

LUCIANA GONÇALVES DE OLIVEIRA

**DIVERSIDADE E POTENCIAL ENZIMÁTICO DE
FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DO SOLO, SEMI-
ÁRIDO, PERNAMBUCO, BRASIL**

2009

Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Ciencias Biológicas

Departamento de Micologia

Pós-graduação em Biologia de Fungos

**DIVERSIDADE E POTENCIAL ENZIMÁTICO DE FUNGOS
FILAMENTOSOS ISOLADOS DO SOLO, SEMI-ÁRIDO,
PERNAMBUCO, BRASIL**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Orientador : Dra. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti

Co-orientador: Dr. Timm Anke

2009

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Oliveira, Luciana Gonçalves de

Diversidade e potencial enzimático de fungos filamentosos isolados do solo, Semi-Árido, Pernambuco, Brasil/ Luciana Gonçalves de Oliveira– Recife: O Autor, 2013.

102 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti

Coorientador: Timm Anke

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Pós-graduação em Biologia de Fungos, 2013.

Inclui bibliografia e anexos

1. Fungos do solo 2. Biotecnologia 3. Enzimas (química) I. Cavalcanti, Maria Auxiliadora de Queiroz (orientadora) II. Anke, Timm (coorientador) III. Título

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2013- 187

**Diversidade e potencial enzimático de fungos
filamentosos isolados do solo, semi-árido, Pernambuco, Brasil**

Luciana Gonçalves de Oliveira

Membros examinadores:

Recife, 03/07/2009

Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti (Orientadora- UFPE)

Tatiana Baptista Gibertoni (UFPE)

Galba Maria de Campos-Takaki (UNICAP)

Ricardo Kenji Shiosaki (Faculdade de Integração do Sertão)

Maria Tereza dos Santos Correia (UFPE)

Membros Suplentes:

Maria Aparecida Resende (UFMG)

Neiva Tinti de Oliveira (UFPE)

*À minha família
Dedico*

Agradecimentos

A Universidade Federal de Pernambuco e Universidade de Kaiserslautern (Alemanha).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e ao DAAD (Germany Academic Exchange Service) pelo suporte financeiro.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) pela autorização das coletas do solo na área estudada.

Gostaria de expressar minha gratidão aos professores Dra. Maria Auxiliadora Cavalcanti, Prof. Dr. Timm Anke, Prof. Dr. Heidrum Anke e Prof. Dr. Luís Antelo pelas valiosas orientações, ajuda profissional e sugestões durante este estudo.

Às professoras Maria José Fernandes e Débora Lima pela ajuda valiosa na identificação dos fungos dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*.

Ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco e ao “Institut of Biotechnology Drug research (IBWF)” da Universidade Técnica de Kaiserslautern pelo suporte físico.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos.

Meus agradecimentos aos colegas de classe de Doutorado Leonardo Rolim, Michelle Rose, Maryluce Albuquerque e Marcia Pontes.

Aos amigos de laboratório Michelline Lins, Eduardo Ricarte, Felipe Reis, Márcia Assunção, André Santiago, Ivone, Josilene, Silvia Azedo, Daniela Gomes e Flávia Paco pelo convívio.

À Dra. Walquiria Almeida pela ajuda na análise estatística.

Aos técnicos da Univerisdade Técnica de Kaiserslautern: Michael Becker, Petra Gensinger e Annja Meffert pelo apoio e ajuda durante a permanência na Universidade Técnica de Kaiserslauternn.

Aos amigos Luis Antelo e Nicola Paulo pela amizade.

Minha gratidão aos meus pais (Fátima e Cardoso), minhas irmãs e ao meu marido (Charles Henrique) pela paciência durante o período desse estudo.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização desse trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO	16
REVISÃO DE LITERATURA	19
Fungos em solos tropicais	19
O semiárido e o bioma Catinga	20
Fungos em ambientes áridos	22
Enzimas	24
Histórico e Conceito	24
Fenoloxidases	25
Lacase	26
Peroxidase	28
Lignina	28
REFERENCIAS	31
CAPÍTULO 1: Diversidade de fungos filamentosos isolados do solo em área do semiárido, Pernambuco, Brasil.	46
Abstract	48
Introdução	49
Material e Métodos	51
Área de estudo	51
Coleta do solo	51

Análise do solo	52
Isolamento, purificação e identificação dos fungos	52
Análise estatística	53
Resultados	54
Discussão e Conclusões	55
Agradecimentos	58
Referências Bibliográficas	58
 CAPÍTULO 2: Novas ocorrências de <i>Pestalotiopsis palustris</i> (Nag Raj) e <i>Pestaloziella artocarp</i> Nag Raj & W.B. Kendr. para América Latina e do Sul”	 71
Abstract	72
Introdução	72
Material e Métodos	73
Taxonomia	73
Agradecimentos	74
Literatura citada	74
 CAPÍTULO 3: Produção de Lacase e Peroxidase por fungos filamentosos do solo em área do semi-árido, Pernambuco, Brasil	 76
Abstract	75
1. Introdução	79
2. Material e Métodos	81
2.1 Microrganismos	81
2.2 Meio de cultura e condições de cultura	81
2.3 Métodos analíticos	82
2.4 Teste enzimático	82

2.5 Efeito do pH e temperatura	82
3. Resultados	83
3.1 Atividade qualitativa de lacase e peroxidase	83
3.2 Atividade quantitativa de lacase e peroxidase	83
3.2 Efeito do pH e temperatura	84
4. Discussão	87
5. Agradecimentos	89
6. Referências Bibliográficas	90
CONCLUSÕES GERAIS	98
ANEXOS	99

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Localização geográfica do Vale do Catimbau, Buíque 66

Figura 2: Dados de precipitação da área de estudo 67

Capítulo 2

Figura 1: *Pestalotiopsis palustris*: A. Conidio com 2 apêndices; B. Conidio com 3 apêndices; C. Conidio com 4 apêndices. Bar: 10 µm. 74

Figura 2: *Pestalozziella artocarpi*: A–B. Conidio com 2 apêndices; C. Conidio com 3 apêndices. Bar: 20 µm. 75

Capítulo 3

Figura1: Atividade quantitativa da lacase em diferentes meios de cultura e tempo de cultivo. 96

Figura 2: Atividade quantitativa da Peroxidase em diferentes meios de cultura e tempo de cultivo. 96

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1:

Tabela 1: Características químicas e granulométricas do solo no Vale do Catimbau, Buíque (PE). 67

Tabela 2: Unidades formadoras de colônia de fungos anamórficos isolados do solo do Vale do Catimbau, Buíque, PE. 68

Tabela 3: Unidades formadoras de colônia de Zygomycota isolados do solo do Vale do Catimbau, Buíque, PE 70

Tabela 4: Unidades formadoras de colônia de Ascomycota isolados do solo do Vale do Catimbau, Buíque, PE 70

Capítulo 3:

Tabela 1: Atividade das enzimas lacase e peroxidase de fungos filamentosos do solo. 95

RESUMO

Os fungos compreendem um grupo heterogêneo de microrganismos, atuando como sapróbios, parasitas e simbiontes. Como sapróbios, podem viver em diversos ambientes, especialmente no solo. Este trabalho teve como objetivos o isolamento, identificação e atividade enzimática (lacase e peroxidase) de fungos filamentosos do solo do Vale do Catimbau, semi-árido pernambucano. Quatro coletas de solo foram feitas durante os períodos chuvosos (2) e de estiagem (2). Foram identificadas 87 espécies de fungos filamentosos pertencentes aos fungos anamorfos (74), Zygomycota (8) e Ascomycota (6). *Penicillium* e *Aspergillus* predominaram com 28 e 18 espécies, respectivamente. *Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *Fusarium solani*, *Penicillium commune*, *P. decumbens*, *P. restrictum*, *P. verruculosum* e *P. waksmanii* foram classificados como abundantes. Não foram observadas diferenças significativas entre as unidades formadoras de colônia em relação aos períodos chuvoso e de estiagem e às superfícies e profundidade do solo. O Índice de Diversidade de Shannon-Wiener foi de 4,84 bits por indivíduo. Das espécies identificadas, *Pestalotiopsis palustris* e *Pestalotziella artocarp*i estão sendo citadas pela primeira vez para as Américas do Sul e Latina, respectivamente. Trinta e duas espécies foram testadas quanto à atividade enzimática, onde 22 e 27 foram positivas para a lacase e peroxidase, respectivamente. *Chaetomium globosum* apresentou melhor atividade lacase, enquanto *Pithomyces chartarum* revelou melhor atividade para peroxidase. O pH ótimo para atividade lacase foi 3,0 em *Pithomyces chartarum* e, 4,5 em *C. pallescens* para peroxidase. A temperatura ótima foi observada em *C. globosum* foi 70°C por 60 min para lacase e, 50°C por 60 min em *Mirothecium roridum* para peroxidase. *Curvularia pallescens*, *Pestalotiopsis palustris*, *Pestalotziella artocarp*i e *Scopulariopsis chartarum* estão sendo citadas como primeiro registro com atividade para fenoloxidasas. Os resultados desta pesquisa indicam que os fungos anamórficos predominam no solo do Vale do Catimbau e que as espécies testadas quanto a produção de fenoloxidasas são promissoras para a biotecnologia.

Palavras-chave: semiárido, fungo do solo, lacase, peroxidase, pH, temperatura.

ABSTRACT

The fungi comprise an heterogeneous group of microorganisms, acting as saprobes, parasites, and symbiotic. As saprobes, they can live in many environments, mainly in the soil. The aim of this work was to isolate, to indentify and to do the enzymatic characterization of laccase and peroxidase of soil fungi from the Vale do Catimbau, semi-arid of Pernambuco. Four collections of fungi were made during the rain and seasons. Eighty-seven species of filamentous fungi were identified and belonged to species of anamorphic fungi (74), Zygomycota (8), and Ascomycota (6). Species of *Aspergillus* and *Penicillium* were the most diverse with 28 and 18 species, respectively. *Aspergillus ivgariveivde*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *Fusarium solani*, *Penicillium commune*, *P. decumbens*, *P. restrictum*, *P. verruculosum* and *P. waksmanii* were classified as abundant. No significant differences were observed between the number of colony forming units in relation to the rainy and dry seasons and to the surface and depth of the soil. The Shannon-Wiener Diversity index was 4,84 bits per individual. Among the species identified, *Pestalotiopsis palustris* and *Pestalozziella artocarp*i are new records for South and Latin America, respectively. Thirty two species were tested for enzymatic activities, 22 and 27 were positives for laccase and peroxidase, respectively. *Chaetomium globosum* was the best for lacase and *Pithomyces chartarum* for peroxidase. The best optimum pH for lacacase activity was 3.0 for *Pithomyces chartarum*, and 4.5 for *Curvularia pallescens* for peroxidase . The optimum temperature was observed in *C. globosum* (70°C 60 min) for lacase, and.50 °C for 60 min for *Myrothecium roridum* for peroxidase. *Curvularia pallescens*, *Pestalotiopsis palustris*, *Pestalozziella artocarp*i and *Scopulariopsis chartarum* are new reports for phenol oxidases activities. The results indicate that the anamorphic fungi are common on the Vale do Catimbau soil and the species tested for phenolxidases are useful for biotechnology.

Key-words: soil fungi, semi-arid area, laccase, peroxidase, pH, temperature

INTRODUÇÃO

Os fungos compreendem um grupo heterogêneo de microrganismos heterotróficos atuando como sapróbios, parasitas e simbiontes. Podemos encontrá-los em vários habitats, como por exemplo: água doce e ou salgada, solo, folheto, em restos de plantas e animais, estrume (fezes), alimentos, plantas e animais vivos, inclusive no homem (Dix & Webster, 1995). Nesses ambientes, os fungos influenciam e são influenciados pelos demais organismos e por fatores físicos e químicos (Dix & Webster, 1995; Maia, 1998). Estes microrganismos são importantes componentes dos ecossistemas, nutrindo-se de matéria orgânica em decomposição, sendo imprescindível na ciclagem de minerais e do ciclo do carbono (Hogg & Hudson, 1966; Harley, 1971; Triska et al., 1975; Suberkropp & Klug, 1976; Moore-Landecker, 1996).

A maioria dos fungos vivem como sapróbio em praticamente todos os ambientes, principalmente no solo (Gusmão & Maia, 2006). O papel que os fungos desempenham no solo é extremamente complexo devido as diversas funções que apresenta. Do solo, os fungos são isolados e utilizados para as mais diferentes finalidades, como a produção de metabólitos, sendo, portanto, um substrato que não pode ser desprezado do ponto de vista biológico (Cardoso et al., 1992; Bridge & Spooner, 2001).

Estima-se que existam cerca de 1,5 milhões de espécies de fungos no mundo, distribuídas por todas as regiões do globo, embora muitas tenham sua distribuição restrita e sejam limitados por algum tipo particular de habitat. Dentre essas espécies, apenas 70.000 são descritas, ou seja, apenas 5% delas são conhecidas (Hawksworth, 1991, 2001; Dix & Webster, 1995; Hawksworth & Rossman, 1997). Por outro lado, Kirk et al. (2008) relatam a existência de 97.861 mil espécies de fungos descritas nos diferentes grupos taxonômico.

O estudo sobre a diversidade dos fungos em regiões temperadas é bem mais conhecido do que em regiões tropicais, porém a micota é geralmente maior nos trópicos e subtrópicos do que em altas latitudes, especialmente entre fungos decompositores. Nos trópicos, os fungos ainda constituem um universo a ser explorado. Dessa forma, trabalhos nesse contexto podem ser aplicados na sustentabilidade da agricultura, na produção de novos metabólitos bioativos e enzimas de interesse biotecnológico, apresentando também relevância para o conhecimento sobre a biodiversidade (Lodge 1997, Hyde 1997).

Há várias pesquisas que relatam a diversidade de fungos em ecossistemas brasileiros. No Cerrado, estima-se que exista cerca de 40.000 espécies. Na Caatinga, 451 espécies são relatadas em diferentes áreas do semi-árido do nordeste brasileiro; enquanto, trabalhos na Floresta Atlântica são pontuais e o número total de taxa é conhecido como isolados do solo (Ratter et al., 1997; Maia & Gibertoni, 2002; Schoenlein-Crusius et al., 2006).

A diversidade de fungos nos ecossistemas tem sido estudada por diferentes metodologias. A mais comum refere-se à coleta e ao isolamento de organismos a partir dos vários tipos de substratos, usando-se meios de cultura sob condições de laboratório. Isso permite o conhecimento sobre os fungos existentes em um determinado local, por um período definido de tempo. No entanto, sabe-se que por mais perfeito que se aparente ser, nenhum método é inteiramente eficaz para avaliar a diversidade de fungos em um ecossistema. Contudo, é difícil afirmar em termos absolutos o número de espécies presentes no solo devido a técnicas disponíveis para o isolamento e detecção de fungos do solo serem limitadas. (Bridge & Spooner, 2001; Maia et al., 2002).

Os fungos são diversos tanto em morfologia quanto em fisiologia e ecologia, e grande parte deles são conhecidos por apresentarem impacto negativo como agentes de

doenças em plantas, biodeterioração bem como patógenos de animais. Entretanto, algumas espécies como exemplo de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Saccharomyces* , são conhecidas por serem utilizadas de maneira benéfica através da produção de ácidos orgânicos, cervejas, enzimas, entre outros. Os fungos secretam uma variedade de enzimas no substrato. Estas enzimas são proteínas essenciais para o metabolismo de muitos seres vivos; elas são especializadas em reações biológicas, aumentando a velocidade da reação química e não interferem no processo biológico (Bennet, 1998).

As enzimas têm sido usadas em diferentes processos industriais, tais como processamento de alimentos e biorremediação. Dentre as enzimas envolvidas nos processos ambientais e na remoção de poluentes industriais, destacam-se o grupo das fenoloxidasas, tais como as lacases e peroxidases que podem ser utilizadas devido à sua capacidade de remover compostos fenólicos e degradar produtos xenobióticos do ambiente (Gray & William, 1975; Winter & Zimmermann, 1992; Ikehata, 2004).

Diante da necessidade do conhecimento da diversidade de fungos e de seu potencial enzimático no Bioma Caatinga, verificou-se a importância de realização deste estudo, objetivando o isolamento, a identificação e a caracterização enzimática quanto à atividade da lacase e peroxidase de fungos filamentosos isolados do solo do Parque Nacional do Vale do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

REVISÃO DE LITERATURA

Fungos em solos tropicais

O solo é o habitat mais rico em espécies de fungos que geralmente se distribuem segundo a disponibilidade da matéria orgânica. Essa particularidade tem influência nas características físicas e químicas do solo e, conseqüentemente, na desigual distribuição das espécies nos seus diferentes perfis. Fatores como a agregação e tamanho das partículas do solo também podem influenciar a diversidade desses organismos (Dix & Webster, 1995; Kang & Mills, 2006).

Estudos sobre fungos do solo em áreas tropicais foram desenvolvidos principalmente nas Américas do Sul (Brasil, Colômbia e Peru) e Central (Costa Rica, Panamá, Honduras, Jamaica e Bahamas), em que predominam os Hyphomycetes (fungos anamorfos) (Farrow, 1954; Goss, 1960, 1963; Robinson, 1970; Gochenaur, 1970, 1975; Rogers, 1971; Alexopoulos et al., 1996). Giller et al. (1997) relataram a importância de estudos de fungos nos trópicos, que precisam ser mais intensificados em virtude da maior diversidade de espécies em comparação às regiões temperadas.

Nenhum levantamento sobre o número total de fungos isolados do solo foi realizado (Bridge & Spooner, 2001), embora existam vários trabalhos pontuais sobre o assunto. Gilman (1957) mencionou 700 espécies e muitas foram incluídas por Barron (1972) em seu trabalho. Watanabe (1994) e Domsch et al. (2007) sugeriram que em média 1.200 espécies foram isoladas do solo. Porém, estima-se que em torno de 7.000 espécies podem ser consideradas como fungos do solo (Bridge & Spooner, 2001).

Informações sobre fungos filamentosos do solo no Brasil foram primeiramente disponibilizadas por Batista e colaboradores, em uma série de publicações do Instituto

de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco (IMUR), que foram compilados por Silva & Minter (1995). Tauk-Tornisielo et al. (2005) referiram que muitos pesquisadores têm demonstrado interesse em contribuir para a implementação do banco de dados sobre os fungos filamentosos deste habitat, principalmente na região Sudeste do Brasil.

Em áreas de Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco, Maia et al. (2006) listaram 42 táxons de fungos filamentosos dos quais 37 eram Ascomycota e cinco Zygomycota, sendo o gênero *Penicillium* o mais representativo. Tauk-Tornisielo et al. (2005) relataram a diversidade de fungos filamentosos do solo em área de Floresta Atlântica do Estado de São Paulo sendo identificadas 112 espécies de fungos pertencentes a 15 gêneros dos quais *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Gliocladium* e *Paecilomyces* foram mais abundantes.

