



# Micologia: Fungos e/ou seus Metabólitos como Objeto de Estudo





#### 2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Editora Chefe: Profa Dra Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação: Camila Alves de Cremo Edição de Arte: Lorena Prestes

Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

#### Conselho Editorial

### Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adriana Demite Stephani Universidade Federal do Tocantins
- Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto Universidade Federal de Pelotas
- Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
- Profa Dra Angeli Rose do Nascimento Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
- Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson Universidade Tecnológica Federal do Paraná
- Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
- Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho Universidade de Brasília
- Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes Universidade Federal Fluminense
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio Universidade de Lisboa
- Profa Dra Denise Rocha Universidade Federal do Ceará
- Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira Universidade Federal de Rondônia
- Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias Universidade Estácio de Sá
- Prof. Dr. Eloi Martins Senhora Universidade Federal de Roraima
- Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
- Prof. Dr. Gilmei Fleck Universidade Estadual do Oeste do Paraná
- Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira Universidade Estadual de Montes Claros
- Profa Dra Ivone Goulart Lopes Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
- Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior Universidade Federal Fluminense
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Keyla Christina Almeida Portela Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves Universidade Federal do Tocantins
- Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa Universidade Estadual de Montes Claros
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan Instituto Federal do Rio Grande do Norte
- Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva Universidade Federal do Maranhão
- Profa Dra Miranilde Oliveira Neves Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
- Profa Dra Paola Andressa Scortegagna Universidade Estadual de Ponta Grossa
- Profa Dra Rita de Cássia da Silva Oliveira Universidade Estadual de Ponta Grossa
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra Regina Gardacho Pietrobon Universidade Estadual do Centro-Oeste
- Profa Dra Sheila Marta Carregosa Rocha Universidade do Estado da Bahia
- Prof. Dr. Rui Maia Diamantino Universidade Salvador
- Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior Universidade Federal do Oeste do Pará
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera Universidade Federal de Campina Grande



Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme - Universidade Federal do Tocantins

### Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira - Instituto Federal Goiano

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto - Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos - Universidade Federal da Grande Dourados

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná

Profa Dra Diocléa Almeida Seabra Silva - Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Fábio Steiner - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos - Universidade Federal do Ceará

Profa Dra Girlene Santos de Souza - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Júlio César Ribeiro - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Profa Dra Lina Raquel Santos Araújo - Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Pedro Manuel Villa - Universidade Federal de Viçosa

Profa Dra Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos - Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza - Universidade do Estado do Pará

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior - Universidade Federal de Alfenas

### Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva - Universidade de Brasília

Profa Dra Anelise Levay Murari - Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto - Universidade Federal de Goiás

Prof. Dr. Edson da Silva - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Profa Dra Eleuza Rodrigues Machado - Faculdade Anhanguera de Brasília

Profa Dra Elane Schwinden Prudêncio - Universidade Federal de Santa Catarina

Profa Dra Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior - Universidade Federal do Piauí

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco - Universidade Federal de Santa Maria

Profa Dra lara Lúcia Tescarollo - Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos - Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior - Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza - Universidade Federal do Amazonas

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Profa Dra Mylena Andréa Oliveira Torres - Universidade Ceuma

Profa Dra Natiéli Piovesan - Instituto Federacl do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada - Universidade Estadual de Maringá

Profa Dra Renata Mendes de Freitas - Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa Dra Vanessa Lima Goncalves - Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado - Universidade do Porto



- Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva Universidade Federal do Piauí
- Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade Universidade Federal de Goiás
- Profa Dra Carmen Lúcia Voigt Universidade Norte do Paraná
- Prof. Dr. Eloi Rufato Junior Universidade Tecnológica Federal do Paraná
- Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos Instituto Federal do Pará
- Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas Universidade Federal de Campina Grande
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
- Prof. Dr. Marcelo Marques Universidade Estadual de Maringá
- Profa Dra Neiva Maria de Almeida Universidade Federal da Paraíba
- Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan Instituto Federal do Rio Grande do Norte
- Prof. Dr. Takeshy Tachizawa Faculdade de Campo Limpo Paulista

### Conselho Técnico Científico

- Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira Universidade Federal do Espírito Santo
- Prof. Me. Adalberto Zorzo Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
- Prof. Me. Adalto Moreira Braz Universidade Federal de Goiás
- Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
- Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva Universidade Federal do Maranhão
- Profa Dra Andreza Lopes Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
- Profa Dra Andrezza Miguel da Silva Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
- Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria Polícia Militar de Minas Gerais
- Profa Ma. Bianca Camargo Martins UniCesumar
- Profa Ma. Carolina Shimomura Nanya Universidade Federal de São Carlos
- Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
- Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques Faculdade de Música do Espírito Santo
- Profa Dra Cláudia Taís Siqueira Cagliari Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
- Prof. Me. Daniel da Silva Miranda Universidade Federal do Pará
- Prof<sup>a</sup> Ma. Daniela da Silva Rodrigues Universidade de Brasília
- Prof<sup>a</sup> Ma. Dayane de Melo Barros Universidade Federal de Pernambuco
- Prof. Me. Douglas Santos Mezacas Universidade Estadual de Goiás
- Prof. Dr. Edwaldo Costa Marinha do Brasil
- Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
- Prof. Me. Eliel Constantino da Silva Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
- Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior Prefeitura Municipal de São João do Piauí
- Profa Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
- Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira Prefeitura Municipal de Macaé
- Prof. Me. Felipe da Costa Negrão Universidade Federal do Amazonas
- Profa Dra Germana Ponce de Leon Ramírez Centro Universitário Adventista de São Paulo
- Prof. Me. Gevair Campos Instituto Mineiro de Agropecuária
- Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes Universidade Norte do Paraná
- Prof. Me. Gustavo Krahl Universidade do Oeste de Santa Catarina
- Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
- Prof<sup>a</sup> Ma. Jaqueline Oliveira Rezende Universidade Federal de Uberlândia
- Prof. Me. Javier Antonio Albornoz University of Miami and Miami Dade College
- Profa Ma. Jéssica Verger Nardeli Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
- Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima Universidade Federal do Pará
- Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
- Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco



Profa Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profa Dra Kamilly Souza do Vale - Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Karina de Araújo Dias - Prefeitura Municipal de Florianópolis

Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento - Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR

Prof. Me. Leonardo Tullio - Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profa Ma. Lilian Coelho de Freitas - Instituto Federal do Pará

Prof<sup>a</sup> Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros - Consórcio CEDERJ

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás

Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza - Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe

Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro - Universidade Federal da Grande Dourados

Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli - Universidade Estadual do Paraná

Prof. Dr. Michel da Costa - Universidade Metropolitana de Santos

Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação - Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior

Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo

Prof<sup>a</sup> Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Me. Rafael Henrique Silva - Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Prof<sup>a</sup> Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal

Prof<sup>a</sup> Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo

Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos - Faculdade Regional Jaguaribana

Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel - Universidade Paulista

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

M619 Micologia [recurso eletrônico] : fungos e/ou seus metabólitos como objeto de estudo / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-161-9

DOI 10.22533/at.ed.619200207

 Micologia. 2. Fungos. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. CDD 589.2

#### Elaborado por Maurício Amormino Júnior | CRB6/2422

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná - Brasil

<u>www.atenaeditora.com.br</u>

contato@atenaeditora.com.br



### **APRESENTAÇÃO**

Micologia é o estudo de microrganismos eucariontes que possuem parede celular rígida, membrana e organelas, apresentando aspectos leveduriformes e/ou filamentos morfológicamente. Trata-se, portanto, de uma área de estudo ampla que atrai diversos pesquisadores em diferentes campos científicos, tecnológicos e industriais.

