e ampla aplicação econômica (Rojas *et al.*, 2009). Devido a sua ampla aplicabilidade, desde exploração básica a processos industriais, se destacam em 60% do mercado, sendo, dessa forma, as mais notáveis e utilizadas industrialmente (NASCIMENTO, 2014). Consequentemente a busca por novas fontes é essencial para o fornecimento do mercado.

Desta forma, quando comparados os resultados obtidos neste trabalho, percebemos que 13 isolados apresentaram índices $\geq 2,0$ para protease e 18

isolados para amilase e 11 apresentaram IE para ambas as enzimas, sendo considerados, portanto, bons produtores.

6. CONCLUSÕES

Nas condições desenvolvidas neste trabalho concluímos que:

- O Período de estiagem revelou maior quantificação de células fúngicas;
- O gênero *Aspergillus* predominou na primeira coleta em 2018;
- Maior diversidade de gêneros ocorreu no período chuvoso;
- *Aspergillus* foi o gênero com maior índice enzimático para protease nos dois períodos de coleta;
- O gênero *Aspergillus* obteve maior índice enzimático para amilase no período de estiagem.

7. 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.
- ACAR, J. F. Resistance mechanisms. Semin Respir Infect, v. 17, n. 3, p.184-8, 2002.
- ADRIO, J.L.; DEMAINE, A.L. Fungal biotechnology. International Microbiology, v. 6, p.191-199, 2003.
- ALENCAR, F.C.N.; COSTA, J.L.S. Impacto da fungigação na biomassa e atividade microbiológica dos solos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 33., 2000, Belém. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.25, (suplemento), p.359. 2000.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. & BLACKWELL, M. 1996. Introductory Mycology. New York: John Wiley & Sons, Inc. 865p.

- ANDRADE, E.M. A floresta tropical seca, caatinga: As certezas e incertezas das águas. 2017.
- 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.
- ANDREOLI, C. V.; ANDREOLI, F.N.; JUSTI JUNIOR, J.. Formação e características dos solos para o entendimento de sua importância agrícola e ambiental. Andreoli, Cleverson v.; torres, Patrícia Lupion. Complexidade: redes e conexões do ser sustentável. Curitiba: kairós, p. 511-529, 2014.
- ARIAS, M.E.; GONZÁLES-PÉREZ, J.A.; GONZÁLES-PÉREZ, F.J.; BALL, A.C. Soil health a new challenge for microbiologists and chemists. *International Microbiology*, v. 8, p. 13-21, 2005.
- BARATA, R. A. et al., Purification and Characterization of an Extracellular Trypsin- Like Protease of *Fusarium oxysporum* var. lini. *J Biosci Bioeng*, v.94, n.4, p. 304-308, 2002.
- BARNARD, D. et al. Extremophiles in biofuel synthesis. *Environmental technology*, v. 31, n. 8-9, p. 871-888, 2010
- BARNETT HL, HUNTER BB (1987) Illustrated genera of Imperfect Fungi. 4th Edition. APS Press. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnessota, USA.
- BARTELEGA, V.; ALMEIDA, G.R.S; DA CUNHA, L.T. Quantificação de bactérias totais em solos cultivados com café da Fundação Procafé, em Varginha, Minas Gerais, Brasil. LA SAETA UNIVERSITARIA, 2015.
- BELO, S.C.B. Produção de amilase e lipase por fungos filamentosos isolados de diferentes tipos de solo de floresta e savana de Roraima. Boa Vista-RR, 2013.
- BENSCH, K. et al. The genus *Cladosporium*. *Studies in mycology*, v. 72, p. 1-401, 2012.
- BILLS, G.F.; CHRISTENSEN, M.; POWELL, M.; THORN, G. Saprobiic soil fungi. In: MUELLER, G.M.; BILLS, G.F.; FOSTER, M.S.(Ed). Biodiversity of fungi- inventory and monitoring methods. Amsterdam: Elsevier. p. 271-302 , 2004.
- BITTENCOURT, M. L. S. de A. Avaliação do perfil de proteases expressas por *Penicillium fellutanum* e *Penicillium restrictum* isolados do solo do cerrado brasileiro. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de Brasília – Faculdade de Ciências da Saúde, Brasília, 2014.

