

Maria Helena Alves  
Mateus Oliveira da Cruz

# Fungos do ar e solo: do isolamento à detecção enzimática

Maria Helena Alves  
Mateus Oliveira da Cruz

# Fungos do ar e solo: do isolamento à detecção enzimática

<b>Editora Chefe</b>	Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
<b>Assistentes Editoriais</b>	Natalia Oliveira Bruno Oliveira Flávia Roberta Barão
<b>Bibliotecária</b>	Janaina Ramos
<b>Projeto Gráfico e Diagramação</b>	Natália Sandrini de Azevedo Camila Alves de Cremo Luiza Alves Batista Maria Alice Pinheiro
<b>Capa</b>	2021 by Atena Editora
Mateus Oliveira da Cruz	Copyright © Atena Editora
<b>Edição de Arte</b>	Copyright do Texto © 2021 Os autores
Luiza Alves Batista	Copyright da Edição © 2021 Atena Editora
<b>Revisão</b>	Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora
Os Autores	pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

#### Conselho Editorial

##### Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

- Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
- Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia
- 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. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
- Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
- Prof. Dr. Daniel Richard Sant'Ana – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª 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  
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª 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 Gislene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
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  
Profª Drª 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  
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

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 Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra  
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia  
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
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  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino  
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª 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. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Linguística, Letras e Artes**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

#### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrão Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí  
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais  
Prof. Me. Aleksandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional  
Profª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa  
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia  
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco  
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. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná  
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. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa  
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein  
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás  
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Me. Fabiano Eloy Atílio Batista – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás  
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. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social  
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe  
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  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás  
Prof<sup>a</sup> Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia  
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  
Prof<sup>a</sup> 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. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz  
Prof<sup>a</sup> Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>a</sup> Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas  
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo  
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. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa  
Prof<sup>a</sup> Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba  
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Prof<sup>a</sup> Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão  
Prof<sup>a</sup> Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
Prof<sup>a</sup> Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
Prof<sup>a</sup> Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

## Fungos do ar e do solo: do isolamento à detecção enzimática

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
F981	Fungos do ar e do solo: do isolamento à detecção enzimática / Organizadores Maria Helena Alves, Mateus Oliveira da Cruz. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.
Formato:	PDF
Requisitos de sistema:	Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso:	World Wide Web
Inclui bibliografia	
ISBN	978-65-5706-737-6
DOI	10.22533/at.ed.376212201
1.	Fungos. 2. Fungos anemófilos. 2. Aspergillus.
3.	Cladosporium. I. Alves, Maria Helena (Organizadora). II. Cruz, Mateus Oliveira da (Organizador). III. Título.
	CDD 579.5

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

# SOBRE OS AUTORES



**Maria Helena Alves**

Doutora em Ciências Biológicas na área de Botânica subárea Micologia pela Universidade de São Paulo. Professora associada III da Universidade Federal do Piauí, colaboradora da Universidade Federal do Delta do Parnaíba.



**Mateus Oliveira da Cruz**

Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí. Mestrando do Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco.



**Ana Beatriz dos Santos Moraes**

Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí.



**Clélia de Paula da Silva Costa**

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí.



**Diogo Xavier Lima**

Doutor em Biologia de Fungos pela Universidade Federal de Pernambuco.



**Jéssica Soares Barbosa**

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí.



**Maria de Fátima Dutra Freitas**

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí.

# Prefácio

Este livro traz uma coletânea de trabalhos desenvolvidos pelo grupo de pesquisa da Dra. Maria Helena Alves abordando aspectos importantes sobre os fungos, organismos extremamente importantes devido, dentre outros aspectos, à sua diversidade, interações com o ecossistema, potencial biotecnológico e características bioquímicas e fisiológicas, entre outras.

As pesquisas abordam estudos realizados com fungos isolados do ar, devido à importância destes microrganismos na qualidade do ar dos ambientes fechados e fungos isolados do solo, “habitat” extremamente rico e complexo, o qual induz os espécimes a expressarem suas “capacidades” enzimáticas, considerando sua “função” de decompósitores (juntamente com as bactérias), no ciclo da matéria orgânica.

Assim, o conteúdo aqui abordado contribui significativamente para o conhecimento científico sobre os fungos no Brasil além de estimular o desenvolvimento de outras pesquisas neste contexto.

Deixo aqui os parabéns aos autores dos capítulos que abordaram o assunto de forma clara, objetiva e com literatura atual, alcançando resultados significativos para os interessados em estudos que envolvem os fungos do ar e do solo, enfatizando a detecção de enzimas.

Aos interessados por esta obra tenham uma ótima leitura.

Dra. Kaoru Okada  
PhD em Medicina/Microbiologia

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	1
Análise dos fungos filamentosos ocorrentes no ar em setores internos e climatizados de uma universidade do estado do Piauí, Brasil	
<b>Mateus Oliveira da Cruz</b>	
<b>Maria Helena Alves</b>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3762122011</b>	
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	19
Efeito da temperatura e pH na detecção de amilases e celulases por táxons de <i>Aspergillus</i> isolados do ar	
<b>Mateus Oliveira da Cruz Diogo</b>	
<b>Xavier Lima</b>	
<b>Jéssica Soares Barbosa</b>	
<b>Ana Beatriz Sousa Morais</b>	
<b>Maria Helena Alves</b>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3762122012</b>	
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	38
Atividade amilolítica de <i>Aspergillus</i> (Eurotiales, Aspergillaceae) isolado do solo no Norte do Piauí	
<b>Mateus Oliveira da Cruz</b>	
<b>Maria de Fátima Dutra Freitas</b>	
<b>Maria Helena Alves</b>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3762122013</b>	
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	56
Análise enzimática de <i>Rhizopus</i> Ehrenb. (Mucorales, Mucoraceae) isolado de solo em Parnaíba, Piauí	
<b>Mateus Oliveira da Cruz</b>	
<b>Clélia de Paula da Silva Costa</b>	
<b>Maria Helena Alves</b>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3762122014</b>	
<b>CAPÍTULO 5 .....</b>	71
Caracterização enzimática de táxons de Mucromycota e Mortierellomycota (Mucromyceta) isolados do solo no Piauí	
<b>Mateus Oliveira da Cruz</b>	
<b>Clélia de Paula da Silva Costa</b>	
<b>Maria Helena Alves</b>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3762122015</b>	