Sabemos que os fungos são microrganismos que possuem uma diversidade de características únicas que refletem em seu modo de vida, nas suas interações e na sua aplicabilidade. A grande maioria das espécies fúgicas ainda é um vasto campo de estudo para os micologistas, assim como suas características individuais e formas de desenvolvimento no ambiente ou no hospedeiro

O Brasil é uma referência em se tratando de estudos em micologia, principalmente na subárea que denominamos micologia médica, tanto pelos pesquisadores precursores quanto pela nova geração armada com as evoluções biotecnológicas e moleculares. O uso de estratégias biotecnológicas tem sido primordial na pesquisa com fungos. A vasta diversidade fúngica apresenta grande potencial, principalmente associada à estudos de aplicações biotecnológicas, como no campo ambiental, farmacêutico, industrial, agrícola, alimentício, genômico dentre outros.

É um privilégio organizar e compartilhar conhecimento na obra "Micologia: fungos e/ou seus metabólitos como objeto de estudo" publicada pela editora Atena, por se tratar de um material extremamente interessante e muito bem produzido por seus autores que evidencia essa área tão importante. Como pesquisador da área desejo que esse primeiro volume seja apenas o início e que desperte o interesse dos acadêmicos atraindo pesquisadores da micologia médica e áreas correlatas para publicação em novos volumes com esse foco.

Desejo à todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

### **SUMÁRIO**

Aldiane Passos de Oliveira

CAPÍTULO 1 1
A DISSEMINAÇÃO DA ESPOROTRICOSE ZOONÓTICA PELO BRASIL E PELO NORDESTE BRASILEIRO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA
Jayane Omena de Oliveira
Laís Nicolly Ribeiro da Silva Davi Porfírio da Silva
Rodrigo José Nunes Calumby
Rossana Teotônio de Farias Moreira
DOI 10.22533/at.ed.6192002071
CAPÍTULO 2 11
AÇÃO DE COMPOSTOS DE <i>Piper aduncum</i> L. NA INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DE HORTALIÇAS
Ananda dos Santos Vieira
Solange de Mello Véras André Correa de Oliveira
Rita de Cassia Saraiva Nunomura
DOI 10.22533/at.ed.6192002072
CAPÍTULO 322
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MUSHROOM (AGARICALES) EXTRACTS FOR CONTROL OF Fusarium graminearum
Marina Giombelli Rosenberger
Roberta Paulert
Vagner Gularte Cortez
DOI 10.22533/at.ed.6192002073
CAPÍTULO 432
ATIVIDADES BIOLÓGICAS E PROSPECÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE Duroia macrophylla HUBER (RUBIACEAE)
Juliana Gomes de Souza Oliveira
Cecilia Veronica Nunez
DOI 10.22533/at.ed.6192002074
CAPÍTULO 544
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA DE <i>Monascus ruber</i> FRENTE AO RESÍDUO DE SORVETE
Vitória Cristina Santiago Alves
Emanuella Maria da Conceição
Sarah Signe do Nascimento
Thales Henrique Barbosa de Oliveira Luana Maria Cavalcanti Teixeira
Hugo Marques Galindo
Renata Aczza Alves Cândido
Norma Buarque de Gusmão
DOI 10.22533/at.ed.6192002075
CAPÍTULO 647
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Pleurotus eryngii</i> (DPUA 1816) A PARTIR DA BATATA- DOCE CASCA ROXA
Cleudiane Pereira de Andrade

Larissa de Souza Kirsch  DOI 10.22533/at.ed.6192002076
CAPÍTULO 758
AVALIAÇÃO IN VITRO DA SUSCEPTIBILIDADE DE CANDIDA ALBICANS AO FLUCONAZOL UTILIZANDO DIFERENTES MEIOS DE CULTURA  Edinaira Sulany Oliveira de Sousa Silviane Bezerra Pinheiro João Vicente Braga de Sousa Ana Cláudia Alves Cortez  DOI 10.22533/at.ed.6192002077
CAPÍTULO 860
CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE Candida ISOLADAS DA MUCOSA ORAL DE PACIENTES PRÉ E PÓS-CIRURGIA PARA IMPLANTE DENTÁRIO  Eulélia Antônio de Barros Vivianny Aparecida Queiroz Freitas Andressa Santana Santos Carolina Rodrigues Costa Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva Milton Camplesi Junior Fábio Silvestre Ataides  DOI 10.22533/at.ed.6192002078
CAPÍTULO 972
CRESCIMENTO DE CRYPTOCOCCUS GATTII EM MEIO DE CULTURA FEITO A PARTIR DE SERRAPILHEIRA DO SOLO DA FLORESTA AMAZÔNICA  Silviane Bezerra Pinheiro Edinaira Sulany Oliveira de Sousa João Vicente Braga de Souza  DOI 10.22533/at.ed.6192002079
CAPÍTULO 1074
ESTUDO SOBRE A DIVERSIDADE DE FUNGOS ZOOSPÓRICOS QUE OCORRERAM NO LAGO DO PURAQUEQUARA, MANAUS, AMAZONAS  Jean Ludger Barthelemy  Maria Ivone Lopes Da Silva  DOI 10.22533/at.ed.61920020710
CAPÍTULO 1198
FATORES DE VIRULÊNCIA DE LEVEDURAS DO GÊNERO CANDIDA EM CAVIDADE BUCAL E PRÓTESES DENTÁRIAS DE IDOSOS DE UMA UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE – TEFÉ – AM  Ellen Roberta Lima Bessa Daniela Marinho da Silva Giselle Diniz Guimarães da Silva Fernando José Herkrath Ormezinda Celeste Cristo Fernandes  DOI 10.22533/at.ed.61920020711

