



UFRPE

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

MAIARA ADRIANO DA SILVA

**QUANTIFICAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS
CULTIVÁVEIS, DE SOLO EM RECUPERAÇÃO, NO SEMIÁRIDO
PERNAMBUCANO**

SERRA TALHADA-PE

2018

MAIARA ADRIANO DA SILVA

Quantificação, identificação e bioprospecção de fungos cultiváveis, de solo em recuperação, no semiárido Pernambucano

Monografia apresentada como requisito à obtenção do título de Bacharel 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. Virginia Medeiros de Siqueira

SERRA TALHADA-PE

2018

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

S586q Silva, Maiara Adriano da
Quantificação, identificação e biopreservação de fungos cultiváveis, de solo em recuperação, no semiárido Pernambucano / Maiara Adriano da Silva. – Serra Talhada, 2018.
55 f.: il.

Orientador: Virgínia Medeiros de Siqueira

Coorientador: Cynthia Maria Carneiro Costa

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, 2018.

Inclui referências.

1. Fungos do solo - Cultivo. 2. Microbiota. 3. Microorganismos do solo. I. Siqueira, Virgínia Medeiros de, orient. II. Costa, Cynthia Maria Carneiro, coorient. III. Título.

CDD 574

Quantificação, identificação e bioprospecção de fungos cultiváveis, de solo em recuperação, 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 título de Bacharel em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dr^a Virginia Medeiros de Siqueira (ORIENTADORA)
UFRPE/UAST

Profa. Dra. Cynthia Maria Carneiro Costa (2^o TITULAR)
UFRPE/UAST

Prof. Dr. Hélio Fernandes de Melo (3^o TITULAR)
UFRPE/UAST

SERRA TALHADA-PE

2018

“O mundo é um lugar perigoso de se viver, não por causa daqueles que fazem o mal, mas sim por causa daqueles que observam e deixam o mal acontecer”.

Albert Einstein

“Conseguimos realizar nossos propósitos, economizando os minutos”.

Charles Darwin

“Na vida, não existe nada a se temer, apenas a ser compreendido”.

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, pelo dom da vida, sem ele não somos nada.

Aos meus familiares pelo suporte, dedicação, paciência com meus estresses diários e contribuindo assim com que eu pudesse finalizar meu curso, pois eles sabem todo o esforço e barreiras que tive que enfrentar para concluir mais essa etapa.

Aos meus professores por cada ensinamento, por terem compartilhado de toda sabedoria que repassaram com divina sensibilidade, na minha lista de docentes não posso deixar de citar minha ilustríssima orientadora Virginia Medeiros de Siqueira, pois sua orientação foi de fundamental importância para a concretização desse trabalho, onde escutou-me não só para o citado trabalho como para meus momentos inesperados.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que fizeram e fazem parte da minha vida, saibam que todos são especiais e que de alguma forma me ajudaram, mais uma vez agradeço a Deus, meus pais, irmãs, marido e a todos que fazem parte grupo LAPPEMI.

Não posso deixar de mencionar e agradecer a UFRPE/UAST, pela acolhida todos esses anos.

RESUMO

As comunidades microbianas que habitam os solos sofrem interferência de fatores bióticos e abióticos, e em se tratando do semiárido, estas comunidades estão sujeitas a baixa disponibilidade de água, altas temperaturas e incidências de radiação solar. Estas condições exigem adaptação de organismos, que podem representar uma importante fonte de metabólitos de interesse de biotecnologia. Desta forma, este trabalho visou o estudo da dinâmica das comunidades fúngicas de solo em recuperação do semiárido Pernambucano coletados na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, semiárido no município de Serra Talhada – PE. Para tal, o solo foi coletado em dois períodos sazonais (uma coleta no chuvoso e duas em estiagem) e realizado o isolamento e a quantificação de fungos totais e os termofílicos, osmofílicos e halofílicos. Também foram realizados ensaios de atividade antimicrobiana e atividade enzimática para celulase, protease e amilase. Na coleta 1 (período chuvoso) foi obtida a maior quantificação com $2,3 \times 10^7$ UFC/grama de solo de fungos mesófilos; desta mesma coleta foi possível o isolamento dos fungos osmofílicos, halofílicos e termofílicos. Já nas coletas 2 e 3 (período de estiagem), a maior quantificação foi de $7,33 \times 10^6$ e $5,0 \times 10^6$ UFC/grama de solo dos fungos osmofílicos e mesófilos, respectivamente. Não houve isolamento de fungos halofílicos nas coletas 2 e 3. Dos 22 isolados selecionados e submetidos ao teste de atividade antimicrobiana, destacou-se o isolado 11 (*Fusarium* sp.) com halo de inibição de 8,33 mm de diâmetro frente a *Bacillus subtilis*. 18 dos 20 fungos testados mostraram atividade enzimática. Estes resultados permitem estabelecer uma correlação entre as características dos solos e das áreas onde os mesmos foram coletados, com as populações microbianas encontradas, além de valorizar a diversidade e o potencial biotecnológicos dos microrganismos isolados.

Palavras-chave: fungos; atividade enzimática; antimicrobiano, microbiota do solo.

ABSTRACT

Oil microbial communities suffer interference from biotic and abiotic factors, and in the case of semi-arid, these communities are subject to low water availability, high temperatures and high incidence of solar radiation. These conditions require high adaptation of these organisms, which may represent an important source of metabolites of interest to biotechnology. In this way, this work aimed at the study of the dynamics of the fungal community of soil in recovery of the semi - arid Pernambucano collected in the Conservation Unit State Park Mata da Pimenteira, in the municipality of Serra Talhada - PE. In order to do so, the soils were collected in two seasonal periods (one in the rainy season and two in the dry season) and the isolation and quantification of total fungi and thermophilic, osmotic and halophilic fungi were carried out. Antimicrobial and enzymatic activity tests of these fungi were also carried out. In collection 1 (rainy season) the highest quantification was obtained with 2.3×10^7 CFU / mL of mesophilic fungi; from the same collection it was possible to isolate all groups. In collections 2 and 3 (drought period), the highest quantification was 7.33×10^6 and 5.0×10^6 CFU / mL of osmotic and mesophilic fungi, respectively. There was no isolation of halophilic fungi in samples 2 and 3. Of the 22 isolates selected and submitted to the test of antimicrobial activity, the isolate 11 (*Fusarium* sp.) With a halo of 8.33 mm in diameter was distinguished from *Bacillus subtilis*. Eighteen of the twenty fungi tested showed enzymatic activity with degradation of at least one tested substrate. These results allow establishing a correlation between the characteristics of the soils and the areas where they were collected, with the microbial populations found, besides valuing the biotechnological diversity and potential of the isolated microorganisms.

Keywords: diversity; bioprospecting; enzymatic activity; antimicrobial, soil microbiota.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Local de coleta de solo em área em recuperação na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE no período chuvoso (A) e de estiagem (C); Coleta do solo no período chuvoso (B) e em período de estiagem (D).....	15
Figura 2. Quantificação de grupos fúngicos de solo em área em recuperação da UC Parque estadual Mata da Pimenteira nas três coletas. Os valores estão expressos em 10 ⁶ UFC por grama de solo.....	20
Figura 3. Porcentagem total de isolados fúngicos selecionados e purificados das três coletas por condição de isolamento.	22
Figura 4. (A) Macroscopia de <i>Cunninghamella</i> sp. (isolado 01) e (B) de <i>Aspergillus</i> sp. (isolado 02) em agar Sabouraud após 7 dias de crescimento a temperatura ambiente.....	25
Figura 5. (A) Macroscopia de <i>Fusarium</i> sp. (isolado 03) e (B) de <i>Aspergillus</i> sp. (isolado 05) em agar Sabouraud após 7 dias de crescimento a temperatura ambiente.....	26
Figura 6. (A) Macroscopia de <i>Aspergillus</i> sp. (isolado 14) e (B) <i>Curvularia</i> sp. (isolado 20) em agar Sabouraud após 7 dias de crescimento a temperatura ambiente.....	26
Figura 7. (A) Microscopia de <i>Aspergillus</i> sp. (isolado 05) e (B) células de Hulle de <i>Aspergillus</i> sp. (isolado 13).....	26
Figura 8. (A) Microscopia de <i>Aspergillus</i> sp. (isolado 02) e (B) <i>Aspergillus terreus</i> (isolado 15).....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividades microbianas nos solos.....	4
Tabela 2. Quantificação de grupos fúngicos isolados de solo de área em recuperação na UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE.	19
Tabela 3. Identificação dos isolados fúngicos de solo em recuperação da UC Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE.	23
Tabela 4. Halos de inibição (\emptyset) após análise da atividade antimicrobiana de fungos de solo de área de recuperação.....	29
Tabela 5. Halos de atividade enzimática de fungos de solo de área de recuperação da UC Parque Estadual Mata da Pimenteira.....	31

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	3
2.1 Solo e sua microbiota	3
2.1.1. Microrganismos como indicadores da qualidade de solos	6
2.1.2. Fungos: características gerais e importância.....	9
2.1.3. Diversidade de fungos em solos do semiárido.....	11
2.1.4. Bioprospecção de fungos filamentosos.....	12
3. METODOLOGIA	15
3.1. Local de coleta e amostragem	15
3.2. Isolamento e quantificação de fungos mesófilos, osmofílicos, termofílicos e halofílicos.....	16
3.3. Seleção, purificação e identificação dos isolados fúngicos.....	16
3.4. Bioprospecção	17
3.4.1 <i>Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana</i>	17
3.4.2 <i>Screening de produção de enzimas</i>	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 Isolamento e quantificação de fungos	19
4.2 Seleção e identificação dos isolados fúngicos	22
4.3 BIOPROSPECÇÃO	28
4.3.1 <i>Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana</i>	28
4.3.2 <i>Screening de Produção de Enzimas</i>	31
5. CONCLUSÕES	35
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	36

1. INTRODUÇÃO

O Nordeste do Brasil possui amplo território com cerca de 1.561.177,8 km², sendo que 841.260,9 km² representam a área de clima semiárido, que abrange cerca de 20 % dos municípios brasileiros e abriga por volta de 11 % da população do país. O semiárido ocorre nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, no sudoeste do Piauí, partes do interior da Bahia e do norte de Minas Gerais (LIMA et al., 2012; ANDRADE et al., 2005) e é caracterizado por possuir períodos de secas prolongadas, com precipitação anual que variam entre 150 mm a 1300 mm, temperaturas médias em torno de 28 °C, com máximas em torno de 40 °C, e recursos hídricos limitados (ARAUJO, 2011).

Uma vasta área do semiárido nordestino é ocupada pela caatinga, do tupi-guarani “floresta esbranquiçada”, que possui fauna e flora diversificada, cujas espécies endêmicas estão adaptadas aos períodos de estiagens típicos do semiárido (RAMALHO, 2013; MILES et al., 2006; MOURA et al., 2007). A caatinga nordestina é composta por diferentes formas fisionômicas como caatinga arbórea, arbustiva, espinhosa, etc, decorrente da grande extensão do semiárido, onde também já foram classificados diferentes condições ambientais e pelo menos 40 tipos de solo (PRADO, 2003).

Nos diferentes solos, as comunidades microbianas são compostas especialmente por fungos, bactérias e microfauna, e são responsáveis pela decomposição da matéria orgânica ali depositada, tendo papel fundamental na dinâmica de nutrientes e ciclagem bioquímica (VINHAL-FREITAS et al., 2010). No semiárido nordestino, o uso do solo para diferentes atividades econômicas, associado aos altos índices de desmatamento da caatinga, alteram suas propriedades químicas, físicas e biológicas. As inúmeras ações antrópicas provocam alterações nas suas características originais e conseqüentemente causando danos à fração biológica, gerando, por exemplo, redução do número de microrganismo ali presentes, com conseqüente perda inestimável da biodiversidade microbiana nestes locais (ATTANASIO et al. 2006; MARTINS et al., 2010).

Os microrganismos são importantes para a sustentabilidade dos ecossistemas, desempenhando atividades como a decomposição da matéria

orgânica, ciclagem de nutrientes, estabelecendo interações com plantas, tendo assim papel fundamental na manutenção do equilíbrio ambiental (MELLONI, 2007; ROSA et al., 2003). Os fungos têm um papel importante nos solos, uma vez que a maioria decompõe a lignina e a matéria orgânica de difícil digestão, além de predominarem em solos de pH ácido e de iniciarem a decomposição da matéria orgânica disponibilizando subprodutos mais facilmente utilizados por outros microrganismos como as bactérias (LAVELLE & SPAIN, 2005). Adicionalmente, associada à importância ecológica da microbiota do solo, os fungos representam importantes fontes de metabólitos que podem ser úteis para a produção de novos produtos biotecnológicos empregados nas áreas da saúde, agricultura, indústria e meio ambiente (OLIVEIRA et al., 2006).

Desta forma, estudos nesta área são desenvolvidos a partir da pesquisa de grupos microbianos que se relacionam com as propriedades físicas e químicas do solo, e conseqüentemente são vulneráveis a alterações neste sistema, além de serem relativamente fáceis de mensurar, como por exemplo a fração de fungos cultiváveis (ARIAS et al., 2005; MARTINS et al., 2010; LIMA et al., 2014). Apesar desta importância, ainda se conhece pouco sobre esses microrganismos em solos do semiárido brasileiro, principalmente devido à grande extensão do território, fazendo-se necessários estudos nesta área (SILVESTRE & FREITAS, 2007; CARDOSO & ANDREOTE, 2016). Em se tratando de solo de uma região com condições extremas, os fungos que habitam solos do semiárido representam importantes fontes de metabólitos que podem ser utilizados na produção de compostos como enzimas e antimicrobianos, e que são naturalmente mais adaptáveis a variações de temperatura e disponibilidade de água, fatores importantes nos processos biotecnológicos.