# Capítulo 2

## Efeito da temperatura e pH na detecção de amilases e celulases por táxons de *Aspergillus* isolados do ar

Mateus Oliveira da Cruz  
Diogo Xavier Lima  
Jéssica Soares Barbosa  
Ana Beartiz Sousa Morais  
Maria Helena Alves

### RESUMO

Os fungos anemófilos têm sido poucos explorados biotecnologicamente. No entanto, muitos desses fungos, como *Aspergillus*, apresentam características fisiológicas que os tornam promissores para estudos de produção de enzimas como amilases e celulases, que apresentam grande importância industrial para produção de um grande número de produtos relevantes ao homem. A otimização destas enzimas é essencial para a produção das mesmas em grande escala. Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do pH e temperatura na detecção de amilases e celulases por *Aspergillus* isolados do ar. A coleta dos propágulos fúngicos se deu em setores da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Parnaíba, Piauí, através do método de exposição de placas abertas contendo meio de cultivo Ágar Martin. Os espécimes foram isolados e identificados por taxonomia clássica. Os testes enzimáticos foram realizados em meio de cultura específico: amido para amilases e carboximetilcelulose para indução de

celulases. O experimento foi carreado em triplicata, sendo as amostras inoculadas em meio de cultivo de diferentes faixas de pH (entre 5.0 e 9.0) e incubadas sob as temperaturas de 28°C, 33°C, 38°C e 42°C. Após 120 horas de incubação, a atividade enzimática foi determinada e expressado o diâmetro do halo formado em cm. Seis táxons foram estudados: *Aspergillus carbonarius*, *A. flavus*, *A. foetidus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus* var. *japonicus* e *A. oryzae*. Todas os táxons apresentaram detecção de amilases e celulases. Os diferentes valores de pH e temperatura influenciaram na detecção enzimática dos isolados testados. Desta forma, o presente estudo apresenta o potencial biotecnológico de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* quanto à detecção enzimática de amilases e celulases, como também a importância dos parâmetros de pH e temperatura na análise qualitativa destas enzimas.

PALAVRAS-CHAVE: Enzimas; Fungos; Metabólitos.

## 1. INTRODUÇÃO

Fungos anemófilos são aqueles cuja dispersão ocorre através do ar atmosférico. Estes fungos estão expostos a condições hostis, como alteração de temperatura e umidade, escassez de nutrientes e radiação ultravioleta (UV). Com isso, esses microrganismos apresentam mecanismos metabólicos apropriados e adaptados para diminuir os efeitos adversos do ambiente e garantir a sobrevivência sob condições adversas. Estudos, como os de Tanaka et al. (2019), vem apresentando perspectiva promissora para bioprospecção destes fungos anemófilos.

Dentre os fungos anemófilos, o gênero *Aspergillus* Micheli é o táxon de maior representatividade conforme os autores Chaudhuri et al. (2019) e Fu et al. (2020). Táxons deste gênero têm sido estudados quanto ao seu potencial biotecnológico para a produção de compostos químicos, como antibióticos (PRADO et al., 2017) e proteínas (ARAST; GIRMA, 2018). Sobral et al. (2017) apontam que espécies de *Aspergillus* isolados do ar possuem capacidade para produzir enzimas extracelulares.

As enzimas são bastante aplicadas biotecnologicamente na produção de diversos produtos, como alimentos, remédios, roupas, cosméticos, detergentes e papel, bem como na indústria têxtil e química (ORLANDELI et al., 2012; AVENDAÑO et al., 2016). Conforme novos dados reportados pelo Global Market Insights Inc., o mercado de enzimas industriais ultrapassará um movimento de USD 9.5 bilhões até o ano de 2024 (AAL et al., 2019). Diante da diversidade de enzimas existentes, tem-se aquelas que clivam ligações químicas através da água, constituindo a classe das hidrolases, sendo o caso das amilases e celulases.

As amilases possuem por função a catálise da hidrólise do amido produzindo dextrina e polímeros de glicose (GUPTA et al., 2003). Estas enzimas são usadas pelos fungos para quebra do amido, que é uma grande molécula formada por amilose e amilopectina. A clivagem dessa molécula libera carbono necessário para a nutrição do fungo (PEIXOTO et al., 2003). Condições, como pH, temperatura, tempo de incubação e crescimento celular, são fatores determinantes na detecção de amilases por fungos (ARAST; GIRMA, 2018).

No que diz respeito às celulases, estas catalisam a hidrólise da celulose. Por meio das celulases ocorre a liberação de hexoses e pentoses. Estas enzimas não conseguem individualmente hidrolisar a celulose de maneira eficiente, assim necessitando da ação conjunta de várias outras enzimas. As celulases fúngicas têm sido as mais estudadas e exploradas biotecnologicamente quanto à aplicação industrial (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010).