Luana Araújo Martins Rafael Lopes e Oliveira

CAPÍTULO 12103
ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E PADRONIZAÇÃO DO CULTIVO DO MICRO-ORGANISMO ISOLADO <i>Aspergillus</i> sp. MB 2.7 PARA PRODUÇÃO DE LIPASES
Mábilli Mitalli Correia de Oliveira
Adeline Cristina Pereira Rocha
Barbhara Mota Marinho
Vivian Machado Benassi
DOI 10.22533/at.ed.61920020712
CAPÍTULO 13 115
OCORRÊNCIA DE FUNGOS ASSOCIADOS AO TRATO DIGESTIVO DE ABELHAS SEM FERRÃO <i>Melipona seminigra</i> MERRILLAE COCKERELL, 1919
João Raimundo Silva De Souza
Melquiades De Oliveira Costa
Maria Ivone Lopes Da Silva
Carlos Gustavo Nunes Da Silva  DOI 10.22533/at.ed.61920020713
DOI 10.22533/at.ed.61920020713
CAPÍTULO 14123
INFLUÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>CYMBOPOGON</i> FLEXUOSUS SOBRE A SUSCETIBILIDADE E FATORES DE VIRULÊNCIA DE LEVEDURAS DO COMPLEXO <i>CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS</i>
Lucas Daniel Quinteiro de Oliveira
Lúcia Kioko Hasimoto e Souza
Maria do Rosário Rodrigues Silva
Benedito Rodrigues da Silva Neto  DOI 10.22533/at.ed.61920020714
DOI 10.22535/at.ed.61920020714
CAPÍTULO 15
CAPÍTULO 15
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Candida</i> sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16  SCREENING DE FUNGOS FILAMENTOSOS VOLTADO PARA A PRODUÇÃO DE ENZIMAS Inaiá Ramos Aguiar
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp. Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16
PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E DE AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE Candida sp.  Regiane Nogueira Spalanzani Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos-Weiss  DOI 10.22533/at.ed.61920020715  CAPÍTULO 16

### **CAPÍTULO 12**

### ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E PADRONIZAÇÃO DO CULTIVO DO MICRO-ORGANISMO ISOLADO *Aspergillus* sp. MB 2.7 PARA PRODUÇÃO DE LIPASES

Data de aceite: 01/06/2020

### Mábilli Mitalli Correia de Oliveira

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri *campus* JK, Instituto de Ciência e Tecnologia, Diamantina-MG.

### **Adeline Cristina Pereira Rocha**

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri campus JK, Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, Diamantina-MG.

### **Barbhara Mota Marinho**

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri *campus* Janaúba, Instituto de Engenharia, Ciência e Tecnologia, Janaúba-MG.

### Vivian Machado Benassi

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri campus JK, Instituto de Ciência e Tecnologia, Diamantina-MG.

RESUMO: Dentre as enzimas de interesse econômico e biotecnológico, destacam-se as lipases devido sua versátil aplicabilidade na indústria, como no setor alimentício, agroquímica, produção de couro, indústria oleoquímica, farmacêutica, entre outros. Dessa forma, esse trabalho objetivou isolar fungos filamentosos de distintas amostras, água e areia do mar em Regência, bem como água e lama do Rio Doce localizado em Linhares, estado do Espírito Santo, bem como selecionar

um micro-organismo bom produtor de lipases, a fim de padronizar o cultivo do fungo para produção enzimática. maior Analisou-se distintos meios de cultura fonte de nitrogênio e solução de sais do meio, sendo a atividade enzimática determinada por titulação. Isolaramse dezessete fungos filamentosos, dentre os quais selecionou-se a linhagem MB 2.7 como promissora lipolítica, selecionando-se o meio de cultivo SR, o extrato de levedura como fonte de nitrogênio e sem solução de sais para a produção da enzima, a 30 ° C, durante sete dias de cultivo de forma estacionária.

**PALAVRAS CHAVE:** Enzimas, Biotecnologia, Bioprospecção.

ISOLATION OF FILAMENTOUS FUNGI AND
STANDARDIZATION OF THE ISOLATED
MICROORGANISM CULTIVATION Aspergillus
sp. MB 2.7 FOR LIPASE PRODUCTION

ABSTRACT: Among the enzymes of economic and biotechnological interest, highlighted as lipases due to their application in the industry, such as in the food, agrochemical, leather production, oleochemical, pharmaceutical industry, among others. Thus, this objective

work isolates fungi from different clothes, water and sea sand in Regência, as well as water and mud from the Rio Doce located in Linhares, state of Espírito Santo, as well as selecting a good lipase-producing microorganism, in order to standardize or grow fungi for greater enzymatic production. Analyze whether the culture media from the nitrogen source and a solution of the medium are being a specific enzyme activity for titration. Isolate ten types of filamentous fungi, among which one selects an MB 2.7 line as a promising lipolytic, calculated or SR culture medium, or extracts as a nitrogen source and without salt solution for enzyme production, at 30 ° C, for seven days cultivation in a stationary way.

**KEYWORDS**: Enzymes, Biotechnology, Bioprospection.

### 1 I INTRODUÇÃO

As enzimas estão presentes em micro-organismos, animais e vegetais, e possuem grande potencial catalítico devido as suas excelentes propriedades funcionais, tais como atividade, seletividade e especificidade. Desta forma, as enzimas têm sido utilizadas em várias áreas industriais como fonte ideal e promissora para tornar os processos tecnológicos mais eficientes, com altos rendimentos e sem danos ao meio ambiente (BENASSI et. al, 2012; MUSSATTO et al., 2007)

A produção de enzimas é uma área da Biotecnologia em crescente expansão, sendo a lipase uma das principais enzimas estudadas pela comunidade científica, principalmente devido às suas versáteis aplicações. As lipases classificam-se como E.C. 3.1.1.3, sendo hidrolases, ou seja, enzimas catalizadoras do processo de hidrólise das ligações ésteres presentes em moléculas de triacilgliceróis, na qual liberam ácidos graxos, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol (BARATTO et al., 2011).

As lipases são, portanto, importantes enzimas industriais e tem sido largamente utilizadas no processamento de óleos e gorduras, como componentes de detergentes, na síntese de fármacos e cosméticos, síntese de biopolímeros, na indústria alimentícia, agroquímicos e têxtil (RIOS et al., 2018). Além disso, as lipases tem uma aplicação importante no campo da bioenergia, especialmente na produção de biodiesel que é um setor em expansão (CANET et al., 2016; MOAZENI et al., 2019).

Devido a grande demanda industrial por novas fontes de lipases com diferentes características bioquímicas, tem-se estimulado a procura de novas cepas de micro-organismos potenciais lipolíticos, pois as principais fontes de obtenção de lipases para aplicação industrial têm sido principalmente os fungos, dentre eles, os filamentosos são classificados como as melhores fontes microbianas produtoras dessas enzimas, sendo as espécies pertencentes aos gêneros *Geotrichum, Penicillium, Aspergillus e Rhizomucor*, as que apresentam maior potencial de produção (CARDENAS et al., 2001; TROIANO et al., 2020).