Neste contexto, este trabalho objetivou estudar a dinâmica e diversidade da população de fungos cultiváveis de solo coletados em área caracterizada como em recuperação, da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, no município de Serra Talhada – PE, e estabelecer a correlação com os períodos de coleta (estiagem e chuvoso). Adicionalmente, também foi objetivo deste estudo avaliar o potencial destes fungos para a produção de metabólitos com aplicações biotecnológicas, i.e. enzimas e compostos com atividade antimicrobiana.

2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

2.1 Solo e sua microbiota

Os solos compõem a porção emersa da superfície terrestre, sendo produto do intemperismo, ou seja, do conjunto de processos mecânicos, químicos e biológicos que ocasionam a desintegração e a decomposição de rochas; o seu processo de formação e transformação sofre influência do relevo, clima, bioma e do próprio tempo (JENNYS, 1994). Um dos principais recursos naturais do planeta Terra, o solo é indispensável para o desenvolvimento de espécies animais e vegetais, uma vez que está diretamente relacionado à produção de alimento, além de ser habitat de vários organismos, formando um ecossistema complexo e dinâmico (CARDOSO e ANDREOTE, 2016).

Os microrganismos fazem parte do solo de modo inseparável, desempenhando um papel fundamental no seu desenvolvimento e nas suas funções (ANDREOLA & FERNANDES, 2007). As populações microscópicas que habitam os solos não são perceptíveis ao olho humano, por isso são pouco citadas, sendo muitas vezes nem mencionadas pela literatura (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Porém, a abundância em número e diversidade dos microrganismos nos solos são imensas, em apenas 1 cm³ de solo podem ser encontrados inúmeros microrganismos, desde de bactérias, fungos, vírus, algas, protozoários, como também outros organismos que compõem a microfauna, mesmo naqueles em regiões desérticas.

A população de microrganismos presente nos solos é um importante componente e suas atividades refletem nas características e na qualidade dos solos. Dentre as inúmeras funções microbianas nos solos (Tabela 1), destacam-se a decomposição de matéria orgânica, a produção de húmus, a ciclagem de nutrientes e energia, a produção de compostos envolvidos na agregação do solo, decomposição de xenobióticos, controle biológico, etc. (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Adicionalmente, as atividades microbianas aumentam consideravelmente no solo rizosférico no qual os microrganismos estabelecem relações simbióticas com os vegetais, as quais são extremamente importantes para a obtenção de nutrientes e melhoria na sua adaptabilidade,

como, por exemplo, os rizóbios, as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, os fungos ectomicorrízicos e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), bem como os microrganismos endofíticos de raízes (ALEXOPOULOS et al., 1996). Os FMAs, por exemplo, estão envolvidos na produção de uma glicoproteína chamada de glomalina, responsáveis pela formação de macromoléculas que atuam na agregação de partículas do solo e consequentemente evitam sua erosão (VASCONCELLOS et al., 2013).

Tabela 1. Atividades microbianas nos solos

Função	Exemplo de grupos e espécies	Referências
Decomposição da matéria orgânica	<i>Aspergillus, Penicillium, Mucor, Cladosporium, Fusarium, Peecilomyces</i>	Alexopoulos et al. (1996).
Decomposição de xenobióticos	<i>Penicillium, Aspergillus, Rhizopus, Mucor, Saccaromyces e Trichoderma; Acidovorans, Flavobacterium, Gordonia, Pseudomonas</i>	Kurek et al. (1982); Jacques et al. (2007).
Solubilização de fosfato	<i>Bacillus, Burkholderia, Pseudomonas e Ochrobactrum</i>	Moreira e Siqueira (2006).
Agregação do solo	<i>Stenotrophomonas e Sphingobacterium; FMAs</i>	Caesar-Tonthat et al. (2006); Caravaca et al. (2006).
Relações simbióticas com plantas		
FMAs	<i>Acaulospora sp., Glomus sp. e Ambispora sp.</i>	Ferreira (2010).
Rizóbios	<i>Rhizobium spp.</i>	Stocco et al. (2008).
RPCP	<i>Azospirillum, Azotobacter, Rhizobium, Bacillus e Pseudomonas</i>	Miransari (2014).
Endofíticos de raízes	<i>Mycocentrospora sp. (Dark-septate endophytic fungus); Xanthomonas campestris</i>	Wu et al., 2010; Araújo et al., 2002.

RPCP = Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas

FMAs = fungos micorrízicos arbusculares

A população microbiana nos solos é diversa e a sua biomassa em solos em clima temperado pode chegar a cinco toneladas por hectare (KILLHAM,

1994). A quantidade de células microbianas varia entre diferentes tipos de solo, bem como sofre influência de fatores abióticos e bióticos, sendo as bactérias as mais numerosas, variando de 4×10^6 a 2×10^9 por grama solo seco (WHITMAN et al., 1998). Apesar de em menor número, os fungos compõem uma boa parte da biomassa microbiana nos solos; por exemplo, a biomassa ectomicorrízica foi estimada em 700 a 900 kg por hectare em uma floresta de coníferas (WALLANDER et al. 2001).

Além de representar boa parte da biomassa, os microrganismos que habitam os solos também compõem uma parte considerável da diversidade microbiana do planeta (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Estudos sobre a diversidade microbiana em solos trazem, por exemplo, dados importantes para a elaboração e implementação de estratégias para a sua preservação, bem como para o desenvolvimento de ferramentas que indicam alterações e distúrbios ambientais, como a presença de compostos tóxicos e a utilização não sustentável destes solos (ØVREÅS, 2000). Porém, por conta das técnicas clássicas dependentes de cultivo, esta diversidade é comumente subestimada, uma vez que a maioria dos microrganismos nos solos não crescem em meios de cultura tradicionalmente utilizados.

Torsvik et al. (1998) detectaram cerca de 6.000 genomas bacterianos diferentes por grama de solo (tomando como base o genoma de *Escherichia coli* como uma unidade); em solos preservados, pode haver até 10.000 genomas, enquanto que em solos contaminados com metais pesados podem conter até 1.500 genomas bacterianos. Em contraste, a complexidade do genoma da comunidade de procaríotos, recuperada por meio de cultivo *in vitro*, é menor do que o equivalente a 40 genomas de *E. coli* (TORSVIK & ØVREÅS, 2002). Os fungos também compõem uma fração bastante diversa. Estima-se que existam cerca de 1,5 milhões de espécies de fungos no planeta, porém apenas 74 mil espécies de fungos são de fato conhecidas (HAWKSWORTH, 2001). Este número ainda é menor quando os fungos são estudados a partir de isolamento tradicional em meios de cultura (VIAUD et al., 2000), assim como acontece com as bactérias.

Os estudos sobre a microbiota do solo podem trazer respostas importantes para o entendimento deste complexo ecossistema, bem como contribuir para a aplicação biotecnológica, uma vez que se aumenta o

conhecimento sobre a diversidade genética e bioquímica das comunidades presentes nos solos; pode-se também entender os padrões de distribuição dos microrganismos e de suas funções, e identificar a influência de práticas de manejo dos solos na sua qualidade (ØVREÅS, 2000; SOUZA et al., 2008).

Desta forma, a atividade e diversidade da microbiota do solo pode ser examinada de diferentes maneiras, como, por exemplo, pela determinação da sua biomassa, do emprego de certas enzimas presentes produzidas pelos microrganismos, através das medidas da respiração basal, estudos de metagenômica, dentre outros (TÓTOLA & CHAER, 2002).

Toda metodologia, por mais moderna que seja, possui suas limitações. Assim, a escolha da metodologia empregada também vai variar conforme o objetivo a ser alcançado. O isolamento de microrganismos em meios de cultura e sob condições controladas trata-se de um método rápido e econômico e que fornece informações sobre os grupos de microrganismos viáveis e cultiváveis em uma amostra de solo. Apesar destes métodos apresentarem a desvantagem de selecionar apenas populações microbianas com taxa de reprodução e metabolismo mais elevados e em condições aeróbias, sua utilização é justificada, por exemplo, para a obtenção de cepas microbianas que possam ser utilizadas em ensaios de bioprospecção (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

2.1. Microrganismos como indicadores da qualidade de solos

O crescimento populacional acarreta maior consumo e conseqüentemente maior demanda de alimentos, fazendo com que haja um aumento do desmatamento e do uso de pesticidas e fertilizantes, o que pode causar prejuízos à qualidade do solo e à sua microbiota. Isso leva a perda de inúmeras características, como o desaparecimento de nutrientes e decréscimo dos organismos, que são fundamentais para o equilíbrio do ecossistema (ARAÚJO & MONTEIRO, 2007; ARAÚJO, 2007). Para solos do semiárido brasileiro em especial, a retirada da vegetação nativa em conjunto com os longos períodos de estiagem, geram solos desprotegidos e mais expostos às ações de fatores climáticos e conseqüentemente diminuindo seu potencial produtivo (TREVISAN et al., 2002).

A qualidade do solo é determinada através da sua funcionalidade dentro do ecossistema; esta funcionalidade inclui a manutenção de benefícios biológicos que, em conjunto com outros fatores bióticos e abióticos, geram saúde nas plantas e animais, estocam e reaproveitam a água, nutrientes e energia, bem como preservam e alteram materiais orgânicos e inorgânicos, agindo como purificador ambiental (ARAÚJO, 2007; JAHNEL et al., 1999). Os integrantes que compõe a porção biológica do solo são compostos essencialmente de microrganismos que desempenham diferentes funções, sendo que estes microrganismos apresentam uma interferência direta em relação às mudanças na qualidade do solo, peculiaridade essa que não é percebida através da utilização de indicadores químicos ou físicos (ARAUJO, 2007).

Os bioindicadores, ou indicadores biológicos, podem sofrer mudanças com o decorrer do tempo por meio de eventos naturais ou por sofrerem com ações antrópicas (LIMA et al. 2007). Os diferentes métodos empregados e finalidades para o uso do solo influenciam diretamente na harmonia entre o solo e os organismos que neles vivem (PEREIRA et al., 2007). Deste modo, as possíveis modificações podem afetar diretamente sua atividade biológica e as suas propriedades, e assim também a sua capacidade produtiva (BROOKES, 1995). Diante disso, a variação desses atributos, determinada pelo manejo e uso do solo, e sua avaliação, são importantes para o melhor manejo visando à sustentabilidade destes ecossistemas.

Segundo ISLAM & WEIL (2000), análises das características microbianas podem trazer respostas quanto à degradação ou à qualidade do solo, sendo que os estudos de carbono da biomassa microbiana e sua conexão com estudos sobre a respiração basal por unidade de biomassa microbiana são considerados bons bioindicadores (BRANDÃO et al., 2008). Por exemplo, em um estudo sobre atributos químicos e biológicos de solos do semiárido nordestino, foram realizadas as análises de carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) e respiração basal do solo e os resultados apontaram que estes atributos são mais sensíveis com o avanço da degradação e que podem ser então utilizados como indicadores do nível de degradação de solos (MARTINS et al., 2010). Porém, este tipo de análise é pouco informativa sobre

a dinâmica e função dos microrganismos nos diferentes processos que ocorrem nos solos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Outros autores defendem o uso de metodologias indiretas para avaliar o uso de microrganismos como indicadores de qualidade dos solos, principalmente por que estes métodos não necessitam recorrer a longos e dispendiosos experimentos de campo (JAHNEL et al., 1999; WARDLE et al., 1994).

Para estes tipos de metodologias, os propágulos microbianos no solo estudado precisam ser capazes de formar colônias em um ambiente não natural, que pode ser, por exemplo, meios de culturas empregados para o isolamento de microrganismos em laboratórios. As bactérias e fungos são então isolados e quantificados, e sua quantificação representa o número de esporos ou fragmentos fúngicos, ou o número de células bacterianas, presentes na amostra. Este processo de quantificação indireta proporciona o crescimento de microrganismos que apresentam metabolismo rápido quando oferecida matéria orgânica facilmente utilizável. Estes microrganismos são chamados de zimógenos e, apesar de poderem induzir a uma subestimação da totalidade da população microbiana por conta do seu rápido crescimento em meios de cultura, são os primeiros organismos afetados por pequenas alterações físico-químicas dos solos, refletindo assim a qualidade dos mesmos (PEREIRA et al., 1996; NANNIPIERE et al., 2007; SILVA et al., 2013).

O isolamento e quantificação de fungos e bactérias de solos coletados em diferentes regiões brasileiras são atualmente utilizados não só como indicadores de qualidade, mas também para estudos da diversidade microbiana, das relações ecológicas, das interações entre os diferentes grupos fisiológicos e estudos sobre metabólitos de interesse biotecnológico (GOY & SOUZA, 2006; PREVIATI et al., 2012; LIMA et al., 2014).

É importante ressaltar que nenhuma metodologia apresenta somente vantagens, uma vez que a natureza está em constante mudanças, além dos solos representarem complexos ecossistemas (JÚNIOR et al., 2003). O procedimento para remediação e conseqüente recuperação de solos é lento, e está relacionado à capacidade de seu restabelecimento, onde se recompõem as características químicas, físicas e biológicas a um nível mínimo, que permita o desenvolvimento de espécies vegetais e da atividade microbiana, tão

importante para o estabelecimento e sucessão da macrobiota (MENDES FILHO, 2010).

2.2. Fungos: características gerais e importância

O Reino Fungi é composto por organismos que apresentam características como células eucarióticas, uni ou multicelulares, heterotróficos, aclorofilados, nutrem-se por absorção, são aeróbios ou anaeróbios facultativos, acumulam glicogênio como reserva de energia e possuem quitina como componente da sua parede celular.

Recentemente, baseado em análises filogenéticas moleculares, este Reino foi dividido em sete Filos: *Microsporidia*, *Chytridiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Blastocladiomycota*, *Zoopagomycotina*, *Kickxellomycotina*, *Entomophthoromycotina*, *Mucoromycotina*, *Glomeromycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota*. Os grupos *Ascomycota* e *Basidiomycota* compartilham um ancestral comum e exclusivo, determinando uma maior proximidade filogeneticamente em relação aos outros grupos, além de comporem o sub-reino Dikarya (HIBBETT et al., 2007).