- 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*. 2012;40(10):1016-1017.
- 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.
- BORGES, L.R. et al. Diversidade de fungos filamentosos em solo de monocultivo de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, v. 9, n. 2, p. 185-194, 2017.
- BOTTOMLEY, PJ. Microbial ecology. In: YLVIA, D.M.; FUHREMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. (Eds.). *Principles and applications of soil microbiology*. New York: Prentice Hall, p.149-167, 1999
- 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, 1992. p.1-16.
- BRASIL. Ministério da Integração Nacional. Nova delimitação do Semiárido brasileiro. Brasília, DF, 2005. 32 p. il.
- BUÉE, M.; REICH, M.; MURAT, C.; MORIN, E.; NILSSON, R.H.; UROZ, S.; MARTIN, F. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist*, v. 184, p. 449-456, 2009.
- BUTTON CB (1980) *The Coelomycetes Fungi Imperfect with pycnidia, acervuli and stromata*. Commonwealth, Survey, England.
- CARDOSO NIERO, L.A. et al. Avaliações visuais como índice de qualidade do solo e sua validação por análises físicas e químicas em um Latossolo Vermelho distroférrico com usos e manejos distintos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, n. 4, 2010.
- CARDOSO, E.J.B.N; ANDREOTE, F.D. *Microbiologia do solo*, Piracicaba, 2016.
- CARNEIRO, R.G. Perfil da temperatura do solo nos biomas florestais da Amazônia e Mata Atlântica com aplicação da transformada em ondas. 2014. 79f. Dissertação (Mestrado em Meteorologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2014.
- CASTELLETTI, C. H. M., J. M. C. SILVA, M. TABARELLI, E A. M. M. SANTOS. 2004. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. Pp 91–100 in J. M. C. Silva, M. Tabarelli, M. Fonseca e L. Lins, editores. *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília

- CAVALCANTI, M. A. Q. et al., Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*, v. 20, n.4, p.831-837, 2006
- CHOWDHURY, A. et al. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian journal of microbiology*, v. 48, n. 1, p. 114-127, 2008.
- CLARK, F.E. 1965. Agar-plate method for total microbial count. In *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties*. (C.A. Blanc, D. Evans, J.L. White, L.E. Ensminger, F.E. Clark & R.C. Dinauer, eds.). Madson Inc., New York, p.1460-1466.
- CLEMENTINO, Leandro Costa et al. BIOPROSPECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PRODUZIDOS POR FUNGOS DA CAATINGA. *Evidência-Interdisciplinar*, v. 15, n. 1, p. 37-56, 2015.
- COELHO, ME.H.; FREITAS, F.C.L.; CUNHA, J.L.X.L.; SILVA, K.S.; GRANGEIRO, L.C.; OLIVEIRA, J.B. Coberturas do solo sobre a amplitude térmica e a produtividade de pimentão. *Revista Planta Daninha*, Viçosa, MG, v. 31, p. 369-378, 2013.
- CORREIA, M.E.F.; OLIVEIRA, LCM. Importância da fauna de solo para a ciclagem de nutrientes. *Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 77-99, 2005.
- COSTA, I. P.W. CAVALCANTI, M. A. Q, OLIVEIRA, L. G, FERNANDEZ, M.J, LIMA, D. M. Hyphomycetes from soil of na área affected by cooper mining activities in the state of Bahia, Brazil. *Braz J Microbiol* 37, 290-295, 2006.
- DANIEL, R. The metagenomics of soil. *Nature Reviews Microbiology*, v. 3, p. 470-478, 2005.
- DASHTBAN, M.; SCHRAFT, H.; SYED, T.A.; QIN, W. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, v. 1, p. 36-50, 2010
- DE ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Bioscience Journal*, v. 23, n. 3, 2007.
- DE CARVALHO MENDES, Iêda; DE SOUSA, Djalma Martinhão Gomes; DOS REIS JUNIOR, Fábio Bueno. BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO: DOS LABORATÓRIOS DE PESQUISA PARA O CAMPO. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v. 32, n. 1/2, 2015.
- DE PAULA VIEIRA, D.A.; FERNANDES, Nayra Claudia de Assuncao Queiroz. *Microbiologia Geral*. 2012.