Nessa perspectiva, o presente trabalho teve como objetivo isolar diferentes fungos

filamentosos de amostras do Rio Doce e do mar coletadas em Regência, município de Linhares, estado do Espírito Santo, bem como, selecionar um micro-organismo promissor lipolítico, padronizando seu cultivo em busca de maximizar a atividade enzimática.

### 2 I MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Biologia do Instituto de Engenharia, Ciência e Tecnologia (IECT), da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) *campus* Janaúba, Minas Gerais, Brasil. Os micro-organismos foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), número A64AD93.

### 2.1 Coleta das amostras e isolamento dos fungos filamentosos

As amostras do Rio Doce e do mar utilizadas para o isolamento dos fungos filamentosos foram coletadas, de forma assépticas, em Regência, distrito de Linhares – Espírito Santo (ES), sendo divididas em amostra 1 (água do mar), amostra 2 (areia do mar), amostra 3 (água do Rio Doce) e amostra 4 (lama do Rio Doce).

Preparou-se o meio de cultura Sabouraud ISOFAR® vertendo-o em placas de Petri suplementado com 0,025 g de Estreptomicina Inlab® para cada 40 mL de meio. Conforme os meios se solidificaram, as amostras foram postas sob o meio de cultura sólido, e incubadas em estufa bacteriológica, à 30 °C, e o crescimento de fungos filamentosos foi observado a cada 24 horas, durante sete dias. Os fungos filamentosos que surgiram foram isolados em novas placas de Petri, contendo o meio de cultura Sabouraud. Durante o isolamento, observaram-se as características macroscópicas quanto à coloração, fundo, pigmentação, textura, superfície, borda e topografia. Após a observação dessas características a identificação dos fungos foi realizada atribuindo-se números sequenciais para a separação dos mesmos.

### 2.2 Manutenção das cepas em laboratório

As cepas foram mantidas em meio sólido de aveia Quaker® de acordo com Emerson (1941), assim como foram conservadas em sílica gel Dinâmica® segundo a metodologia descrita por Michelin (2009).

### 2.3 Microcultivo

A possível identificação dos fungos isolados foi determinada através do microcultivo empregando a técnica descrita por Ridel (LACAZ, 1991). As câmaras de microcultivo constituíram-se por uma placa de Petri com um papel filtro Unifil<sup>®</sup> e uma lâmina, sendo introduzida uma porção de meio Sabouraud 2 %, sobre a lâmina da câmara de microcultivo. O micro-organismo foi inoculado sobre o meio e este recoberto com a lamínula. A câmara

foi colocada em estufa bacteriológica, à 30 °C, durante três dias. Após o crescimento dos fungos, esses foram observados em microscópio óptico com aumento de 100 vezes.

### 2.4 Seleção dos micro-organismos bons produtores de lipases em meio de cultura sólido

A seleção dos fungos filamentosos produtores de lipases seguiu a metodologia descrita por Sierra (1957). Todos os fungos foram repicados pontualmente, ao centro da placa de Petri, contendo o meio teste e incubados em estufa bacteriológica, à 30 °C, por quatro dias. Em seguida, mediu-se o raio de crescimento da colônia (cm), sendo calculada a taxa de crescimento em centímetros.hora<sup>-1</sup>; e o halo enzimático (cm) para os fungos que apresentaram algum crescimento e atividade lipolítica, respectivamente.

### 2.5 Seleção do micro-organismo produtor de lipases em meio de cultura submerso

Os fungos foram repicados em tubos de ensaio contendo meio Sabouraud 2 %, sendo a suspensão de esporos obtida pela inserção de 5 mL de água destilada estéril, retirando-se 1 mL da solução e inserindo-a em 25 mL de meio de cultura submerso para lipase (MSL) (MARINHO, 2011), contidos em Erlenmeyrs de 125 mL. Os meios foram armazenados por sete dias em estufa bacteriológica, à 30 °C.

### 2.6 Obtenção do extrato bruto extracelular e o micélio do fungo

Após o crescimento dos fungos, separou-se o micélio do extrato bruto enzimático por filtração à vácuo. Após a secagem, o micélio foi pesado em balança analítica e os extratos brutos foram submetidos à medição de volume (mL), pH final e determinação da atividade lipolítica.

### 2.7 Determinação da atividade lipolítica

A reação conteve 1 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,2 M, pH 7,0; 1 mL do extrato bruto enzimático; e 2 mL do substrato da reação (azeite de oliva Cocinero®). Incialmente, o tampão fosfato de potássio e o substrato foram mantidos à 37 °C, durante 5 minutos, em seguida, inseriu-se o extrato bruto enzimático, sendo retiradas amostras de 1 mL da mistura nos tempos de 0 e 15 minutos. Posteriormente, vertidas em 1 mL de solução de acetona:etanol (1:1) para interromper a reação. Realizou-se a titulação utilizando o NaOH 0,1 M e solução de fenolftaleína 2 %. A atividade enzimática foi calculada de acordo com a equação 1.

$$A = \Delta V_{NAOH} \times N \times 1000 \qquad \text{(Equação 1)}$$

$$T' \times V$$

Onde,

A = Atividade enzimática (U.mL<sup>-1</sup>);

 $\Delta V_{NaOH}$  = Diferença do volume de NaOH (mL) utilizado na titulação no tempo de 15 minutos em relação ao volume do tempo zero;

N = Normalidade da solução de NaOH;

1000 = Fator de conversão de mEq-g para  $\mu$ Eq-g;

T' = Tempo de reação (min);

V = Volume da amostra após separação do micélio.

### 2.8 Análise de diferentes meios de cultura para produção de lipases pelo fungo isolado MB 2.7

Realizou-se o inóculo de 1 mL da suspensão de esporos do fungo selecionado em 25 mL dos meios de cultivo submerso, sendo os meios CP (PEIXOTO et al., 2003), Czapek (WISEMAM, 1975), LTS (SILVA, 2018), SR (RIZZATI et al., 2001), e meio submerso para lipase (MSL) (MARINHO, 2011), contidos em Erlenmeyer de 125 mL. Após esse procedimento, as culturas foram incubadas em estufa bacteriológica, à 30 °C, durante sete dias.

# 2.9 Análise do efeito da fonte de nitrogênio no crescimento do micro-organismo e na produção de lipases

O fugo MB 2.7 foi cultivado em meio SR variando-se a fonte de nitrogênio na concentração de 0,45.10<sup>-2</sup> g.mL<sup>-1</sup>, sendo essas o extrato de levedura, peptona, extrato de levedura acrescido de peptona (1:1), acetato de amônio e cloreto de amônio. As cepas foram mantidas à 30 °C, durante sete dias.