O semiárido e o bioma Caatinga

O Semi-árido corresponde a uma das seis grandes zonas climáticas do Brasil e ocupa cerca de 800.000 Km², totalizando 11% do território nacional e 58% do território nordestino (Andrade, 1977; Sampaio & Rodal, 2000; Drumond et al., 2004). O clima nessa região é semi-árido, do tipo BSh, conforme o sistema de classificação de Köppen, quente, com baixa pluviosidade (entre 250 e 800 mm anuais). O número de meses de seca aumenta da periferia para o centro da região (Nimer, 1972). Existem duas estações distintas durante o ano: a estação chuvosa, de 3 a 5 meses, com chuvas irregulares, torrenciais, locais, de pouca duração, e a época seca, de 7 a 9 meses, quase sem chuvas. O início da época de chuvosa varia bastante entre as diferentes regiões do Nordeste e oscila também dentro de uma mesma região, de um ano ao outro. A quantidade de

chuvas pode alcançar, em anos de alta pluviosidade, até 1.000 mm/ano e em anos de seca, apenas 200 mm/ano, em certas regiões. Ocorrem, com certa regularidade, as chamadas “secas verdes”, ou seja, anos com quantidade muito baixa de chuvas. A temperatura média oscila entre 24 e 26 °C e varia pouco durante o ano. A insolação é muito forte, visto que a região situa-se perto do Equador. Ainda ocorrem, na época sem chuvas, ventos fortes e secos que contribuem para a aridez da região (Sampaio, 1995; Maia, 2004).

O clima colabora para uma das características marcantes da região semi-árida, a deficiência hídrica dos solos, que é originária tanto da baixa pluviosidade, elevada evapotranspiração e da má distribuição das chuvas ao longo do ano, aliado à baixa capacidade de retenção de água nos solos (Gusmão & Maia, 2006).

A Caatinga, bioma do semi-árido brasileiro, é um mosaico de arbustos espinhosos e florestas sazonalmente secas que cobre a maior parte dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e parte nordeste de Minas Gerais, no vale do Jequitinhonha. Estendendo-se por cerca de 735.000km², a Caatinga é limitada a leste e a oeste pelas Mata Atlântica e Amazônica, respectivamente, e ao sul pelo Cerrado (Leal et al., 2005).

O termo “Caatinga” é de origem Tupi e significa “floresta branca”, referindo-se ao aspecto da vegetação durante a estação seca, quando a maioria das árvores perde as folhas e os troncos esbranquiçados e brilhantes dominam a paisagem (Prado, 2003).

A Caatinga, como uma formação vegetal altamente ameaçada, está envolvida pela 21gar21 da improdutividade, segundo a qual seria uma fonte menor de recursos naturais. Essa 21gar21 parece estar sempre relacionada às áreas áridas e semi-áridas de todo o mundo. Comumente a Caatinga está associada ao fornecimento de recursos madeireiros e medicinais (Albuquerque & Andrade, 2002).

A Caatinga tem sido descrita como um ecossistema pobre em espécies e endemismos. Porém, estudos recentes têm desafiado esse ponto de vista e demonstrado a importância da Caatinga para a conservação da biodiversidade brasileira (Leal et al. 2003). Já foram registradas 932 espécies de plantas vasculares, 187 de abelhas, 240 de peixes, 167 de répteis e anfíbios, 62 famílias e 510 espécies de aves, 148 espécies de mamíferos e 451 de fungos na Caatinga, mas o número real de espécies de seres vivos nesse ecossistema é, provavelmente, ainda maior, uma vez que 41% da região nunca foi investigada e 80% permanece subamostradas (Tabarelli & Vicente, 2004; Maia & Gibertoni, 2002).

Fungos em ambientes áridos

Alguns trabalhos sobre isolamento de fungos do solo foram desenvolvidos em áreas desérticas do Oriente Médio, da Arábia Saudita, Israel, e do Iraque (Feuerman et al., 1975; Abdel-Hafez, 1982; El-Dohlob & Al-Helfi, 1982; Abdullah et al., 1986; Abdullah & Al-Bader, 1990; Mouchacca, 2005).

No Brasil, poucos são os trabalhos que relatam a diversidade de fungos filamentosos na Caatinga: Cavalcanti & Maia (1994) estudaram fungos filamentosos celulolíticos em solo de zona semi-árida em Pernambuco, constatando a diversidade de fungos conidiais, principalmente de espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*; Souza et al. (2003) identificaram 24 táxons de fungos micorrízicos arbusculares na Região Xingó, nordeste brasileiro; Cavalcanti et al. (2006) estudaram fungos de solo e relataram a predominância de espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* na mesma região; Costa et al. (2006) estudaram Hyphomycetes em áreas afetadas por mineração, no município de Jaguarari, estado da Bahia (BR), observando 16 espécies, sendo *Staphylotrichum*

coccosporum e *Stilbella sebaceae* novos registros para o Brasil; Santiago e Souza-Motta (2006) estudando Mucorales na mesma região observaram maior número de espécies para o gênero *Absidia*.

Em estudos de fungos conidiais em folhedos realizados no semi-árido do Brasil, Gusmão et al. (2005) descreveram sete espécies de *Curvularia*, sendo seis novos registros para o semi-árido nordestino; Barbosa et al. (2007) relataram novas espécies de *Deightoniella rugosa* e *Diplocladiella cornitumida* em folhedos da Serra da Jibóia, Bahia; Marques et al. (2007) isolaram e identificaram *Cubasina microspora* e *C. albofusca* constituindo novos relatos para a América do Sul; da Cruz et al. (2007) relataram *Subramaniomyces pucher* como espécie nova para Buíque, Pernambuco..

Em levantamento sobre fungos registrados no semi-árido nordestino Maia & Gibertoni (2002) mencionaram 451 espécies, correspondendo a 203 gêneros de Ascomycota, Deuteromycotina, Oomycota e Zygomycota (Glomales).

Os Ascomycota cuja ocorrência foi analisada compreendem em sua quase totalidade espécies epifíticas coletadas em plantas da caatinga e em plantas introduzidas no semi-árido nordestino da Bahia, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, e Ceará. Dentre as espécies de Ascomycota encontradas no semi-árido nordestino destacam-se representantes das ordens: Dothideales (69), Meliolales (23), Asterinales (20), Xylariales (17), Phyllachorales (15), Sordariales (05), Hypocreales (04), Patellariales (03), Diatporales, Leotiales e Pezizales (02), Dyatrypales, Eurotiales, Rhytismatales, Saccaromycetales e Trichosphaeriales (1) (Gusmão & Maia, 2006).

Dentre os Basidiomycota registrados no semi-árido, Drechsler-Santos et al. (2009) fizeram uma compilação dos trabalhos realizados neste ambiente e observaram a existência de 37 espécies pertencentes a seis ordens: Agaricales, Auriculariales, Gloeophyllales, Hymenochaetales, Polyporales e Russulales. Drechsler-Santos et al.

(2010) estudaram a diversidade de Hymenochaetaceae sua relação com plantas nativas da Caatinga onde 14 espécies assinaladas com predominância de espécies de *Phellinus* (11).

Gusmão & Maia (2006) informam que através de estudos recentes o número de fungos no semi-árido aumentou para 955. O grupo mais representativo foi o dos fungos conidiais (407), seguido pelos Filos Ascomycota (179), Basidiomycota (125), Myxomycota (97), Glomeromycota (52), Oomycota (42), Chytridiomycota (34) e Zygomycota (18) .

Enzimas

Histórico e Conceito

Muito da história da bioquímica se deve ao estudo das enzimas. O nome enzima provém de “in yeasts”, no qual suspeitava-se que as catálises biológicas estavam envolvidas com a fermentação do açúcar em álcool. A primeira descoberta foi feita por Payen & Persoz em 1833, quando encontraram uma substância termolábil no precipitado do álcool, extrato de malte, que convertia amido em açúcar, mais tarde denominada amilase. Pasteur em 1860 postulou que as enzimas estão associadas à estrutura e a vida da célula. Em 1877 Buchener obteve sucesso na extração de enzimas de células de leveduras que catalisavam a fermentação. Isto demonstrou que estas enzimas catalisavam a maioria das vias metabólicas energéticas e podem funcionar independentemente da sua estrutura. Na década de 1880, Pasteur deduziu que a fermentação do açúcar em álcool pelas leveduras era catalizada por “fermentos”. Em 1897 Buchner descobriu que o extrato de levedura poderia fermentar o açúcar em álcool, provando que a fermentação era feita por moléculas que continuam funcionar

quando são removidas das células. Kohn chamou essas moléculas de enzimas. A enzima foi primeiramente isolada na forma cristalina, mas isto foi compreendido melhor quando Sumner em 1926 isolou 25g de feijão e evidenciou que estes cristais consistem em proteínas. Atualmente 2000 diferentes enzimas são conhecidas, algumas isoladas na forma pura homogeneizada e 200 na forma cristalizada (Lehninger et al., 1995; Lehninger et al., 2005).

As enzimas são proteínas especializadas em catalisar reações biológicas, ou seja, aumentam a velocidade de uma reação química sem interferir no processo. Elas estão associadas a biomoléculas, devido as suas extraordinárias especificidades e poder catalítico (Lehninger et al., 1995).

Fenoloxidasas

Fenoloxidase catalisa a oxidação de vários compostos aromáticos (mono, di e polifenóis, aminofenóis e diaminas) pela redução de oxigênio molecular em água. Esta enzima está provavelmente envolvida no metabolismo da lignina, um polímero complexo tri-dimensional composto de subunidades de fenilpropano interconectado por diferentes ligações carbono-carbono e carbono-oxigênio-carbono (Giardina et al., 1995).

Polifenol oxidases (fenoloxidasas) são encontradas na maioria dos organismos vivos incluindo plantas, animais, bactérias e fungos. Em plantas, estão envolvidas no mecanismo de defesa; em insetos, polifenoloxidasas estão responsáveis pela formação do exoesqueleto; nos animais são importantes no processo de pigmentação; nos fungos estão responsáveis pela degradação da lignina, morfogênese do micélio, detoxificação de compostos tóxicos e formação de pigmentação. Seu peso molecular varia de acordo com a fonte da enzima, por exemplo, em plantas, fenol oxidases tem aproximadamente

144.000 Da., em fungos polifenoloxidase tem 128.000 Da., mas em alguns fungos algumas tem peso molecular variando de 46.000 a 88.000 Da.(Whitaker, 1994).

Há três tipos de polifenoloxidases (fenoloxidases) que são classificadas de acordo com sua habilidade de oxidar diferentes tipos de compostos fenólicos. Dentre elas, podemos encontrar enzimas envolvidas no processo de remoção de poluentes ambiental e industrial tais como lacase e peroxidase que podem ser utilizadas devido à sua capacidade de remover compostos fenólicos e xenobióticos (Winter & Zimmermann, 1992; Ikehata, 2004).

De acordo com a temperatura, o valor ótimo para a atividade de fenoloxidase varia numa ampla faixa. Por exemplo, em *Trichoderma harzianum*, *Lepista 26gar26e26* e *Pleurotus ostreatus* a temperatura ótima para atividade varia de 35°C, 45°C, 60°C, respectivamente (Palmieri et al., 1993; Cavallazzi et al., 2004; Sadhasivam et al., 2008).

Quanto ao pH, a maioria dos fungos preferem ambientes ácidos, mas podem tolerar ampla faixa de pH. Valores ótimo de pH de fenoloxidases também variam dependendo da fonte do organismo. Por exemplo, em fungos comestíveis, o pH ótimo está na região ácida (3.0-4.5), mas para fungos da família Chaetomiaceae do solo o pH está na faixa da neutralidade (7.0) (Tuomela et al., 2000; Morisaki et al., 2001; Saito et al., 2003).

Lacase

Multicobre oxidases (MCOs) compreendem a família das enzimas da lacase [EC 1.10.3.2], ferroxidases ou ceruloplasmina [EC 1.16.3.1] e ácido ascórbico oxidase [EC 1.10.3.3]. Esta família pertence ao diverso grupo de proteínas azuis de cobre que contêm quatro átomos de cobre por molécula e cerca de 100>1000 resíduos de aminoácidos numa simples cadeia de peptídeo. MCOs têm a habilidade de oxidar a

dupla ligação do substrato pela redução de quatro elétrons do oxigênio molecular em água (Hoegger et al., 2006).

Lacase é uma das poucas enzimas que tem sido estudada desde o final do século XIX. É uma multicobre oxidase amplamente distribuída entre plantas, insetos e fungos. Alguns estudos relatam a existência de proteínas pertencentes à família de multicobres oxidases em procariotos, por exemplo, em bactérias gram-negativas e gram-positivas. Mas, a maioria das lacases é encontrada em eucariotos. Em fungos, elas têm sido encontradas em diferentes grupos taxonômicos, por exemplo, Zygomycetes e Chytridiomycetes, porém nesses grupos não há estudos detalhados. Por outro lado, há muitos trabalhos que relatam a produção de lacase por Ascomycetes; em alguns fungos conidiais do solo como os gêneros *Aspergillus*, *Curvularia* e *Penicillium*; em poucos ascomicetos aquáticos e na maioria dos basidiomicetos. (Claus, 2004; Baldrian, 2006; Hao et al., 2007).

Lacases de origem fúngica têm muitos papéis como a morfogênese, a interação fúngica planta-patógeno/hospedeiro, defesa ao estresse, degradação da lignina e na pigmentação conidial de ascomicetos filamentosos (*Aspergillus nidulans* e *A. fumigatus*), leveduras ascomicéticas e de Basidiomycetes (Baldrian, 2006; Hoegger et al., 2006).

Lacase tipicamente contém quatro átomos de cobre (embora haja lacases com menos átomos de cobre) que confere cor azul. Ela catalisa a redução de oxigênio em água acompanhada pela oxidação do substrato, tipicamente um p-dihidrol ou outro composto fenólico, retornando ao estado nativo (Hamell, 1997; Baldrian, 2006).

O uso da lacase no branqueamento tem sido investigado e o estudo na biorremediação tem sido proposto, devido a sua reação básica. A aplicação prática da

lacase tem sido pesquisada como fonte de enzima produzida por fungos, usando mediadores, que promove ou facilita a ação enzimática (Mayer & Staples, 2002).

Peroxidase

Peroxidases (H_2O_2 , oxidoreductase [EC 1.11.1.7.]) são enzimas que utilizam peróxido de hidrogênio ou outros peróxidos para catalisar o radical livre a partir da oxidação de uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos. Elas catalisam a oxidação de mono, difenóis e aminas aromáticas em quinonas altamente tóxicas. São um grupo de enzimas, heme-proteínas que ocorre em plantas, animais e microrganismos e, sua especificidade e função biológica variam com as fontes da enzima (Saloheimo & Niku-Paavola, 1991; Score et al., 1997; Nakayama & Amachi, 1999).

Peroxidase tem atraído atenção industrial devido sua utilidade na medicina como catalisador nos exames clínicos e tem sido altamente usada em processos biorremediação, especialmente em tratamento de resíduos industriais (Anni & Yonetani, 1992; Karam & Nicell, 1997; Nakayama & Amachi, 1999; Durán & Espósito, 2000; Ikehata et al., 2004).

As reações catalisadas por peroxidase e lacase são muitos similares, ambos os tipos de enzimas oxidam compostos fenólicos e aminas aromáticas via oxidação de um elétron, criando radicais. Dentre as diferenças dos grupos prostéticos, a lacase também difere da peroxidase por ter baixo potencial oxidativo (Heinzkill et al, 1998).

Lignina

Lignina (Latim *lignum*= madeira) é um dos mais abundantes e amplamente distribuído na biosfera. Ela é formada via polimerização oxidativa de monolignóis. O componente da lignina compreende cerca de 20-30% do

peso seco da madeira das plantas. Cerca de 70-90% da lignina dos vegetais ocorre nas paredes celulares primárias e secundárias, enquanto a lamela média detém o restante com 10-30% da lignina. A lignina confere proteção contra infecção por microrganismos patógenos de plantas. Além disso, a degradação ou modificação da barreira da lignina é fator importante na utilização da celulose e hemicelulose dos vegetais que são utilizadas como alimento para ruminantes e como substrato para a produção de combustíveis e compostos orgânicos. A degradação da lignina é também importante no ciclo global do carbono devido a sua grande abundância na biosfera e porque ela é um fator limitante importante na taxa da degradação de celulose e outros polissacarídeos encontrados nas plantas. A utilização da moderna biotecnologia ajuda remover a lignina presente no ambiente permitindo, conseqüentemente, à utilização de bilhões de toneladas de biomassa lignocelulósica produzido anualmente na biosfera. Um eficiente processo microbiológico para a remoção da lignina seria extremamente útil para indústrias papeleira e polpa de frutas com baixo custo através da delignificação da madeira (Boominathan & Reddy, 1992; Mayer & Staples, 2002).

Os fungos envolvidos na degradação da lignina são classificados em três grupos baseado no tipo decomposição causado por esses microrganismos: fungos da podridão branca, fungos da podridão parda e fungos da podridão leve (alveolar). As razões para a utilização dos organismos no estudo da degradação da lignina incluem rápido crescimento e metabolismo da lignina, habilidade de crescer a temperatura ótima relativamente alta (40°C), habilidade produzir conídios e basidiósporos, importantes vantagens para o estudo genético e biologia molecular, habilidade de crescer em meio de cultura quimicamente definido, existência do conhecimento prévio da sua ecologia, fisiologia, bioquímica, biologia molecular e genética (Boominathan & Reddy, 1992).

A biodegradação da lignina tem diversos efeitos na qualidade do solo: a degradação microbiana do folheto resulta na formação de húmus e a lignólise provavelmente facilita esse processo pela formação de precursores aromático do húmus (lignina degradada incompletamente, 30gar30e30de30i, terpenos, lignanos, taninos condensados e uberinas) do folheto (Hammel, 1997).

Fungos filamentosos superiores são dominantes na decomposição de madeira, permitindo a atividade enzimática e a capacidade de penetração da hifa na madeira. Alguns Ascomycetes e fungos mitospóricos são agentes causadores da podridão leve, um tipo de degradação da madeira comumente encontrado em ambientes inundados (Eriksson et al. 1990 *apud* Luo et al., 2005).

REFERENCIAS

ABDEL-HAFEZ, S. I. I. 1982. Survey of the mycoflora of desert soils in Saudi Arabia.

Mycopathologia, v. 80, p. 3-8.

ABDULLAH, S. K.; AL-BADER, S. M. 1990. On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of Iraqi soils. **Sydowia**, v. 42, p. 1-7.

ABDULLAH, S. K.; AL-KHESRAJI, T. O.; AL-EDANY, T. Y. 1986. Soil mycoflora of the Southern desert of Iraq. **Sydowia**, v. 39, p. 8-16.

ALBUQUERQUE, U. P., ANDRADE, L. H. C. 2002. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 16, n. 3, p. 273-285.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4th ed, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996.

ANDRADE, G. O. **Alguns aspectos do quadro natural do Nordeste**. Minter-SUDENE, Recife, 1977.

ANNI, H; YONETANI, T. Mechanism of action of peroxidases. *In*: SIGEL, H.; SIGEL, A. Metal ions in biological systems. V. 28, New York: Marcel Dekker, 1992, 616p.

BALDRIAN, P. 2006. Fungal lacase- occurrence and properties. **FEMS Microbiol Há**, v. 30, p. 215–242.

BARBOSA, F. R.; GUSMÃO, L. F. P.; RUÍZ, R.F. C.; MARQUES, M.F.O.; MAIA, L. C. 2007. Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. New species *Deightoniella rugosa* & *Diplocladiella cornitumda* with new records for the neotropics. **Mycotaxon**, v. 102, p. 39-49.

BARRON, G. I. The genera of Hyphomycetes from soil. Robert E. Krieger, New York, 1972.

BENNETT, J. W. 1998. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. **Journal of Biotechnology**, v 66, pp. 101-107.

BOOMINATHAN, REDDY, C. A. 1992. Fungal Degradation of Lignin: Biotechnological Applications. **In: Handbook of Applied Mycology**. Eds. ARORA, D., ELANDER, R., MUKEKERJI, K.G. Fungal Biotechnology. Marcel Dekker, New York. Vol. 4: 763-822.