- DEMAIN, A. L, SANCHEZ, S. Microbial drug discovery: 80 years of progress. Journal of Antibiotics, v. 62, p. 5-16, 2009.
- DINGLE J., W.W. REED AND G.L. SOLOMONS. 1953. The enzymatic degradation of pectin and other polysaccharides II. Application of the cup assay method to the estimation of enzyme. J. Science, Food and Agriculture. 4:149-153.
- DINGLE J., W.W. REED AND G.L. SOLOMONS. The enzymatic degradation of pectin and other polysaccharides II. Application of the cup assay method to the estimation of enzyme. J. Science, Food and Agriculture. 4:149-153, 1953.
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Org.) Defining soil quality for a sustainable environment. Madison: SSSA, 1994.
- DRUMOND, M.A. et al. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da caatinga. Embrapa Semiárido-Folhetos/Folhetos/Cartilhas (INFOTECA-E), 2000.
- DUCHICELA, J. et al. Soil aggregate stability increase is strongly related to fungal community succession along an abandoned agricultural field chronosequence in the Bolivian Altiplano. Journal of Applied Microbiology, Oxford, v. 50, p. 1266-1273, 2013.
- ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. Fungos, uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. 2ª ed. Caxias do Sul: EDUCS; p. 535-556, 2010.
- FARO, A. R. Estudos estruturais e funcionais da Xylellaína, um cisteíno protease da bactéria *Xylella fastidiosa*, 2008, 80 f. Dissertação (Mestrado em Iências). Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- FERNANDES, A.N. Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos isolados de diferentes fontes. Lavras: UFLA, 2009.
- FERNANDES, A. P. Avaliação do Potencial Enzimático de fungos filamentosos de diferentes fontes. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras – MG, Lavras, 2009.
- FERREIRA, P.R.S. Caracterização da diversidade bacteriana de solos da caatinga (Ceará) de áreas preservadas e sob condições de desertificação. 2016.
- FISCHER, J. et al. Produção de etanol de segunda geração pelo uso de complexo enzimático de cepas selecionadas do ecossistema do cerrado. 2014.