### 2.10 Análise do efeito da solução de sais do meio de cultura na produção de lipase

O fungo selecionado foi cultivado no meio SR contendo extrato de levedura como fonte de nitrogênio, variando-se a fonte de sais do cultivo, sendo essas: solução de sais SR, sais Wesson, solução de sais SR acrescido de sais Wesson (1:1) e sem adição de sais, sendo mantidos em estufa bacteriológica, à 30 °C, por sete dias.

### **3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 3.1 Isolamento de fungos filamentosos a partir de distintas amostras e análise das características morfológicas macroscópicas dos isolados

A partir das amostras coletadas isolaram-se dezessete fungos filamentosos, da água do mar (amostra 1) isolou-se o micro-organismo MB 1.4; da areia do mar (amostra 2) isolaram-se os organismos MB 2.11 e MB 2.12; assim como a partir da água do Rio Doce (amostra 3) isolaram-se os fungos MB 2.1, MB 2.4, MB 2.5, MB 2.6, MB 2.9, MB 2.13A, MB 2.13B e MB 2.14; e a partir da lama do Rio Doce (amostra 4) isolaram-se os

106

micro-organismo identificados como MB 1.1, MB 1.2, MB 1.3, MB 2.2, MB 2.7 e MB 2.8.

Após o processo de isolamento, observou-se que a maior variabilidade de fungos filamentosos foram provenientes da água e lama do Rio Doce, amostras 3 e 4, respectivamente. Enquanto que o baixo aparecimento de fungos na água do mar pode estar correlacionado à quantidade de sal presente na água, tendo por consequência a desidratação dos micro-organismos, afetando o seu desenvolvimento.

Esses resultados são semelhantes aos estudos de Guimarães e colaboradores (2006), que isolaram quarenta fungos filamentosos de várias regiões do Estado de São Paulo, entre os isolados vinte e três apresentaram potencial enzimático. Luz e colaboradores (2016) analisaram amostras coletadas da região de Minas Gerais e obtiveram trinta e seis diferentes micro-organismos em dez amostras coletadas, sendo que 53 % dos isolados mostraram atividade amilolítica. Vale citar que Benassi e Almeida (2019) coletaram oito amostras em locais distintos, também na região de Minas Gerais, e obtiveram-se quarenta e oito fungos filamentosos de diferentes aspectos morfológicos, sendo analisado o potencial amililítico de dez desses isolados.

Em relação às características morfológicas macroscópicas pode-se inferir que maioria apresentou coloração branca (MB 1.2, MB 1.3, MB 1.4, MB 2.7, MB 2.9, MB 2.11 e MB 2.13A), branca com esporos marrons (MB2.4), branca com esporos amarelos (MB 2.12), os demais apresentaram as seguintes cores: cinza (MB 1.1), amarelo (MB 2.2 e MB 2.13B), alaranjado (MB 2.8), marrom com bordas claras (MB 2.1 e MB 2.6), bege (MB 2.5) e rosé (MB 2.14). Os fungos MB 1.1, MB 2.11 e MB 2.14 foram os únicos que produziram pigmentação, sendo observado pigmento de cor preta, verde e amarelo, respectivamente. A respeito da textura foi possível observar que os fungos filamentosos apresentaram textura algodonosa (MB 1.1, MB 1.2, MB 1.3, MB 1.4, MB 2.8, MB 2.11, MB 2.13A), aveludada (MB 2.1, MB 2.2, MB 2.4, MB 2.6, MB 2.7, MB 2.9 e MB 2.13B), pulverulenta (MB 2.5 e MB 2.12) e camurça (MB 2.14).

A maioria dos isolados apresentaram fundo liso (MB 1.1, MB 1.2, MB 1.4, MB 2.2, MB 2.5, MB 2.7, MB 2.8, MB 2.11, MB 2.12, MB 2.13A e MB 2.14), dos demais fungos, cinco rugosos (MB 1.3, MB 2.1, MB 2.6, MB 2.9, MB 2.13B) e apenas um pregueado (MB 2.13B). Sobre a superfície observou-se doze fungos de característica lisa (MB 1.1, MB 1.2, MB 1.4, MB 2.2, MB 2.5, MB 2.7, MB 2.8, MB 2,9, MB 2.11, MB 2.12, MB 2.13A e MB 2.14), três fissurada (MB 2.1, MB 2.4 e MB 2.6), um rugosa/fissurada (MB 1.3) e um pregueada (MB 2.13B). Visualizou-se, ainda, os fungos com relação as bordas, sendo que oito foram circular (MB 1.1, MB 1.2, MB 2.1, MB 2.2, MB 2.5, MB 2.6, MB 2.12, MB 2.13B), sete irregulares (MB 1.3, MB 1.4, MB 2.4, MB 2.7, MB 2.8, MB 2.9 e MB 2.11) e dois regulares (MB 2.13A e MB 2.14). Por fim, sobre a análise de topografia observou-se doze fungos de forma plana (MB 1.1, MB 1.2, MB 1.4, MB 2.2, MB 2.5, MB 2.5, MB 2.7, MB 2.8, MB 2.9, MB 2.11, MB 2.12, MB 2.13A e MB 2.13B), três pregueada (MB 2.1, MB 2.4 e MB 2.6), um fungo de topografia convexa (MB 2.14) e um plana/pregueada (MB 1.3).

### 3.2 Análise das características microscópicas dos Fungos Filamentosos Isolados

Pode-se observar que os fungos identificados como MB 1.2, MB 2.1, MB 2.4, MB 2.6, MB 2.7, MB 2.9, MB 2.13A e MB 2.13B possivelmente pertencem ao gênero *Aspergillus*, assim como os fungos MB 2.2 e MB 2.8, pertencem ao gênero *Mucor* e os fungos MB 2.5 e MB 2.14 possivelmente pertencem ao gênero *Paecilomyces*. Em relação ao fungo MB 1.3, o mesmo apresentou, possivelmente, o gênero *Rhyzopus*. Os demais não foram identificados (Figura 1).