Hawksworth (2001) estimou a diversidade fúngica em 1,5 milhões de espécies, dos quais, na época, somente cerca de 70.000 foram descritos até então. Este mesmo autor em 2017 realizou um novo estudo, concluindo que a estimativa comumente citada de 1,5 milhões de espécies é conservadora, e a real estimativa é de 2,2 a 3,8 milhões. Neste mesmo trabalho, já são citadas 120.000 espécies atualmente aceitas, ou seja, apenas de 3% a 8% de espécies reconhecidas (HAWKSWORTH, 2017). No Brasil são reconhecidas aproximadamente seis mil espécies de fungos, assim distribuídos em 1.246 gêneros, 102 ordens e 13 divisões (MAIA et al., 2015).

Os fungos possuem estruturas vegetativas (ou somáticas) que têm função de fixação e nutrição, bem como estruturas reprodutivas, estas podendo ser assexuadas ou sexuadas. Quando unicelulares, são chamados de leveduras e quando multicelulares são denominados de filamentosos. Os fungos também podem apresentar dimorfismo, ou seja, mudam de leveduriforme para filamentosos e vice-versa, dependendo de fatores como temperatura, pH e nutriente. As células dos fungos filamentosos formam as

hifas, e o conjunto de hifas origina o micélio, o qual pode ser visto a olho nu; as hifas podem ser cenocíticas ou septadas. As leveduras podem formar pseudomicélio quando durante o processo de reprodução assexuada por brotamento, as células filhas não se desprendem da célula mãe, dando a falsa impressão da formação de um micélio (TORTORA et al., 2012).

Os fungos se reproduzem por meio da formação de esporos assexuados e/ou sexuados, estes últimos são utilizados para a classificação destes organismos, entretanto quando a forma de reprodução sexuada não é encontrada, a identificação é baseada nos órgãos de reprodução assexuada. Conídios, clamidósporos, blastosporos, artroconídios, zoóporos e esporangiosporos são exemplos de esporos assexuado. Já basidiósporos, ascosporos, oósporos e zigosporos são os esporos de origem sexuada (TORTORA et al., 2012; OLIVEIRA, 2014).

Os fungos podem estabelecer diferentes interações com outros seres vivos e com o meio ambiente, podendo ser sapróbios, parasitas, predadores e mutualistas. Estes organismos são encontrados no ar, nos alimentos, na água, no solo e em inúmeros substratos, e muitos beneficiam o homem, ao passo que somente alguns causam algum tipo de patogenia (LEITE et al., 2006; FERREIRA, 2010). Contudo, é muito comum serem apenas lembrados pelos prejuízos que algumas espécies acarretam, seja parasitando plantas ou provocando alguma adversidade à saúde como alergias e micoses. Infelizmente os prejulgamentos cometidos para os fungos são mais propagados que os próprios benefícios que os mesmos promovem, pois, todos os dias cidadãos são beneficiados com as criações de produtos gerados a partir dos fungos, seja de forma direta ou indireta. Exemplos são a ação fermentativa dos fungos para a produção de álcool etílico, de bebidas como a cerveja e na produção de alimentos como pães e massas (TORTORA et al., 2017).

Os fungos são microrganismos de grande importância biotecnológica, são utilizados na produção de alimentos como os produtos fermentados e bebidas alcoólicas, são ecologicamente importantes como decompositores de matéria orgânica e são de suma importância agrícola e ecológica na manutenção do equilíbrio do ambiente, desempenham um papel fundamental para a produção de enzimas de interesse comercial embora a maioria seja derivadas de várias fontes, como plantas e animais, enzimas de origem

microbiana satisfazem em grande parte a exigência industrial (ABREU, 2015). Possuem importância nas áreas médica, são empregados nas indústrias farmacêuticas, como produtores de metabólitos, onde se destaca o antibiótico penicilina produzida a partir de metabólitos dos fungos *Penicillium chrysogenum* e *Penicillium notatum* (SILVA & MALTA, 2016).

2.3. Diversidade de fungos em solos do semiárido

O semiárido é marcado por uma série de características próprias da região, como menos de 800 mm de índice pluviométrico anual, com períodos de chuvas de apenas três ou quatro meses ao ano, além disso, a temperatura pode variar 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).

A região semiárida dispõe de uma vasta diversidade de microrganismos, principalmente de fungos filamentosos, as estruturas como micélio e os esporos podem ser encontrados principalmente na camada superior do solo, as leveduras, forma unicelular dos fungos, também estão presentes no solo, principalmente em cultivos de frutas (FERREIRA, 2011).

O Nordeste brasileiro, quando comparado às outras regiões, se destaca pela grande 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).

O levantamento realizado por Oliveira (2013), relata a escassez de trabalhos direcionados a diversidade dos fungos na região semiárida, onde foi relatado a diversidade de fungos conidiais, principalmente das espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*.

Algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de estudar a diversidade de fungos de solo do semiárido brasileiro, destacando-se um recente trabalho que descreveu uma nova espécie denominada *Aspergillus serratalhadensis* (OLIVEIRA et al., 2018). Este fungo foi isolado de solo coletado na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, no município de Serra Talhada, Pernambuco.

Outro importante trabalho desenvolvido também no Parque Estadual Mata da Pimenteira que objetivou o isolamento e estudo da diversidade de Mucorales de solo, com a obtenção de seis táxons desta Ordem, destacando-se *Cunninghamella blakesleena* citado pela primeira vez no Bioma Caatinga e *Rhizopus arrhizus* var. *delemar* com primeira referência para o Brasil (SOUZA et al., 2013).

Syncephalis aggregata (Zygomycota) (SANTIAGO et al., 2011), *Lichtheimia brasiliensis* (Zygomycota) (SANTIAGO et al., 2014), *Craterellus niger* (Basidiomycota) (SÁ et al., 2014), *Coniarthonia aurata* (Ascomycota liquenizado) (MENEZES et al., 2013) e *Pseudoacrodictys magnicornuata* (conidial Ascomycota) (FIUZA et al., 2014), dentre outros (MAIA et al., 2015), são exemplos de outras novas espécies de fungos isolados do semiárido brasileiro e que foram descritas nas últimas décadas, enfatizando a importância de estudos nesta área.

2.4. Bioprospecção de fungos filamentosos

Diante a diversidade de microrganismos, os benefícios econômicos associados aos mesmos estão certamente também associados à descoberta de microrganismos potencialmente exploráveis nos processos biotecnológicos para produção, por exemplo, de novos antibióticos, probióticos, produtos químicos, enzimas e polímeros para aplicações industriais e tecnológicas, biorremediação de poluentes e a capacidade microbiana para a fertilização dos solos e despoluição das águas (OLIVEIRA, SETTE e FANTINATTI-GARBOGGINI, 2006).

Neste cenário bioprospecção pode ser definida como processos que pesquisam recursos naturais, por exemplo, microrganismos, que após testes de *screening* são selecionados os mais aptos para a produção comercial ou

industrial dos compostos de interesse. Assim, os novos estudos sobre microrganismos e sua biodiversidade bioquímica utilizam materiais biológicos encontrados no meio ambiente (SPROCATI et al., 2014). Os métodos empregados na bioprospecção fazem-se necessários, tanto para conhecimento da biodiversidade quanto para aplicações biotecnológicas, as quais vêm se tornando primordial na resolução de problemas nas áreas de alimento, saúde, meio ambiente e indústria (OLIVEIRA, SETTE e FANTINATTI-GARBOGGINI, 2006).

No Brasil a pesquisa envolvendo a bioprospecção se fortaleceu nos últimos dez anos, com o crescimento dos grupos de pesquisas direcionados a bioprospecção, deste modo auxiliando a novas descobertas, principalmente tal como ocorre com a utilização de enzimas e antimicrobianos obtidos através do meio ambiente visando a melhoria de vida (NASCIMENTO et al., 2012).

Os microrganismos, em especial os fungos e bactérias, possuem a capacidade de produzir compostos como enzimas, as quais são responsáveis pela catalisação de reações químicas, ou seja, são elementares para o sistema metabólico de todos organismos vivos, podendo atuar nas reações que compõem as vias catabólicas e anabólicas do metabolismo celular (ORLANDELLI et al., 2012). As enzimas também podem ser obtidas a partir de fontes vegetais e animais, porém as fontes microbianas apresentam vantagens como maior produção de biomassa em menor espaço e tempo. Os fungos em particular, produzem enzimas extracelulares, uma vez que sua nutrição é por absorção, o que também representa uma vantagem. Estas enzimas são de grande interesse para as indústrias, sendo produzidas em grande escala, por exemplo, proteases, celulasas e amilases, entre várias outras (FERNANDES, 2009; PEREIRA, 2012; ORLANDELLI et al., 2012).

Os fungos além de produzirem enzimas, também são uns dos responsáveis pela produção de metabolitos com atividade antimicrobiana, o qual são capazes de inibir ou mesmo interromper o progresso de desenvolvimento de outros microrganismos como bactérias, fungos, vírus ou protozoários causadores de doenças em humanos e animais. Estes compostos antimicrobianos são metabolitos secundários que são produzidos pelos fungos por meio de impulsos em suas células por intermédio de reações bioquímicas, sendo que a compreensão sobre o mecanismo espectro de ação é

indispensável para o uso apropriado destes microrganismos (NASCIMENTO et al., 2014).

Principalmente, devido ao constante surgimento de bactérias resistentes aos antimicrobianos, tem-se intensificado a busca por novos fármacos, sendo os fungos uma importante fonte destes metabólitos bioativos. O estudo realizado com microrganismos a cada dia se intensifica para o alcance de novos metabólitos com atividades antimicrobianas, recorrência de intensas infecções causadas por microrganismos multirresistentes, com isso o emprego dos fungos vêm recebendo bastante destaque (OLIVEIRA, 2013).

3. METODOLOGIA

3.1. Local de coleta e amostragem

As coletas de solo foram feitas na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE, em uma área caracterizada como em recuperação (coordenadas N 9122756,65; E 577030,81). Foram realizadas três coletas em dois períodos, a primeira em 24/04/2017 no período chuvoso (Figura 1A e 1B), a segunda em 27/10/2017 e a terceira em 07/12/2017, ambas em período de estiagem (Figura 1C e 1D).

Para as três coletas, foi demarcada uma área de 2 m x 2 m, na qual foi coletado solo de três pontos equidistantes, compondo assim uma amostra composta por local de coleta. O solo foi coletado numa profundidade de 20 cm da camada superior com auxílio de uma pá (Figura 1B e 1D), acondicionado em sacos plásticos previamente esterilizados e etiquetados, conservados em caixas isotérmicas e encaminhados para o Laboratório de Microbiologia da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada-PE, onde foram realizadas as análises microbiológicas.



Figura 1. Local de coleta de solo em área em recuperação na Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE no período chuvoso (A) e de estiagem (C); Coleta do solo no período chuvoso (B) e em período de estiagem (D).

3.2. Isolamento e quantificação de fungos mesófilos, osmofílicos, termofílicos e halofílicos.

Para o isolamento e quantificação de fungos mesófilos, osmofílicos, termofílicos e halofílicos foi realizada a técnica de diluição seriada a qual consiste em adicionar 25 g do solo em um frasco Erlenmeyer contendo 225 ml de água destilada esterilizada (diluição 10^{-1}) e homogeneização por 1 min por agitação. Desta primeira diluição, foi transferido 1 ml para tubo de ensaio contendo 9 ml de água destilada esterilizada, e assim sucessivamente até a diluição 10^{-6} . Das últimas três diluições, foi semeado 0,1 ml em placas de Petri pelo método de espalhamento em superfície, em triplicatas, contendo os meios de cultura para:

- Fungos mesofílicos: Agar Sabouraud (SAB) acrescido de cloranfenicol (100 mg/L) incubados a 28 °C por até 7 dias;
- Fungos halofílicos: meio de cultura Agar Sabouraud acrescido de cloranfenicol e de 10 % de NaCl e incubados a 28 °C por até 7 dias;
- Fungos osmofílicos: meio de cultura Agar Sabouraud acrescido de cloranfenicol e de 18 % de glicerol e incubados a 28 °C por até 7 dias;
- Fungos termofílicos: meio de cultura Agar Sabouraud acrescido de cloranfenicol e incubados a 45 °C por até 7 dias.

A quantificação foi feita nas placas de Petri que apresentarem entre 20 e 200 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), sendo os resultados expressos em UFC/mL.

3.3. Seleção, purificação e identificação dos isolados fúngicos

Dentre os fungos isolados sob condições específicas (item 3.3), foram selecionadas até 10 colônias de fungos de acordo com as características macromorfológicas distintas. Estes isolados foram purificados e mantidos em meio de cultura Agar Sabouraud em tubos de ensaio e sob refrigeração, até a realização da identificação taxonômica e dos ensaios de bioprospecção.

A identificação foi realizada por meio de taxonomia clássica observando-se características macroscópicas das colônias (cor, aspecto,

consistência e presença de pigmento) e características microscópicas (morfologia de estruturas vegetativas e reprodutivas).

3.4. Bioprospecção

3.4.1 Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana

Baseado na metodologia de Ichikawa et al., (1971), os fungos foram submetidos ao teste de atividade antimicrobiana em meio sólido. Inicialmente os isolados fúngicos foram cultivados em placas de Petri com meio de cultura SAB a temperatura ambiente. Após esse período, foram cortados discos das colônias (15 mm de diâmetro) e transferidos para a superfície do meio de cultura Agar Müller Hinton (contendo g/L: Peptona 3,0; Peptona de caseína 17,5; Agar 15; Ca²⁺ 20-25; Mg²⁺ 10-12,5; pH 7,4) em placas de Petri previamente semeadas com as bactérias teste. Após 24 horas a atividade antibacteriana foi avaliada pela formação de halos de inibição, os quais foram medidos e expressos em mm. Os testes foram realizados em triplicata e as medidas dos halos expressas pelas médias das triplicatas.