BRIDGE, P.; SPOONER, B. 2001. Soil fungi: diversity and detection. **Plant and soil**, v. 232, p. 147–154.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1992.

CAVALAZZI, J. R. P.; OLIVEIRA, M. G. A.; KASUYA, M. C.M. 2004. Laccase production by *Leptista sordid*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35,p. 261-263.

CAVALCANTI, M. A. Q.; MAIA, L. C. 1994.Cellulolytic fungi isolated from 33gar33e33d soil in semi-arid area of the northeast of Brazil. **Revista de Microbiologia**, v.25, p. 251-254.

CAVALCANTI, M. A. Q.; OLIVEIRA, L. G.; FERNANDES, M. J. S.; LIMA, D. M. M. 2006.Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na Região Xingó, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 53, p. 831-837.

CLAUS, H. 2004. Laccases : Structure, reactions, distribuition. **Micron**, v. 35, p. 93-96.

COSTA, I. P. M. W.; CAVALCANTI, M. A. Q.; FERNANDES, M. J. S.; LIMA, D. M. M. 2006.Hyphomycetes from soil of an area affected by copper mining activities in the state of Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 290-295.

DA CRUZ, A. C. R.; GUSMÃO, L. F. P.; RUÍZ, R.F. C. 2007.Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. *Subramaniomyces pulcher* sp. Nov. and notes on *Sporidesmium circinophorum*. **Mycotaxon**, v. 102, p. 25-32.

DIX, N. I.; WEBSTER, J. **Fungal Ecology**. Cambridge, University. 1995.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W; ANDERSON, T.H. **Compendium of soil fungi**. San Francisco, Editora IHW- Verlag. 2007.

DRECHSLER-SANTOS, E. R , SANTOS P. J. P. ; GIBERTONI , T. B.; CAVALCANTI, M. A. Q. 2010. Ecological aspects of Hymenochaetaceae in an area of Caatinga (semi-arid) in Northeast Brazil. **Fungal Diversity**, v. 42, p.71–78.

DRECHSLER-SANTOS, E.R.; WARTCHOW, F; BASEIA, I.G.; GIBERTONI ,T.B.; CAVALCANTI, M.A.Q. 2008. Revision of the Herbarium URM I. *Agaricomycetes* from the semi-arid region of Brazil. **Mycotaxon**, v. 104, p. 9-18.

DRECHSLER-SANTOS, E. R.; VASCONCELOS-NETO, J. R. T. ; GIBERTONI, T. B.; GÓES-NETO, A.; CAVALCANTI, M. A. Q. 2007. Notes on *Navisporus*: *N. terrestris* and *Navisporus floccosus* from Brazil. **Mycotaxon**, v. 101, p. 265-269.

DRUMOND, M.A., KILL, L.H.P., LIMA, P.C.F., OLIVEIRA, M.C., OLIVEIRA, V.R., ALBUQUERQUE, S.G., Nascimento, C.E.S., Cavalcante, J. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da Caatinga, in: SILVA, J. M. C., TABARELLI, M., FONSECA, M. T., LINS, L. V. (Eds), **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**, Brasília. Ministério do Meio ambiente, pp. 329-340, 2004.

DURÁN, N.; ESPOSITO, E. 2000.Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. *Applied Catalysis B. Environmental*, 28, p.83-99.

EL-DOHLOB, S. M.; AL-HELFI, M. A. 1982. Soil fungi of the South Iraq. **Bas. Nat. Hist. Mus. Bull**, v. 5, p. 23-37.

FARROW, W. M. 1954. Tropical soil fungi. **Mycologia**, v. 46, p. 632-645.

FEUERMAN, E.; ALTERAS, I.; HÖNIG, E. LEHRER, N. 1975. The isolation of keratinophilic fungi from soils in Israel. A preliminary report. **Mycopathologia**, v. 56, p. 41-46.

GIARDINA, PAOLA; CANNIO, R.; MARTIRANI, L.; MARZULLO, L.; PALMIERI, G.; SANNIA G. 1995. Cloning and sequencing of a laccase gene from the lignin-degrading Basidiomycete *Pleurotus ostratus*. **Applied and Environmental microbiology**, v. 61, p. 2408-2413.

GILLER, K. E.; BEARE, M. H.; LAVELLE, P.; IZAC, A-M. N.; SWIFT, M. J. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Applied Soil Ecology**, v. 6, p. 3-16.

GILMAN, J. C. **A manual of soil fungi**. Second ed. Iowa State University Press, Iowa. 1957.

GOCHENAUR, S. E. 1970. Soil mycoflora of Peru. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 42, p. 259-272.

GOCHENAUR, S. E. 1975. Distributional patterns of mesophilous and thermophilous microfungi in two Bahamian soils. **Mycopathologia**, v. 57, p. 155-164.

GOSS, R. D. 1960. Soil fungi from Costa Rica and Panama. **Mycologia**, v. 52, p. 877-883.

GOSS, R. D. 1963. Further studies on soil fungi in Honduras. **Mycologia**, v. 55, p. 142-150.

GRAY, T.R.G.; WILLIAMS, S.T. **Soil microorganisms**. Logman, Lectures in Botany, The University of Liverpool. 1975.

GUSMÃO, L. F. P.; MAIA, L. C. **Diversidade e caracterização do semi-árido brasileiro**. Imsear, Recife. 2006.

GUSMÃO, L. F. P. ; BARBOSA F. R.; DA CRUZ , A. C. R. 2005. Espécies de *Curvularia* (Fungos anamórficos – Hyphomycetes) no semi-árido do Estado da Bahia, Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 5, p. 12-16.

HAMEL, K. E. 1997. Fungal degradation of lignin. Disponível em: <http://www.fpl.fed.us/documents/pdf1997/hamme97.pdf>. acesso em 11/08/08.

HAO, J.; SONG, F.; HUANG, F.; YANG, C.; ZHANG, Z.; ZHENG, Y.; TIAN, X. 2007. Production of laccase by a newly isolated deuteromycete fungus *Pestalotiopsis* sp. And

its decolorization of azo dye. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 34, p. 233-240.

HARLEY, J. L. 1971. Fungi in Ecosystems. **Journal of Ecology**, v. 59, p. 34-49.

HAWKSWORTH, D. L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. **Mycological Research**, v. 95, p. 641-655.

HAWKSWORTH, D. L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revised. **Mycological Research**, v. 105, p. 1422-1432.

HAWKSWORTH, D. L.; ROSSMAN, A. Y. 1997. Where are all the undescribed fungi? **Phytopathology**, v. 87, p. 888-891.

HEINZKILL, M.; BECH, L.; HALKIER, T.; SCHNEIDER, P.; ANKE, T. 1998. Characterization of laccase and Peroxidases from Wood-rotting Fungi (Family Coprinaceae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 1601-1606.

HOEGGER, P.; KILARU, S.; JAMES, T.; THACKER; KÜES, U. 2006. Phylogenetic comparison and classification of laccase and related multicopper oxidase protein sequences. **FEBS Journal**, v. 273, p. 2308-2326.

HOOG, B. M.; HUDSON, H. J. 1966. Microfungi on leaves of *Fagus sylvatica*. The microfungal sucessions. **Transactions of Britsh Mycological Society**, v. 49, p. 185-192.

HYDE, K. D. **Biodiversity of tropical microfungi**. Hong Kong University Press, Hong. 1997.

IKEHATA, K.; BUCHANAN, I. D.; SMITH D. W. 2004. Recent developments in the production of extracellular fungal peroxidases and laccases for waste treatment. **J. Environ. Eng. Sci.** v. 3. P. 1–19.

KANG, S.; MILLIS, A. L. 2006. The effect of sample size in studies of soil microbial community structure. **Journal of Microbiological Methods**, v. 66, p. 242-250.

KARAM, J.; NICELL, J. A. 1997. Potential Applications of Enzymes in Waste Treatment. **J. Chem. Tech. Biotechnol.**, v. 69, p.141-153.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi**. Centraalbureau voor Schimmelcultures, the Netherlands, 2008.

LEAL, I. R.; SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**, Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2003.

LEAL, I. R.; SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; LACHER JUNIOR, T. E. 2005. Mudando a o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. **Megadiversidade**, v.1, p. 139-146.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. Sarvier, São Paulo. 1995.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; MAX, M.M. **Principles of Biochemistry**. 4^oed., W. H. Freeman and Company, New York. 2005.

LODGE, D.J, 1997. Factors related to diversity of decomposer fungi in tropical forests. **Biodiversity and Conservation**, v. 6, 681-688.

LUO, W.; VRIJMOED, L. P.; JONES, E. B. G. 2005. Screening of marine fungi for lignocelluloses-degrading enzyme activities. **Botanica Marina**, v. 48, 379-386.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 1^a 39g, D&Z Computação Gráfica e Editora, São Paulo. 2004.

MAIA, L. C. Diversidade de fungos e líquens e sucessão fúngica na Reserva Ecológica Dois Irmãos. In: MACHADO, I. C.; LOPES, A. V.; PÔRTO, K. C. (39ga.). **Reserva Ecológica de Dois Irmãos: Estudos em um Remanescente de Mata Atlântica em Área Urbana (Recife–Pernambuco–Brasil)**. Editora Universitária da UFPE, Recife, Pp. 85-113. 1998.

MAIA, L. C.; CAVALCANTI, M. A. Q.; GILBERTONI, T. B.; GOTO, B. T.; MELO, A. M. M.; BASEIA, I. G.; SILVÉRIO, M. L. Fungos. In: PORTO, K. C.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; TABARELLI, M. (eds.). **Diversidade Biológica e Conservação da Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco**. 1º 40g. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. Pp. 75-106, 2006.

MAIA, L. C.; GILBERTONI, T. B. Fungos registrados no semi-árido nordestino. In: SAMPAIO, E. V.B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGINIO, J.; GAMARRA-ROJA, C., F., L. (eds.). **Vegetacao e flora da Caatinga**. Associação de Plantas do Nordeste – APNE, Centro Nordestino de Informações sobre plantas – CNIP, Recife, Pp. 163-176, 2002.

MAIA, L. C.; YANO-MELO, A. M.; CAVALCANTI, M.A. Diversidade de fungos no Estado de Pernambuco. In: Tabarelli, M.; Silva, J.M.C (eds.). **Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco**. Editora Massagana, Recife, Pp. 15-50,2002.

MARQUES, M.F.O.; BARBOSA, F. R.; GUSMÃO, L. F. P.; RUÍZ, R.F. C. MAIA, L. C. 2007. Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. *Cubasina microspora* sp. Nov., a note on *C. albofusca*, and some records for South America. **Mycotaxon**, v. 102, p. 17-23.

MAYER, A. M.; STAPLES, R. C. 2002. Laccase: new functions for an old enzymes. **Phytochemistry**, v. 60, p. 551-565.

MOORE-LANDECKER, E. **Fundamentals of the fungi**. Pentice- Hall Inc., New Jersey. 1996.

MORISAKI, K; FUSHIMI, T.; KANEKO, S. KUSAKABE,I. 2001. Screening for phenoloxidases from Edible mushrooms. **Bioscience biotechnology biochemistry**, v. 65, p. 2334-2336.

MOUCHACCA, J. 2005. Mycobiota of the arid Middle East: check-list of novel fungal taxa introduced from 1940 to 2000 and major recent biodiversity titles. **Journal of Arid Environment**, v. 60, p. 359-387.

NAKAYAMA T.; AMACHI T. 1999. Fungal peroxidase: its structure, function, and application. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 6, p.185–198.

NIMER, E. 1972. Climatologia da região Nordeste do Brasil. Introdução à climatologia dinâmica. **Revista Brasileira de Geografia**, v. 34, p.3-5.

PALMIERI, G. GIARDINA, P.; MARZULLO, L.; DESIDERIO, B.; NITTI,G.; SANNIA, G. 1993.Stability and activity of a phenol oxidase from the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. **Applied Microbiology Biotechnology**,v. 39, p. 632-636.

PRADO, D. A. As Caatingas da América do Sul. In: Leal, I. R.; Tabarelli, M.; Silva, J. M. C. **Ecologia e conservação da caatinga**. Ed. Universitária da UFPE, Recife, Pp.3-73. 2003.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER,S. 1997. The Brazilian Cerrado Vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, p. 223-230.

ROBINSON, B. M. 1970. Micro-fungi of sugarcane roots and soil in Jamaica. **Tropical Agricultural (Trinidad)**, v. 47, p. 23-29.

ROGERS, A. L. 1971. Isolation of keratinophilic fungi from soil in the vicinity of Bogota. **Mycopathologia et Micologia Applicata**, v. 44, p. 261-264.

SADHASIVAM S, SAVITHA S, SWAMINATHAN K, LIN F-H, 2008. Production, purification and characterization of mid-redox potential laccase from a newly isolated *Trichoderma harzianum* WL1. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 736-742.

SAITO, T. ; HONG, P.; KATO, K.; OKAZAKI, M.; INAGAKI, H.; MAEDA, S.; YOKOGAWA, Y. 2003. Purification and characterization of an extracellular laccase of a fungus (Family Chaetomiaceae) isolated from soil. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 33, p. 520-526.

SALOHEIMO, M. & NIKU-PAAVOLA, M-L. 1991. Heterologous production of lignolytic enzyme: expression of the *Phlebia radiata* laccase gene in *Trichoderma reesei*. **Bio/technology**, v.9, p.987-990.

SAMPAIO, E. V. S. B. **Overview of the Brazilian Caatinga**. In: BULLOCK, S. H.; HAROLD, A.M., MEDINA, E. (eds.), Seasonally dry tropical forests. Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 35-58, 1995.

SAMPAIO, E.; RODAL, M. D. J. Fitofisionomias da Caatinga. (Documento para discussão no GT Botânica). In: **Avaliação e identificação de áreas prioritárias para a**

conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade do bioma Caatinga, Petrolina-PE, 2000. Disponível em: <[43gar://www.biodiversitas.org/caatinga/relatorios/fitofisionomias.pdf](http://www.biodiversitas.org/caatinga/relatorios/fitofisionomias.pdf)>. Acesso em: 18 fev. 2004.

SANTIAGO, A. L. C. M. A.; SOUZA-MOTTA, C. M. 2006. Mucorales do solo de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. **Acta Botânica Brasílica**, v.20, p. 641-647.

SCHOENLEIN-CRUSIUS G. , I. H.; MILANÉZ, A. I. ; TRUFEM, S. F. B; PIRES-ZOTARELLI, C. L. A; GRANDI, R. A. P.; GIUSTRA, K. C. 2006. Microscopic fungi in the Atlantic rainforest in Cubatão, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p. 267 -275.

SCORE, A. L.; PALFREYMAN, J. W. ; WHITE N. A. 1997. Extracellular phenoloxidase and peroxidase enzyme production during interspecific fungal interactions. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 39, p. 225-233.

SILVA, M.; MINTER, D. W. 1995.Fungi from Brazil recorded by Batista and co-workers. **Mycological Papers**, v. 169, p. 1-585.

SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M.; TRUFEM, S, F. B. 2003.Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 49-60.

SUBERKROPP, K.; KLUG, M. J. 1976. Fungi and bacteria associated with leaves during processing in a woodland stream. **Ecology**, v. 57, p. 707-719.

TABARELLI, M.; VICENTE, A. Conhecimento sobre plantas lenhosas da Caatinga: lacunas 44gar44e44de44i e ecológicas. In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T. LINS, L. V. (44ga.). **Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Pp. 101-111. 2004.

TAUK-TORNISIELO, S. M.; GARLIPP, A.; RUEGGER, M.; ATTILI, D. S.; MALAGUTTI, E. 2005. Soilborne filamentous fungi in Brazil. **Journal of Basic Microbiology**, v. 45, p. 72-82.

TRISKA, K. J.; SEDELL, J. R.; BUCKLEY, B. 1975. The processing of conif and hardwood leaves in two coniferous forest streams: II Biochemical and nutrient changes. **Vereinigung für Theoretische und angewandte Limnologie**, v. 19, p. 1628-1639.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAKKA, A. ITÄVAARA, M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 169-183.

WATANABE, T. Pictorial **Atlas of soil and seed Fungi**. Luis Publishes, Boca Raton, 1994.

WINTER, B; ZIMMERMANN, W. Degradation of halogenated aromatics by actinomycetes. *In.*: SIGEL, H.; SIGEL, A. **Metal Ions in Biological Systems**. 28, New York: Marcel Dekker, 1992, 616p.

WHITAKER, J R. **Principles of Enzymology for the food sciences**. New York: Marcel Dekker, 1994.

Capítulo 1

**“Diversidade de fungos filamentosos isolados do solo em área do semi-
árido, Pernambuco, Brasil”**

Artigo publicado no Jornal científico: “Journal of arid environment”

Fator de impacto: 1.7

Diversidade de fungos filamentosos isolados do solo em área do semiárido, Pernambuco, Brasil

L.G. Oliveira ^{a,b,c}; M. A. Q. Cavalcanti. ^b; M.J.S. Fernandes ^b, D. M.M. Lima ^b

a. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos; b. Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, av. Nelson Chaves s/n , CEP 50760-420, Recife, PE, Brazil. Tel. +55(81) 21268478, c. e-mail adress: lugoliveira@yahoo.com.br

Abstract

The Caatinga (dryland) biome of Brazil is experiencing accentuated desertification due to deforestation and inappropriate uses of its natural resources. Studies examining the diversity of filamentous fungi in Caatinga soils are still scarce and the present work was designed to isolate and identify the soil fungi of this biome in the semiarid region of northeastern Brazil. Soil samples were taken at five random sites during the dry and rainy seasons from the soil surface and at depths of 20 cm. A total of 85 species of filamentous fungi were identified, including species of anamorphic fungi (71 species), Zygomycota (8) and Ascomycota (6). The most abundant genera were *Aspergillus* (28) and *Penicillium* (18). No significant differences were observed in the numbers of colony forming units in samples taken during either the rainy or dry seasons, or from surface or subsurface soils. Most of the fungi species isolated from caatinga soils were classified as rare. Our results indicate that anamorphic fungi dominate the soil mycobiota in the Brazilian semiarid region, with species of *Aspergillus* and *Penicillium* being most common.

Key-words: *Aspergillus*, Caatinga, *Penicillium*, Soil

Introdução

Os fungos estão entre os grupos de organismos mais diversificados do planeta. Como é comum em grupos megadiversos, são também os menos conhecidos (Cannon, 1997). Estima-se que existam cerca de 1,5 milhão de espécies de fungos no mundo, distribuídos por todas as regiões do globo, embora muitos tenham sua distribuição restrita e sejam limitados por algum tipo particular de habitat (Dix e Webster, 1995; Hawksworth, 2001).

Por serem encontrados em diferentes substratos, podem atuar nos ecossistemas como sapróbios, parasitas de plantas, animais e de outros fungos e como simbioses mutualísticas de muitos organismos fototróficos, tais como cianobactérias, algas e plantas vasculares. Como sapróbios, os fungos degradam muitos tipos de substâncias orgânicas e alguns substratos inorgânicos (Metting, 1993; Sylvia et al., 1998), participando assim ativamente nos processos de biodegradação, contribuindo para a ciclagem de nutrientes e, conseqüentemente, para a manutenção dos ecossistemas (Hyde, 1997; Laurance e Bierregaard, 1997).

Há um interesse crescente na busca de organismos em ambientes extremos, pois os mesmos auxiliam na análise dos impactos das mudanças climáticas globais e no funcionamento dos ecossistemas. Além disso, a capacidade dos fungos para suportar altas ou baixas temperaturas em ambientes extremos indica que há espécies com mecanismos de adaptação que podem lidar com o estresse, sendo muitas delas termófilas e psicrófilas que produzem enzimas para fins biotecnológicos e farmacêuticos (Kubicek et al., 2007).