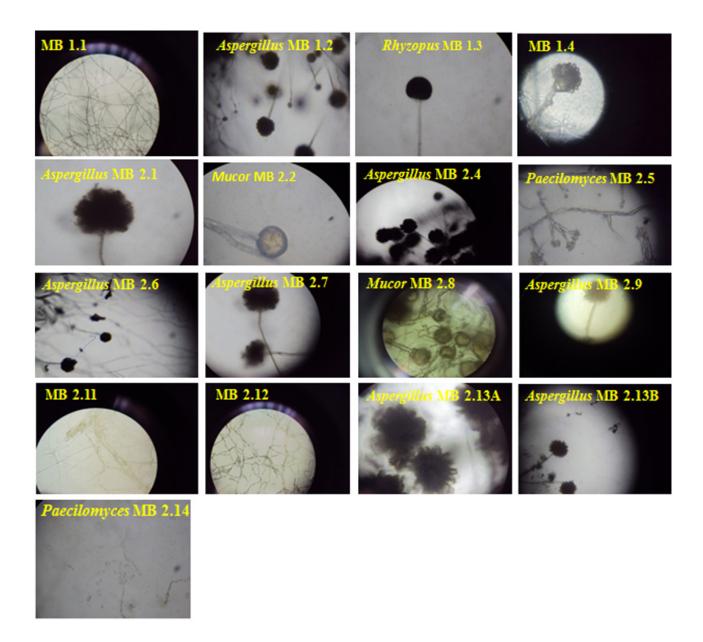


Figura 1 - Imagem microscópica dos fungos filamentosos isolados a partir de amostras coletadas em Regência-Linhares/ES.

### 3.3 Screening dos fungos filamentosos produtores de lipases em meio sólido

A linhagem identificada como MB 1.1 foi a única que não apresentou crescimento micelial, enquanto que os fungos *Aspergillus* sp. MB 1.2, *Rhizopus* sp. MB 1.3, MB 1.4,

*Mucor* sp. MB 2.2, *Aspergillus* sp. MB 2.4, *Paecilomyces* sp. MB 2.5, *Mucor* sp. MB 2.8, *Aspergillus* sp. MB 2.9, MB 2.11, MB 2.12 e *Aspergillus* sp. MB 2.13A apresentaram crescimento de 0,0125 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0469 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0365 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0416 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0135 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0104 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0229 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0198 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0135 cm.h<sup>-1</sup>, 0,0313 cm.h<sup>-1</sup> e 0,0156 cm.h<sup>-1</sup>, respectivamente; mesmo não apresentando halo enzimático.

Enquanto que, os fungos filamentosos isolados promissores para a produção de lipase foram os *Aspergillus* sp. MB 2.1, *Aspergillus* sp. MB 2.6, *Aspergillus* sp. MB 2.7, *Aspergillus* sp. MB 2.13B e *Paecilomyces* sp. MB 2.14. Pode-se afirmar que dentre esses micro-organismos, a linhagem MB 2.7 foi a que apresentou maior taxa de crescimento, sendo de 0,0396 cm.h<sup>-1</sup> com um halo enzimático de 1,0 cm, enquanto a linhagem que apresentou o maior halo de atividade lipolítica foi o MB 2.13B, com 1,5 cm e 0,0187 cm.h<sup>-1</sup> como taxa de crescimento.

Pode-se inferir que, nem todos os fungos que possuem alta taxa de crescimento são capazes de produzir a enzima lipase, as linhagens *Mucor* sp. MB 1.3 e *Rhyzopus* sp. MB 2.2 são exemplos desse caso. Vale citar, também, que o *Aspergillus* sp. MB 2.6 obteve resultados satisfatórios quanto ao halo da produção enzimática 1,0 cm, enquanto a sua taxa de crescimento foi a menor (0,0083 cm.h<sup>-1</sup>) em relação aos outros fungos.

### 3.4 Análise da produção de lipase em meio submerso

A partir da realização da triagem inicial em meio sólido, cinco linhagens de fungos filamentosos foram selecionados, sendo esses identificados como *Aspergillus* sp. MB 2.1, *Aspergillus* sp. MB 2.6, *Aspergillus* sp. MB 2.7, *Aspergillus* sp. MB 2.13B e *Paecilomyces* sp. MB 2.14. Observou-se que o *Aspergillus* sp. MB 2.7 produziu maior massa micelial, apresentando aproximadamente 3,8 %, 12 %, 3,3 % e 19,6 % a mais que as linhagens *Aspergillus* sp. MB 2.1, *Aspergillus* sp. MB 2.6, *Aspergillus* sp. MB 2.13B e *Paecelomyces* sp. MB 2.14, respectivamente (Tabela 1). Ao analisar o pH final do extrato enzimático foi possível observar que todas a linhagens obtiveram pH ácido, apresentando uma variação de 3,5 a 5,5.

A linhagem que obteve o pH mais ácido foi o *Aspergillus* sp. MB 2.13B com pH 3,53 e menor atividade lipolítica de 3,57 U totais, enquanto que o *Aspergillus* sp. MB 2.7 obteve a mais expressiva atividade enzimática, 12,93 U totais, apresentou o pH menos ácido, pH 5,48, seguido do *Aspergillus* sp. MB 2.1 com 6,39 U totais, equivalendo a, aproximadamente, 50 % e 72 % menos atividade que a linhagem de maior atividade lipolítica, respectivamente. Vale citar que, as demais linhagens apresentaram atividade zero, apesar de apresentarem crescimento (Tabela 1). Após a análise dos resultados, o fungo filamentoso estabilizado para estudo foi o MB 2.7.

109

Fungo	Massa micelial (g)	pH final do extrato enzimático	Atividade (U totais)
MB 2.7	0,258	5,48	12,93
MB 2.1	0,248	5,08	6,39
MB 2.13B	0,249	3,53	3,57
MB 2.6	0,227	5,22	0
MB 2.14	0,207	4,36	0

Tabela 1 – Análise da atividade de lipases produzida pelos fungos filamentosos isolados em meio de cultura submerso.

## 3.5 Determinação do meio de cultura para crescimento do fungo *Aspergillus* sp. MB2.7 e produção lipolítica

O meio considerado propício para as condições estabelecidas foi o meio SR com 15,57 U totais, seguido pelo MSL com 13,04 U totais, Czapek com 2,21 U totais, CP com 0,51 U totais e meio LTS, o qual não apresentou atividade enzimática.

As atividades metabólicas desenvolvidas pelos micro-organismos estão atreladas às formas com que esses são submetidos. Este é um critério que está diretamente ligado ao produto de interesse. Portanto, é destacada a importância de escolher e analisar os nutrientes adequados para o cultivo de uma linhagem, utilizando-se fontes propícias que favoreçam o bom desempenho do micro-organismo e retirar aquelas que o inibem. A composição do meio de cultivo é um fator de grande importância na produção de lipases. Os meios de cultura são suplementados com a utilização de compostos quimicamente conhecidos ou matérias-primas naturais (COELHO et al., 2008).

Diante do observado nesse trabalho, os resultados corroboram com os constatado por Facchini e seus colaboradores (2016), cujo meio de cultura selecionado para produção de lipases pelo fungo *Fusarium oxysporum* foi o meio submerso SR, a 30 ° C, após três dias de cultivo a 100 rpm.

### 3.6 Determinação da fonte de nitrogênio do meio de cultura para produção de lipase

Analisando-se a massa micelial, pode-se dizer que o meio SR contendo apenas extrato de levedura apresentou biomassa inferior (0,488 g) quando comparada ao meio controle SR (0,523 g), entretanto foi observado uma maior atividade lipolítica, sendo essa de 14 % superior ao meio SR (Tabela 2).