- FRĄC M, HANNULA SE, BEŁKA M AND JĘDRYCZKA M (2018) Fungal Biodiversity and Their Role in Soil Health. *Front. Microbiol.* 9:707. doi: 10.3389/fmicb.2018.00707
- GAMBÔA, A. G. Utilização do inibidor de papaína extraído de sementes de *Adenanthera pavonina* L. na purificação de proteases cisteínicas. Dissertação (Mestrado em Biologia). Universidade Federal de Goiás – Instituto de Ciências Biológicas, Goiânia, 2010.
- GOI, S.R.; SOUZA, F.A. Diversidade de microrganismos do solo. *Floresta e Ambiente*. Seropedica, v. 13, n. 2, p. 46-65, 2006.
- (GRAND VIEW RESEARCH, Inc.) Global enzymes Market By Product (Carbohydrase, Proteases, Lipases, Polymerases & Nucleases) Expected to Reach USD &652.0 Million by 2020, 2014. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/enzymes-industry>. Acessado: 23 Mar 2019.
- GRIEBELER, Marcio L. et al. Secular trends in the incidence of primary hyperparathyroidism over five decades (1965–2010). *Bone*, v. 73, p. 1-7, 2015.
- GUIMARÃES L.H.S, et al. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37(4):474-480, 2006.
- GUPTA, R. et al. Microbial α amilases: a biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, v. 38, p.1599-1616, 2003.
- GUPTA, R.; BEG, Q.K.; LORENZ, P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.59, p. 15-32, 2002.
- GUSMÃO, L.F.P.; MAIA, L.C. Diversidade e caracterização do semi-árido brasileiro. Imsear, Recife. 2006.
- GUSMÃO, L.F.P.; MAIA, L.C. Diversidade e caracterização do semi-árido brasileiro. Imsear, Recife. 2006.
- HANLIN RT (2000) Illustrated genera of Ascomycetes. Volume II. APS Press. The American Phytopathological Society. Minnesota, USA.
- HONG, Z. et al. The effect of extracellular polymeric substances on the adhesion of bacteria to clay minerals and goethite. *Chemical Geology*, v. 360, p. 118-125, 2013.

- HOUBRAKEN, R.P.J.; DE VRIES, R.A.; SAMSON. Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Advances in Applied Microbiology*, v. 86, p. 199-249, 2014.
- 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.
- KÖPPEN W (1948) *Climatologia: con un studio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Económica, Ciudad del México. 478p.
- KRISHNA, V.K. et al. Optimization of growth and production of protease by *Penicillium* species using submerged fermentation. *International Journal of Microbiology Research*, v. 1, n. 1, p. 14, 2009.
- LEITÃO, J. D. A. Diversidade e bioprospecção de fungos isolados de solo em área degradada no semiárido Pernambucano (Monografia). Repository UFRPE, 2018.
- LIHAN, S. et al. Screening for antimicrobial activity of fungi in soil samples collected from Kubah national park. *International Journal of Scientific & Technology Research*, v. 3, n. 2, p. 1-9, 2014.
- LIMA, B.G.; COELHO; M.F.B.; OLIVEIRA, O.F. Caracterização florística de duas áreas de caatinga na região centro-sul do Ceará, Brasil. *Bioscience Journal*, v. 28, n.2, p. 277-296, 2012.
- LIMA, J.S. Produção de tanases por espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* para clarificação de suco de uva (*Vitis vinífera* L.). 2014.
- LIMA, J.V.L.; DE SOUSA PINHEIRO, M.; GUEDES, L.M.C. Populações microbianas cultiváveis do solo e serrapilheira de uma unidade de conservação no semiárido brasileiro. *Enciclopédia Biosfera*, v. 10, p. 2300-2316, 2014.
- LIMA, J.V.L.; PINHEIRO, M.S; FIÚZA, L.M.C.G; MARTINS, S.C.S; MARTINS, C.M. Populações Microbianas Cultiváveis do Solo e Serrapilheira de uma Unidade de Conservação no Semiárido Brasileiro. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18, 2014.
- LLORENTE, B. E, OBREGÓN, W.D, AVILÉS, F. X, CAFFINI, N. O, VAIRRO-CAVALLI, S. Use af artichoke (*Cynara scolymus*) flower extract as a substitute for bovine rennet in the manufacture of Gouda-type cheese: Characterization of aspartic proteases, *Food Chemistry*, v.159, p.55-63, 2014.
- MACHADO, K.S. et al. Resíduos orgânicos e fósforo como condicionantes de solo degradado e efeitos sobre o crescimento inicial de *Dipteryx alata* Vog. *Ciência Florestal*, v. 24, n. 3, p. 541-552, 2014.