As enzimas são produzidas pelos fungos em meio controlado, por meio da fermentação, onde o microrganismo é inoculado em um biorreator que possui o nutriente adequado. Para essa produção é necessário observar as condições físico-químicas,

bioquímicas e operacionais. A síntese de enzimas extracelulares por fungos pode ocorrer em processo submerso, semi-sólido e de superfície. Neste último, as células crescem na superfície do meio de cultura (AL-MAQTARI; AL-ANSI; MAHDI, 2019).

O cultivo de microrganismos em estado sólido torna-se mais viável por apresentar baixo custo (BARRIOS-GONZÁLEZ, 2012; EL-BAKRI et al., 2015). A temperatura e pH são parâmetros importantes a serem avaliados para uma melhor produção de enzimas (SHAH et al., 2014). Com isso, experimentos têm sido desenvolvidos com fermentação em estado sólido sob diferentes temperaturas e diferentes faixas de pH, com o intuito de estabelecer parâmetros ótimos para produção de enzimas com potencial biotecnológico (PATEL; PATEL; SHAH, 2014; BHAVSAR et al. 2015; ABDULLAH et al., 2018).

Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo caracterizar espécimes de *Aspergillus* isolados do ar quanto à detecção de amilases e celulases, bem como avaliar os efeitos do pH e temperatura na produção dessas enzimas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Isolamento e identificação dos fungos

Os propágulos fúngicos foram isolados do ar de setores fechados e climatizados da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar), Campus Ministro Reis Velloso (CMRV), situada na cidade de Parnaíba, Piauí, através do método Settle plate de acordo com a metodologia de Lacaz et al. (2002), com algumas modificações. As placas de Petri contendo meio de cultivo Ágar Martin (MARTIN, 1950) foram expostas por 10 minutos a uma altura de um metro do chão.

Após a exposição das placas, as mesmas foram fechadas, vedadas com filme de PVC e mantidas em luminosidade e temperatura ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) ambientes para observação do desenvolvimento dos fungos, sendo a observação realizada no decorrer de cinco dias de incubação. Os fungos isolados foram incubados em meio Ágar Extrato de Malte (MEA) (PITT; HOCKING, 1997) e/ou Ágar Batata Dextrose (BDA) (LACAZ et al. 2002).

A identificação dos espécimes foi realizada por comparação morfológica e morfocultural dos isolados com a literatura especializada seguindo Lacaz et al. (2002), Klich e Pitt (1988) e Ellis (1971). Os isolados fúngicos estão armazenados no Laboratório de Micologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba – CMRV.

### 2.2. Triagem para produção de enzimas e efeito da temperatura e pH

Com o objetivo de evitar a variabilidade genética e obter uma cultura pura, foi realizado o cultivo monospórico dos espécimes selecionados usando o protocolo de Santos et al. (2009). A partir da cultura monospórica foi obtido a suspensão de esporos, da qual uma alíquota foi removida para câmara de Newbauer a fim de observar a contagem dos esporos sob microscópio óptico, resultando em suspensão de 106 esporos/mL, conforme a metodologia adotada por Alves et al. (2002).

Para detecção de amilases usou-se a metodologia proposta por Hankin e Anagnostakis (1975), com modificação, utilizando como substrato 0,2% de amido solúvel (Merck). Seguindo o método de Dingle et al. (1953), para a detecção de celulases usou-se Carboximetilcelulose como substrato específico. Adotando a metodologia utilizada por Alves et al. (2002), 15 mL do substrato foi vertido na placa de Petri e, após solidificado, foi realizado “pocinho” central de 5mm de diâmetro no qual foi adicionado 50 µL da suspensão de esporos  $10^6$ .

Para a revelação dos halos de amilases e celulases foi usado uma solução de iodo a 5%(m/v) (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1975) e vermelho congo a 5% (m/v) (DINGLE et al., 1953), respectivamente. A detecção de enzimas foi analisada através do diâmetro do halo de degradação a partir do verso da placa de Petri e representado em centímetro. Todos os testes foram realizados em triplicata. A medição dos halos ocorreu com 120 horas.

Cinco valores de pH (5.0, 6.0, 7.0, 8.0 e 9.0) foram testados. Para a manipulação do pH dos substratos usou-se NaOH (20%) e HCl (10%) (CHANDRASEKARAN; KUMARESAN; MANAVALAN, 2015). Enquanto para a otimização de temperatura, trabalhou-se com estufa bacteriológica à temperatura de: 28°C, 33°C, 38°C e 42°C. Todos os testes seguiram-se em triplicata.

### 2.3. Análises estatísticas

Para observar diferenças nos valores médios foi utilizado ANOVA de duas vias e comparação de médias pelo teste de Tukey ( $p = 0,05$ ), com o pacote estatístico SPSS (versão 7.0). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativo.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado foram verificados seis táxons: *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom, *A. flavus* Lank, *A. foetidus* Thom & Raper, *A. fumigatus* Fresen, *A. japonicus* Sait.

var. *japonicus* e *A. oryzae* (Ahlburg) Cohn. Todas os táxons isolados apresentaram formação de halo por amilases e celulases. As diferenças das condições de pH e temperatura influenciaram no tamanho do halo de degradação enzimática produzida pelos estudados.