As bactérias teste que foram utilizadas para os testes antimicrobianos foram duas bactérias Gram-positivas - *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* obtidas da Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos da UFPE e três bactérias Gram-negativas - *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, obtidas da Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos da UFPE, e *Salmonella* sp. isolada de *Musca domestica*.

3.4.2 Screening de produção de enzimas

Esta etapa visou a avaliação do potencial da produção de enzimas pelos microrganismos selecionados por meio de métodos qualitativos. Para tal, os microrganismos foram previamente cultivados em meio de cultura Agar Sabouraud por 7 dias e, após crescimento das colônias, estas foram repicadas para o centro das placas de Petri contendo os meios de cultura específicos para a produção de cada enzima, como descrito a seguir.

- Determinação da produção de amilase (Dingle, Tied e Solomons, 1953).

Composição do meio de cultura: agar (1,5%), amido (1%), tampão citrato-fosfato 0.1M, pH 5,0 (0,5 L).

Como revelador de reação, foi utilizada uma solução de iodo 0,1 M a qual foi aplicada sobre a superfície do meio de cultura por 10 minutos. As reações de atividade enzimáticas positivas foram identificadas pela formação de um halo translúcido ao redor das colônias.

- Determinação da produção de celulasas (Dingle, Tied e Solomons, 1953).

Composição do meio de cultura: agar (1,5%), carboximetilcelulose (1g) e tampão acetato de sódio 0,1M, pH 5,0 (0,5 L).

Para verificação da produção de celulase, foi utilizado o lugol como solução reveladora, sendo positiva a reação enzimática com formação de um halo claro após a adição do lugol na superfície do meio de cultura.

- Determinação de proteases (Dingle, Tied e Solomons, 1953)

Composição do meio de cultura: agar (1,5%), gelatina incolor (1%), leite desnatado (1%) e tampão citrato-fostfato 0.1M, pH 5,0.

A reação enzimática foi detectada pela modificação química do meio de cultura, sendo esta reação positiva quando visualizado a formação de halo translúcido ou esbranquiçado, sem a necessidade de adição de nenhum revelador.

A determinação enzimática foi expressa em índice enzimático (IE), o qual é calculado por meio da relação do diâmetro médio do halo de degradação do substrato e o diâmetro médio da colônia, medidos utilizando-se um paquímetro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Isolamento e quantificação de fungos

Na coleta 1, realizada durante período chuvoso, destacaram-se os fungos mesófilos com uma quantificação de $2,3 \times 10^7$ UFC/g de solo. Em seguida os termofílicos totalizaram $1,3 \times 10^7$ UFC/g de solo, seguidos pelos halofílicos com $9,6 \times 10^6$ UFC/g de solo e os osmofílicos com quantificação de $6,6 \times 10^5$ UFC/g de solo.

Na coleta 2, que aconteceu no período de estiagem, ocorreu um decréscimo da quantificação em relação a coleta 1, com quantificação de fungos osmofílico de $5,0 \times 10^6$ UFC/g de solo, mesofílicos de $4,0 \times 10^6$ UFC/g de solo, e termofílicos $1,0 \times 10^4$ UFC/g de solo, não ocorrendo presença de fungos halofílicos.

Na coleta 3, também realizada em período de estiagem, também não se observou crescimento de fungos halofílicos, porém se verificou a presença dos demais grupos fúngicos estudados, com quantificações de $7,33 \times 10^6$ UFC /g de solo para mesofílicos, $5,33 \times 10^5$ UFC/g de solo para os osmofílicos e $0,33 \times 10^5$ UFC /g de solo para os termofílicos.

As quantificações de UFC de fungos obtidas nas três coletas estão expressas na Tabela 2.

Tabela 2. Quantificação de grupos fúngicos isolados de solo de área em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada -

Fungos	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3
Mesofílico	$2,3 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$	$7,33 \times 10^6$
Termofílico	$1,3 \times 10^7$	$1,0 \times 10^4$	$0,33 \times 10^5$
Osmofílico	$6,6 \times 10^5$	$5,0 \times 10^6$	$5,33 \times 10^5$
Halofílico	$9,6 \times 10^6$	SC	SC

SC = sem crescimento; Os resultados estão expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama de solo PE.

De acordo com os resultados obtidas entre as três coletas, foi possível observar que os fungos mesófilos predominaram, apesar dos fungos mesófilos

e osmofílicos apresentarem quantidades próximas na coleta 2 (Figura 2); este resultado era o esperado, uma vez que a maioria dos fungos se desenvolvem bem em temperaturas entre 15 e 25 °C, porém, quando comparados os valores obtidos da coleta 1 realizada em período chuvoso, com aqueles das coletas 2 e 3 (período de estiagem), é possível verificar que a quantidade de fungos mesófilos é influenciada pela disponibilidade de água. Esse fator também pode ter influenciado na diversidade de grupos fisiológicos da coleta 1, uma vez que nesta houve a presença de todos os grupos pesquisados.

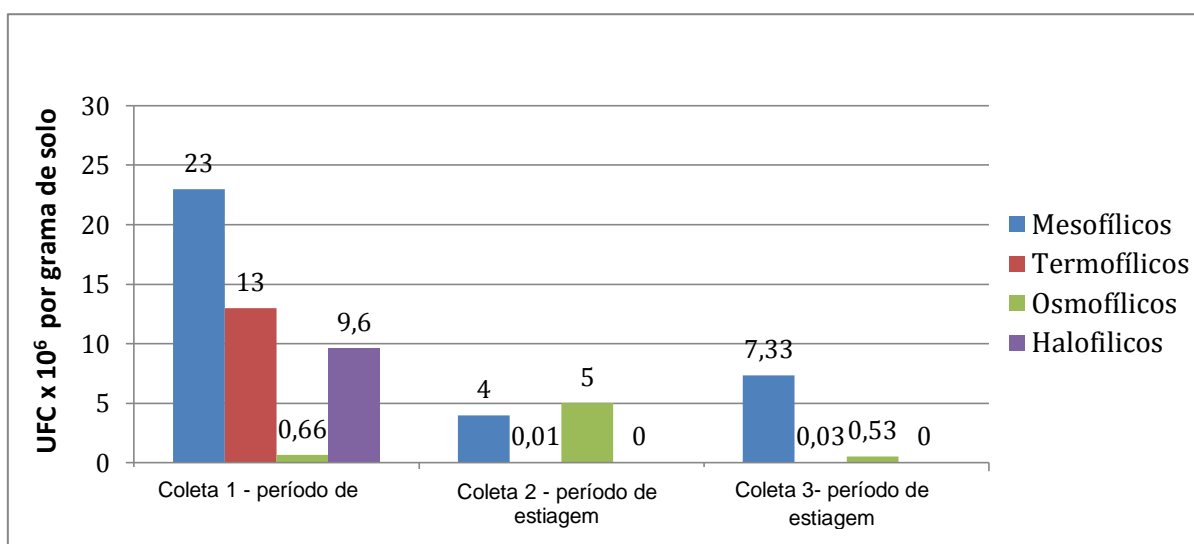


Figura 2. Quantificação de grupos fúngicos de solo em área em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada- PE, nas três coletas. Os valores estão expressos em 10^6 UFC por grama de solo.

Os resultados obtidos na primeira coleta mostram a presença de fungos em todas as condições submetidas, e quando observados os valores para cada grupo é possível evidenciar que os mesofílicos e termofílicos compõem quase sua totalidade, indicando que a comunidade fúngica na primeira coleta é composta por fungos tolerantes a temperaturas mais elevadas, característica de regiões do semiárido pernambucano e também de solos que, por estarem em área antropizada, ficam mais expostos à incidência solar devido a intensa atividade agrícola do local. Nas coletas 2 e 3 houve crescimento em quase todas as condições submetidas, observou-se uma variedade de mesofílicos, termofílicos e osmofílicos, não apresentando crescimento de fungos halofílicos. Após as análises, foi possível observar que todos os grupos de fungos pesquisados estavam presentes em solos das três coletas, exceto para os

fungos halofílicos nas coletas 2 e 3. Em se tratando de uma área em recuperação, estes dados preliminares são úteis para o monitoramento da densidade fúngica neste solo ao longo do tempo e podem, em associação com futuras análises, serem utilizados como bioindicadores de área em recuperação.

Segundo Silva (2013) a biodiversidade de fungos variou devido ao período em que o solo foi coletado (chuvoso e de estiagem). Menezes et al. (2012) em solos de região semiárida do Brasil, apontaram que a diversidade dos microrganismos também variou de acordo com a época de coleta.

No presente trabalho, se tratando de uma área que sofreu ações antrópicas, conseqüentemente perdeu partes de suas características originais, contudo o número de fungos encontrado mostra a presença de fungos em quantidades satisfatórias, possuindo assim um papel primordial para a recuperação total ou desempenha um bom funcionamento deste ecossistema (ALVES & SOUZA, 2011).

O semiárido possui fatores que o caracterizam como um ambiente hostil para sobrevivência de algumas espécies de fungos, como temperaturas mais elevadas, levando maior índice de radiação solar e baixa disponibilidade de água, causando estresse para o desenvolvimento de microrganismos. Estas condições extremas tornam esses microrganismos são recursos para aplicações biotecnológicas (SOARES, 2012).

Para a obtenção de diferentes grupos fisiológicos de fungos, foi adicionado ao meio de cultura substâncias que proporcionassem as condições de isolamento semelhantes às condições do semiárido, como baixa disponibilidade de água, alta salinidade e temperatura elevada. Por exemplo, para o isolamento de fungos osmofílicos foi adicionado glicerol ao meio de cultura; este grupo foi encontrado em todas as coletas, sobressaindo na coleta 2, ou seja, em período de estiagem. Este resultado enfatiza a capacidade natural que os fungos possuem em se desenvolver em condições diversas, e, em se tratando do semiárido, mostram que os mesmos estão adaptados a tais condições. Esta mesma constatação foi feita por Leitão (2018) que ao analisar solo em área degradada do semiárido pernambucano, obteve uma maior quantificação de fungos osmofílicos nas coletas no período de estiagem. Os estudos que pesquisam fungos filamentosos em solos, principalmente do

semiárido brasileiro, são escassos dificultando a comparação dos resultados (GORACH-LIRA e COUTINHO, 2007).

4.2 Seleção e identificação dos isolados fúngicos

Após a quantificação, foram selecionados e purificados 22 isolados fúngicos, sendo treze (13) da coleta 1 realizado no período chuvoso, cinco (5) da coleta 2 e quatro (4) da coleta 3, ambas realizadas no período de estiagem (Figura 3).

Dos 22 isolados purificados, nove (41%) foram de fungos osmofílicos (seis da coleta 1, um da coleta 2 e dois da coleta 3), três (13%) foram de fungos termofílicos (um da coleta 1 e dois da coleta 2), cinco (23%) foram de fungos mesofílicos (um da coleta 1, dois da coleta 2 e dois da coleta 3), e por fim, cinco (23%) fungos halofílicos (todos pertencendo a coleta 1).

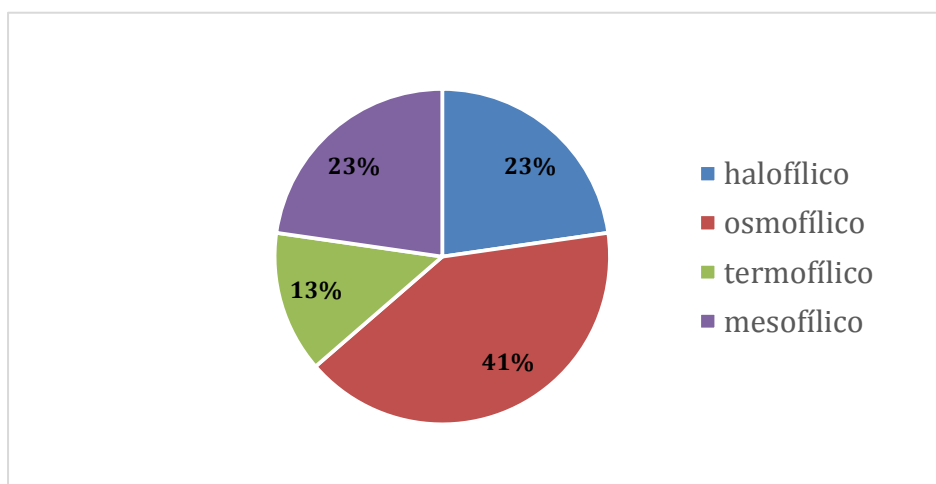


Figura 3. Porcentagem total de isolados fúngicos selecionados e purificados das três coletas do solo em área em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada- PE por condição de isolamento.

Após a observação de características macroscópica e microscópica dos isolados, sendo que 17 dos 22 isolados foram identificados a nível de gênero (Tabela 3), sendo eles *Aspergillus* sp. (9 isolados), *Fusarium* sp. (5 isolados), *Curvularia* sp. (1 isolado) e *Cunninghamella* sp. (01 isolado) (Figuras de 4 a 9) (Tabela 2).

Tabela 3. Isolados fúngicos ao nível de gênero do solo em recuperação da Unidade de

Número do isolado	Condição do isolado	Identificação
1*	Halofílico	<i>Cunninghamella</i>
2**	Termofílico	<i>Aspergillus</i> sp.
3*	Mesofílico	<i>Fusarium</i> sp.
5**	Termofílico	<i>Aspergillus</i> sp.
7*	Osmofílico	<i>Fusarium</i> sp.
8*	Osmofílico	<i>Cladosporium</i> sp.
9**	Mesofílico	<i>Fusarium</i> sp.
10*	Osmofílico	<i>Aspergillus</i> sp.
11***	Osmofílico	<i>Fusarium</i> sp.
12**	Mesofílico	<i>Aspergillus</i> sp.
13**	Osmofílico	<i>Aspergillus</i> sp.
14*	Halofílico	<i>Aspergillus</i> sp.
15*	Halofílico	<i>Aspergillus terreus</i>
16***	Mesofílico	<i>Fusarium</i> sp.
17*	Termofílico	<i>Aspergillus</i> sp.
20*	Osmofílico	<i>Curvularia</i> sp.
22**	Osmofílico	<i>Aspergillus</i> sp.