Pode-se observar que as fontes de nitrogênio alteraram significativamente o pH da solução, sendo 6,26 para o extrato de levedura, ou seja, quando comparado ao meio controle, 5,44, este obteve um aumento de 13 % na alcalinidade (Tabela 2).

Os resultados demonstraram que o *Aspergillus* sp. MB 2.7 obteve melhor atividade enzimática no meio SR na presença de extrato de levedura, sendo a fonte de nitrogênio

mais favorável com 15,10 U totais, seguido pelo meio controle SR com 12,96 U totais, cloreto de amônio com 8,06 U totais e peptona com 5,81 U totais (Tabela 2).

Fonte	Massa micelial (g)	pH final do Extrato Enzimático	Atividade (U totais)
SR	0,523	5,44	12,96
Extrato Levedura	0,488	6,26	15,10
Cloreto de amônio	0,169	4,47	8,06
Peptona	0,154	7,02	5,81
Extrato Levedura + Peptona	0,410	7,22	4,80
Acetato de amônio	0,197	7,06	4,30

Tabela 2 - Análise de diferentes fontes de nitrogênio do meio submerso SR para a produção lipolítica pelo fungo *Aspergillus* sp. MB 2.7.

O nitrogênio é um importante composto encontrado na natureza nas formas orgânica e inorgânica. Constitui-se de proteínas, ácidos nucléicos e outros compostos celulares, tornando-o um elemento de grande importância na produção enzimática. As fontes de nitrogênio possuem uma elevada importância na síntese das enzimas (TAN et al., 2003).

# 3.7 Determinação da solução de sais do meio de cultura submerso para produção de lipases

Observou-se que a produção enzimática na ausência de sais do meio submerso SR foi significativa na atividade lipolítica obtendo 20,20 U totais, sendo essa 23 % maior quando comparada ao meio contendo a solução do próprio meio SR (Tabela 3).

Esses resultados são de especial valia uma vez que a não inserção de sais no meio de cultura diminui custo na produção enzimática, além de ser observado um aumento significativo na atividade da enzima. Dessa forma a lipase produzida pelo fungo *Aspergillus* sp. MB 2.7 em meio submerso SR contendo extrato de levedura como fonte de nitrogênio sem soluções de sais, durante sete dias, à 30 °C mostrou-se ser promissora na aplicação biotecnológica.

Sais	Massa micelial (g)	pH final extrato enzimático	Atividade (U total)
SR	0,147	7,00	15,53
SR + Wesson	0,211	6,23	8,57
Wesson	0,127	6,82	11,90
Sem sais	0,197	6,71	20,20

Tabela 3 - Análise da influência de diferentes soluções de sais para a produção lipolítica pelo fungo Aspergillus sp. MB 2.7.

### 4 I CONCLUSÃO

Esse trabalhou demostrou a importância da prospecção de fungos filamentosos a partir de distintos ambientes e a padronização das condições químicas para seu crescimento e produção de lipase.

No presente trabalho, foram coletadas quatro diferentes amostras do município de Linhares-ES, sendo isolados dezessete fungos filamentosos, sendo esses possivelmente pertencentes ao gênero *Aspergillus*, *Mucor*, *Paecilomyces* e *Rhyzopus*, sendo os demais fungos não identificados. A partir do fungos isolados, selecionou-se o *Aspergillus* sp. MB 2.7, como potencial lipolítico sem adição de sais e contendo extrato de levedura como fonte de nitrogênio. Dessa forma, pode-se dizer que o trabalho foi desenvolvido com êxito, dentro das características estabelecidas, e apresentou potencial biotecnológico uma vez que o fungo *Aspergillus* sp. MB 2.7 tem capacidade de produzir a enzima de interesse com atividade significativa para possíveis aplicações industriais.

### **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

### **REFERÊNCIAS**

BARATTO, C. M; SALAMONI, S.; COSTA, R.,; OLIVEIRA, C. B.; LOCATELLI, G. O. Seleção de MICRO-ORGANISMOS produtores de enzimas hidrolíticas isolados da região do meio oeste de Santa Catarina, Brasil. Evidência, Joaçaba v. 11 n. 2, p. 15-28, 2011.

BENASSI, Vivian Machado; ALMEIDA, Aline. Prospecção de fungos filamentosos termotolerantes e termofílicos de distintos materiais coletados no estado de Minas Gerais e análise de potenciais produtores de amilases. **Unimontes Científica**, v. 20, n. 1, p. 150-169, 2019.

BENASSI, V.M.; LUCAS, R.C.; MICHELIN, M.; JORGE, J.A.; TERENZI, H.F.; POLIZELI, M.L.T.M. Production and action of an Aspergillus phoenicis enzymatic pool using different carbon sources. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15(3), p 253-260, 2012.

CANET, A., BONET-RAGEL, K., BENAIGES, M. D., & VALERO, F. Lipase-catalysed transesterification: Viewpoint of the mechanism and influence of free fatty acids. **Biomass and Bioenergy**, v. 85, p. 94-99, 2016.

CARDENAS, F., ALVAREZ, E., DE CASTRO-ALVAREZ, M. S., SANCHEZ-MONTERO, J. M., VALMASEDA, M., ELSON, S. W., & SINISTERRA, J. V. Screening and catalytic activity in organic synthesis of novel fungal and yeast lipases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 14, n. 4-6, p. 111-123, 2001.

COELHO, M. A. Z; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. Tecnologia enzimática. 1ª edição. 2008.

EMERSON, Ralph. An experimental study on the life cycles and taxonomy of Allomyces. **Lloydia**, v. 4, p. 77-144, 1941.

FACCHINI, F. D. A., VICI, A. C., PEREIRA, M. G., DE OLIVEIRA, M. F., BATISTA, A. C. F., VIEIRA, A. T., ... & POLIZELI, M. L. T. M. A useful methodology to select lipase-catalyzed transesterification aiming biodiesel application. **Revista Brasileira de Engenharia de Biossistemas**, v. 10, n. 1, p. 01-13, 2016.