- MADIGAN, M. T. et al. Microbiologia de Brock-14^a Edição. Artmed Editora, 2016.
- MADIGAN, M.T. et al. Microbiologia de Brock.12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 555.
- MAIA, L.C. & GILBERTONI, T.B. Fungos registrados no semi-árido nordestino. Pp. 163-176. In: E.V.S.B. Sampaio, 2002.
- MAIA, L.C. et al. Diversity of Brazilian fungi. Rodriguésia, v. 66, n. 4, p. 1033-1045, 2015.
- MAMEDE, A.L.C.P. et al. Atividade biológica do fungo *Pisolithus microcarpus*. 2015.
- MARQUES, L.G. et al. REDES DE BIOPROSPECÇÃO NO BRASIL: COOPERAÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO. RDE-Revista de Desenvolvimento Econômico, v. 15, n. 28, 2014.
- MARTINS, C.M.; GALINDO, I.C.L.; SOUZA, E.R.; POROCA, H.A. Atributos químicos e microbianos do solo de áreas em processo de desertificação no semiárido de Pernambuco. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 34, p. 1883-1890, 2010.
- MEENA, V. S.; MAURYA, B.R.; VERMA, P. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? Microbiological Research, v. 169, p. 337-347, 2014.
- MELO AL, LIMA ALA, MENEZES TGC, CORDEIRO RS, SANTOS ES, FARIAS SGG, SILVA FV, CALDAS DRM, MATOS SS, MELO R, LIMA LR, CORDEIRO WPS, GOMES APS & RODAL MJN (2013). Flora vascular terrestre. In: Santos EM, Melo-Júnior M, Silva-Cavalcanti JS & Almeida GVL (eds.) Parque Estadual Mata da Pimenteira: riqueza natural e conservação da Caatinga. EDUFRPE, Recife. Pp. 83-103.
- MILES, L; NEWTON, A.C.; DEFRIES, R.S.; RAVILIOUS, C.; MAY, I.; BLYTH, S.; VALERIE KAPOs, V.; GORDON, J.E. A global overview of the conservation status of tropical dry forests. Journal of Biogeography, v. 33, p. 491-502, 2006.
- MOHAMMADI, R., MAHMOUZADE, M., ATEFI, M., KHOSRAV I-DHAN, K. & MOZAFAR, M. R., Application of nanoliposomes in cheese tecnology. International Journal of Dairy Tecnology, 68, 2015.
- MOLINARO, E.M. et al. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde, v. 4. 2009.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 2002. p.625.

- MOREIRA, I.V.. Detecção de atividade antimicrobiana de microrganismos isolados de solos do Maranhão/ Israel Viegas Moreira. São Luís: UNICEUMA, 2015.
- MOURA E. R. Fungos filamentosos isolados do solo em área de Caatinga. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.
- MOURA, M. S. B. de; GALVINCIO, J. D.; BRITO, L. T. de L.; SOUZA, L. S. B. de; SÁ, I. I. S.; SILVA, T. G. F. da. Clima e água de chuva no Semi-Árido. In: BRITO, L. T. de L.; MOURA, M. S. B. de; GAMA, G. F. B. (Ed.). Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, cap. 2, p. 37-59, 2007.
- MUELLER, G.M.; BILLS, G.F.; FOSTER, M.S. Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods. Burlington: Elsevier academic press, 777p, 2004.
- NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science, v. 54, p. 655-670, 2003.
- NASCIMENTO, R. F.Q. et al. Prospecção de fungos da caatinga produtores de antibióticos. Revista Saúde & Ciência Online, v. 3, n. 3, p. 76-85, 2014.
- NASCIMENTO, T.P. Produção de proteases com atividade fibrinolítica por fungos filamentosos de solos da caatinga utilizando fermentação em estado sólido. 2014.
- NELSON, P.E.; DIGNANI, M. Cecilia; ANAÏSSIE, Elias J. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. Clinical microbiology reviews, v. 7, n. 4, p. 479-504, 1994.
- NEVES, C. S. Produção de proteases coagulantes por espécies de *Pleurotus* em resíduos vegetais da Amazônia. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2014
- OLIVEIRA, A.N.; OLIVEIRA, L.A.; ANDRADE, J.S.; CHAGAS JÚNIOR, A. F. Enzimas hidrolíticas extracelulares de isolados de rizóbia nativos da Amazônia central, Amazonas, Brasil. Ciênc. Tecnol. Aliment. 26: 853-860. 2006.
- OLIVEIRA, L.G. Diversidade e potencial enzimático de fungos filamentosos isolados do solo, Semiárido, Pernambuco, Brasil. 2013.
- OLIVEIRA L.F., BARBOSA R.N., ALBUQUERQUE G.M.R., SOUZA-MOTTA C.M., VIANA M.. *Aspergillus serratalhadensis* sp. nov. Fungal Planet, p.720, 2018.