A região semiárida do Brasil ocupa cerca de 800.000 km², totalizando cerca de 11% do território nacional (Drumond et al., 2004). O clima do semiárido é caracterizado pelo elevado potencial de evapotranspiração (2000 mm.ano⁻¹), precipitação média anual

de 700 mm concentradas em três a cinco meses do ano e temperatura média anual de 23 a 27°C (Sampaio, 1995).

A vegetação típica da região é conhecida como caatinga, nome que deriva do tupi –guarani: “caa”= floresta e “tinga”= branca. A Caatinga é um bioma exclusivo do Brasil que compreende um mosaico de arbustos espinhosos e florestas sazonalmente secas que se encontra em acentuado processo de desertificação, ocasionado, principalmente, pelo desmatamento e uso inadequado dos recursos naturais (Drumond et al., 2004; Leal et al., 2005; Giuliatti et al., 2006). A desertificação tem resultado na diminuição da produção da biomassa vegetal, resultando na mudança da interação de organismos do solo e da perda da biodiversidade (Skujins e Allen, 1986).

Na Caatinga, bioma exclusivamente brasileiro, poucos trabalhos são conhecidos, destacando-se os de Cavalcanti e Maia (1994) que isolaram fungos celulolíticos de solo da zona semi-árida em Pernambuco; Souza et al. (2003) e Cavalcanti et al. (2006) que estudaram fungos micorrízicos arbusculares e Hyphomycetes em municípios da região Xingó, respectivamente; Costa et al. (2006) que relataram Hyphomycetes de solo contaminado por minérios em região semi-árida da Bahia; Santiago e Souza-Motta (2006) que referem os Mucorales de solo nessa mesma área.

O estudo de fungos do solo em regiões semi-áridas ainda é incipiente, destacando-se os trabalhos de Abdel-Hafez (1982), El-Dohlob e Al-Helfi, (1982), Abdullah et al. (1986), Abdullah e Al-Bader (1990) na Arábia Saudita e Iraque.

Diante da escassez de trabalhos que tratam da micota filamentosa do solo da Caatinga, este trabalho teve como objetivos isolar e identificar fungos filamentosos do solo no município de Buíque (Pernambuco), região semiárida, , Brasil.

Material e Métodos

Área de estudo

A área de estudo, denominada Chapada de São José, está situada a 4km da sede do município de Buíque, onde se localiza o Parque Nacional do Vale do Catimbau (Figura1) (Rodal et al. ,1998). O clima da região é quente e seco com temperaturas chegando até 45°C durante o dia (segundo a classificação de Köppen é classificado como Bsh). A precipitação da região é observada na figura 2. O solo da região é classificado como arenoso (Jacomine et al., 1973) e a vegetação apresenta-se com espécies caducifólia espinhosa, perenifólia e semi-caducifólia espinhosa nas áreas mais altas e planas da Chapada, com alta riqueza de espécies, inclusive endêmicas (Neta et al., 2004).

A flora é composta por espécies das famílias Anacardiaceae, Annonaceae, Bignoniaceae, Caesalpiniaceae, Celatraceae, Chrysobalanaceae, Clusiaceae, Erythroxylaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Lythraceae, Malpighiaceae, Mimosaceae, Myrtaceae, Nyctagenaceae, Ochnaceae, Olacaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Sapotaceae, Simaroubaceae, Sterculiaceae, Turneraceae, and Verbenaceae (Rodal et al., 1998).

Coleta do solo

Amostras de solo foram coletadas em cinco pontos aleatórios (Ponto I: 08°34'00"S e 37° 15'07"W, Ponto II: 08° 31'55"S e 37°15'08"W, Ponto III: 08°32'53"S e 37°14'30" W, Ponto IV: 08°32'49"S e 37°15'08W, Ponto V: 08°29'54"S e 37°14'48"W) ao longo do Vale do Catimbau, tanto na superfície quanto a 20cm de profundidade, durante os períodos de estiagem (set e out/05) e chuvoso (mai e jun/06).

As amostras de solo foram coletadas com auxílio de uma pá de jardinagem e acondicionadas em sacos plásticos para posterior manipulação.

Durante os períodos de coleta, o índice pluviométrico variou de 2 e 0 mm para o período de estiagem (setembro e outubro de 2005) e, 219 e 86 mm para período chuvoso (maio e junho de 2006).

Análise do solo

As análises químicas e granulométrica do solo foram procedidas nos Laboratórios de Fertilidade e de Física do solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, considerando a granulometria, pH e os teores de fósforo (P), sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e alumínio (Al) (Tabela 1).

Isolamento, purificação e identificação dos fungos

Para o isolamento dos fungos, foi utilizado o método de Clark (1965, modificado) com o seguinte procedimento: 25g de cada amostra de solo foi suspensa em 225 ml de água destilada esterilizada (ADE) (1:10 p/v). Desta suspensão, 10 ml foram adicionados a 990 ml de ADE (1:1000 v/v) e ao final 1 ml foi espalhado na superfície do meio Ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol (100 mg/l) distribuído em placas de Petri, em triplicata. As placas permaneceram em temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) e o crescimento das colônias acompanhado por 96 horas. As colônias foram contabilizadas em número de unidades formadoras de colônias (UFC), repicadas para tubos de ensaio contendo o meio Ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol (50 mg/l) e o crescimento acompanhado por 72 horas. Posteriormente, as amostras de fungos foram transferidas para meios de cultura específicos (Ágar Czapeck, Batata-Dextrose-Ágar e Ágar Malte) e identificadas por suas características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das

colônias) e microscópicas (microestruturas), segundo Raper e Thom (1949), Rifai (1969), Booth (1971), Ellis (1971; 1976), Samson (1974), Raper e Fennell (1977), Domsch et al. (2007), Cannon e Hawksworth (1984), Schipper e Stalpers (1984) e Pitt (1988), entre outros.

Análise estatística

A distribuição de cada espécie de fungo nos cinco pontos de coletas foi calculada aplicando-se a fórmula: $D_i = (N_i/N) \times 100$, onde D_i = distribuição da espécie i ; N_i = número de UFC da espécie i ; N = número total de UFC. De acordo com esta fórmula, as distribuições das espécies foram classificadas como: $< 0,5\%$ = rara, $\geq 0,5 < 1,5\%$ = ocasional, $\geq 1,5 < 3,0\%$ = comum, $\geq 3,0\%$ = abundante (Schnittler e Stephenson, 2000).

Foi utilizado o Teste de Kruskal-Wallis para analisar diferença significativa no número de unidades formadoras de colônias em relação aos períodos de coleta do solo (chuvoso e de estiagem), assim como entre a superfície e profundidade do solo, admitindo-se o nível de significância de 5%, utilizando o software Bioestat (Ayres et al., 2007).

Para o cálculo da diversidade de fungos filamentosos nas áreas de estudo, foi utilizado o Índice de Diversidade de Shannon-Wiener na base logarítmica 2: $H' = -\sum (p_i \times \log_2 p_i)$, onde p_i = número de UFC de cada espécie/total de UFC (Krebs, 1999).

A análise de regressão múltipla foi usada para correlacionar as propriedades do solo com a comunidade dos fungos usando o software Statistica 6.0 (Statsoft, 2001).

Resultados

Foram identificadas 87 espécies de fungos durante o período chuvoso e de estiagem, tanto na superfície quanto na profundidade do solo do Vale do Catimbau, Buíque. Os fungos anamorfos foram mais representativos, com 74 espécies: *Penicillium* (28), *Aspergillus* (18), *Fusarium* (5), *Cladosporium* e *Trichoderma* (3), *Pithomyces* (2), *Humicola* e *Myrothecium* (2), *Curvularia*, *Drechelera*, *Monodictys*, *Paecilomyces*, *Pestalotiopsis*, *Pestalozziella*, *Scopulariopsis*, *Scytalidium*, *Staphylotrichum* e *Stillbella* (1) (Tabela 2). Os Zygomycota estiveram representados por oito espécies (Tabela 3), seguidos de Ascomycota com seis (Tabela 4).

Quanto ao número de unidades formadoras de colônia (UFC), foi obtido um total de 1153×10^{-3} UFC/g, destacando-se *Penicillium decumbens*, *P. restrictum* e *P. commune* com 167×10^{-3} , 76×10^{-3} e 56×10^{-3} de UFC/g, respectivamente. Foi observado um maior número de UFC na profundidade do solo 599×10^{-3} UFC e no período chuvoso com 701×10^{-3} UFC/g.

De acordo com a distribuição das espécies de fungos isolados do solo nos cinco pontos de coleta foram classificados, em sua maioria, como raros. *Aspergillus fumigatus* (14,48%), *A. versicolor* (3,30%), *A. terreus* (4,86%), *Fusarium solani* (3,03%), *Penicillium commune* (4,85%), *P. decumbens* (14,48%), *P. restrictum* (6,59%) e *P. verruculosum* (6,55%) foram classificadas como abundantes.

Não foram observadas diferenças significativas quanto ao número de unidades formadoras colônia em relação aos períodos chuvoso e de estiagem e superfície e profundidade do solo ($H = 1,5254$; g.l.: 3, $p = 0,6764$). Não houve correlação entre as propriedades do solo e as comunidades fúngicas. O Índice de Diversidade das espécies

de fungos em relação ao número total de unidades formadoras de colônias (UFC) foi de 4,84 bits por indivíduo.

Discussão e Conclusões

A maioria das espécies de fungos identificadas no presente estudo é referida como isoladas do solo (Domsch et al., 2007; Ellis, 1971 e 1976; Sammson e Frisvad, 2004; Raper e Fenell, 1977). Segundo Cardoso et al (1992), a atividade que os microrganismos desempenham nos solos está intimamente relacionada com a própria formação dos solos, sua fertilidade, estrutura e condições de sanidade, através dos processos de redução, oxidação, produção de enzimas liberação de enzimas e produtos metabólicos que provocam modificações importantes nas características do solo, tais como pH, granulometria, composição química e temperatura. Uma concentração adequada de nutrientes (tais como : nitrogênio, potássio, magnésio, enxofre e cálcio) é importante para os organismos do solo podendo, através da lixiviação, tornarem-se escassos o nitrogênio, potássio, magnésio, enxofre e cálcio, sendo essas perdas reguladas pela precipitação, cobertura vegetal e textura do solo. Lauber et al. (2008) notaram que a composição da comunidade do solo estão associadas com os nutrientes do solo e as mudanças nas propriedades edáfica podem alterar a comunidade microbiana. Titus et al. (2002) afirmaram que a acumulação de nutrientes na superfície de solos de regiões áridas é influenciada por diversos fatores, tais como: erosão, biota do solo (microrganismos), atmosfera e processos biogeoquímicos.

O solo é considerado um dos principais habitats para os fungos anamórficos. Uma parte importante dos micromicetos do solo está ativa apenas em habitats de baixa tensão, e onde predominam as fontes de facilmente assimiláveis. Por outro lado, as espécies teleomórficas são consideradas como seletivas em ambiente com alto estresse,

ocupando com vários níveis de estresse que excluem muitos fungos assexuados (Dix and Webster, 1995; Grishkan et al., 2003).

Para Raymundo Junior & Tauk-Tornisielo (1997), fatores como temperatura, umidade e locais onde existe um pequeno número de plantas podem interferir negativamente na diversidade de fungos do solo, o que corrobora com estudos realizados por Peuke & Rennenberg (2004).

Apesar dos trabalhos desenvolvidos em áreas de caatinga no Brasil, serem escassos, os realizados em outras regiões áridas demonstraram resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo. Abdel-Hafez (1982) referiu 80 espécies de fungos do solo na Arábia Saudita, com *Aspergillus* e *Penicillium* predominando em número de espécies, o que corrobora os resultados obtidos nesta pesquisa; Abdullah e Al-Bader (1990) realizaram estudos sobre a micota termofílica e termotolerante em solos do Iraque com predominância de espécies de *Aspergillus*; Mouchacca (2005) apresentou uma lista de fungos de regiões áridas do Oriente Médio de 1940 até 2000, com predominância de 70% de fungos anamorfos e destaque para espécies de *Penicillium* (17) e *Aspergillus* (7). Grishkan e Nevo (2010) relataram 186 espécies de fungos filamentosos no Deserto do Negev (Israel), sendo as espécies de fungos anamórficos os mais abundantes (128 espécies). Loro et al. (2012) estudaram a incidência e a diversidade de fungos endofíticos no semiárido venezuelano comparando-os com outros fungos endofíticos de regiões áridas.

No Brasil, existem poucos relatos sobre fungos do solo no semi-árido, Cavalcanti e Maia (1994) estudaram fungos celulolíticos do solo da zona semi-árida de Pernambuco, onde observaram uma maior diversidade de fungos anamorfos dentre as quais *Aspergillus niger*, *A. versicolor*, *A. ustus*, *Curvularia palescens*, *Humicola fuscoatra*, *Penicillium pinophilum*, *P. verruculosum*, *P. waksmanii* e *Pithomyces*

chartarum, que também foram isoladas nesta pesquisa. Cavalcanti et al. (2006) observaram, na Região Xingó, semi-árido do nordeste brasileiro, 96 espécies de fungos filamentosos, das quais 49 foram também encontradas no presente estudo, com predominância de espécies dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. A ocorrência de Hyphomycetes foi relatada por Costa et al. (2006) em solo afetado por mineração em região semi-árida da Bahia (BR) com predominância de espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*; os autores observaram também alto número de unidades formadoras de colônia de *Penicillium* corroborando os resultados obtidos neste trabalho. Santiago e Souza-Motta (2006) observaram a incidência de espécies de Mucorales nessa mesma região das quais *Absida cylindrospora*, *Cunninghamella elegans*, *Rhizopus microsporus*, *R. oryzae* e *Sincephalastrum racemosum* também ocorreram no solo do Vale do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil.

Aspergillus e *Penicillium* foram os 57gar57e57d mais abundantes no presente estudo, e sabe-se que muitas species were the most abundant genera in the present study, and it is known that many species of both genera can survive in dry environments (Dix and Webster, 1995).

Paulus et al. (2006) estudando fungos conidiais em folhedos em florestas tropicais na Austrália ressaltaram que o índice de diversidade de Shannon-Wiener em seis espécies de plantas coletadas variou de 2.96 a 3.76 a partir de observações diretas em folhas e, pelo método de filtração de partículas de 4.11 a 4.73. Jones et al. (2006) observaram em áreas de Floresta Atlântica do Estado de Pernambuco (Brasil) índices de diversidade variando de 3.44 a 3.31. De acordo com Washington (1984), em prática, para comunidades biológicas este índice não excede 5.0.

Dos fungos isolados houve predomínio de fungos mitospóricos, que geralmente são cosmopolitas, e são relatados em diversos ecossistemas como Mata Atlântica

(Schoenlein-Crusius et al 2006), Cerrado (Raimundo Junior e Tauk-Tornisielo, 1997) e na Caatinga (Maia e Gibertoni, 2002). A presença desses fungos pode estar relacionada à diversidade de fatores abióticos no solo devido à sua dinâmica e complexidade, podendo essas espécies apresentar especificidade a determinadas condições edáficas (Lodge, 1997; Kang e Mills, 2006). Outro fator pode estar relacionado à limitação de técnicas utilizadas para o estudo de fungos do solo, visto que nem todos os fungos crescem em meio de cultura e a ocorrência de alguns fungos pode ser favorecida pelas condições nutricionais (Kirk et al., 2004; Bing-Ru et al., 2006).

Os resultados obtidos neste estudo indicam que fungos anamórficos predominam no solo da região semiárida do Brasil, com muitas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* e, que estudos posteriores são necessários para aumentar o conhecimento da biodiversidade de fungos nessa região.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de pós-graduação e ao Programa de Pesquisa em Biodiversidade (010105.00/2004/PPBio/ MCT) pelo suporte financeiro. Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) pela autorização das coletas do solo na área estudada. Ao Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, pelo suporte físico.

6. Referências bibliográficas

- Abdel-Hafez, S.I.I., 1982. Survey of the mycoflora of desert soils in Saudi Arabia. *Mycopathologia* 80, 3-8.
- Abdullah, S.K., Al-Bader, S.M., 1990. On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of Iraqi soils. *Sydowia* 42, 1-7.
- Abdullah, S.K., Al-Khesraji, T.O., Al-Edany, T.Y., 1986. Soil mycoflora of the Southern desert of Iraq. *Sydowia* 39, 8-16.
- Allsopp, D., Seal, K.J., 1986. Introduction to Biodeterioration. Edward Arnold, London.
- Ayres, M., Ayres Junior, M., Ayres, D.L., Santos, A.A.S., 2007. BioEstat 5.0.: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas. Pará, Sociedade Civil Mamirauá Aplicações.
- Bing-Ru, L., Guo-Mei, J., Jian, C., Gang, W., 2006. A review of methods for studying microbial diversity in soils. *Pedosphere* 16, 18-24.
- Booth, C., 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Institute, Kew, Surrey.
- Cannon, P.F., 1997. Strategies for rapid assessment of fungal diversity. *Biodiversity and Conservation* 6, 669-680.
- Cannon, P.F., Hawksworth, D.L., 1984. A revision of the genus *Neocosmospora* (Hypocreales). *Transactions of the British Mycological Society* 82, 673-688.
- Cardoso, E.J.B.N., Tsai, S.M., Neves, M.C.P., 1992. Microbiologia do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas.
- Cavalcanti, M.A.Q., Maia, L.C., 1994. Cellulolytic fungi isolated from 59gar59e59d soil in semi-arid area of the northeast of Brazil. *Revista de Microbiologia* 25, 251-254.
- Cavalcanti, M.A.Q., Oliveira, L.G., Fernandes, M.J.S., Lima, D.M.M., 2006. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na Região Xingó, Brasil. *Acta Botânica Brasílica* 53, 831-837.

- Clark, F.E., 1965. Agar-plate method for total microbial count. In: Black, C.A., Evans, D.D., White, J.L., Ensminger, L.E., Clark, F.E., Dinaver, R.C. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Madson Inc, New York, pp. 1460-1466.
- Costa, I.P.M.W., Cavalcanti, M.A.Q., Fernandes, M.J.S., Lima, D.M.M., 2006. Hyphomycetes from soil of an area affected by copper mining activities in the state of Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 37, 290-295.
- Dix, N.I., Webster, J., 1995. *Fungal Ecology*. University, Cambridge.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H., 2007. *Compendium of Soil Fungi*. Editora IHW-Verlag, San Francisco.
- Drumond, M.A., Kill, L.H.P., Lima, P.C.F., Oliveira, M.C., Oliveira, V.R., Albuquerque, S.G., Nascimento, C.E.S., Cavalcante, J., 2004. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da Caatinga. In: Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Fonseca, M.T., Lins, L.V. (Eds.), *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Ministério do Meio ambiente, Brasília, 60g. 329-340.
- Eggins, H.O., Allsopp, D., 1975. Biodeterioration and biodegradation by fungi. In: Smith, J.E., Berry, D.R. (Eds.), *The Filamentous Fungi*. Edward Arnold, London, pp. 301-319.
- El-Dohlob, S.M., Al-Helfi, M.A., 1982. Soil fungi of the South Iraq. *Bas. Natural History Museum Bulletin* 5, 23-37.
- Ellis, M.B., 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycology Institute, England.
- Ellis, M.B., 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycology Institute, England.