* isolados da coleta 1 / ** isolados da coleta 2/ *** isolados da coleta 3.

Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE.

O gênero *Aspergillus*, que se encontrou em maior número neste trabalho, foram obtidos 4 e 5 da 1 e 2 coletas, respectivamente, porém este fungo não foi identificado entre os isolados da coleta 3. Este gênero foi catalogado pela primeira vez pelo Padre Italiano e Biólogo Pietro Antonio Micheli e inclui mais de 180 espécies caracterizadas como aeróbias, facilmente encontradas em ambientes ricos em oxigênio, têm alta taxa de crescimento e podem apresentar

colônias de cores variadas, desde o amarelo, branca a colônias escuras. As espécies de *Aspergillus* spp. tem como principal função a decomposição de matéria orgânica e a deterioração de alimentos, mas também são aplicados em processos biotecnológicos, principalmente na produção de enzimas. Normalmente não são patógenos, porém *Aspergillus fumigatus* é conhecido por causar aspergilose pulmonar (ABARCA, 2000; SAMSON, 2014). Espécies deste gênero são encontradas praticamente em todos os ambientes pois possuem alta capacidade de dispersão de seus esporos assexuados, denominados de conídios, que germinam e se desenvolvem com mais facilidade em clima com temperaturas em torno de 37°C, sendo esses fungos considerados termotolerantes (BOFF et al., 2012).

O gênero *Fusarium* foi encontrado nas três coletas, sendo que dois são da coleta 1 (isolados 3 e 7), 1 (um) pertencente a coleta 2 (isolado 9) e dois isolados 11, 16) da coleta 3. Este gênero possui aproximadamente 1414 espécies descritas na literatura. Sua morfologia é baseada em macros e microconídios e na disposição dos conídios no conidióforo. Possui micélio aéreo filamentoso formando hifas ramificadas e septadas, estruturas assexuadas e junto com a pigmentação, produção de toxinas e sua capacidade infecciosa são critérios de identificação do gênero. Espécies de *Fusarium* são comumente encontradas em solos e, quando em desequilíbrio ecológico, causam frequentemente fitopatologias em cultivos. Produzem clamidosposros, que são esporos de resistência, que permitem sua permanência nos solos durante longos períodos, mesmo em condições adversas (URBEN et al., 2009).

Fungos do gênero *Curvularia* foram encontrados apenas na coleta 1 (isolado 20), é extensamente encontrado no planeta, podendo estar relacionado a espécies vegetais, na forma saprofítica, endofítica ou como parasita. A identificação das espécies é de relevância para a compreensão de algumas doenças, a identificação é realizada pelas características morfológicas, como aspectos do micélio, morfologia das hifas, forma e tamanho dos conídios. É caracterizado como um fungo demaceo devido a produção de melanina nas suas células, o que traz ao mesmo proteção a fatores adversos, como altas incidências de raios UV (MOURÃO et al., 2017).

Entre os vários táxons, também se destaca *Cladosporium*, encontrado na coleta 1. Este gênero que é considerado um dos mais cosmopolitas e de maior

concentração na atmosfera, particularmente em regiões temperadas (ZOPPAS et al., 2011). Compreende mais de 189 espécies, são denominados fungos demácios, mielinizados ou pretos por apresentarem coloração naturalmente acastanhada em decorrência da presença de pigmento em sua parede celular.

O gênero *Cladosporium* apresenta conidióforos de comprimento variado, eretos e variável quanto as suas ramificações, próximo ao ápice. Esta estrutura reprodutiva apresenta s tamanhos váriodos e podem ser septados. Variando de pretos esverdeado claro e são levemente dilatados nas extremidades distais (MENEZES et al., 2017).

Cunninghamella é caracterizado por possuir colônia esbranquiçadas e desenvolvimento rápido. Microscopicamente apresenta hifas hialinas não septadas e produz esporangióforo que caracteriza o gênero. Estes fungos são encontrados no meio ambiente.

Quando comparadas as três coletas, a Coleta 1, que foi realizada em período chuvoso, mostrou maior diversidade com cinco gêneros; enquanto que as Coletas 2 e 3 que ocorreram em período de estiagem apresentaram dois gêneros fúngicos.

Os gêneros de fungos listados na Tabela 2 são frequentemente relatados como compondo a microbiota de diversos solos, inclusive do semiárido brasileiro (SILVEIRA, 2007).

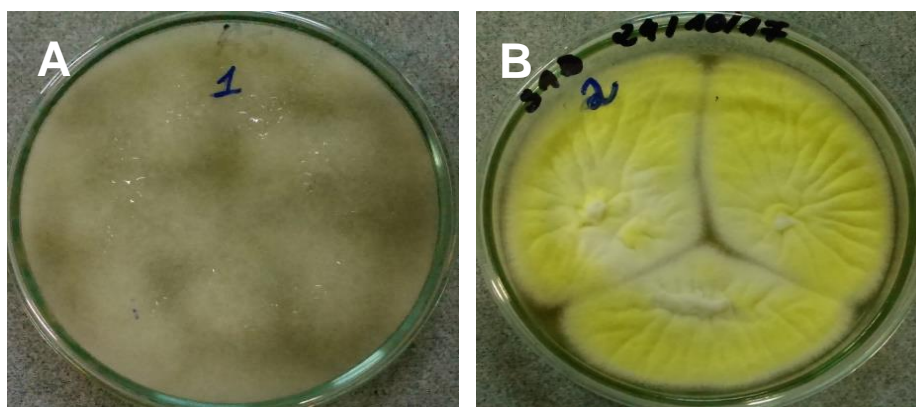


Figura 4. (A) Macroscopia de *Cunninghamella* sp. (isolado 01) e (B) de *Aspergillus* sp. (isolado 02) mantidos em agar Sabouraud após 7 dias de crescimento a temperatura ambiente, isolados do solo em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

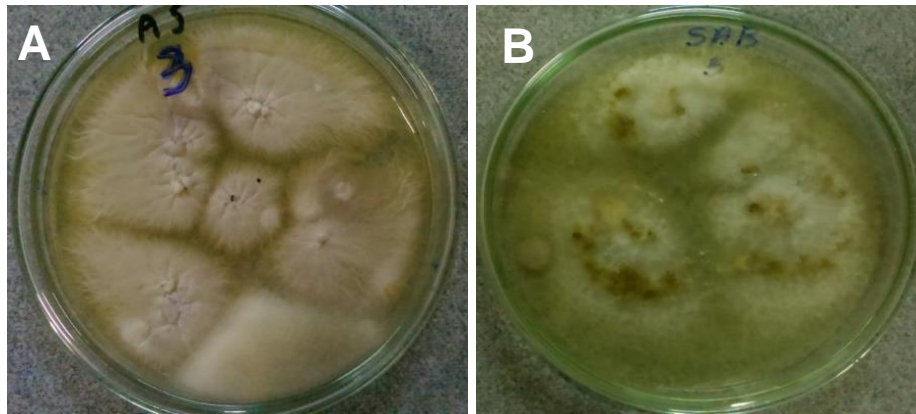


Figura 5. (A) Macroscopia de *Fusarium* sp. (isolado 03) e (B) de *Aspergillus* sp. (isolado 05) em agar Sabouraud após 7 dias de crescimento a temperatura ambiente, isolados do solo em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

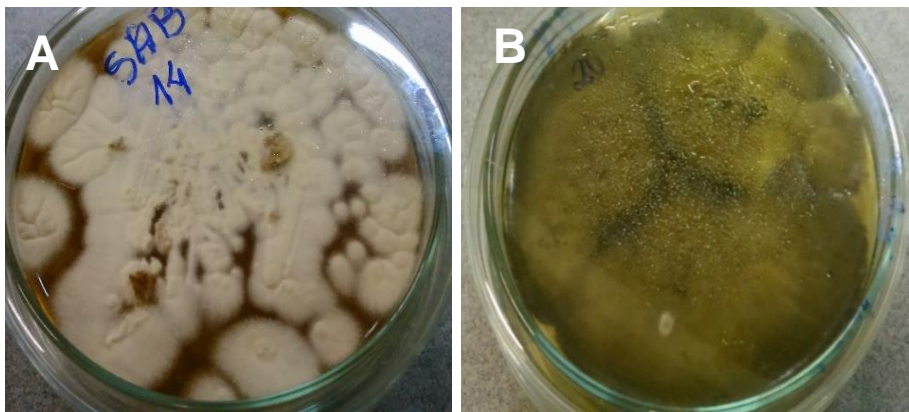


Figura 6. (A) Macroscopia de *Aspergillus* sp. (isolado 14) e (B) *Curvularia* sp. (isolado 20) em agar Sabouraud após 7 dias de crescimento a temperatura ambiente, isolados do solo em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

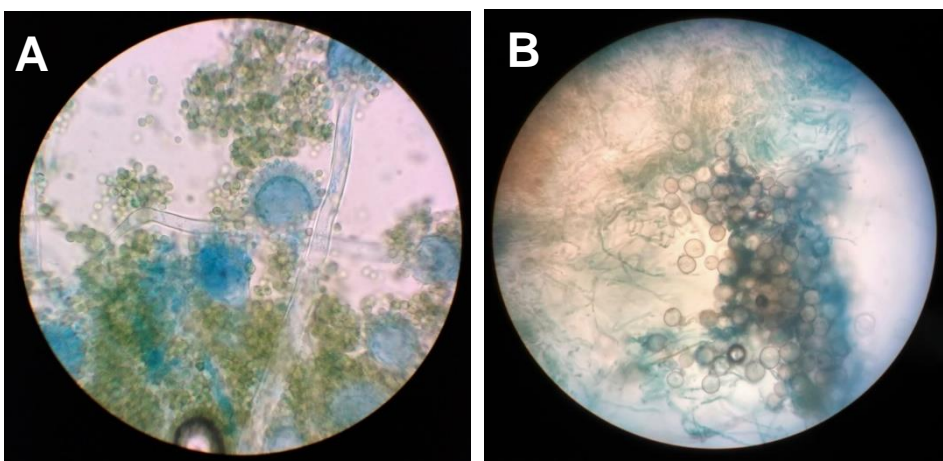


Figura 7. (A) Microscopia de *Aspergillus* sp. (isolado 05) e (B) células de Hulle de *Aspergillus* sp. (isolado 13), isolados do solo em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

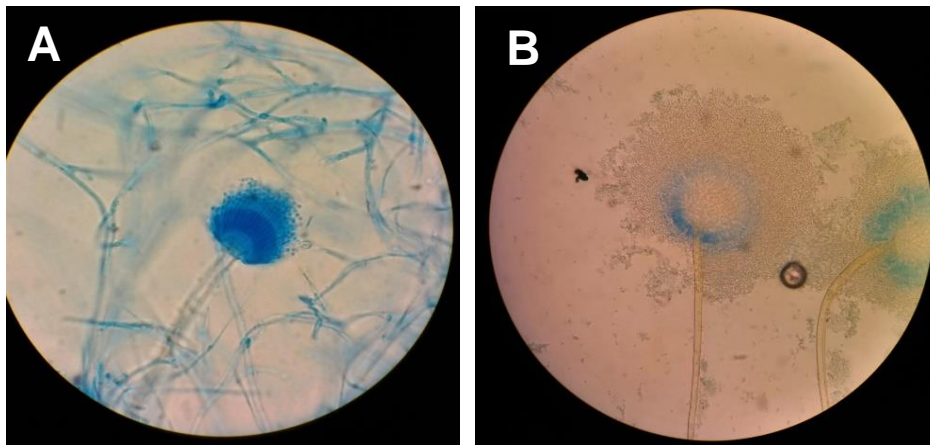


Figura 8. (A) Microscopia de *Aspergillus* sp. (isolado 02) e (B) *Aspergillus terreus* (isolado 15), isolados do solo em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

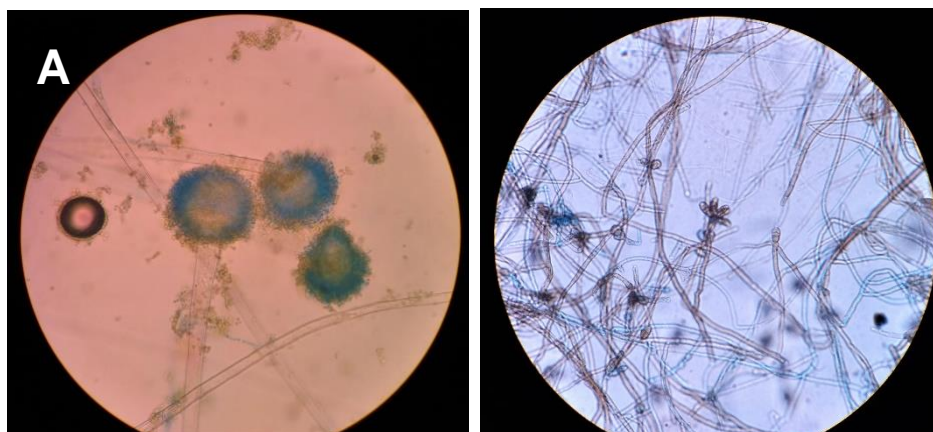


Figura 9. (A) Microscopia de *Aspergillus* sp. (isolado 22) e (B) *Curvularia* sp. (isolado 20), isolados do solo em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada – PE.