Para a detecção de amilases por *A. carbonarius*, a ANOVA de duas vias demonstrou que ocorreu efeito da temperatura no diâmetro do halo [ $F(3,40) = 50,801$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 32,142$ ;  $p < 0,001$ ], como também houve efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 3,13$ ;  $p < 0,005$ ] na detecção de amilases. O post-hoc de Tukey demonstrou que não ocorreu diferença significativa entre o tamanho dos halos sob temperaturas 28°C e 33°C, e 38°C e 42°C. Além disso, as médias no pH 5.0 diferem de todos outros valores de pH e neste o maior halo, medindo 3.2 cm, foi desenvolvido. Desta forma, o melhor parâmetro para detecção de amilases por *A. carbonarius* consistiu em pH 5.0 e temperaturas 38°C ou 42°C (Figura 1).

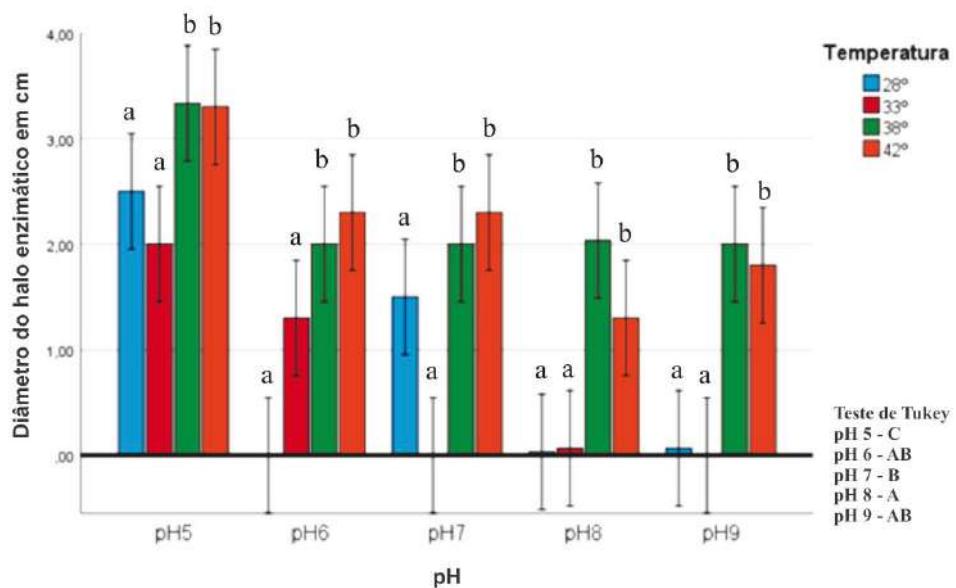


Figura 1 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Amilases por *Aspergillus carbonarius*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Barras de erros: 95% CI.

Quanto aos testes para detecção de celulases, foi observado que houve efeito da temperatura [ $F(3,40) = 19,438$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 11,285$ ;  $p < 0,001$ ] no diâmetro do halo, como também ocorreu efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 12,522$ ;  $p < 0,001$ ] na detecção de celulases por *A. carbonarius*. No entanto, não ocorreu diferença significativa entre a detecção enzimática nas temperaturas 28°C e 38°C. Além

disso, as médias dos halos formados no pH 8.0 diferiram de todas as médias dos halos formados nos demais valores de pH. Os parâmetros ótimos de detecção de celulases por *A. carbonarius* foi sob as condições de temperatura 28°C e pH 8.0, onde detectou-se halo de 3.2 cm (Figura 2).

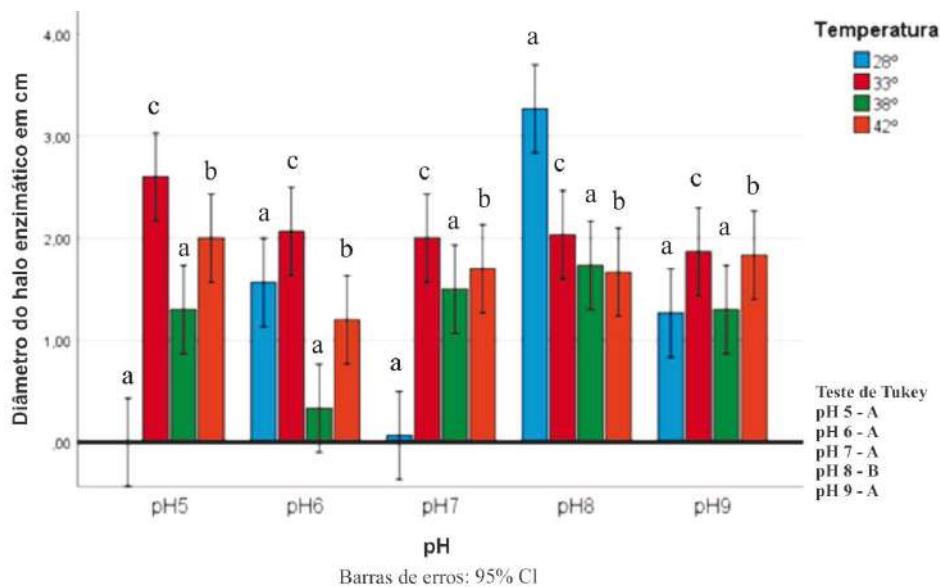


Figura 2 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Celulases por *Aspergillus carbonarius*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os testes com *Aspergillus flavus* demonstraram que houve efeito da temperatura [ $F(3,40) = 271,727$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 50,344$ ;  $p < 0,001$ ] no diâmetro do halo, como também existiu efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 71,361$ ;  $p < 0,001$ ] na detecção de amilases por *A. flavus*. As médias dos halos apresentaram diferença significativa entre todas as temperaturas e também entre todos os valores de pH. Os maiores halos foram sob 38°C em pH 5.0 e 9.0 medindo 5.2 cm. Assim sendo os parâmetros ótimos para detecção de amilases por *A. flavus* em meio de cultura sólido (Figura 3). Os dados apresentaram que houve efeito da temperatura [ $F(3,40) = 64,759$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 37,401$ ;  $p < 0,001$ ] no diâmetro do halo, como também existe efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 17,115$ ;  $p < 0,001$ ] na produção de celulases por *A. flavus*. Não houve diferença significativa entre as temperaturas 28°C, 33°C e 38°C. Além disso, não houve diferença significativa entre os pH 5.0 e 6.0, e 6.0 e 7.0. O maior halo (3.0 cm) foi formado em pH 8.0 sob temperatura de 33°C e 38°C, assim sendo os parâmetros ótimos para produção de celulases por este isolado de *A. flavus* (Figura 4).