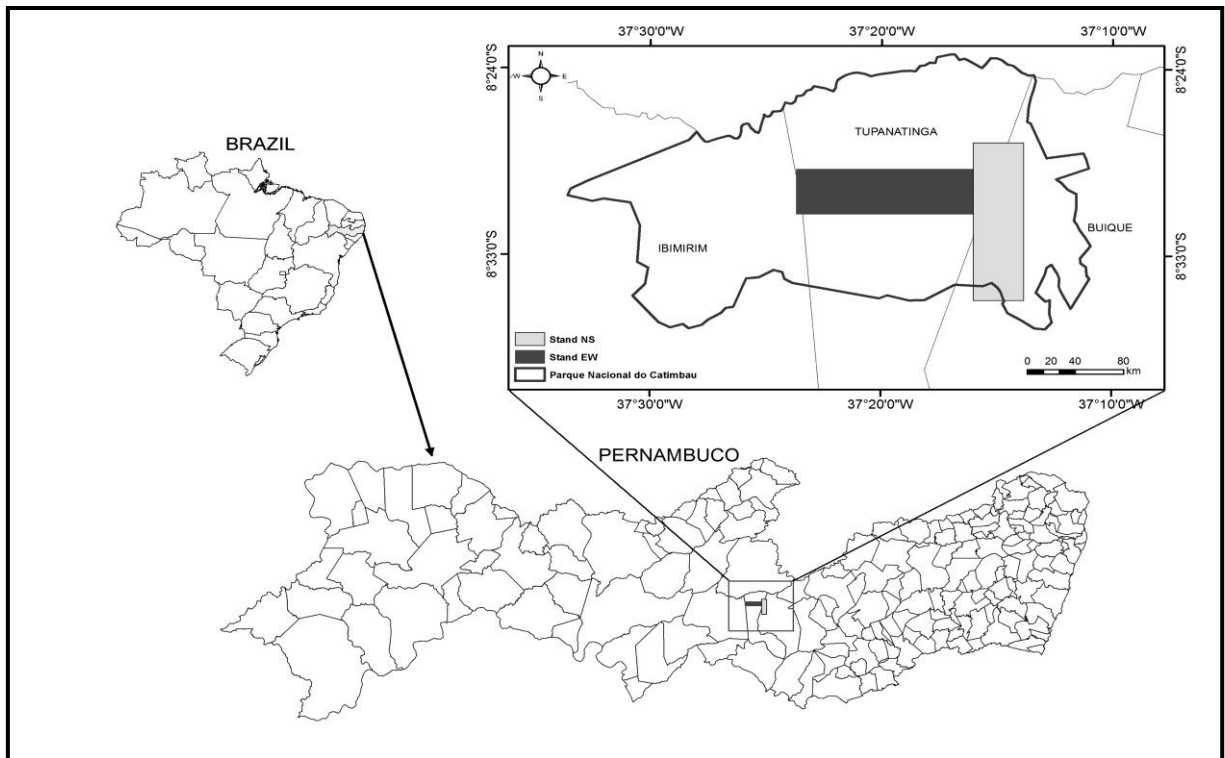
- Giulietti, A.M., Harley, R.M., Queiroz, L.P., Rapini, A., 2006. To set the scene. In: Giulietti, A.M., Queiroz, L.P., Rapini, A. (Eds.), *Towards Greater Knowledge of the Brazilian Semi-arid Biodiversity*. Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília, 61g. 15-19.
- Griffin, D.H., 1994. *Fungal Physiology*, second ed. Wiley-Liss, Inc., New York.
- Grishkan, I., Nevo, E., 2010. Spatiotemporal distribution of soil microfungi in the Makhtesh Ramon area, central Negev desert, Israel. *Fungal Ecology* 3, 326-337.
- Grishkan, I., Korol, A.B., Nevo, E., Wasser, S.P., 2003. Ecological stress and sex evolution in soil microfungi. *Proceedings the Royal of Society of Biological Sciences* 270, 13-18.
- Hawksworth, D.L., 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revised. *Mycological Research* 105, 1422-1432.
- Hyde, K.D., 1997. *Biodiversity of Tropical Microfungi*. Hong Kong University Press, Hong Kong.
- Jacomine, P.T., Cavalcanti, A.C., Burgos, N., Pessoa, S.C.P., Silveira, C.O., 1973. Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do estado de Pernambuco. SUDENE/Divisão de Pesquisa Pedológica, Recife.
- Jones, M.M., Tuomisto, H., Clark, D.B., Olivas, P., 2006. Effects of mesoscale environmental heterogeneity and dispersal limitation of floristic variation in rain forest ferns. *Journal of Ecology* 94, 181-195.
- Kang, S., Mills, A.L., 2006. The effect of sample size in studies of soil microbial community structure. *Journal of Microbiological Methods* 66, 242-250.

- Kirk, J.L., Badaute, L.A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, L.H., Trevors, J.T., 2004. Reviews Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods* 58, 169-188.
- Krebs, C.J., 1999. *Ecological Methodology*, second ed. Adson Wesley Longman, New York.
- Kubicek, C.P., Druzhinina, I.S., Esser, K., 2007. Fungi in extreme environments. In: Esser, K. (Ed.), *Mycota: a Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research* vol. 4. Springer, Berlin, pp. 85-103.
- Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., Fierer, N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 2407-2415.
- Laurance, W.F., Bierregaard, R.O., 1997. *Tropical Forest Remnants Ecology, Management, and Conservation of Fragmented Communities*. University of Chicago, Chicago.
- Leal, I.R., Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Lacher Jr., T.E., 2005. Mudando a o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. *Megadiversidade* 1, 139-146.
- Lodge, D.J., 1997. Factors related to diversity of decomposer fungi in tropical forests. *Biodiversity and Conservation* 6, 681-688.
- Loro, M., Valero-Jiménez, C.A., Nozawa, S., Márquez, L.M., 2012. Diversity and composition of fungal endophytes in semiarid Northwest Venezuela. *Journal of Arid Environments* 85, 46-55.
- Maia, L.C., Gibertoni, T.B., 2002. Fungos registrados no semi-árido nordestino. In: Sampaio, E.V.S.B., Giulietti, A.M., Virginio, J., Gamarras-Rojas, C.F.I. (Eds.), *Vegetação e flora da Caatinga APNE/CNIP*, Recife, 62g. 163-176.

- Metting, B.F., 1993. Soil Microbial Ecology. Marcel Dekker, New York.
- Mouchacca, J., 2005. Mycobiota of the arid Middle East: check-list of novel fungal taxa introduced from 1940 to 2000 and major recent biodiversity titles. *Journal of Arid Environment* 60, 359-387.
- Neta, A.L.D.B., Paula, A.R.L., Barbosa, D.C., Nogueira, E., Sampaio, E.V.S.B., Silva, G.C., Machado, I.C., Virgínio, J.F., Maia, L.C., Griz, L.M.S., Queiroz, L.P., Lima, J.L.S., Silva, M.A., Figueiredo, M.A., Rodal, M.J.N., Barradas, M.M., Barbosa, M.R.V., Harley, R.M., Chaves, S.M., 2004. Vegetações áreas e ações prioritárias para a conservação da Caatinga. In: Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Fonseca, M.T., Lins, L.V. (Eds.), *Biodiversidade da caatinga: áreas e prioritárias para conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, 63g. 115-131.
- Paulus, B.C., Kanowski, P.A., Gadek, P.A., Hyde, K.D., 2006. Diversity and distribution of saprobic microfungi in leaf litter of an Australian tropical rainforest. *Mycological Research* 110, 1441-1454.
- Peuke, A.D., Rennenberg, H., 2004. Carbon, nitrogen, phosphorus, and sulphur concentration and partitioning in beech ecotypes (*Fagus sylvatica* L.): phosphorus most affected by drought. *Trees* 18, 639-648.
- Pitt, J.I.A., 1988. *A Laboratory Guide to Commons Penicillium Species*. Commonwealth, England.
- Raper, K.B., Fennell, D.I., 1977. *The Genus Aspergillus*. Robert e Krieger, Florida.
- Raper, K.B., Thom, C., 1949. *A Manual of the Penicillia*. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Raymundo Jr., O., Tauk-Tornisielo, S.M., 1997. Occurrence of Hyphomycetes and Actinomycetes in red-yellow latosol from a cerrado region in Brazil. *Revista de Microbiologia* 28, 197-203.

- Rifai, M.A., 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers* 116, 1-56.
- Rodal, M.J.N., Andrade, K.V.A., Sales, M.F., Gomes, A.P.S., 1998. Fitossociologia do componente lenhoso de um refúgio vegetal do município de Buíque, Pernambuco. *Revista Brasileira de Botânica* 58, 517-526.
- Samson, R.A., 1974. *Paecilomyces* and some allied *Hyphomycetes*. *Studies in Mycology* 6, 1-119.
- Sammson, R.A., Frisvad, J.C., 2004. *Penicillium* subgenus *Penicillium* new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. *Studies in Mycology* 49, 1-240.
- Sampaio, E.V.S.B., 1995. Overview of the Brazilian caatinga. Páginas. In: Bullock, S.H., Mooney, H.A., Medina, E. (Eds.), *Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge, New York, pp. 35-63.
- Santiago, A.L.C.M.A., Souza-Motta, C.M., 2006. *Mucorales* isolados de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. *Acta Botânica Brasílica* 20, 641-647.
- Schipper, M.A.A., Stalpers, J.A., 1984. A revision of the genus *Rhizopus*. *Studies in Mycology* 25, 1-34.
- Schnittler, M., Stephenson, S.L., 2000. *Myxomycetes* biodiversity in four different forest types in Costa Rica. *Mycologia* 92, 626-637.
- Schoenlein-Crusius, I.H., Milanez, A.I., 1998. Fungos zoospóricos (*Mastigomycotina*) da mata atlântica da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, município de Santo André, SP. *Revista Brasileira de Botânica* 21, 177-181.
- Skujins, J., Allen, M.F., 1986. Use of mycorrhizae for land rehabilitation. *Mircen Journal* 2, 161-176.
- Souza, R.G., Maia, L.C., Sales, M.F., Trufem, S.F.B., 2003. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26, 49- 60.

- Statsoft, 2001. Statistica for Windows. Statsoft, Inc, Tulsa. (CD-ROM).
- Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G., Zuberer, D.A., 1998. Principles and Applications of Soil Microbiology. Prentice Hall, New Jersey.
- Titus, J.H., Nowak, R.S., Smith, S.D., 2002. Soil resource heterogeneity in the Mojave Desert. *Journal of Arid Environments* 52, 269- 292.
- Washington, H.G., 1984. Diversity, biotic and similarity indices: a review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water research* 18, 653-694.



Fonte : Dr. Maurício Moreau (UESC)

Figura 1: Localização geográfica do Vale do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

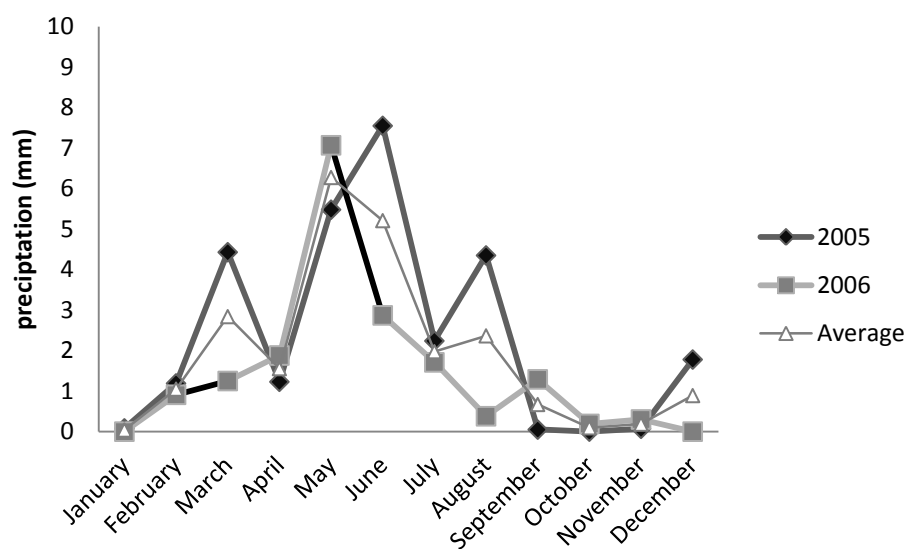


Figura 2: Dados de precipitação da área de estudo.

Tabela 1: Características químicas e granulométrica do solo no Vale do Catimbau, Buíque (PE).

Pontos de Coleta	pH (H ₂ O-1:2, 5)	P	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺² + Mg ⁺²	Ca ⁺²	Al ⁺³	Granulometria
		(67g/dm ³)	----- (cmol _c /dm ³) -----					
	I	5,5	0	0,41	0,03	2,55	1,40	0,10
II	4,4	0	0,40	0,12	5,00	3,40	0,15	Arenoso
III	5,9	0	0,33	0,11	7,15	4,00	0,15	Arenoso
IV	5,2	11	0,35	0,09	4,00	3,20	0,25	Arenoso
V	5,2	11	0,39	0,12	5,00	3,40	0,15	Arenoso

Tabela 2: Unidades formadoras de colônia de fungos anamórficos isolados do solo do Vale do Catimbau, Buíque, PE.

Espécies	Chuvoso		Estiagem		Total de UFC	%
	S	P	S	P		
Fungos Anamórficos						
<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka	0	0	6	0	6	0,56
<i>A. brevipes</i> G. Sm.	1	0	0	0	1	0,09
<i>A. carbonarius</i> (Bainier) Thom	0	0	1	0	1	0,09
<i>A. duricaulis</i> Raper & Fennell	0	2	15	6	23	2,15
<i>A. flavus</i> Link	0	3	0	4	7	0,65
<i>A. fumigatus</i> Fresen.	31	55	77	4	167	15,59
<i>A. japonicus</i> Saito	3	1	4	1	9	0,84
<i>A. 68gar68</i> Tiegh.	0	1	9	0	10	0,93
<i>A. niveus</i> Blochwitz	0	0	0	1	1	0,09
<i>A. ochraceus</i> G. Wilh.	3	0	0	2	5	0,47
<i>A. ostianus</i> Wehmer	0	0	1	0	1	0,09
<i>A. parasiticus</i> Speare	0	0	1	0	1	0,09
<i>A. puniceus</i> Kwon-Chung & Fennell	0	0	0	1	1	0,09
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	0	0	0	38	38	3,55
<i>A. viride-nutans</i> Ducker & Thrower	0	0	1	1	2	0,19
<i>A. tamarii</i> Kita	3	0	0	20	23	2,15
<i>A. terreus</i> Thom	2	42	3	9	56	5,23
<i>A. ustus</i> (Bain. & Sart.) Thom & Church	2	2	0	0	4	0,37
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	1	0	1	0	2	0,19
<i>C. sphaerospermum</i> Penz.	0	0	1	0	1	0,09
<i>C. tenuissimum</i> Cooke	1		3		4	0,37
<i>Curvularia pallescens</i> Boedijn	1	0	1	0	2	0,19
<i>Drechslera australiensis</i> M.B. Ellis	0	0	1	0	1	0,09
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.	0	5	1	0	6	0,56
<i>F. lateritium</i> Nees	11	5	1	5	22	2,05
<i>F. oxysporum</i> Schltdl.	0	1	0	0	1	0,09
<i>F. solani</i> (Mart.) Sacc.	12	8	14	1	35	3,27
<i>F. stilboides</i> Wollenw.	0	0	0	2	2	0,19
<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen	0	0	2	1	3	0,28
<i>H. rugosa</i> De Bert.	0	0	1	0	1	0,09
<i>Monodictys castaneae</i> (Wallr.) S. Hughes	0	0	2	0	2	0,19
<i>Myrothecium indicum</i> Pavgi, R.A. Singh & Dular	0	0	1	2	3	0,28
<i>M. roridum</i> Tode	0	0	1	2	1	0,09
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	2	6	0	0	8	0,75
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	1	0	0	1	2	0,19
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx	0	4	7	0	11	1,03
<i>P. canescens</i> Sopp	1	0	0	0	1	0,09
<i>P. citreonigrum</i> Dierckx	0	15	1	0	16	1,49
<i>P. commune</i> Thom	1	31	24	0	56	5,23
<i>P. corylophilum</i> Dierckx	1	0	7	0	8	0,75
<i>P. crustosum</i> Thom	0	0	0	1	1	0,09
<i>P. decumbens</i> Thom	78	81	8	0	167	15,59
<i>P. fellutanum</i> Biourge	0	1	0	0	1	0,09
<i>P. glabrum</i> (Wehmer) Westling	0	0	0	1	1	0,09
<i>P. griseofulvum</i> Dierckx	0	1	0	0	1	0,09
<i>P. implicatum</i> Biourge	1	2	0	1	4	0,37
<i>P. janthinelum</i> Biourge	18	5	1	1	25	2,33
<i>P. lividum</i> Westling	16	0	0	3	19	1,77

Legenda: S: superfície do solo, P: profundidade do solo

Cont. Tabela 2.