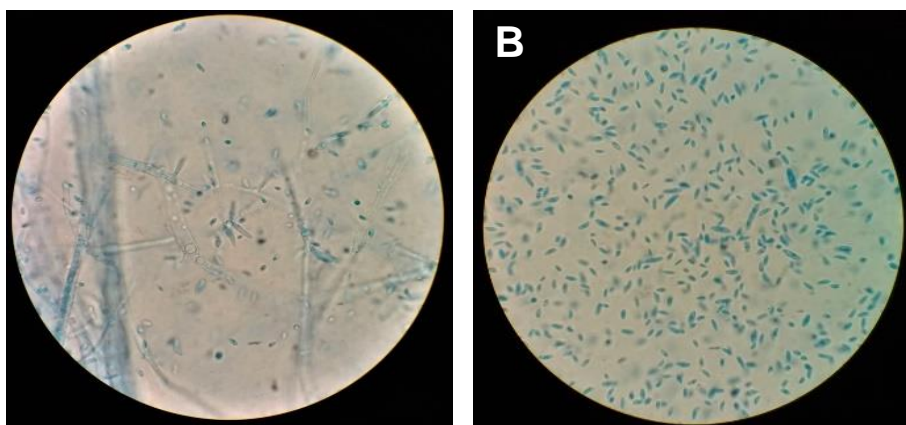


Figura 10. (A) e (B) Microscopia de *Fusarium* sp. (isolado 09) , isolados do solo em recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE

A diversidade fúngica que compõe a fração biológica do solo mostra-se distinta com a ocorrência de alguns gêneros como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium* e *Penicillium*, sendo que os três primeiros gêneros citados no presente trabalho.

Borges et al. (2011) relata a presença dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Fusarium*, por meio de uma listagem sobre trabalhos referente a identificação dos gêneros presentes no solo. Os gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Fusarium* também são citados por Silva et al. (2011), os quais foram isolados do solo de sistemas agrofloretais com predominância do gênero *Aspergillus*, o qual ocorreu em relação ao presente trabalho com o maior número de isolados em período de estiagem, mostrando a capacidade do gênero a sobreviver sob condições adversas. Estes gêneros podem ser frequentemente encontrados em solos, independentes das práticas ou ações antrópicas sofridas pelo local (SILVA et al., 2011).

4.3 BIOPROSPECÇÃO

4.3.1 Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana

As análises para os testes antimicrobianos foram realizadas com 20 dos 22 isolados fúngicos, uma vez que para dois isolados (18 e 19) não ocorreu um bom crescimento da colônia, impossibilitando a realização dos testes com os mesmos.

Os resultados obtidos após o teste de atividade antimicrobiana por meio da técnica de bloco de gelose encontram-se listados na Tabela 4; dos 20 fungos testados, oito apresentaram atividade antibacteriana.

Os isolados testados que apresentaram maior potencial antimicrobiano foram contra as bactérias Gram positivas *Bacillus subtilis* (isolados 1,3, 5, 9, 11, 12 e 17) e *Staphylococcus aureus* (isolados 12 e 16) para as Gram negativas apresentaram inibição frente a *Salmonella* sp. (isolados 3,12, e 17) e *Escherichia coli* (isolados 3, 12 e 17); nenhum isolado fúngico apresentou halo de inibição contra a bactéria *K. pneumonia* (figura 8).

Nota-se que três fungos apresentaram atividade contra *E. coli*, com crescimento de halo de média 1 mm (*Fusarium*) e 2 mm (*Aspergillum*).

Tabela 4. Halos de inibição (Ø) após análise da atividade antimicrobiana de fungos do solo de área em recuperação, da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE

Fungo (Nº do isolado)	Condição do Isolamento	Bactérias testes				
		<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Cunninghamella</i> (1*)	Halofílico	SA	SA	SA	SA	7,67 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (2**)	Termofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Fusarium</i> sp. (3*)	Mesofílico	1 mm	SA	SA	1 mm	5,00 mm
4***	Mesofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Aspergillus</i> sp. (5**)	Termofílico	SA	SA	SA	SA	1,67 mm
<i>Fusarium</i> sp. (9**)	Halofílico	SA	SA	SA	SA	2 mm
<i>Fusarium</i> sp. (7*)	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Cladosporium</i> sp (8*)	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	SA
6*	Mesofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Aspergillus</i> sp. (10*)	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Fusarium</i> sp. (11***)	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	8,33 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (12**)	Mesofílico	1 mm	4 mm	SA	2 mm	6 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (13**)	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Aspergillus</i> sp. (14*)	Halofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>A. terreus</i> (15*)	Halofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Fusarium</i> sp. (16***)	Mesofílico	SA	2 mm	SA	SA	SA
<i>Aspergillus</i> sp. (17*)	Termofílico	6 mm	SA	SA	2 mm	6 mm
<i>Curvularia</i> sp. (20*)	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	SA
21*	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	SA
<i>Aspergillus</i> sp. (22*)	Osmofílico	SA	SA	SA	SA	SA

SA = SEM ATIVIDADE / * isolados coleta 1/ ** isolados coleta 2/ *** isolados coleta 3.

Sendo *E. coli* uma bactéria Gram negativa responsável por um grande número de infecções, apesar de também ser descrita como uma bactéria simbiote do Homem, porém existindo sorotipos que causam infecções (CLEMENTINO et al., 2015).

Bacillus subtilis foi a bactéria contra a qual um maior número de fungos testados mostrou atividade, totalizando 7 isolados, sendo eles 1, 3, 5, 9, 11, 12 e 17, e apresentou o maior halo de inibição de 8,33 mm gerado pelo isolado 11 (*Fusarium* sp.). O isolado 12 (*Aspergillus* sp.) apresentou atividade contra 4 das 5 bactérias testadas, sendo elas *Bacillus*, *S. aureu*, *E.coli* e *Salmonella*, salientando seu amplo espectro de ação.

Nenhum isolado fúngico mostrou atividade inibitória frente a *Klebsiella* Clementino (2015) explica este fato relatando que os metabólitos produzidos pelos fungos sejam menos eficazes contra bactérias Gram-negativas pelo fato de a sua parede celular possuir uma membrana externa que está envolvida na produção de enzimas que inativam certos compostos, dificultando a ação de certos antibióticos. O mecanismo de ação de determinados antibióticos acontece na parede celular das bactérias (MOLINARO, 2009), sendo as Gram

positivas são mais vulneráveis aos antibióticos do que as Gram negativas, pois as Gram positivas possuem uma membrana externa e que está envolvida em processos de inativação enzimática dos agentes antimicrobianos (TORTORA, 2017).

Há uma demanda por compostos com atividade antimicrobiana para isso diversas pesquisas estão sendo realizadas para a descoberta de novos compostos para serem aplicados pelas indústrias principalmente farmacêutica devido ao surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos, sendo os fungos uma grande fonte produtoras desses agentes antimicrobianos se tornando uma alternativa para combater essa problemática (OSTROSKY, 2008).

No trabalho desenvolvido por Moreira (2015), o mesmo isolou 13 fungos de solo, que apresentaram atividade contra as bactérias das espécies *E. coli* e *S. aureus*, não havendo nenhum fungo capaz de inibir a espécie *K. pneumoniae* resultados também encontrados neste trabalho. Abneuf et al. (2016) ressalta em que em sua pesquisa que 18 isolados fúngicos obtidos do solo, foram eficazes contra cinco bactérias, entre elas estão *E. coli*, *B. subtilis* e *S. aureus*. Os fungos isolados por Yogabaanu et al., (2017) de solos Árticos e Antárticos, com a finalidade a avaliar a potencial desses microrganismos para a produção de substâncias antimicrobianas, foram testados contra cinco bactérias, dentre as quais as mais sensíveis foram *B. subtilis* e *E. coli*.

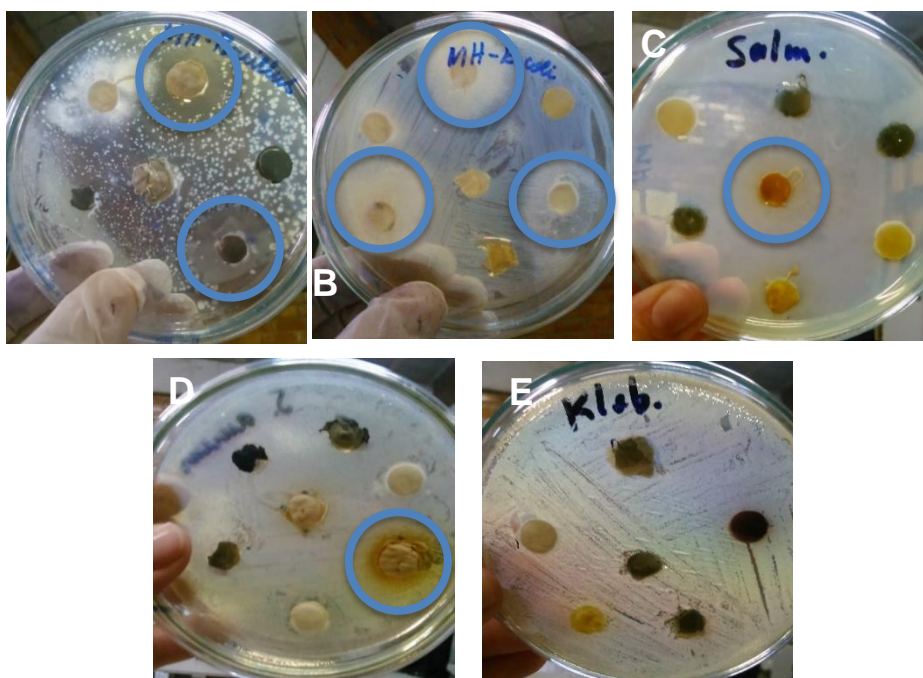


Figura 11. Ilustração do teste antimicrobiana, frente as bactérias *B. subtilis* (A), *E. coli* (B), *Salmonella* (C) e *S. aureus* (D) que apresentaram dados positiva com a formação de halos de inibição de isolados fúngicos. *Klebsiella* (E) não produziu nenhum halo de inibição.

4.3.2 Screening de Produção de Enzimas

Os 22 isolados fúngicos foram utilizados para as análises de atividade enzimática, com o intuito de avaliar o potencial para a produção das enzimas amilase protease e celulase.

Os fungos que apresentaram atividade para a enzima amilase foram os isolados 9 (*Fusarium* sp.), 12 (*Aspergillus*) e o isolado 15 (*Aspergillus* sp.) sendo os isolados 9 (*Fusarium* sp.), e 12 (*Aspergillus* sp.) pertencem a coleta 2 (período de estiagem) pertencente ao grupo dos mesofílicos e apresentando a maior atividade enzimático, com halos de 19,33 mm e 29,62 mm respectivamente, já o isolado 15 (*Aspergillus* sp.) é oriundo da coleta 1 e está dentro do grupo dos halofílicos, sendo 50% dos fungos que apresentaram atividade enzimática para amilase pertencem a coleta 1 e 50% da coleta 2 (Figura 12). Verificou-se que a produção para amilase apresentou resultados intermediários pois dos 22 fungos apenas 4 apresentaram halo de degradação sendo eles ≥ 15 mm (Figura 14).

Em relação a atividade para a enzima protease apenas dois isolados apresentaram potencial enzimático, sendo eles os isolados 8 (*Cladosporium* sp.) e 10 (*Aspergillus* sp.), 100% (Figura 12) oriundos da coleta 1 e pertencente ao grupo dos osmofílicos.

Para avaliação o potencial enzimático, foram testados 22 isolados fúngicos, cujas os resultados se encontram apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Halos de atividade enzimática de fungos de solo em área de recuperação da Unidade de Conservação Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada - PE.				
Fungo (N° do isolado)	Condição do Isolamento	AMILASE	PROTEASE	CELULASE
<i>Cunninghamella</i> (1*)	Halofílico	SAE	SAE	11,33 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (2**)	Termofílico	SAE	SAE	13,5 mm
<i>Fusarium</i> sp. (3*)	Mesofílico	SAE	SAE	17,66 mm
4***	Mesofílico	SAE	SAE	34,00 mm

<i>Aspergillus</i> sp. (5^{**})	Termofílico	SAE	SAE	15,33 mm
6[*]	Halofílico	SAE	SAE	SAE
<i>Fusarium</i> sp. (7[*])	Osmofílico	SAE	SAE	23,00 mm
<i>Cladosporium</i> sp. (8[*])	Osmofílico	SAE	12,67 mm	18,66 mm
<i>Fusarium</i> sp. (9^{**})	Mesofílico	19,33 mm	SA	31,33 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (10[*])	Osmofílico	SAE	11,33 mm	24,00 mm
<i>Fusarium</i> sp. (11^{***})	Osmofílico	SAE	SAE	SAE
<i>Aspergillus</i> sp. (12^{**})	Mesofílico	29,67 mm	SAE	35,33 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (13^{**})	Osmofílico	SAE	SAE	20,33 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (14[*])	Halofílico	SAE	SAE	7 mm
<i>A. terreus</i> (15[*])	Halofílico	15,33 mm	SAE	26,66 mm
<i>Fusarium</i> sp. (16^{***})	Mesofílico	SAE	SAE	12,66 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (17[*])	Termofílico	SAE	SAE	14,33 mm

SA = SEM ATIVIDADE ENZIMÁTICA / * isolados coleta 1/ ** isolados coleta 2/ *** isolados coleta 3.