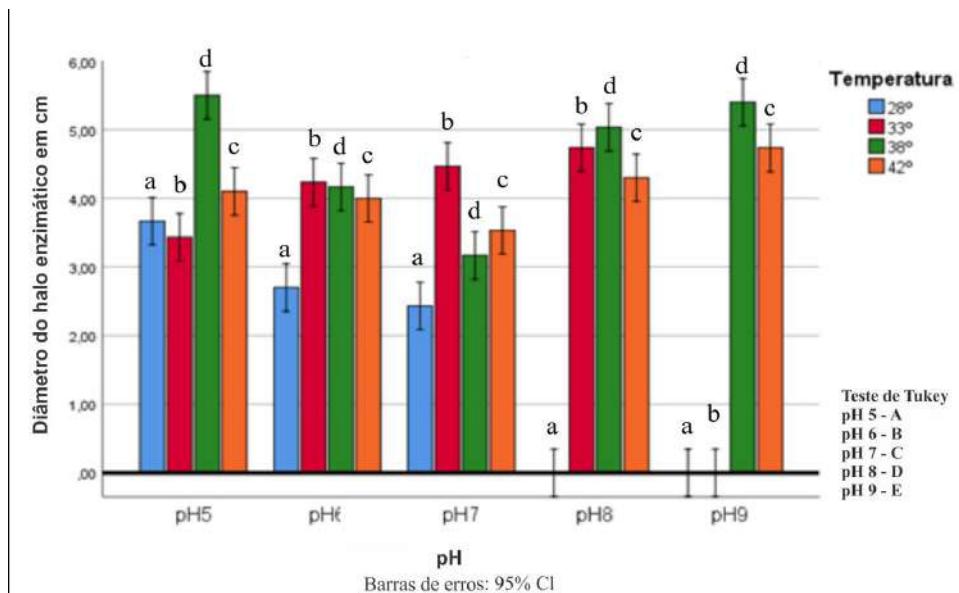


Figura 3 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Amilases por *Aspergillus flavus*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

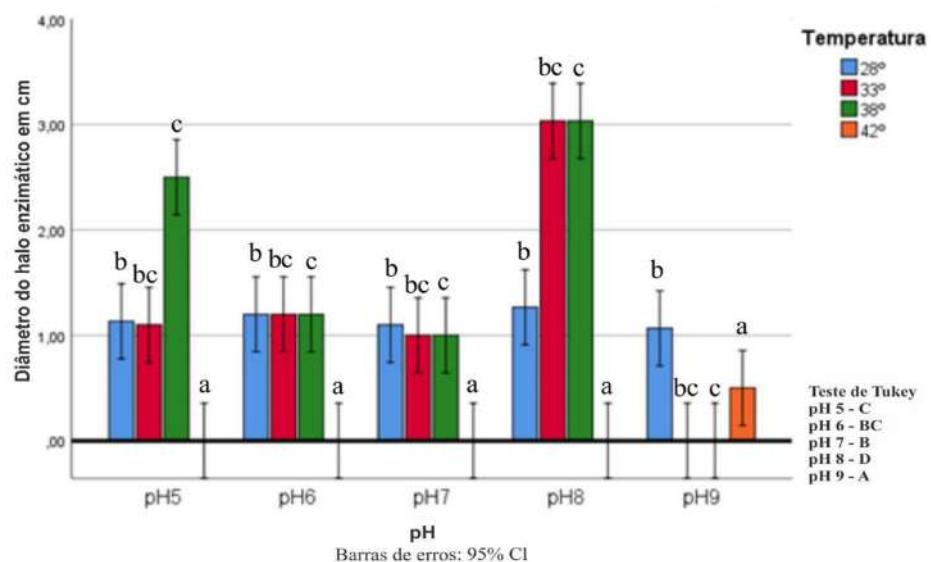


Figura 4 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Celulases por *Aspergillus flavus*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

As médias dos halos mostram que ocorreu efeito da temperatura [ $F(3,40) = 46,121$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 12,322$ ;  $p < 0,001$ ] como também existiu efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 36,756$ ;  $p < 0,005$ ] na produção de amilases por *A. foetidus*. Além do mais, houve diferença significativa entre as médias dos halos sob 28°C e todas as demais temperaturas. As médias dos halos não diferem entre pH 6.0, pH 8.0 e pH 9.0, entre pH 6.0, pH 7.0 e pH 9.0 e entre pH 5.0 e pH 7.0. O maior halo apresentado foi de 5.2 cm em pH 5.0 e temperatura igual a 33°C. Tendo por base as análises estatísticas, os parâmetros ótimos para detecção de amilases por *A. foetidus* é a temperatura de 33°C tanto em pH 5.0 como em pH 7.0 (Figura 5). Quanto à detecção de celulases, os resultados apresentaram efeito da temperatura [ $F(3,40) = 14,912$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 18,407$ ;  $p < 0,001$ ] no diâmetro do halo, como também existiu efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 8,780$ ;  $p < 0,001$ ] na produção de celulases por *A. foetidus*. O post-hoc de Tukey demonstrou que ocorreu diferença significativa entre as médias dos halos formados sob 42°C e todas as outras temperaturas. Além disso, não houve diferença significativa entre estas médias nos valores de pH 7.0, 8.0 e 9.0. O maior halo (5.0 cm) foi observado em pH 5.0 sob 38°C. Desta forma, sendo os parâmetros ótimos para detecção de celulases por este isolado de *A. foetidus* (Figura 6).