Espécies	Chuvoso		Estiagem		Total de UFC	%
	S	P	S	P		
<i>P. melinii</i> Thom	0	1	0	0	4	0,37
<i>P. mineoluteum</i> Dierckx	0	4	1	0	5	0,47
<i>P. pinophilum</i> Thom	0	0	1	22	23	2,15
<i>P. restrictum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott	67	1	3	5	76	7,10
<i>P. roseopurpureum</i> Dierckx	0	0	0	1	1	0,09
<i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom	3	3	8	0	14	1,31
<i>P. solitum</i> Westling	1	0	0	0	1	0,09
<i>P. thomii</i> Maire	0	4	0	0	4	0,37
<i>P. turbatum</i> Westling	0	0	0	3	3	0,28
<i>P. variabile</i> Sopp	1	0	0	0	1	0,09
<i>P. verruculosum</i> Peyronel	33	27	4	6	70	6,54
<i>P. vinaceum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott	0	0	2	15	17	1,59
<i>P. viridicatum</i> Westling	0	0	0	24	24	2,24
<i>P. waksmanii</i> K.M. Zalessky	0	41	0	0	41	3,83
<i>Pestalotiopsis palustris</i> Nag Raj	0	0	0	1	1	0,09
<i>Pestaloziella artocarp</i> Nag Raj	0	0	5	0	5	0,47
<i>Pithomyces chartarum</i> (Berk. & M.A. Curtis) M.B. Ellis	0	0	3	1	4	0,37
<i>P. sacchari</i> (Speg.) M.B. Ellis	0	0	0	1	1	0,09
<i>Scopulariopsis chartarum</i> (G. Sm.) F.J. Morton & G. Sm.	1	0	0	0	1	0,09
<i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	0	1	0	0	2	0,19
<i>Staphylotrichum cocosporum</i> J.A. Mey. & Nicot	0	1	0	0	1	0,09
<i>Stillbella clavispora</i> Seifert	0	1	0	0	1	0,09
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	0	0	1	0	1	0,09
<i>T. koningii</i> Oudem.	5	1	0	0	6	0,56
<i>T. pseudokoningii</i> Rifai	1	0	0	0	1	0,09
Total	302	356	224	187	1071	100

Legenda: S: superfície do solo, P: profundidade do solo

Tabela 3: Unidades formadoras de colônia de Zygomycota isolados do solo do Vale do Catimbau, Buíque, PE

Species	Chuvoso		Estiagem		Total de UFC	%
	S	P	S	P		
Zygomycota						
<i>Absidia cylindrospora</i> Hagem	4	0	2	0	6	10,34
<i>Cunninghamella blakesleeana</i> Lendn.	3	0	0	0	3	5,17
<i>C. vesiculosa</i> P.C. Misra	0	1	0	0	1	1,72
<i>Gongronella butleri</i> (Ledner) Peyronel & Dal Vesco	0	13	0	26	39	67,24
<i>Mucor fuscus</i> Bainier	0	0	0	3	3	5,17
<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>microsporus</i> Tiegh.	3	0	0	0	3	5,17
<i>R. oryzae</i> Went & Prins. Geerl.	0	0	1	0	1	1,72
<i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn ex J. Schröt	1	0	0	1	2	3,45
Total	11	14	3	30	58	100

Legenda: S: superfície do solo, P: profundidade do solo

Tabela 4: Unidades formadoras de colônia de Ascomycota isolados do solo do Vale do Catimbau, Buíque, PE

Species	Chuvoso		Estiagem		Total de UFC	%
	S	P	S	P		
Ascomycota						
<i>Chaetomium aureum</i> Chivers	1	0	0	0	1	4,17
<i>C. globosum</i> Kunze	0	1	3	0	4	16,67
<i>Emericela variecolor</i> Berk. & Broome	0	0	0	1	1	4,17
<i>Eupenicillium brefeldianum</i> B.O. Dodge) Stolk & D.B. Scott	1	3	0	0	4	16,67
<i>Neocosmospora vasinfecta</i> var. <i>africana</i> E. F. Sm.	7	3	1	1	12	50,00
<i>Thielavia 70gar70e70de</i> (J.C. Gilman & E.V. Abbott) C.W. Emmons	0	0	0	2	2	8,33
Total	9	7	4	4	24	100

Legenda: S: superfície do solo, P: profundidade do solo

CAPÍTULO 2

“Novas ocorrências de *Pestalotiopsis palustris* e *Pestalozziella artocarpi* para América Latina e do Sul”

Artigo submetido ao Jornal Científico: Mycotaxon
Fator de impacto: 0.538

Novas ocorrências de *Pestalotiopsis palustris* e *Pestalozziella artocarp*i para America do Sul

LUCIANA GONÇALVES DE OLIVEIRA*

MARIA AUXILIADORA DE QUEIROZ CAVALCANTI

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Micologia, Av. Prof. Nelson Chaves, s/n° CEP: 50670-901, Recife, PE, Brazil

CORRESPONDENCE TO: lugoliveira@yahoo.com.br

ABSTRACT — This taxonomic study of filamentous fungi isolated from soil in Buíque, Pernambuco, Brazil reports the first observation of reveals two species — *Pestalotiopsis palustris* and *Pestalozziella artocarp*i — documented for the first time in Latin America and South America, respectively.

KEY WORDS — *Coelomycetes*, taxonomy, soil, Caatinga

Introdução

Coelomycetes são conhecidos principalmente em regiões tropicais e temperadas, capazes de crescer, reproduzir e sobreviver numa ampla variedade de substratos. Eles são comumente encontrados em solos cultivados ou não cultivados, em folhas decaídas em outros materiais orgânicos, fontes manufaturadas, em águas salinas, em outros fungos e líquens e como parasitas de vertebrados. Alguns certamente colonizam raízes e causam doenças, mas a maioria são sapróbios (Sutton, 1980).

Pestalotiopsis Steyaert contém aproximadamente 234 espécies (<http://www.indexfungorum.org/>). O gênero pertence à família Amphisphaeriaceae e seu teleomorfo é *Pestalospheeria* M.E. Barr. Espécies de *Pestalotiopsis* são amplamente distribuídas no mundo e são facilmente identificadas pela presença de conídios fusiformes produzidos em acérvulo compacto (Jeewon *et al.*, 2003; Wei *et al.* 2007).

A classificação das espécies do gênero *Pestalotiopsis* baseou-se, durante muitos anos, em características que incluem tamanho, septação, pigmentação do conídio e ausência ou presença de apêndices (Nag Raj, 1993; Sutton, 1980). Steyaert (1949) caracterizou *Pestalotiopsis*, em diferentes seções com base no número de apêndices apicais do conídio: monosetulado, bissetulado, trissetulado e multisetulado para espécies que apresentam 1,2,3 e mais de três apêndices apicais, respectivamente. Enquanto, Guba (1961) separou as espécies de *Pestalotiopsis* em três seções baseados na diferença da pigmentação da célula mediana.

Pestalozziella Sacc. & Ell. Apresenta quatro espécies descritas e poucos trabalhos são citados na literatura. Segundo Nag Raj e Kendrick (1972) os conídios de *Pestalozziella* são holoblásticos e surgem terminalmente de células conidiogênicas que frequentemente proliferam simpodialmente. São hialinos a subhialinos, bicelulares com pequena célula terminal completamente modificada com um apêndice e ramificando irregularmente ou dicotomicamente, algumas vezes repetidamente.

O objetivo deste trabalho foi relatar a primeira ocorrência de *Pestalotiopsis palustris* (Nag Raj) para a América do Sul e, *Pestalozziella artocarp*i Nag Raj & W.B. Kendr. Para América Latina, isoladas do solo do Vale do Catimbau, município de Buíque, nordeste do Brasil.

Material e métodos

Amostras de solo foram coletadas em cinco pontos aleatórios, na superfície e a 20cm de profundidade, durante os períodos de estiagem (set e out/05) e chuvoso (mai e jun/06) no Vale do Catimbau, município de Buíque, semi-árido nordestino, Pernambuco (Brasil).

Para o isolamento das amostras de fungos, o solo foi submetido à técnica de suspensão sucessiva segundo Clark (1965, modificado) com o seguinte procedimento: 25g de solo foi suspensa em 225 ml de água destilada esterilizada (diluição 1:10). Desta suspensão, 10 ml foi adicionado a 990 ml de água destilada esterilizada (diluição 1:1000), da qual 1ml foi semeado, em triplicata, em Placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Sabouraud adicionado de cloranfenicol (100 mg/ml). As placas permaneceram à temperatura ambiente ($26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) e o crescimento das colônias acompanhado por 72 h, posteriormente foram transferidas para meio de cultura BDA para posterior identificação.

Taxonomia

Pestalotiopsis palustris Nag Raj, Coelomycetous Anamorphs with Appendage-bearing Conidia (Ontario): 645 (1993) (Fig.1)

Conidioma tipo picnídio, isolado ou agregado, imerso ou parcialmente inserido no substrato, oval ou irregular, unilocular, glabro, marrom, parede fina. **Conidióforo**: produzido em um estroma basal, geralmente reduzido a célula conidiogênica, ocasionalmente monoseptado na base e não ramificado, hialino com parede lisa. **Célula conidiogênica**: ampuliforme a lageniforme ($4,6\text{-}7 \times 3,5\mu\text{m}$) ou cilíndrica ($10,5\text{-}12,7 \times 1,6\text{-}3\mu\text{m}$), hialina, lisa. **Conídios**: com 3-4 septos ($20\text{-}25 \times 5,5\text{-}7\mu\text{m}$) originando apêndices, célula basal obcônica com base truncada, geralmente hialina, com parede fina e lisa, três células mediana doliforme, com parede espessa pigmentada e versicolorida, a segunda célula basal marrom apresenta estrias longitudinais, célula apical cônica, hialina, fina com parede lisa, 73gar73e73de tubulares originados da célula basal, com 1 a 4 ($8\text{-}17\mu\text{m}$), apêndice basal, geralmente presente, simples não ramificado ($5\text{-}7\mu\text{m}$).

Habitat: em folhas de *Euphorbia palustris* e solo de Buíque, semi-árido nordestino brasileiro.

Distribuição conhecida: Itália e Brasil.

Teleomorfo: desconhecido

NOTA: *Pestalotiopsis palustris* difere das demais espécies de *Pestalotiopsis* por apresentar conidióforo formado na base ou na parte superior da parede do conidioma, célula mediana mais ou menos igual, juntas com $13\text{-}17\mu\text{m}$ de comprimento, a segunda e quarta célula com estrias longitudinais, sendo um apêndice produzido na extensão da célula apical e os demais em fileiras.

Pestalozziella artocarpi Nag Raj & W.B. Kendr *Can. J. Bot.* 50(3): 609 (1972) . (Fig.2)

Conidioma picnidióide, isolado ou agregado, globoso ou ligeiramente globoso, unilocular, glabro, descência por uma fenda ou lise da parede apical do conidioma. **Conidióforos**: produzidos em fileiras na cavidade do conidioma, irregularmente ramificado e septado, hialino, liso. **Célula conidiogênica**: cilíndrica, hialina, lisa, $2,5\text{-}5,6 \times 1\text{-}2\mu\text{m}$ produzindo um conídio holoblástico apical. **Conídio**: cilíndrico, com o ápice arredondado e base estreita truncada, reto ou levemente curvado, hialino, uniseptado, parede-lisa, $14,5\text{-}26 \times 2,6\text{-}4,5\mu\text{m}$ originando apêndices apicais. Apêndices 2-4, filiformes, hialinos, $15\text{-}31\mu\text{m}$ de comprimento, divergente, originados dos ramos da célula apical.

Habitat: folheto de *Artocarpus 73gar73e73de73ia*, e solo de Buíque, semi-árido nordestino brasileiro.

Distribuição conhecida: Ilhas Canárias, Índia, E.U.A e atualmente no Brasil.

Teleomorfo: desconhecido.

NOTES: *Pestalozziella artocarpi* difere da espécie tipo (*P. subssessilis*) pela morfologia do conídio. Em *P. subssessilis* os conídios são ovais a subcilíndricos, apêndices subapicais (2-6) com ramificações dicotômicas. As demais espécies de *Pestalozziella* apresentam conídios 73gar73e73de, clavado, subcilíndrico, 73gar73e ou fusiforme.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES e PPBio/MCT semi-árido pelo suporte financeiro; ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, pelo suporte físico.

Literature citada

- Clark, F.E., 1965. Agar- plate method for total microbial count, in: Black, C.A., Evans, D.D., White, J.L., Ensminger, L.E., Clark, F.E., Dinaver, R.C. (Eds.), Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties, New York. Madson Inc, pp. 1460-1466.
- Guba, EF. 1961. Monograph of *Monochaetia* and *Pestalotia*. Harvard University Press: USA.342pp.
- Jeewon, R., Liew ECY, Simpson JA, Hodgkiss IJ, Hyde KD.2003. Phylogenetic signnificance of morphological characters in the taxonomy of *Pestalotiopsis* species. Molecular Phylogenetics and Evolution 27: 372-383.
- Nag Raj, T. R. 1993. Coelomycetous anapmorphs with appendage bearing conidia. Mycologue Publications, Canada. 1101pp.
- Nag Raj, TR, Kendrick, B. 1972. Genera coelomycetarum. III. *Pestalozziella*. Canadian Journal of Botany 50:607-617.
- Steyaert RL. 1949. Contribution a letude Monographique de *Pestalotia* de Not.et *Monochaetia* Sacc. Bulletin du Jardin Botanique de létat Bruxelles 19: 285-354.
- Sutton BC. 1980, The Coelomycetes: fungi imperfect with picnidia, acervuli and stroma. CAB International Mycological Institute: Kew. 696pp.
- Wei, JG, Xu, T., Guo, L-D, Liu, A-R, Zhang, Y, Pan, X-H. 2007. Endophytic *Pestalotiopsis* species associated with plants of Podocarpaceae, Theaceae and Taxaceae in southern China. Fungal diversity 24: 55-74.

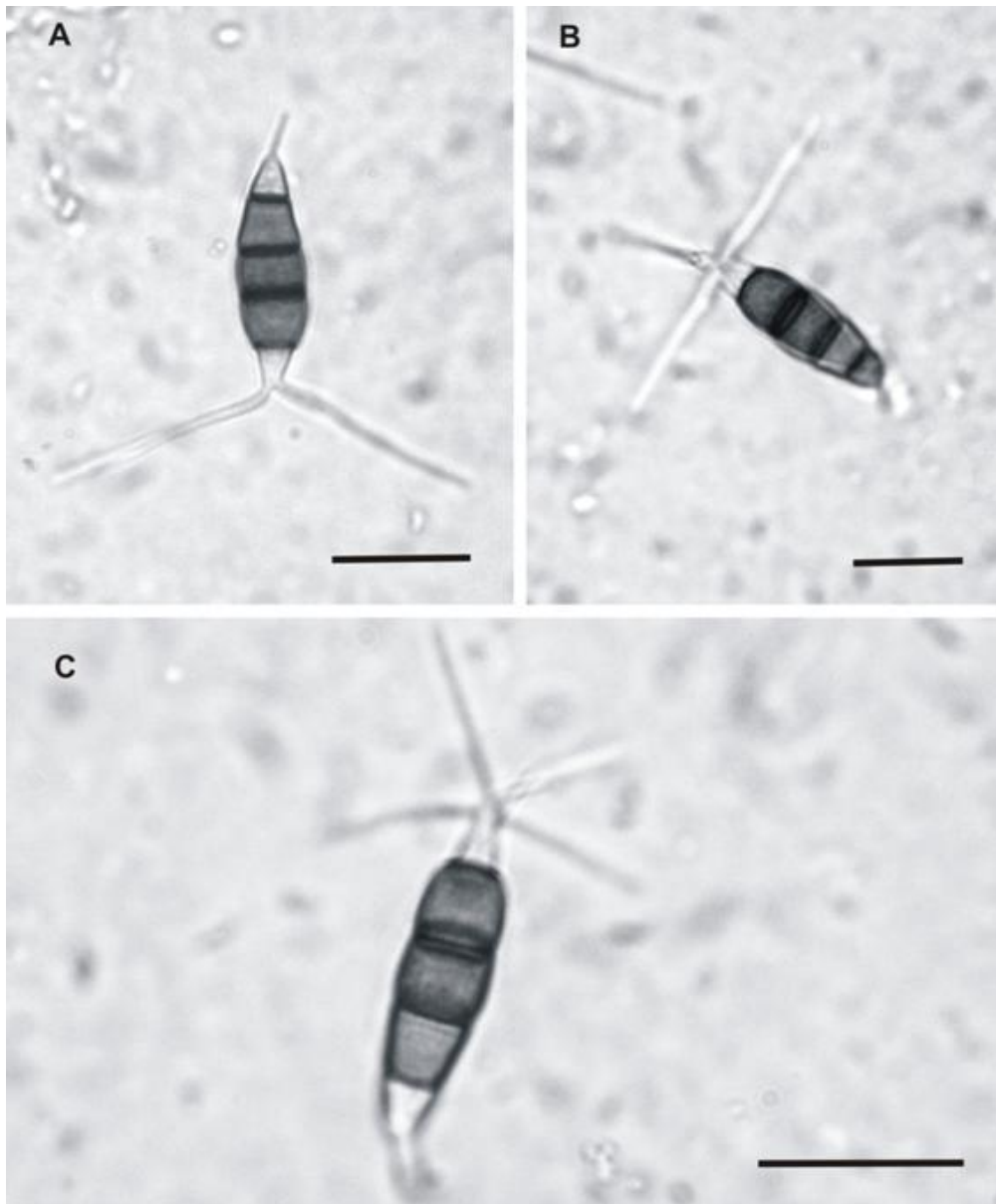
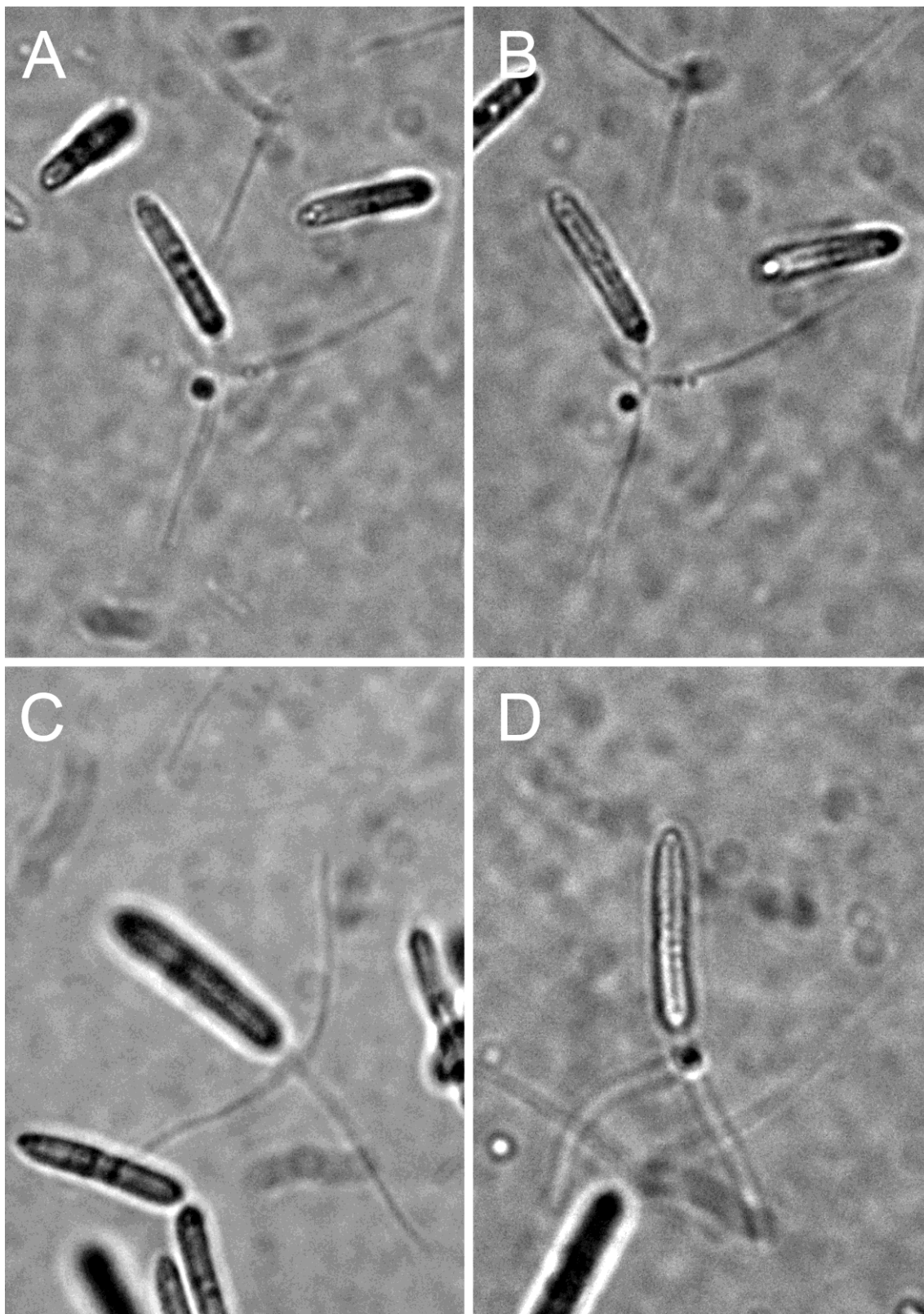


Figura1: *Pestalotiopsis palustris*: A. Conidio com 2 apêndices; B. Conidio com 3 apêndices; C. Conidio com 4 apêndices. Bar: 10 µm.



Pestalozziella artocarpi: A-B. Conidio com 2 apêndices; C. Conidio com 3 apêndices. Bar: 20 μm.