18[*]	Halofílico	SAE	SAE	SAE
19^{***}	Osmofílico	SAE	SAE	SAE
<i>Curvularia</i> sp. (20[*])	Osmofílico	21,33 mm	SAE	32,33 mm
21[*]	Osmofílico	SAE	SAE	20,00 mm
<i>Aspergillus</i> sp. (22[*])	Osmofílico	SAE	SAE	7,66 mm

Conforme os resultados expressos na Tabela 5, podemos observar que os isolados apresentaram um potencial para produção de enzimas, se destacando a produção para celulase, onde 18 dos 22 fungos testados apresentaram halo de degradação, sendo 11 isolados provenientes da coleta 1, (seis são osmofílicos, três halofílicos e dois pertencente a grupos dos mesofílicos e termofílicos); cinco dentre os 18 apresentaram halo de degradação para celulase e fazem parte da coleta 2 (um osmofílico, dois mesofílicos e dois termofílicos). Na coleta 3 apenas o grupo dos mesofílicos (isolados 4 e 16) apresentaram atividade enzimática.

Quatro isolados dos 18 se destacaram em relação ao potencial para produção de celulase pois apresentaram halo de degradação \geq que 30 mm sendo eles o isolado 04 (a identificar), 9 (*Fusarium* sp.), 12 (*Aspergillus* sp.) e 20 (*Curvularia* sp.) (Figuras 15 A e 15 B).

Totalizando que 20% dos fungos que apresentaram halo de degradação para celulase pertencem a coleta 3, 25% da coleta 2 ambas coletada no período de estiagem e 55% da coleta 1 coletado no período chuvoso (Figura 12). Todos os isolados apresentaram atividade para pelo menos uma das enzimas testadas.

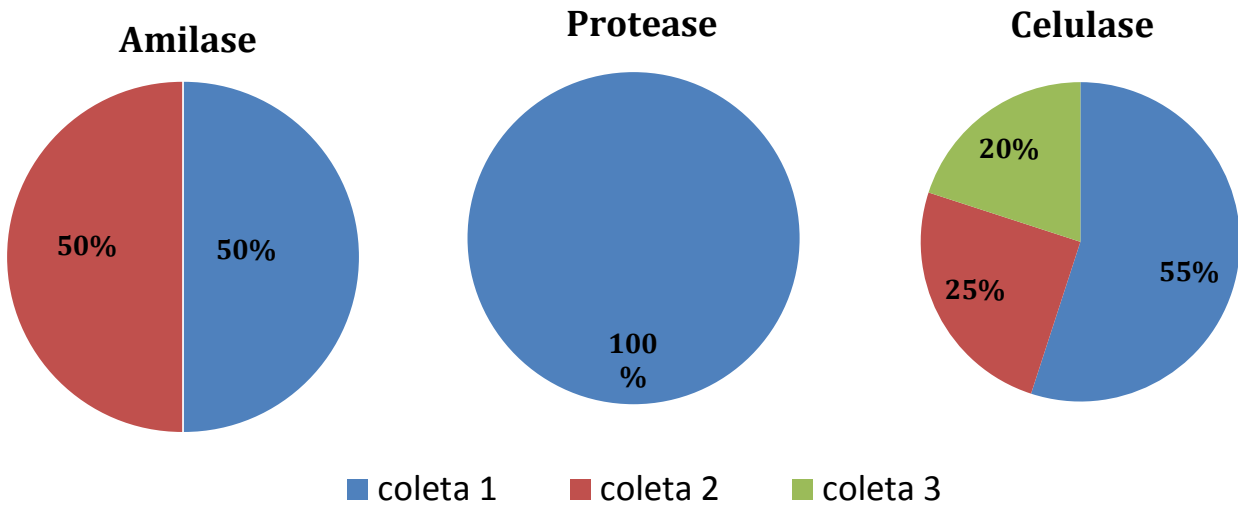


Figura 12. Porcentagem dos isolados fúngicos com atividade enzimática por coleta de solo.

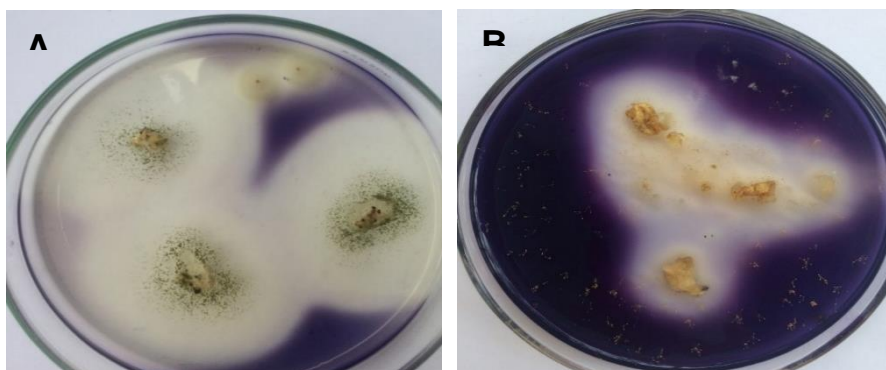
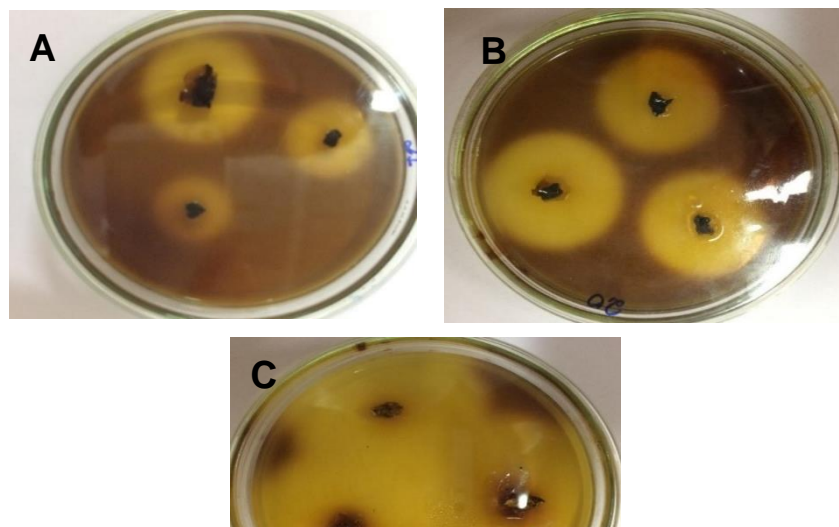


Figura 13. Halo de degradação, revelado por Iodo 1M o poder de produção da enzima amilase pelos isolados 2A (*Aspergillus* sp.) e isolado 15B (*Aspergillus terreus*).



Tr_e Figura 14. Halo de degradação, revelando pela substancia Lugol o poder de produção da enzima celulase pelos isolados 21, 20 B (*Curvularia* sp.) e de fungo isolado 12 C (*Aspergillus* sp.)

que isolou fungos diferentes ambientes inclusive o solo, onde vou avaliado a produção das enzimas amilase, protease, celulase e pectinase, obtendo em relação às três primeiras enzimas índice enzimático, 08 mm, 10,62 mm e 13,86 mm respectivamente para as três primeiras enzimas, sendo que as mesmas fazem parte do referente trabalho.

Para a produção da enzima celulase microrganismos dos gêneros *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Chaetomium*, estão entres as de destaque (FISCHER, 2014). Outra particularidade destes fungos, que possuem atividade enzimática para celulose habitarem o solo, onde estão frequentemente em contato com a vegetação, os mesmos são responsáveis pela decomposição de substâncias celulósicas (RUEGGER & TAUKTORNISIELO 2004). Já para a produção da enzima protease, pode ocorre uma relação do solo com compostos nitrogenados, ou seja, matéria orgânica justificando, portanto, a ocorrência dos fungos produtores de protease (WICK et al., 2005).

Os microrganismos de suma importância e utilidade para processos industriais essencialmente para aplicações biotecnológicas, quando relacionados à produção de enzimas. (BARNARD et al., 2010). Por isso a procura por novas compostos é primordial.

5. CONCLUSÕES

- A microbiota de solo do semiárido pernambucano, em área em recuperação, é composta por fungos filamentosos, sendo a densidade fúngica (Unidades formadoras de colônia) maior em solo coletado em período chuvoso;
- *Aspergillus* e *Fusarium* são os gêneros predominantes que compõem a fração fúngica da microbiota do solo estudado;
- Os fungos isolados neste trabalho produzem compostos com atividade antibacteriana, inclusive com amplo espectro de ação, e podem ser utilizados em experimentos futuros de bioprospecção de produtos naturais.
- Os isolados fúngicos estudados neste trabalho, possuem um alto potencial enzimático, principalmente para a produção da enzima celulase.
- Mesmo em se tratando de um solo não preservado, o local estudado compõe uma Unidade de Conservação, havendo a necessidade da sua preservação e conseqüentemente a preservação de microrganismos ali presentes úteis para o Meio Ambiente e para o Homem

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABARCA, M.L. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Rev Iberoam Micol*, v. 17, n. 3, p. S79-S84, 2000.
- ABNEUF, Mohammed A. et al. Antimicrobial activity of microfungi from maritime Antarctic soil. *Czech Polar Reports*, v. 6, n. 2, p. 141-154, 2016.
- ABREU JAS, ROVIDA AFS, PAMPHILE J. Fungos de interesse: aplicações biotecnológicas. *Uningá Review* 21(1):55-59, 2015.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. & BLACKWELL, M. 1996. *Introductory Mycology*. New York: John Wiley & Sons, Inc. 865p.
- ALVES, M. C.; SOUZA, Z. M. Recuperação do subsolo em área de empréstimo usada para construção de hidrelétrica. *Revista Ciência Agronômica*, v.42, p.301-309, 2011.
- 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.
- ANDREOLA, F.; FERNANDES, S.A.P.A Microbiota do solo na agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas. In: SILVEIRA, A.P.D. da.; FREITAS, S. dos S. (Ed.). *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas: Instituto Agronômico, 2007.
- 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.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo - biological indicators of soil quality. *iosci. J.*, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, July./Sept. 2007.
- ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Bioscience Journal*, v. 23, n. 3, 2007.
- ARAÚJO, FLAMARION DOS SANTOS. Potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares em seis sistemas de uso do solo, na região nordeste do semi-árido do Brasil, 2008.
- ARAÚJO, S. M. S., A REGIÃO SEMIÁRIDA DO NORDESTE DO BRASIL: Questões Ambientais e Possibilidades de uso Sustentável dos Recursos. *Rios Eletrônica- Revista Científica da FASETE* ano 5 n. 5 dezembro de 2011.
- ARAÚJO, W. L., Marcon, J., Maccheroni, W., van Elsas, J. D., van Vuurde, J. W. L., & Azevedo, J. L. (2002). Diversity of Endophytic Bacterial Populations and Their Interaction with *Xylella fastidiosa* in Citrus

- Plants. Applied and Environmental Microbiology, 68(10), 4906–4914.
<http://doi.org/10.1128/AEM.68.10.4906-4914.2002>.
- ARIAS, M.E.; GONZÁLES-PÉREZ, J.A.; GONZÁLES-PÉREZ, F.J.; BALL, A.C. Soilhealth a new challenge for microbiologists and chemists. *International Microbiology*, v. 8, p. 13-21, 2005.
- ATTANASIO, C. M. et al. Adequação ambiental de propriedades rurais, recuperação de áreas degradadas e restauração de matas ciliares. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Ecologia e Restauração Florestal, 2006.
- BAPTISTA P.; PEREIRA E.; TAVARES R.; LINO-NETO T. A importância das interações entre fungos do solo em agroecologia. *Actas “Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável”*, Bragança - Portugal, 24 Março 2011.
- BARNARD, D. et al. Extremophiles in biofuel synthesis. *Environmental technology*, v. 31, n. 8-9, p. 871-888, 2010
- 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.
- 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.
- 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
- BRANDÃO-JUNIOR, O. et al. Comparação entre os métodos de fumigação-extração e fumigação-incubação para determinação do carbono da biomassa microbiana em um Latossolo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, n. 5, p. 1911-1919, 2008.
- BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol. Fert. Soils*, 19:269-279, 1995
- CAESAR-TONTHAT, T.C.; CAESAR, A.J.; GASKIN, J.F.; SAINJU, U.M. & BUSSCHER, W.J. Taxonomic diversity of predominant culturable bacteria associated with microaggregates from two different agroecosystems and their ability to aggregate soil in vitro. *Appl. Soil Ecol.*, 1:10-21, 2006.
- CARAVACA, F.; ALGUACIL, M.M.; AZCÓN, R. & ROLDÁN, A. Formation of stable aggregates in rhizosphere soil of *Juniperus oxycedrus*: Effect of AM fungi and organic amendments. *Appl. Soil Ecol.*, 1:30-38, 2006.
- CARDOSO, E.J.B.N; ANDREOTE, F.D. *Microbiologia do solo*, Piracicaba, 2016
- 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

- CLEMENTINO, L.C.; BARBOSA, C.C.; SILVA, D.P.D; SILVA F.D, QUEIROZ J.C.F. Bioprospecção de antibióticos produzidos por fungos da caatinga. *Evidência, Joaçaba* v. 15, n. 1, p. 37-56, 2015.
- CLEMENTINO, L.C. et al. BIOPROSPECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PRODUZIDOS POR FUNGOS DA CAATINGA. *Evidência-Interdisciplinar*, v. 15, n. 1, p. 37-56, 2015.
- COELHO, M.A.Z.; SALGADO, A.M.; RIBEIRO, B.D. Tecnologia enzimática. Editora EPUB, 2008.
- DA SILVA, C.J.A.; DO NASCIMENTO MALTA, D.J. a importância dos fungos na biotecnologia. *Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-FACIPE*, v. 2, n. 3, p. 49, 2017.
- DE OLIVEIRA, V.A.; SETTE, L.D.; FANTINATTI-GARBOGGINI, F. Preservação e prospecção de recursos microbianos. 2006.
- 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.
- DRUMOND, M.A. et al. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da caatinga. Embrapa Semiárido-Folderes/Folhetos/Cartilhas (INFOTECA-E), 2000.
- FERNANDES, A.N. Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos isolados de diferentes fontes. Lavras: UFLA, 2009.
- FERREIRA, C.A. Ecologia e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área da caatinga. 2010. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.
- FISCHER, J. et al. Produção de etanol de segunda geração pelo uso de complexo enzimático de cepas selecionadas do ecossistema do cerrado. 2014.
- FIUZA, P.O.; GUSMÃO, L.F.P.; CRUZ, A.C.R. & RUIZ, R.F.C. 2014. Conidial fungi from the semiarid Caatinga biome of Brazil: a new species of *Pseudoacrodactys*. *Mycotaxon* 127: 33-37.
- GOI, S. R.; SOUZA, F. A. de. Diversidade de microrganismos do solo. *Floresta e Ambiente*, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 46-65, 2006.
- GORLACH-LIRA, Krystyna; COUTINHO, Henrique DM. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi-arid soil of northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, n. 1, p. 135-141, 2007.
- 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.
- GUSMÃO, L.F.P.; MAIA, L.C. Diversidade e caracterização do semi-árido brasileiro. Imsear, Recife. 2006.