- ORLANDELLI, R.C. et al. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, v. 7, n. 3, 2012.
- PANACHUKI, E. Infiltração de água no solo e erosão hídrica, sob chuva simulada, em sistema de integração agricultura-pecuária. Universidade Federal De Mato Grosso Do Sul Campus De Dourados. Dourados, 2003.
- PANDEY, A. et al. Advances in microbial amylases. *Biotechnology Applied Biochemistry*, v.31, p.135-152, 2000.
- PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolic production in submerged mycelia processes. *Biotechnology Advances*, v. 22, p. 189-259, 2004.
- PEDROTTI, A. et al. Causas e consequências do processo de salinização dos solos. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 19, n. 2, p. 1308-1324, 2015.
- PEREIRA, C.S., LOPES, I., SOUSA, J.P., CHELINHO, S. Effects of NaCl and seawater induced salinity on survival and reproduction of three soil invertebrate species. *Chemosphere* 135, 116 e122, 2015.
- PEREIRA, J.M.; BARETTA, D.; BINI, D.; VASCONCELLOS, R.L.F. CARDOSO, E.J.B.N. Relationships between microbial activity and soil physical and chemical properties in native and reforested *Araucaria angustifolia* forests in the state of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 37, p. 572-586, 2013.
- PEREIRA, Vanessa Maria. Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos e otimização da produção de celulases por *Aspergillus sulphureus* (Fresen) Wehmer. 2012.
- PEREIRA, Vera Lúcia. Impacto do desmatamento da Caatinga sobre a comunidade microbiana do solo. 2013.
- PIMENTEL, J.V.F.; GUERRA, H.O.C. Semiárido, caatinga e legislação ambiental. UFPB, 2009.
- PRADO, D.E, As caatingas da América do Sul. In.: Leal, IR., Tabarelli, M., Silva, JMC. (eds), *Ecologia e conservação da caatinga*. Editora Universitária da UFPE, Recife, PE, Brasil, p-3-58, 2003.
- PRADO, Darién E. As caatingas da América do Sul. *Ecologia e conservação da Caatinga*, v. 2, p. 3-74, 2003.
- PREVIATI, R. et al. Isolamento e quantificação das populações de bactérias em geral e de Actinomicetos presentes no solo. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v. 15, n. 2, 2013.