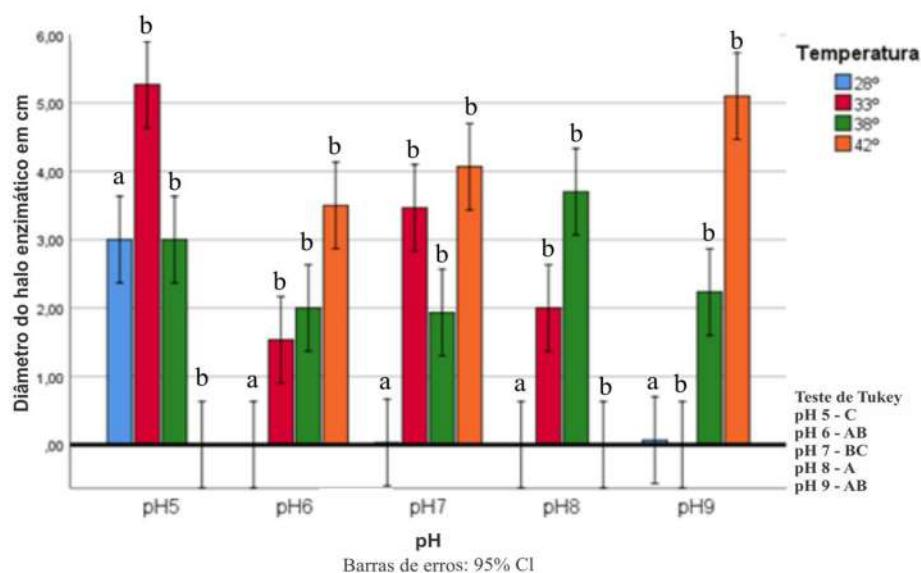


Figura 5 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Amilases por *Aspergillus foetidus*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

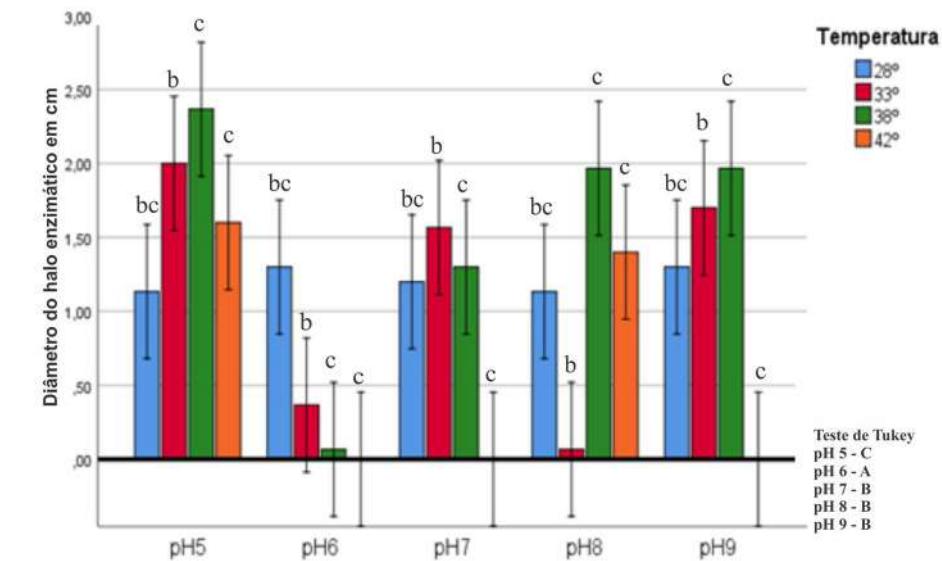


Figura 6 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Celulases por *Aspergillus foetidus*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

De acordo com as médias dos diâmetros de halo ocorreu efeito da temperatura [ $F(3,40) = 228,439$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 9,060$ ;  $p < 0,001$ ] e da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 26,840$ ;  $p < 0,001$ ] na detecção de amilases por *A. fumigatus*. Em contraste, não existiu diferença significativa entre as temperaturas 33°C e 42°C. As médias dos halos formados em pH 5.0 e 9.0 diferem das demais nos outros valores de pH. O maior halo de amilases mediou 8.0 cm de diâmetro sob 38°C e em pH 6.0, 7.0 e 8.0, desta forma, sendo os parâmetros ótimos para a produção enzimática (Figura 7). A detecção de celulases por *A. fumigatus* foi influenciada pela temperatura [ $F(3,40) = 34,083$ ;  $p < 0,001$ ], pH [ $F(4,40) = 21,150$ ;  $p < 0,001$ ] e pela a interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 44,856$ ;  $p < 0,001$ ]. Não demonstrou diferença significativa entre os halos formados nas temperaturas 33°C e 42°C. Além disso, as médias no pH 8.0 diferiram de todas nos demais valores de pH. O maior halo de celulases formado por *A. fumigatus* teve um diâmetro de 6.9 cm em pH 8.0 e 33°C, sendo estes os melhores parâmetros na detecção de celulases por este isolado (Figura 8).