- HAWKSWORTH, David L. ; LÜCKING, Robert. Diversidade Fúngica Revisitada: 2,2 a 3,8 milhões de espécies. *Espectro Microbiológico* , v. 5, n. 4 de 2017.
- HAWKSWORTH, David L. A magnitude da diversidade fúngica: a estimativa de 1 5 milhões de espécies revisitadas. *Pesquisa micológica* , v. 105, n. 12, p. 1422-1432, 2001.
- HAWKSWORTH, David L. A magnitude da diversidade fúngica: a estimativa de 1 5 milhões de espécies revisitadas. *Pesquisa micológica* , v. 105, n. 12, p. 1422-1432, 2001.
- HIBBETT, David S. et al. Uma classificação filogenética de alto nível dos fungos. *Pesquisa micológica* , v. 111, n. 5, p. 509-547, 2007.
- ICHIKAWA, T.; Date, M.; ISHIKURA, T.; Ozaki, A. Improvement of Kasigamycin- producing strain by the agar piece method and the prototroph method. *Folia Microbiol* 16; 218, 1971.
- ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agriculture Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 9-16, 2000
- JACQUES, R. J. S. et al. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1192-1201, 2007.
- JAHNEL, M. C., CARDOSO, J. B. N. & DIAS, C. T. S. Determinação do número mais provável de microorganismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23:553-559, 1999.
- JAHNEL, M.C; C,E.J.E.; D, C.T.S. Determinação do número mais provável de microrganismos dos olo pelo método de plaqueamento por gotas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*.2007.
- JENNYS, H. 1994. *Factors of Soil Formation. A System of Quantitative Pedology*. New York: Dover Press, 1941.
- JUNIOR ASSIS, Sebastião Lourenço de et al. Atividade microbiana do solo em sistemas agroflorestais, monoculturas, mata natural e área desmatada. *Revista Árvore*, v. 27, n. 1, 2003.
- KILLHAM, Ken. *Ecologia do solo* . Cambridge University Press, 1994.
- KUREK, E.; CZOBAN, J.; BOLLAG, J. Sorption of cadmium by microorganisms in competition with other soil constitutes. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 43, n. 5, p. 1011-1015, 1982.
- LAVELLE, P. AND SPAIN, A.V. (2005). *Soil Ecology*, Chapter 3: Soil Organisms, Springer: New Delhi, India.
- LEITE, L. F. C., ARAUJO, A. S. F., *Ecologia Microbiana do Solo*. - Tersina: Embrapa Meio-Norte, 2007. ; 21 cm. - IDocumentos / Embrapa Meio-Norte. ISSN 0104-866X 164).
- 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, H. V.; OLIVEIRA, T. S.; OLIVEIRA, M. M.; MENDONÇA, E. de S.; LIMA, P.J. B. F. Indicadores de qualidade do solo em sistemas de cultivo orgânico e convencional no semi-árido cearense. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. v.31, p.1085-1098, 2007.
- LIMA, JVL; PINEHRIO, MS; FIÚZA, LMCG; MARTINS, SCS; MARTINS, CM. 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.
- MAIA, L.C. et al. Diversity of Brazilian fungi. *Rodriguésia*, v. 66, n. 4, p. 1033-1045, 2015.
- 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.
- MELLONI, Rogério. *Microbiota do Solo 2. Qualidade Ambiental - Capítulo 11 Quantificação Microbiana da Qualidade do Solo*. 2007.
- MELLONI, Rogério; SIQUEIRA, José Oswaldo; DE SOUZA MOREIRA, Fátima Maria. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 2, p. 267-276, 2003.
- MELLONI, Rogério; SIQUEIRA, José Oswaldo; DE SOUZA MOREIRA, Fátima Maria. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 2, p. 267-276, 2003.
- MENDES FILHO, P.F.; VASCONCELLOS, R.L.F.; PAULA, A.M.; CARDOSO, E.J.B.N. Evaluating the potential of forest species under microbial management of the restoration of degraded mining areas. *Water, Air and Soil Pollution*, v.208, n.1/4, p.79-89, 2010.
- MENEZES, C.P.; DE LIMA PEREZ, A.L.A.; OLIVEIRA, E.L. *Cladosporium spp: Morfologia, infecções e espécies patogênicas*. *Acta Brasiliensis*, v. 1, n. 1, p. 23-27, 2017.
- MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; GIONGO, V.; PÉREZ-MARIN, A.M. Biogeochemical cycling in terrestrial ecosystems of the Caatinga Biome. *Brazilian Journal of Biology*, v. 72, n.3, p. 643-653, 2012.
- 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.
- MIRANSARI, M. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Nutrition*, 37:14, 2227- 2235, 2014.
- 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, 625 p., 2002.

- MOREIRA, I.V. Detecção de atividade antimicrobiana de microrganismos isolados de solos do Maranhão/ Israel Viegas Moreira. São Luís: UNICEUMA, 2015.
- 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.
- MOURÃO S.C., SÁGIO D.A., SOUZA S.R., GIL, M.S. (2017). Identificação morfológica e molecular de *Curvularia* sp. agente causal da mancha foliar do milho. Revista Brasileira de Milho e Sorgo. 16. 1. 10.18512/1980-6477/rbms.v16n1p1-12.
- NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G.; VALORI, F. Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere. Suelo, v. 25, n.1, p. 89-97, 2007.
- NASCIMENTO, R. F.Q. et al. PROSPECÇÃO DE FUNGOS DA CAATINGA PRODUTORES DE ANTIBIÓTICOS. Revista Saúde & Ciência Online, v. 3, n. 3, p. 76-85, 2014.
- NASCIMENTO, R.P., R.R.R. COELHO, S. MARQUES, L. ALVES, F.M. GIRIO, E.P.S. BON AND M.T. AMARAL-COLLACO, 2002. Production and partial characterisation of xylanase from *Streptomyces* sp. strain AMT-3 isolated from Brazilian cerrado soil. Enzyme Microb. Technol., 31: 549-555.
- 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.
- 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, Semi-Árido, Pernambuco, Brasil/ Luciana Gonçalves de Oliveira. Tese de Doutorado, Programa de Pós graduação em Biologia de Fungos, UFPE, Recife, 2013.
- 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.
- OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.
- ØVREÅS, L. Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments. Ecol. Lett., 3:236-251, 2000.

- PEREIRA, A. V. et al. Variações Qualitativas e Quantitativas na microbiota do solo e na fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja (1). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, n. 6, p. 1397-1412, 2007.
- PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Quantificações das populações de bactérias em geral, de bactérias resistentes a antibióticos e de actinomicetos em solos. *Seropédica: EMBRAPA-CNPAB*, 1996. 21 p.
- 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.
- PRADO, DE., 2003. 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.
- PREVIATI, R.; SILVA, J. R. R.; SOUZA, C. R.; JANKE, L. Isolamento e quantificação das populações de bactérias em geral e de Actinomicetos presentes no solo. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 155-160, jul./dez. 2012.
- SUELA, S.M. et al. Brazilian Cerrado Soil Actinobacteria Ecology. *BioMed Research International*, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/503805>. 2013.
- RAMALHO, M. F. J. L., A fragilidade ambiental do Nordeste brasileiro: o clima semiárido e as imprevisões das grandes estiagens. *Sociedade e Território*, Natal, v. 25, nº 2, EDIÇÃO ESPECIAL, p. 104-115, jul./dez. 2013
- RIBEIRO DA SILVA, Rubens et al; R.F. Brazilian Cerrado Soil Actinobacteria Ecology. *BioMed Research Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes-MG*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, n. 5, 2010 *International*, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/503805>
- ROSA, R. S., MESSIAS, R. A., AMBROZINE, B. Importância da compreensão dos ciclos biogeoquímicos para o desenvolvimento sustentável, 2003. Disponível em: <<http://www.iqsc.usp.br/iqsc/servidores/docentes/pessoal/mrezende/arquivos/EDUC-AMB-Ciclos-Biogeoquimicos.pdf>> . Acesso em: 29/06/2017.
- RUEGGER, M.J.S. & TAU-K-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.
- SÁ, M.C.A.; PINHEIRO, F.G.B.; SILVA, N.A.; MAIA, L.C. & WARTCHOW, F. 2014. *Craterellus niger* (Cantharellaceae, Cantharellales, Basidiomycota): a new species from Pernambuco, Brasil. *Nova Hedwigia* 99: 525-530.
- SAMSON, R.A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, v. 78, p. 141-173, 2014.

- SANTIAGO, A.L.C.; BENNY, G. & MAIA, L.C. 2011. *Syncephalis Aggregata*-A New Species From The Semiarid Region Of Brazil. *Mycologia* 103: 135-138.
- SANTIAGO, A.L.C.; HOFFMANN, K.; LIMA, D.X.; OLIVEIRA, R.J.; VIEIRA, H.E.E.; MALOSSO, E.; MAIA, L.C. & SILVA, G.A. 2014. A new species of *Lichtheimia* (Mucoromycotina, Mucorales) isolated from Brazilian soil. *Mycological Progress* 13: 343-352.
- SANTOS, Isis Moreira. Bioindicadores de qualidade de solo: microrganismos em um estudo de caso. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- SILVA, Camila Joyce Alves; DO NASCIMENTO MALTA, Diana Jussara. A IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS NA BIOTECNOLOGIA. Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-FACIPE, v. 2, n. 3, p. 49, 2017.
- 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, J.M.C. et al. (org.) (2003). A Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Ministério do Meio Ambiente.
- SILVA, M.S.; SALES, A.N.; MAGALHÃES-GUEDES, K.T.; DIAS, D.R.; SCHWAN, 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, A.P.D.; FREITAS, S.S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Instituto Agronômico de Campinas, São Paulo, 2007.
- SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F. M. de S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: EMRAPA-SPI, 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
- SOUZA, C.A.F.; COSTA, C.M.C.; MAIA, L.C.; SANTIAGO, A.L.C.M. Mucolares (Mucoromycotina). In.: Parque Estadual Mata da Pimenteira: riqueza natural e conservação da Caatinga. Edts. SANTOS, E.M.; MELO-JÚNIOR, M.M.; SILVA-CAVALCANTI, J.S.; ALMEIDA, G.V.L. Editora da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil, 2013.
- SOUZA, R.A. et al. Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 1, p. 71-82, 2008.

- SPROCATI, Anna Rosa et al. Avaliação da aplicabilidade de uma “caixa de ferramentas” projetada para fitorremediação assistida microbianamente: o estudo de caso no site de mineração Ingurtosu (Itália). *Ciência Ambiental e Pesquisa sobre Poluição*, v. 21, n. 11, p. 6939-6951, 2014.
- STOCCO P., SANTOS JCP., VARGAS VP., HUNGRIA M. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbiotes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Santa Catarina. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:1107-1120, 2008.
- TORSVIK V, DAAE FL, SANDAA R-A, ØVREÅS L. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *J Biotech* 1998, 64:53-62.
- TORSVIK, V. & ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.*, 5:240-245, 2002.
- TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. *Microbiologia-10ª Edição*. Artmed Editora, 2012.
- TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. *Microbiologia-12ª Edição*. Artmed Editora, 2017.
- TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo. In: ALVAREZ VENEGAS, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F. de; MELLO, J.W.V. COSTA, L.M. da. (Ed.). *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.195-276.
- TREVISAN, R.; MATTOS, M.L.T. & HERTER, F.G. Atividade microbiana em Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico coberto com aveia preta (*Avena* sp.) no outono, em um pomar de pessegueiro. *Ci. Rural*, 7:2:83-89, 2002.
- URBEN, A.F., et al., *Curso taxonomia de Fusarium*. Embrapa recursos genéticos e biotecnologia. Brasília-DF: Embrapa informação tecnológica, 2009.
- VASCONCELLOS, R.L.F. 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.
- VIAUD, M.; PASQUIER, A. & BRYGOO, Y. Diversity of soil fungi studied by PCR-RFLP of ITS. *Mycol. Res.*, 104:1027-1032, 2000.
- 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.
- WALLANDER H., L.O. NILSSON, D. HAGERBERG, E. BAATH. Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field. *New Phytologist*, 151 (2001), pp. 753-760.
- WARDLE, D. A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M., ARAÚJO, R. S., eds. *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.419-436.

- WHITMAN ET AL., 1998. W.B. WHITMAN, D.C. COLEMAN, W.J. Wiebe
Procarote the unseen majority Proc. Natl. Acad. Sci., 95 (1998), pp.
6578-6583.
- 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.
- WU, L., LV, Y., MENG, Z. ET AL. Mycorrhiza (2010) 20: 127.
<https://doi.org/10.1007/s00572-009-0268-8>.
- 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.
- ZOPPAS, B.C.A.; VALENCIA-BARRERA, R.M.; FERNANDÉZ-GONZÁLES, D.
2011. Distribuição de esporos de *Cladosporium* spp no ar atmosférico de
Caxias do Sul, RS, Brasil, durante dois anos de estudo. Revista
Brasileira de Alergia e Imunopatologia, 34(2): 55-58.