- QUEIROZ, L. P. DE; RAPINI, A.; GIULIETTI, A. M. (eds.). Towards greater knowledge of the Brazilian Semi-arid biodiversity. Brasília: Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT), 2006.
- RAMOS, Sérgio Murilo Sousa. Isolamento e seleção de fungos de solo para biodegradação do pesticida organofosforado clorpirifós, 2014.
- RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M.S.; DESHPANDE, V.V.; Molecular and Biotechnological aspect Microbial Proteases. Microbiology band Molecular Biology Reviews, New York, v. 62, n.3, p.579-635, Sept.1998.
- RAO, Mala B. et al. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. Microbiology and molecular biology reviews, v. 62, n. 3, p. 597-635, 1998.
- 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.
- RITTER, Ana Carolina. Potencial toxigênico de *Aspergillus flavus* testado em diferentes meios e condições. 2007.
- ROJAS et al., Isoenzyme characterization of proteases and amylases and partial purification of proteases from filamentous fungi causing biodeterioration of industrial paper. International Biodeterioration & Biodegradation. Feb. v 63. n.2, p. 169-175, 2009.
- ROMERO, F. J.; GARCÍA, L. A.; SALAS, J. A.; DÍAZ, M.; QUIRÓS, L. M. Production, purification and partial characterization of two extracellular proteases from *Serratia marcescens* grown in whey. Process Biochemistry, v. 36, p. 507-515, 2001.
- ROSSELÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. FEMS Microbiology Review, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 39-67, 2001.
- RUEGGER, M.J.S. & TAUKE-TORNISIELO, S.M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Botânica 27:205-211, 2004.
- SACCARO JR, Nilo L. A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. Ambiente & Sociedade, v. 14, n. 1, p. 229-244, 2011.
- SACRAMENTO, A.N.; SIQUEIRA, D.; BEZERRA, G. C., FILHO, H. P. L.; GUEDES, M.; MARQUES, R. F.J. – Recife: Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade, Parque Estadual Mata da Pimenteira: plano de manejo/ Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade, Agência Estadual de Meio Ambiente, 2013.

- SAMSON, R. A; VARGA, J. What is a species in *Aspergillus*? *Medical Mycology*, Oxford, v. 47, p. 13-20, 2009. Suppl.
- SAMSON, Robert A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, v. 78, p. 141-173, 2014.
- SANDHYA, Chandran et al. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Process biochemistry*, v. 40, n. 8, p. 2689-2694, 2005.
- SANTOS EM, ALMEIDA GVL, OLIVEIRA LLDSS, MENEZES ERA, GUEDES MV, SACRAMENTO AN, BEZERRA GSCL, BRITO JVA & SANTOS JCO (2013) Parque Estadual Mata da Pimenteira -Primeira Unidade de Conservação Estadual na Caatinga de Pernambuco. In: Santos EM, Melo-Júnior M, Silva-Cavalcanti JS & Almeida GVL (eds.) Parque Estadual Mata da Pimenteira: riqueza natural e conservação da Caatinga. EDUFRPE, Recife. Pp. 15-26.
- SAVITHA, S. et al. Fungal protease: Production, purification and compatibility with laundry detergents and their wash performace. *J Taiwan Inst Chem Eng*, v. 42, p. 298-304, 2011.
- SILVA, M. A. Quantificação, identificação e bioprospecção de fungos cultiváveis, de solo em recuperação, no semiárido pernambucano. (Monografia) Repository UFRPE, (2018)
- SILVA T.G.F & ALMEIDA A.Q (2013) Climatologia e características geomorfológicas. In: Santos EM, Melo-Júnior M, Silva-Cavalcanti JS & Almeida GVL (eds.) Parque Estadual Mata da Pimenteira: riqueza natural e conservação da Caatinga. EDUFRPE, Recife. Pp. 29-36.
- SILVA, D.C.V; TIAGO, P.V.; DE SOUZA-MOTTA, Cristina Maria. Isolamento e seleção de fungos filamentosos do solo de sistemas agroflorestais do Município de Bom Jardim (PE) com base na capacidade de produção de enzimas hidrolíticas¹. *Revista Brasil. Bot*, v. 34, n. 4, p. 607-610, 2011.
- SILVA, MB et al. Determinação do potencial do dano ambiental causado por agrotóxicos utilizados na fruticultura irrigada do Platô de Neópolis por análise da microbiota do solo. 2006.
- SILVA, P. G.; VIANA, A.A.O.N.; MARRIEL I. E.; SANTOS, V. L.; SILVA, D.F. Quantificação da Microbiota e Atividade da Fosfatase Ácida e Alcalina do Solo em Diferentes Sistemas de Manejo com o Uso de Dejetos Suínos como Fertilizante. XXXIV – Congresso Brasileiro da Ciência do Solo, 28 de julho a 2 de Agosto de 2013 – Florianópolis – SC.
- SILVEIRA, R.B.; MELLONI, R.; MELLONI, E.G.P. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas em Itajuba/MG. *Cerne*, v. 12, n. 1, p. 48-55, 2006.