- GUIMARÃES, LHS, PEIXOTO-NOGUEIRA, SC, MICHELIN, M., RIZZATTI, ACS, SANDRIM, VC, ZANOELO, FF, ... & POLIZELI, MDL. Triagem de fungos filamentosos para produção de enzimas de interesse biotecnológico. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 37, n. 4, p. 474-480, 2006.
- LACAZ, C. D. S., PORTO, E., & MARTINS, J. E. C. Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 33, n. 4, p. 332-332, 1991.
- LUZ, B. D. da S. BICAS, J. L.; SARROUH, B.; LOFRANO, R. C. Z.. Bioprospecção de microrganismos produtores de enzimas de interesse industrial realizada no Parque Estadual Serra do Ouro Branco, Brasil. **Interbio**, v.10 n.1, Jan-Jun, 2016.
- MOAZENI, Faegheh; CHEN, Yen-Chih; ZHANG, Gaosen. Enzymatic transesterification for biodiesel production from used cooking oil, a review. *Journal of cleaner production*, 216: 117-128, 2019.
- MARINHO, B. M. **Produção de lipase por novas linhagens de fungos filamentosos.** [Trabalho de conclusão de curso]. Diamantina. Curso de farmácia. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2011.
- MICHELIN, M. Potencial dos fungos Aspergillus terricola e Aspergillus ochraceus no desenvolvimento de bioprocessos e propriedades das enzimas xilanolíticas. [Tese Doutorado em Ciências]. Ribeirão Preto. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP, p.212, 2009.
- MUSSATTO, Solange I.; FERNANDES, Marcela; MILAGRES, Adriane MF. Enzimas-Poderosa ferramenta na indústria. *Ciência Hoje*, 41: 28-33, 2007.
- PEIXOTO, S. C., JORGE, J. A., TERENZI, H. F., & MARIA DE LOURDES, T. M. Rhizopus microsporus var. rhizopodiformis: a thermotolerant fungus with potential for production of thermostable amylases. **International Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 269-273, 2003.
- RIOS, N. S., PINHEIRO, B. B., PINHEIRO, M. P., BEZERRA, R. M., DOS SANTOS. Biotechnological potential of lipases from Pseudomonas: Sources, properties and applications. **Process Biochemistry**, v. 75, p. 99-120, 2018.
- RIZZATTI, A.C.S.; JORGE, J.A.; TERENZI, H.F.; RECHIA, C.G.V.; POLIZELI, M.L.T.M. Purification and properties of a thermostable extracellular α-D-xylosidase produced by thermotolerant Aspergillus phoenicis. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.**, 26:156-160, 2001.
- SIERRA, Gonzalo. A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 23, n. 1, p. 15-22, 1957.
- SILVA, L. T. A. **Produção e caracterização bioquímica de amilases produzidas por Penicillium sp. L1 isolado em Janaúba MG.** [Trabalho de conclusão de curso], 2018. Instituto de Engenharia, Ciência e Tecnologia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2018.
- TAN, T., ZHANG, M., WANG, B., YING, C., & DENG. Screening of high lipase producing Candida sp. and production of lipase by fermentation. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 4, p. 459-465, 2003.
- TROIANO, D., ORSAT, V., & DUMONT, M. J. Status of filamentous fungi in integrated biorefineries. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 117, p. 109472, 2020.
- WISEMAN, Alan. Handbook of enzyme biotechnology. Ellis Horwood Ltd John Wiley & Sons, p.148, 1975.

113

Capítulo 12

### **ÍNDICE REMISSIVO**

### Α

Abelhas sem ferrão 10, 114, 115, 116, 118, 119, 121

Água 14, 15, 17, 35, 36, 37, 45, 51, 63, 64, 72, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 92, 94, 96, 102, 104, 105, 106, 107, 117, 157

Alternative control 22

Amazônia 20, 21, 32, 33, 42, 58, 72, 73, 74, 76, 97, 101, 114, 115, 120, 121

Antagonismo 12

Antifúngica 10, 16, 19, 21, 22, 23, 43, 59, 62, 70, 122, 124, 125, 131, 133, 135, 136, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145

Aspergillus 10, 23, 24, 27, 102, 103, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 118, 119, 148, 149, 152, 154, 155, 157, 159

Atividade enzimática 44, 46, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 102, 104, 105, 109, 110, 128, 151

### В

Basidiomycota 22, 23

Bioautografia 11, 12, 14, 16, 17, 18, 19

Bioprospecção 102, 113, 148, 150

Biotecnologia 21, 33, 44, 57, 102, 103, 114, 151, 154, 156, 157, 158, 160

### C

Candida spp. 61, 62, 63, 68, 69, 71, 97, 98, 99, 100, 145, 146

Candidíase oral 61, 68, 71, 98

Cogumelo 48, 49, 51, 53

Cryptococcus gattii 9, 72, 73, 123, 131

Cryptococcus neoformans 10, 72, 73, 122, 123, 131, 132

Cultivo submerso 32, 35, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 106

Cybopogom flexuosus 122, 123

### D

Diversidade 7, 9, 33, 34, 41, 74, 76, 80, 89, 93, 94, 95, 96, 116, 149

### Ε

Enzimas 10, 44, 45, 49, 54, 60, 66, 68, 69, 99, 102, 103, 111, 112, 113, 129, 138, 148, 150, 151, 152, 153, 154, 156, 157, 158

Esporotricose 8, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10

Essential oils 21, 123

Extrato aquoso 11, 12, 55

### F

Fatores de virulência 9, 10, 60, 62, 68, 69, 70, 97, 98, 99, 101, 122, 123, 131

Fluconazol 9, 58, 60, 61, 64, 67, 68, 69, 124, 141, 142

Fontes nutricionais 48, 50

Fungos 2, 7, 8, 9, 10, 2, 11, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 32, 33, 35, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 49, 54, 57, 73, 74, 75, 77, 93, 94, 95, 96, 99, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 123, 134, 137, 145, 148, 149, 150, 152, 153, 154, 156, 157, 158, 160

Fungos endofíticos 8, 10, 20, 32, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 156, 157

Fungos filamentosos 10, 73, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 114, 137, 148, 149, 150, 152, 153, 154, 156, 157

Fusariosis 22, 23, 29

### G

Gatos domésticos 1, 6, 7

Ī

Idosos 9, 97, 98, 99, 101 Infecções fúngicas 10, 62, 68, 133, 134, 135, 140 Intestino 114, 115, 116, 117, 119

### L

Lipase 10, 44, 45, 46, 102, 103, 105, 106, 109, 110, 111, 112, 113, 155, 156, 157, 158, 159

### M

Metabolismo secundário 33

### N

Natural products 22, 23, 30, 41, 42, 123, 132 Nordeste brasileiro 8, 1, 8, 9

### P

Pectinases 148, 149, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157 Phytopathogen 22, 24, 27, 29

### R

Resíduos agroindustriais 44, 148, 156 Resistência fúngica 61

### S

Solo 9, 2, 3, 7, 13, 21, 72, 74, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 94, 96, 124

Susceptibilidade antifúngica 133, 142, 143, 145

### T

Transmissão zoonótica 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9

### ٧

Virulence factors 61, 71, 98, 101, 123

### Z

Zoospóricos 9, 74, 75, 76, 80, 93, 94, 95, 96

Atena 2 0 2 0