Capítulo 3

**“ Atividade de Lacase e Peroxidase por fungos filamentosos do solo em
área do semi-árido, Pernambuco, Brasil”**

Manuscrito a ser submetido ao Jornal Científico: Mycological Research

Fator de Impacto: 1,861

**Atividade de Lacase e Peroxidase por fungos filamentosos do solo em
área do semi-árido, Pernambuco, Brasil**

Luciana Gonçalves de Oliveira^{1*}, Luis Antelo², Heidrum Anke², Timm Anke² and
Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti¹

1. Universidade Federal de Pernambuco, Department of Mycology, Av. Prof. Moraes
Rêgo s/n, 50670-910, Cidade Universitária, Recife – PE, Brazil,
Phone.: (00 55 81) 2126 8478 Fax.: (00 55 81) 2126 8482;

* lugoliveira@yahoo.com.br;

2. Institute of Biotechnology and Drug Research (IBWF), Erwin-Schrödinger-Str. 56,
67663 Kaiserslautern, Germany, Phone: (0)631/31672-0, Fax: (0)631/31672-15.

Abstract

The semi-arid region of Brazil is located almost exclusively in the northeast of the country, occupying an area of approximately 900,000 km², and the predominant vegetation type is composed of several forms known as Caatinga. Information on density and diversity of soil microorganisms is scarce in dry land tropical conditions, especially in caatinga soils. In the soil, the microorganisms play dominant roles like enzymes production. The enzymes have been used in different processes. Laccase and peroxidase occur widely in fungi, and are components on the lignin degradation system. The aim of this study was to describe the laccase and peroxidase activities by filamentous soil fungi isolated from semi arid area in Brazilian Northeast. For enzymes production, fungal strains were cultivated in different media (Soy meal, HA and HA complemented with Tryptophan, Veratryl alcohol and CuSO₄). Thirty two species of filamentous soil fungi were tested for laccase and peroxidase activities. The effect of pH and temperature were observed. According to qualitative enzymes activities, 22 and 27 species showed activities for laccase and peroxidase, respectively. For quantitative activities, *Chaetomium globosum* was the best for lacase and *Pithomyces chartarum* for peroxidase. The best optimum pH for laccase activity was 3.0 for *P. chartarum*, and pH 4.5 for *Curvularia pallescens* for peroxidase. The optimum temperature was observed in *C. globosum* (70°C 60 min) for lacase, and 50 °C for 60 min in *Myrothecium roridum* for peroxidase.

Key-words: soil fungi, semi-arid, laccase, peroxidase

1. Introdução

A região semi-árida do Brasil encontra-se quase exclusivamente no nordeste do país. Esta região está localizada entre as coordenadas 3–17° S e 35–45° W, cobrindo cerca de 8% do território do Brasil e ocupando uma área de aproximadamente 900.000 km². O bioma típico é chamado Caatinga e se caracteriza por apresentar espécies vegetais semi-decídua ou decíduas na estação seca (Giulietti et al. 2006).

Informação sobre a densidade e diversidade dos microrganismos do solo é escassa no semi-árido, especialmente em solo de caatinga. Os microrganismos no solo são extremamente influenciados por vários fatores químicos e físicos, mas em ambientes áridos esses fatores são desfavoráveis para o crescimento microbiano no solo. Os fungos desempenham papel importante no solo através do processo da ciclagem de nutrientes e da interação com outros organismos vivos (Thorn 1997; Souza et al. 2003; Cavalcanti et al. 2006; Costa et al. 2006; Santiago e Souza-Motta 2006; Gorlach-Lira e Coutinho 2007).

Muitos dos fungos conhecidos têm impacto negativo atuando como agentes de doenças de plantas, como biodeterioradores ou como patógenos de animais. Porém, há espécies que são conhecidas por serem benéficas ao homem. Estes microrganismos sintetizam vários compostos de interesse industrial como enzimas, vitaminas, alcoóis, ácidos orgânicos e antibióticos. Dentre estes compostos, as enzimas têm sido utilizadas em diferentes processos industriais, tais como no processamento de alimentos e na remoção de poluentes ambientais (Gray e William 1975; Benett 1998).

As enzimas envolvidas na degradação da lignina podem ser agrupadas em duas diferentes classes: as fenoloxidasas e as enzimas que produzem peróxido de hidrogênio. As fenoloxidasas podem ser subdivididas em duas subclasses, uma envolvida na

degradação da lignina e a lacase (cobreproteínas que não dependem de peróxido para degradar) (Ferraz 2004).

Fenoloxidase catalisa a oxidação de vários compostos aromáticos pela redução do oxigênio molecular em água (Giardina et al.1995; Ferraz 2004). Os fungos degradadores da podridão branca são conhecidos por serem responsáveis pela biodegradação da lignina na madeira. Entretanto, o papel da lignina no solo não pode ser apenas atribuída aos fungos degradadores da podridão branca, visto que muitos trabalhos têm demonstrado significativa habilidade de fungos do solo em degradar lignina (Chefetz et al 1998; Kuskinen et al 2002; Zeng et al. 2006; Hao et al. 2007).

Lacase e peroxidase ocorrem amplamente nos fungos e são componentes do sistema de degradação da lignina (Hattaka1994; Heinzkill et al 1998; Saito et al 2003). A lacase catalisa a oxidação de subunidades contendo grupos de hidroxil fenólicos usando O_2 , e as peroxidases agem na lignina utilizando peróxido de hidrogênio ou outros peróxidos para catalisar a oxidação de radicais livres de uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos (Saloheimo e Niku-Paavola 1991).

Lacase (EC 1.10.3.2, *p*-difeno: dioxigênio oxidoredutase) é uma das enzimas fenoloxidasas que tem sido estudada desde o final do século XIX (Baldrian 2006). É usada em diversas finalidades industriais tais como: processamento de papel, prevenção da descoloração do vinho e detoxificação da poluição ambiental, oxidação de corantes e produção de produtos químicos através da lignina (Viswanath et al. 2008).

Peroxidases (H_2O_2 , oxidoredutase [EC 1.11.1.7.]) incluem um grupo de enzimas, heme-proteínas que catalisam reações de oxido-redução usando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) Elas têm sido altamente usadas em processos de biorremediação, especialmente em tratamento de resíduos industriais (Anni e Yonetani 1992; Karam e Nicell 1997; Durán e Espósito 2000; Ikehata et al. 2004).

O objetivo do presente trabalho foi analisar a atividade qualitativa e quantitativa das enzimas lacase e peroxidase por fungos filamentosos isolados do solo em área do semi-árido do nordeste brasileiro.

2. Material e Métodos

2.1 Microrganismos

Fungos filamentosos isolados do solo do Vale do Catimbau, área do semi-árido brasileiro (08 ° 34' 00" S – 37 ° 15'07" W), foram utilizados para este estudo. Esta região apresenta alto nível de insolação, alta temperatura, escassez recursos hídricos e escassez de chuvas que podem causar longos períodos de seca (Gorlach-Lira e Coutinho 2007).

As culturas foram mantidas em ágar extrato de malte (4 g/l de glicose, 10 g/l de extrato de malte, 4 g/l de extrato de levedura e 4g/l de 82gar) a 27°C.

2.2 Meios de cultura e condições de cultivo

Amostras de fungos foram cultivadas em frascos de Erlenmeyer de 500 ml contendo 250 ml de três diferentes meios de cultura: farinha de soja (30 g/l de farinha de soja, 15 g/l de maltose, 15 g/l de peptona), HÁ (4 g/l de glicose, 10 4 g/l de extrato de malte, 4 g/l de extrato de levedura) e HÁ complementado com 2 mM de triptofano, 2 mM de álcool veratrílico e 1mg/l CuSO₄. Os frascos foram incubados a 27°C em agitador a 120 rpm.

2.3 Métodos analíticos

Alíquotas de cultura de fungos foram coletadas após 48 h, 72 h e 92 h de inoculados. Todas as amostras foram centrifugadas (14.000 x for 5min) e o supernadante da cultura foi coletado para determinação do açúcar redutor e pH.

2.4 Teste enzimático

Para atividade da lacase, a mistura da reação continha 100 µL da cultura filtrada, 100 µL de H₂O destilada e 100 µL de 2g/l 2,2'-azino-bis (3-thylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) em 200 mM do tampão ácido tartárico (pH 4.5) e absorbância monitorada a 420 nm (Wolfenden e Willson 1982). A atividade da peroxidase foi determinada com 4.5 mM de H₂O₂ ao invés de H₂O destilada e monitorada a 420 nm. A atividade da peroxidase foi calculada como a diferença entre os valores obtidos pela oxidação total do ABTS e a atividade da lacase. As atividades enzimáticas foram expressas como Katal (mol. S⁻¹).

2.5 Efeito do pH e temperatura

Para determinar a influência do pH, a atividade da fenoloxidase da cultura filtrada foi medida pela oxidação do ABTS (3-thylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) em diferentes tampões (100 mM). Os tampões usados foram citrato (pH 3.0), ácido tartárico (pH 4.5), fosfato (pH 7.0) e Tris-HCl (pH 8.0). Para analisar o efeito da temperatura, a atividade foi testada após a incubação em diferentes temperaturas (50-80°C) e tempo (30 e 60 min) pelo teste enzimático padrão (200 mM ácido tartárico, pH 4.5) (Sadhasivam et al. 2008).

3. Resultados

3.1 Atividades de lacase e peroxidase

Das 32 espécies de fungos filamentosos do solo testadas quanto à atividade de fenoloxidasas em diferentes meios de cultura e tempo de incubação, 22 espécies mostraram reação positiva quanto à atividade da lacase. Dentre elas, uma espécie de Ascomycetes, 18 de Hyphomycetes, duas de Coelomycetes, e três de Zygomycetes. Para peroxidase, 27 espécies foram positivas sendo duas espécies de Ascomycetes, 20 de Hyphomycetes, duas de Coelomycetes e três de Zygomycetes (Tabela1).

Espécies de fungos conidiais como *Myrothecium roridum* e *Curvularia pallescens* apresentaram ótima atividade enzimática para lacase, mas apenas *M. roridum* revelou boa atividade para peroxidase. *Pithomyces chartarum*, *Scopulariopsis chartarum*, *Fusarium solani*, *F. oxysporium* produziram tanto lacase como peroxidase. *Trichoderma pseudokongii* e *Penicillium verruculosum* revelaram boa atividade para a enzima peroxidase. *Pestalotziella artocarp*i e *Pestalotiopsis palustris* (Coelomycetes) tiveram boa atividade para lacase. Não foi observada atividade enzimática em *Humicola fuscoatra*, *Aspergillus ustus*, *Penicillium brevicompactum*.

Absida cylindrospora, *Cunninghamella vesiculosa* e *Syncephalastrum racemosum* (Zygomycetes) mostraram atividade para peroxidase, mas apenas *S. racemosum* produziu lacase após 72h de inoculação nos meios de cultura de farinha de soja e HÁ+.

Dentre os Ascomycetes, *Chaetomium globosum* obteve ótima atividade para lacase em diferentes meios de cultura, mas não apresentou atividade para peroxidase; *Emericella variecolor* e *Neocosmospora vasinfecta* var. *vasinfecta* tiveram apenas atividade para peroxidase.

C. pallescens, *C. globosum*, *M. roridum*, *P. artocarpi* e *S. chartarum* revelaram melhor atividade para lacase em diferentes meios de cultura e diferentes tempos de cultivo. Após 48h de cultivo, *S. chartarum* apresentou melhor atividade para lacase no meio HÁ, porém após 72h e 96h, a melhor atividade foi observada em *C. globosum* e *P. artocarpi*, respectivamente. Para o meio HÁ+, *C. pallescens* e *C. globosum* apresentaram melhor atividade após 48 h, 72 h e 96 h de inoculados. A atividade de lacase por *C. pallescens* após 48 h de inoculado no meio de cultura farinha de soja foi melhor em relação aos outros períodos estudados e nos diferentes meios de cultura, enquanto em *M. roridum* a melhor atividade foi após 72 h (Figura 1).

Para a enzima peroxidase, a melhor atividade foi observada no meio de cultura de farinha de soja após 48 h, 72 h e 96 h de inoculação em *Pithomyces chartarum*, *E. varicolor* e *Stilbella clavispora*, respectivamente. Para o meio de cultura HÁ a melhor atividade foi observada em *S. chartarum* e *Pestalotiopsis palustris* após 72 h e 96 h de inoculados, respectivamente. Enquanto, *M. roridum*, *F. oxysporium* e *C. pallescens* revelaram melhor atividade para o meio de cultura HÁ+ após 48 h, 72 h e 96 h de inoculados, respectivamente (Figura 2).

3.2 Efeito do pH e temperatura

O pH ótimo para atividade da enzima lacase no meio de cultura de farinha de soja foi observado em *Cladosporium cladosporioides* (1.38 Katal) e *Chaetomium globosum* (1.15 Katal) após 72 h de inoculação no pH 3.0. A atividade lacalítica de *Myrothecium roridum* foi melhor expressada em pHs neutro (0.89 Katal) e alcalino (0.72 Katal) após 96h de cultivo no meio de farinha de soja. *Pestalotziella artocarpi* (1.08 Katal) e *Scopulariopsis chartarum* (1.08 Katal) apresentaram melhor atividade

após 48 h de cultivo no pH 3.0, após esse período a atividade enzimática descrece gradualmente até ficar inativa em pH alcalino. Quando se estudou a atividade da enzima lacase no meio de cultura HA, a melhor atividade foi observada em *Pestalotiopsis palustris* (1.59 Katal) e *M. roridum* (1.01 Katal) após 96 h de cultivo no pH 4.5. A atividade lacalítica de *Curvularia pallescens*, *S. chartarum* e *P. artocarpi* descreceu a medida em que a faixa de pH e o período de incubação aumentaram. Em *M. roridum*, a atividade enzimática no meio de cultura HA+ foi observada em pHs 4.5 , 7.0 e 8.0 e inativa em pH 3.0 durante todo período estudado. Porém, para pH 3.0 a melhor atividade foi observada em *Pithomyces sacchari* (1.7 Katal) e *Pestalozziella artocarpi* (0.96 Katal) após 48 h e 72 h de cultivo, respectivamente, enquanto *Curvularia pallescens* (1.08 Katal) apresentou melhor atividade em pH 4.5 após 72h de inoculação.

Para peroxidase, o pH ótimo para atividade da enzima no meio de farinha de soja foi observado em *Curvularia pallescens* (0.79 Katal) e *Myrothecium roridum* (0.71 Katal) nos pHs 4.5 e 7.0 após 96 h de cultivo, respectivamente. Para o meio de cultura HA+, o pH ótimo foi observado em *Scopulariopsis chartarum* (0.64 Katal) no pH 4.5 após 72 h de cultivo. Foi observada fraca atividade para os pHs 7.0 e 8.0 em *Cladosporium cladosporioides* (0.025 Katal) e *Curvularia pallescens* (0.079 Katal) após 96 h e 72 h, respectivamente. Por outro lado, *Myrothecium roridum* (0.37 Katal) apresentou melhor atividade após 96 h no pH 8.0. Quando se estudou o pH ótimo de atividade da enzima peroxidase em meio de cultura HA, *Curvularia pallescens* apresentou melhor atividade após 72 h de cultivo no pHs 4.5 e 3.0 (1.67 Katal and 0.51 Katal). Apenas *M. roridum* apresentou atividade enzimática em pHs 7.0 e 8.0, porém o pH ótimo foi observado após 72 h de cultivo (0.81 Katal) para enzima no pH 8.0.

Quando fenoloxidase foi estudada em função da temperatura, a lacase no meio de cultura HA foi ativa na faixa de 50-80°C em *Chaetomium globosum* durante 30 min de

incubação. A atividade enzimática em *Curvularia pallescens*, *Scopulariopsis chartarum* foi ativa quando se estudou a enzima em função da temperatura durante um período de incubação de 30 min, mas inativa em *C. pallescens* num período maior de incubação (60 min). Para a maioria das espécies estudadas em tempo de incubação de 60 min a atividade da enzima foi inativa ou com baixa atividade enzimática, exceto para *Chaetomium globosum* e *Myrothecium roridum* a períodos maiores de incubação (60 min). Para o meio de cultura HA+ a melhor atividade enzimática foi observada em *Curvularia pallescens* após 96 h de incubação a 60°C por 30 min. Enquanto que em *C. globosum* a melhor atividade no meio HA+ foi após 96 h de incubação por 60 min.

Para a enzima peroxidase, a maioria das espécies não apresentaram atividade ou a atividade foi relativamente baixa em função da temperatura. Para o meio de cultura HA, a atividade enzimática foi positiva para *Myrothecium roridum* (0.03 Katal) após 48h de inoculação a 50° C por 30 min. Para a temperatura de 60°C a atividade enzimática foi positiva em *Myrothecium roridum* (0,056 Katal) e *Scopulariopsis chartarum* (0,014 Katal) por um período de incubação de 30 min. *Neocosmospora vasinfecta* var. *africana* (0,095 Katal), *M. roridum* (0,07 Katal) e *Pestalotiopsis palustris* (0,005 Katal) apresentaram atividade após 72 h de inoculação a 50°C por 30 min, enquanto *Pithomyces sacchari* (0,028 Katal) e *S. chartarum* (0,016 Katal) apresentaram atividade a 60°C após 72 h a 30 min de incubação. Após 96 h a atividade da enzima peroxidase foi observada apenas em *P. palustris* (0,045 Katal), *Pestalozziella artocarpi* (0,005 Katal) e *Pithomyces sacchari* (0,23 Katal) a 50°C por 30 min. Durante a incubação por 60 min a atividade só foi observada em *Myrothecium roridum* (0,11 Katal) e (0,038 Katal) após 72 h e 96 h a 50°C, respectivamente. Para o meio de cultura HA+ foram positivas as espécies *Curvularia pallescens* (0,042 Katal), *Myrothecium roridum* (0,019 Katal) e *Pestalotiopsis palustris* (0,34 Katal) a 50°C por 30 min de incubação. Para a

temperatura de 60°C apenas *Myrothecium roridum* (0,022 Katal) foi positiva para atividade enzimática após 48 h. A partir de 72 h a atividade enzimática só foi observada em *Pestalotziella artocarp* (0,010 Katal) e (0,008 Katal) após 50 e 60°C, respectivamente. *Pithomyces sacchari* (0,11 Katal) e *Emericella variecolor* (0,017 Katal) foram positivas a partir de 96 h a 30 min de incubação. Quando se estudou a atividade enzimática após um período de incubação de 60 min, *Scytalidium lignicola* apresentou melhor atividade 0,45 Katal após 48 h a 60°C .

4. Discussão

Estudos têm demonstrado que alguns fungos isolados do solo são capazes de degradar enzimas lignolíticas (Rodríguez et al 1996; Chefetz et al 1998; Saito et al 2003; Hao et al 2007).

A produção de fenoloxidasas pelos fungos é influenciada pelas condições nutricionais tais como fontes de carbono e nitrogênio e relacionada com a concentração e presença ou ausência de microelementos. Extrato de malte é rico em aminoácidos aromáticos como o triptofano e a atividade enzimática de lacase e peroxidase é conhecida por reagir com derivados desses compostos. O meio de cultura derivado da farinha de soja contém nitrogênio na sua composição e apresenta diferentes efeitos na atividade de fenoloxidasas que pode ser explicado por ser normalmente um elemento usado no substrato natural de muitos fungos sapróbios. Lacases e peroxidases geralmente são produzidas em baixas concentrações por fungos, mas altas concentrações podem ser obtidas pela adição de vários suplementos para crescer em meio de cultura líquido, por exemplo, o CuSO₄. A suplementação de álcool veratrílico em diferentes meios de cultura basal favorece a produção de enzimas em níveis variáveis em diferentes fungos. A diferença no tempo da produção de fenoloxidasas por

vários sistemas enzimáticos dos fungos dependem principalmente da fonte, da composição do meio de cultura e tipo de indutor (Heinzkill 1998; Arora and Gill 2000, 2001; Sadhasivam et al 2008).