Quanto à otimização para detecção enzimática de amilases por *A. japonicus* var. *japonicus*, houve efeito da temperatura [ $F(3,40) = 46,593$ ;  $p < 0,001$ ] e pH [ $F(4,40) = 12,695$ ;  $p < 0,001$ ] no diâmetro do halo, como também ocorreu efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 15,089$ ;  $p < 0,001$ ]. O post-hoc de Tukey mostrou que não existiu diferença significativa entre o tamanho dos halos em temperaturas de 28°C e 38°C, e

que não demonstrou diferenças significativas entre os halos em pH 5.0, 6.0 e 7.0. Considerando a interação entre temperatura e pH, observa-se diferenças entre as médias em 28°C e pH 7.0, e 28°C em pH 9.0. Considerando a análise estatística, 28°C e 38°C são temperaturas ótimas para detecção de amilases por *A. japonicus* var. *japonicus* em pH 5.0, 6.0 e 7.0. O maior halo de amilases por este isolado apresentou diâmetro de 5.3 cm sob 38°C e pH 5.0 (Figura 9).

A mudança de temperatura mostrou efeito [ $F(3,40) = 82,164; p < 0,001$ ], assim como o pH [ $F(4,40) = 31,396; p < 0,001$ ], no diâmetro do halo de celulases por *A. japonicus* var. *japonicus*, como também verificou-se efeito da interação entre temperatura e pH [ $F(12,40) = 11,982; p < 0,001$ ]. Na comparação entre temperaturas, não existiu diferença significativa entre 28°C e 38°C, e 33°C e 42°C. Além disso, não existem diferenças significativas entre os pH 5.0 e 9.0, 6.0 e 7.0. O maior halo apresentou 2.4 cm de diâmetro em 38°C; pH 5.0, não apresentando diferenças significativas com aqueles em 38°C; pH 9.0 e 28°C em pH 5.0 e 9.0, assim sendo os parâmetros para maior degradação do substrato por celulases pelo isolado de *A. japonicus* var. *japonicus* (Figura 10).

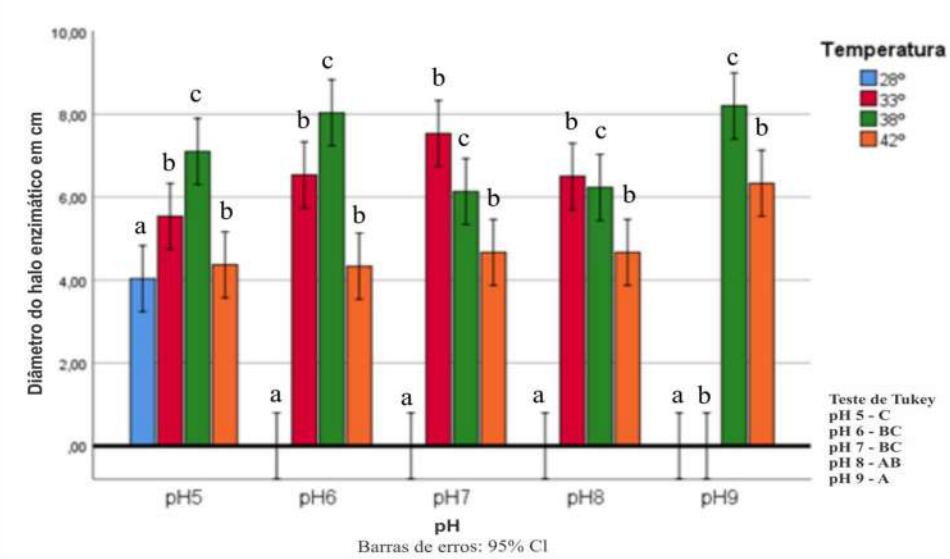


Figura 7 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Amilases por *Aspergillus fumigatus*. Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

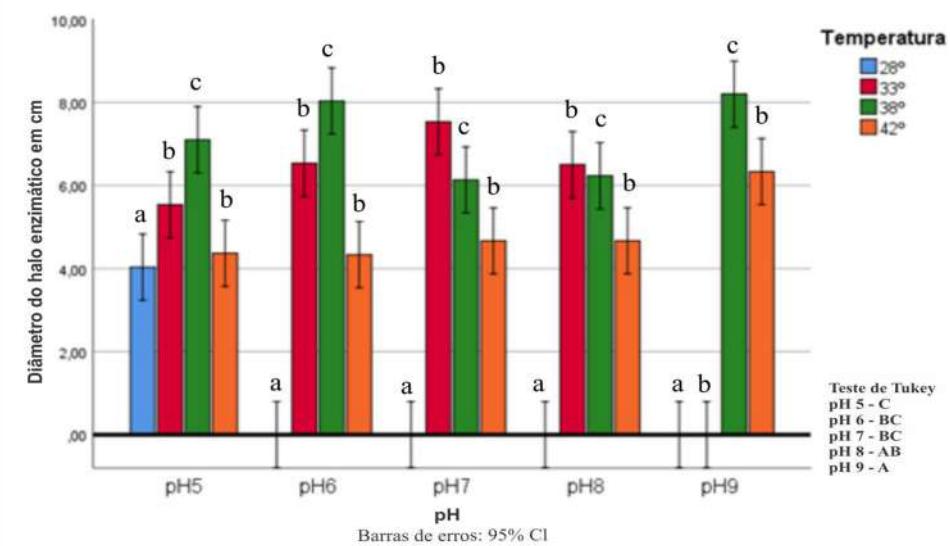


Figura 8 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Celulases por *Aspergillus fumigatus*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