- SILVEIRA, Rafael Botelho; MELLONI, Rogério; PEREIRA, Eliane Guimarães. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, no sul de Minas Gerais. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, v. 2, n. 2, p. 21-29, 2004.
- SIMÕES, M. L. G, TAUKE-TORNISIELO, S. M. Optimization of xylanases biosynthesis by *Aspergillus japonicus* isolated from a “Caatinga” area in Brazilian states of Bahia. *Afr J Biotechnol* 5 (11):1135-1141, 2006.
- SIMÕES, M. L. G. Produção de xilanases por fungos filamentosos isolados de solo de área de Caatinga, 2006, 151p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, São Paulo, 2006.
- SINGH, B.K. Exploring microbial diversity for biotechnology: the way forward. *Trends in Biotechnology*, v. 28, p. 111-116, 2009.
- SIQUEIRA, JO. et al. Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Embrapa Arroz e Feijão-Documents (INFOTEC-E), 1994.
- SOARES, F.L. et al. Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 28, n. 5, p. 2195-2203, 2012.
- SOARES, I. A. et al. Identificação do potencial amilolítico de linhagens mutantes do fungo filamentos *Aspergillus nidulans*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.30, n.3, p.700-705, jul./set.2010.
- 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.
- SOUZA, P.M.; MAGALHÃES, P.O. Application of microbial α -amylase in industry- A Review. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.41, p.850-861, 2010.
- TAKAHASHI, J. A.; LUCAS, E. M.F. Occurrence and structural diversity of fungal metabolites with antibiotic activity. *Química Nova*, v. 31, p. 1807-1813, 2008.
- TOMA, M.A.; BOAS, R.C.V.; MOREIRA, F.M.S. *Conhecendo a vida do solo- Micro-organismos*. 2017.
- TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. *Microbiologia-12ª Edição*. Artmed Editora, 2017.
- TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. *Microbiologia-10ª Edição*. Artmed Editora, 2012.

- VASCONCELLOS, Rafael LF et al. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Glomalin-Related Soil Protein as Potential Indicators of Soil Quality in a Recuperation Gradient of the Atlantic Forest in Brazil. *Land Degradation & Development*, v. 27, n. 2, p. 325-334, 2016.
- VINHAL-FREITAS, I.C.; WANGEN, D.R.B.; FERREIRA, A.S.; CORRÊA, G.F.; WENDLING, B. Microbial and enzymatic activity in soil after organic composting. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, v. 34, n.3, p. 757-764, 2010.
- WICK, B. et al. Nitrous oxide fluxes and nitrogen cycling along a pasture chronosequence in Central Amazonia, Brazil. *Biogeosciences Discussions*, v. 2, n. 3, p. 499-535, 2005.
- WILSON, E. O. The current state of biology diversity. In: WILSON, E. O. (Org.). *Biodiversity*. Washington: National Academy Press, 1988. p. 3-18.
- YOGABAANU, U. et al. Antimicrobial properties and the influence of temperature on secondary metabolite production in cold environment soil fungi. *Polar Science*, v. 14, p. 60-67, 2017.
- YU, P.J.; CHOU, C. C. Factors affecting the growth and production of milk-clotting enzyme by *Amylomyces rouxii* in rice liquid medium. *Food Technology and Biotechnology*, v. 43, p. 283 – 288, 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.
- ŽIVANOV S.T. et al. Fungal diversity as influenced by soil characteristics. *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 104, No. 4, p. 305–310, 2017. DOI 10.13080/z-a.2017.104.039