De acordo com Hao et al (2007), requerimento de cobre pelos microrganismos são usualmente satisfatórios em baixas concentrações, variando entre 1 e 10 μM . Em *Pestalotiopsis* sp, a concentração ótima de cobre para atividade enzimática foi de 20 mM. Esta concentração é bem maior que a concentração tipicamente usada em meio de cultura (2-600 μM) para a produção de lacase.

Varnietè e Raudnienè (2005) relataram que a atividade de fenoxidase por *Myrothecium verrucaria* após 30 e 60 dias de inoculação apresentou alta atividade de peroxidase, mas a atividade da lacase foi baixa ou ausente. Por outro lado, a máxima atividade da lacase foi observada após o quarto dia de cultivo. Saparrat et al (2000) observaram que a diferença na produção e a incapacidade de secretar oxidases extracelulares e peroxidases por certas linhagens de *Fusarium solani* poderia ser mantida por longos períodos de tempo.

De acordo com o pH, a maioria dos fungos são acidófilos, mas podem tolerar uma ampla faixa de pH. Os pHs ótimos conhecidos para as fenoxidases estão na faixa de 4.5 ou no máximo 7.0. Por outro lado, Sulistyaningdyah et al (2004) afirmam que a lacase de *Myrothecium verrucaria* mostrou reação enzimática em pH elevado (9.0), sendo linhagens de *M. verrucaria* boas fontes de lacase alcalinas. Em *Trichoderma harzianum* o pH ótimo para a atividade de lacase foi observado a 4.5 quando o ABTS foi usado como substrato. Valores de pH maiores que 4.5 a atividade da enzima decresce gradualmente e fica completamente inativa a pHs alcalinos (Sadhasivam et al 2008).

A temperatura é um dos fatores mais importante que afeta o crescimento fúngico. A maioria dos fungos são mesófilos crescendo numa faixa de temperatura entre 5°C e 37°C, com temperatura ótima entre 25-30°C. Porém, em ambientes com elevada temperatura um pequeno grupo de fungos termofílicos é importante como agente biodegradador. Os fungos termofílicos têm crescimento máximo a uma temperatura de 50°C ou maior, enquanto espécies termotolerantes têm crescimento máximo com a temperatura cerca de 50°C. Fungos termofílicos e termotolerante são conhecidos por apresentarem atividade lignolíticas. Tolerância da temperatura varia com o gênero e até mesmo entre os isolados das espécies dos fungos. Quando a atividade da lacase foi estudada em função da temperatura, a enzima foi ativa a uma temperatura na faixa de 30-50°C, com máxima atividade a 35°C. Em geral, lacases são estáveis a temperaturas 30-50°C e rapidamente perdem atividade a temperaturas acima de 60°C. Em linhagem de uma espécie de Chaetomiaceae, o pH ótimo para sua oxidação em siringaldazina foi 7.0 e lacase foi inativa a pHs 5.5 e 8.0, enquanto a temperatura ótima para sua atividade foi 42°C (Tuomela et al 2000; Saito et al 2003; Sulistyaningdyah et al 2004). Palmieri et al (1993) relataram a estabilidade e atividade de fenoloxidase de *Pleurotus ostreatus* cujo efeito do pH ótimo na atividade da lacase mostrou-se entre 3.0 e 3.5 quando o ABTS foi usado como substrato. De acordo com a faixa de temperatura de 40-60°C, sua atividade máxima foi de 50°C.

A atividade enzimática lacase e peroxidase de fungos filamentosos pode ser otimizada quando estudada em diferentes fontes nutricionais, bem como diferentes pHs e temperaturas por longo período de tempo.

5. Agradecimentos

Ao CNPq (proc.290038/2007) pelo suporte financeiro e à Universidade Técnica de Kaiserslautern pelo suporte físico.

6. Referências Bibliográficas

Anni H; Yonetani T, 1992. Mechanism of action of peroxidases. In: Sigel H, Sigel A (eds), *Metal ions in biological systems*. v. 28, Marcel Dekker, New York, pp. 219-241.

Baldrian P. 2006. Fungal laccase- occurrence and properties. FEMS Microbiol Rev. 30: 215–242.

Arora DS, Gill PK, 2000. Laccase production by some white rot fungi under different nutritional conditions. Bioresource Technology 73: 283-285.

Arora DS, Gill PK, 2001. Effects of various media and supplements on laccase production by some white rot fungi. Bioresource Technology 77: 89-91.

Bennett JW, 1998. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. Journal of Biotechnology 66:101-107.

Cavalcanti MAQ, Oliveira LG, Fernandes MJS, Lima DMM, 2006. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na Região Xingó, Brasil. Acta Botânica Brasílica 53: 831-837.

Chefetz B; Chen Y, Hadar Y, 1998. Purification and Characterization of Laccase from *Chaetomium thermophilum* and its role in humification. Applied and Environmental Microbiology 64: 3175-3179.

Costa IPMW, Cavalcanti MAQ, Fernandes MJS, Lima DMM, 2006. Hyphomycetes from soil of an area affected by copper mining activities in the state of Bahia, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology 37: 290-295.

- Durán N, Esposito E, 2000. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. *Applied Catalysis B. Environmental* 28: 83-99.
- Ferraz AL, 2004. Fungos decompositores de materiais lignocelulósicos. In.: Epósito E, Azevedo J L (eds). *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*, Educacs, Caxias do Sul. pp.215-242
- Giardina P, Cannio R, Martirani L, Marzullo L, Palmieri G, Sannia G, 1995. Cloning and sequencing of laccase gene from the Lignin-degrading basidiomycete *Pleorotus ostreatus*. *Applied and environmental microbiology* 61:2408-2413.
- Giulietti AM, Harley RM, Queiroz LP, Rapini A, 2006. To set the scene. In: Giulietti AM, Queiroz LP, Rapini A. (eds), *Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity*. Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília.
- Gorlach-Lira K, Coutinho HDM, 2007. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and termophilic bacteria isolated from semi-arid soil of northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 38: 135-141.
- Gray TRG, Williams ST, 1975. *Soil microorganisms*. Logman, Lectures in Botany, The University of Liverpool.
- Hao J, Song F, Haung F, Yang C, Zhang Z, Zheng Y, Tian X, 2007. Production of laccase by a newly isolated deuteromycete fungus *Pestalotiopsis* sp. and its decolorization of azo dye. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 34: 233-240.
- Hatakka A, 1994. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiology* 13: 125-135.

- Heinzkill M, Bech L, Halkier T, Schneider P, Anke T, 1998. Characterization of laccase and Peroxidases from Wood-rotting Fungi (Family Coprinaceae). *Applied and Environmental Mycobiology* 64: 1601-1606.
- Ikehata K, Buchanan ID, Smith DW, 2004. Recent developments in the production of extracellular fungal peroxidase and laccases for waste treatment. *Journal Environmental Engineering Science* 3: 1-19.
- Karam J, Nicell JA, 1997. Potential Applications of Enzymes in Waste Treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 69: 141-153.
- Küskinen LL, Viikari L, Kruus K, 2002. Purification and characterization of a novel laccase from the ascomycete *Melanocarpus albomyces*. *Applied Microbiology Biotechnology* 59: 198-204.
- Palmieri G, Giardina P, Marzullo L, Desiderio B, Nitti G, Sannia G, 1993. Stability and activity of a phenol oxidase from the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied Microbiology Biotechnology* 39: 632-636.
- Rodríguez A, Flacon, MA, Carnicero A, Peristelo, De la fuente G, Trojanowski, J, 1996. Laccase activities of *Penicillium chrysogenum* in relation to lignin degradation. *Applied Microbiology Biotechnology* 45: 399-493.
- Sadhasinam S, Savitha S, Swaminathan K, Lin F-H, 2008. Production, purification and characterization of mid-redox potential laccase from a newly isolated *Trichoderma harzianum* WL1. *Process Biochemistry* 43: 736-742.
- Saito T, Hong P, Kato K, Okazaki M, Inagaki H, Maeda S, Yokogawa Y, 2003. Purification and characterization of an extracellular laccase of a fungus (Family Chaetomiaceae) isolated from soil. *Enzyme and Microbial Technology* 33: 520-526.

Saloheimo M, Niku-Paavola M-L, 1991. Heterologous production of lignolytic enzyme: expression of the *Phlebia radiata* laccase gene in *Trichoderma reesei*. *Bio/technology* 9: 987-990.

Santiago ALCMA, Souza-Motta CM, 2006. Mucorales isolados de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. *Acta Botânica Brasílica* 20: 641-647.

Saparrat MCN, Martínéz MJ, Tournier HA, Cabello MN, Arambarri AM, 2000. Production of lignolytic enzymes by *Fusarium solani* strains isolated from different substrata. *World Journal of microbiology & Biotechnology* 16: 799-803.

Souza RG, Maia L C, Sales M, Trufem SFB, 2003. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 49-60.

Sulistyaningdyah WT, Ogawa J, Tanaka, H. Maeda C, Shimizu S, 2004. Characterization of alkaphilic laccase activity in the culture supernatant of *Myrothecium verrucaria* 24G-4 in comparison with bilirubin oxidase. *FEMS Microbiology Letters* 230: 209-214.

Tuomela M, Vikman M, Hatakka A, Itävaara M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology* 72:169-183.

Varnaitė R, Raudonienė V, 2005. Enzymatic lignin degradation in rye straw by mycomycetes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 56: 192-195.

Viswanath B, Chandra MS, Pallavi H, Reddy BR, 2008. Screening and assessment of laccase producing fungi isolated from different environmental samples. *African Journal of Biotechnology* 7: 1129-1133.

Wolfenden BS, Wilson RL, 1982. Radical-cations as Reference Chromogens in Kinetic Studies of Oneelectron Transfer Reactions: Pulse Radiolysis Studies of 2,2'-Azinobisethylbenzthiazoline-6-sulphonate). *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 11: 805-812.

Zeng G M, Yu HY, Huang, HL, Huang, DL, Chen, YN, Huang, GH, LI, JB, 2006.
Laccase activities of a soil fungus *Penicillium simplicissimum* in relation to lignin
degradation. World Journal of Microbiology & Biotechnology 22: 317: 324.

Tabela 1: Atividade de Lacase e Peroxidase de fungos filamentosos isolados do solo.

Species	Lacase									Peroxidase								
	48h			72h			96h			48h			72h			96h		
	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy
ASCOMYCETES																		
<i>Chaetomium globosum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Emericella variegata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	+/-	+	-	-	-
<i>Neocosmospora vasinfecta</i> var. <i>africana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
IMPERFECT FUNGI (Hyphomycetes and Coelomycetes)																		
<i>Aspergillus aculeatus</i>	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	+	-	-	-
<i>A. flavus</i>	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	+	+	-	-	-
<i>A. niger</i>	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+/-
<i>A. parasiticus</i>	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	-	-	-	-	-
<i>A. ustus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	+/-	-	-	+/-	-	-	+/-	+	-	+/-
<i>C. tenuissimum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+/-	-	-	-	+	+
<i>Curvularia pallescens</i>	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	-
<i>Fusarium equiseti</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-

continue																		
Species	Laccase									Peroxidase								
	48h			72h			96h			48h			72h			96h		
	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy
<i>F. oxysporium</i>	+/-	-	+/-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+/-	+	-	-	-
<i>F. solani</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	-	-	-
<i>Humicola fuscoatra</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. rugosa</i>	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	+	-	-	-
<i>Myrothecium roridum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+/-
<i>Penicillium janthinelum</i>	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. verruculosum</i>	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	-
<i>P. brevicompactum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pestalotiopsis palustris</i>	-	+/-	-	+	-	-	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-
<i>Pestalotziella artocarp</i>	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+/-	-
<i>Pithomyces chartarum</i>	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>Pithomyces sacchcari</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Scopulariopsis chartarum</i>	+	-	+	+	-	+/-	+		+/-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Scytalidium lignicola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>Staphylotrichum cocosporium</i>	-	-	-	+/-	+	+	-	-	-	-	-	+/-	+	+	+	-	-	-
<i>Stilbella clavispora</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-

continue

Species	Laccase									Peroxidase								
	48h			72h			96h			48h			72h			96h		
	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy	HA	HA+	Soy
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	+	+	+/-	+	-	-	-
ZYGOMYCETES																		
<i>Absidia cylindrospora</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Cunninghamella vesiculosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	-	-	-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	+	-	+	-

Legenda: + boa atividade; +/- fraca atividade; - : sem atividade ; meio de cultura: HA (extrato de malte, extrato de levedura e glicose); HA + (HA complementado com álcool veratrílico, triptofano e CUSO_4); Soy: farinha de soja

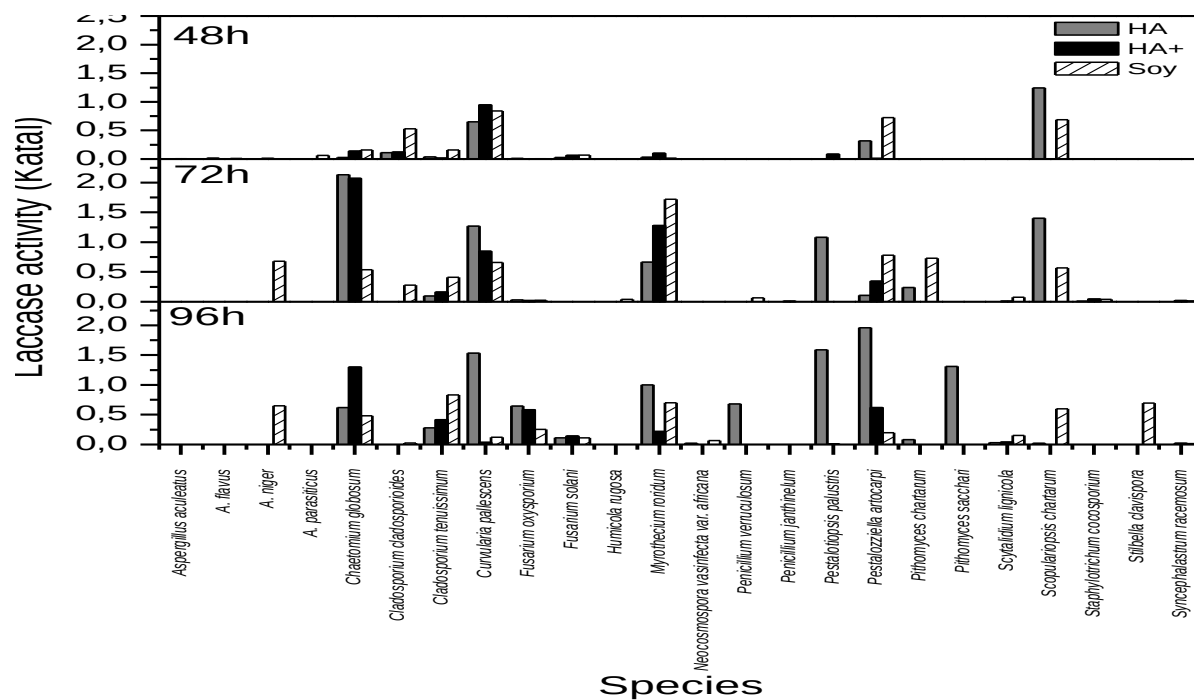


Figure1:Atividade de Lacase em diferentes meios de cultura e tempo de cultivo

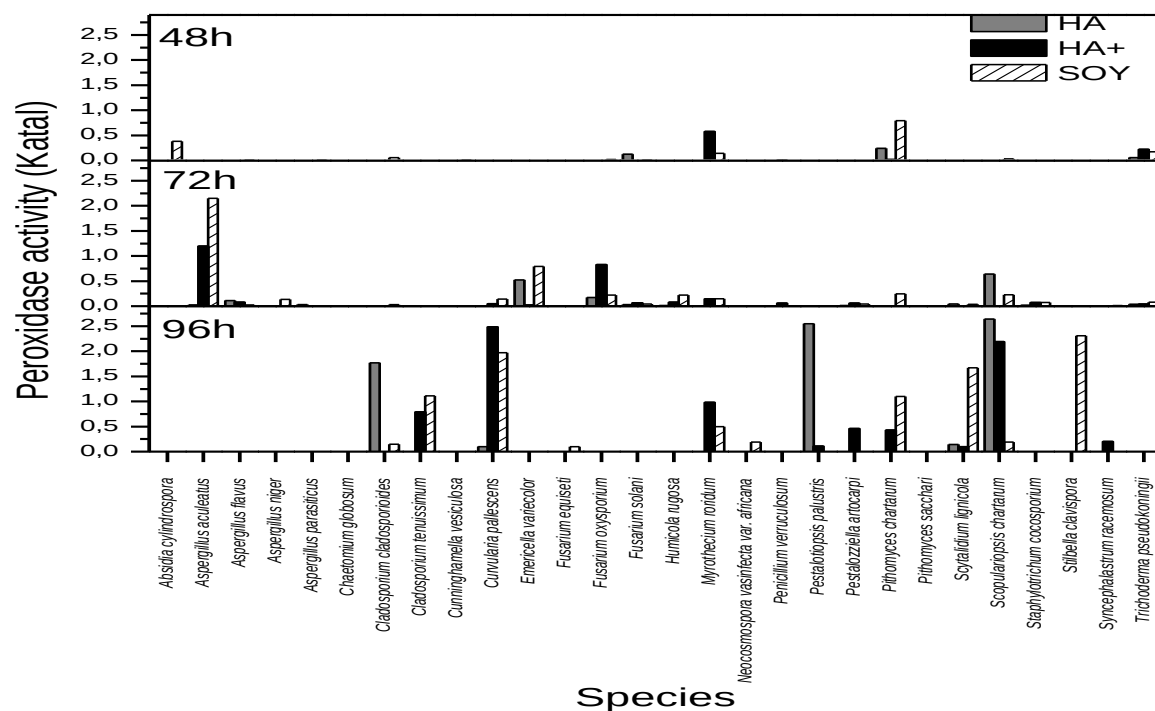


Figure 2: Atividade de Peroxidase em diferentes meios de cultura e tempo de cultivo

CONCLUSÕES GERAIS

- Os fungos anamórficos são dominantes no solo do Vale Catimbau, Buíque, Pernambuco;
- *Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *Fusarium solani*, *Penicillium commune*, *P. decumbens*, *P. restrictum*, *P. verruculosum* e *P. waksmanii* foram classificadas como espécies abundantes;
- A área é de importância para pesquisa em biodiversidade, pois apresentam novas ocorrências para América Latina e América do Sul;
- A pluviosidade e profundidade do solo afetam a ocorrência de fungos ou de UFC;
- *Myrothecium roridum* apresentou boa atividade enzimática para lacase e peroxidase;
- *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. tenuissimum*, *Curvularia pallescens*, *Scopulariopsis chartarum* tiveram boa atividade para lacase;
- As espécies testadas para a atividade de fenoloxidasas apresentam potencial biotecnológico;
- *Curvularia pallescens*, *Pestalotiopsis palustris*, *Pestalotziella artocarpi* e *Scopulariopsis chartarum* estão sendo citadas como primeiro registro com atividade para fenoloxidasas;

Anexos

Guia para autores

- Journal of arid environment:

Disponível em:

http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/622855/authorinstructions

- Mycotaxon

Disponível em:

<http://www.mycotaxon.com/instructions.html>

- Mycological research

Disponível em:

http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/720691/authorinstructions