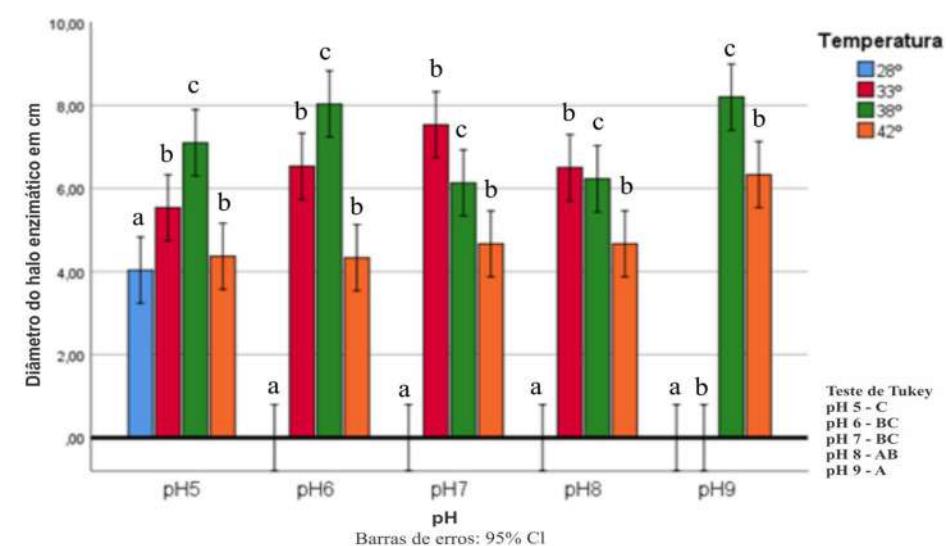


Figura 9 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Amilases por *Aspergillus japonicus* var *japonicus*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

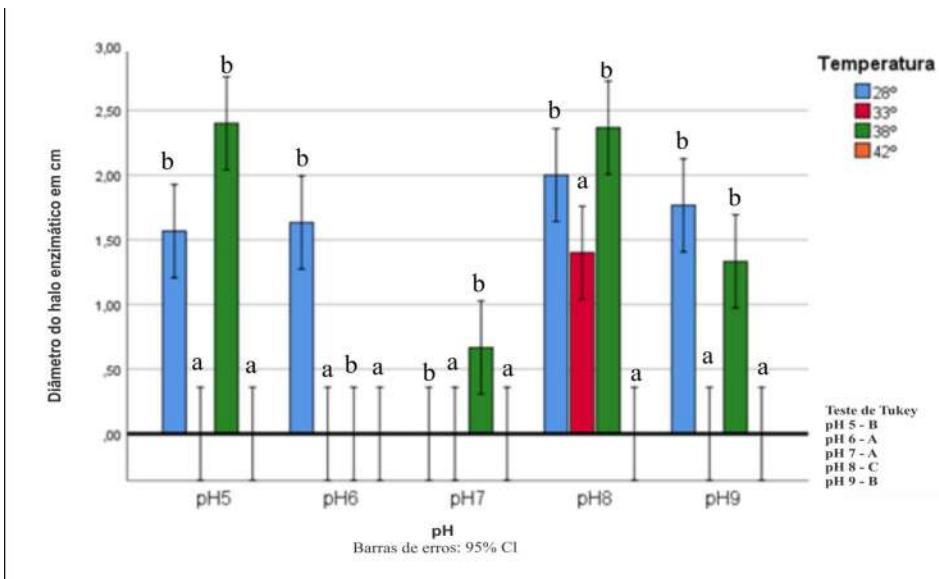


Figura 10 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Celulases por *Aspergillus japonicus* var. *japonicus*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

De acordo com a análise estatística, foi demonstrado efeito da temperatura [ $F (3,40) = 19,382; p < 0,001$ ] e pH [ $F (4,40) = 142,434; p < 0,001$ ] no diâmetro do halo, como também ocorreu efeito da interação entre temperatura e pH [ $F (12,40) = 77,327; p < 0,001$ ] na detecção de amilases por *A. oryzae*. Somente as médias dos halos formados sob 33°C apresentaram diferença significativa entre as demais nas outras temperaturas. Além do mais, não existiu diferença significativa entre as médias em pH 5.0 e 8.0, e entre 6.0 e 7.0. O maior halo mediou 5.2 cm de diâmetro em 33°C e pH 7.0 e não diferiu com o halo (5.0 cm) em pH 6.0, sendo assim os melhores parâmetros quanto à detecção de amilases por *A. oryzae* (Figura 11).

Quanto à produção de celulases por *A. oryzae*, a Anova de duas vias demonstrou efeito da temperatura [ $F (3,40) = 27,087; p < 0,001$ ] e pH [ $F (4,40) = 44,496; p < 0,001$ ] no diâmetro do halo, como também efeito da interação entre temperatura e pH [ $F (12,40) = 31,874; p < 0,001$ ]. Entre as médias dos halos nas temperaturas 28°C e 33°C não houve diferença significativa. Além disso, as médias no pH 5.0 e 8.0 diferiram das demais nos outros valores de pH. O maior halo mediou 8,0 cm de diâmetro em temperatura de 38°C e pH 8.0, sendo os valores de temperatura e pH ótimos para produção de celulases por *A. oryzae* em meio sólido específico (Figura 12).

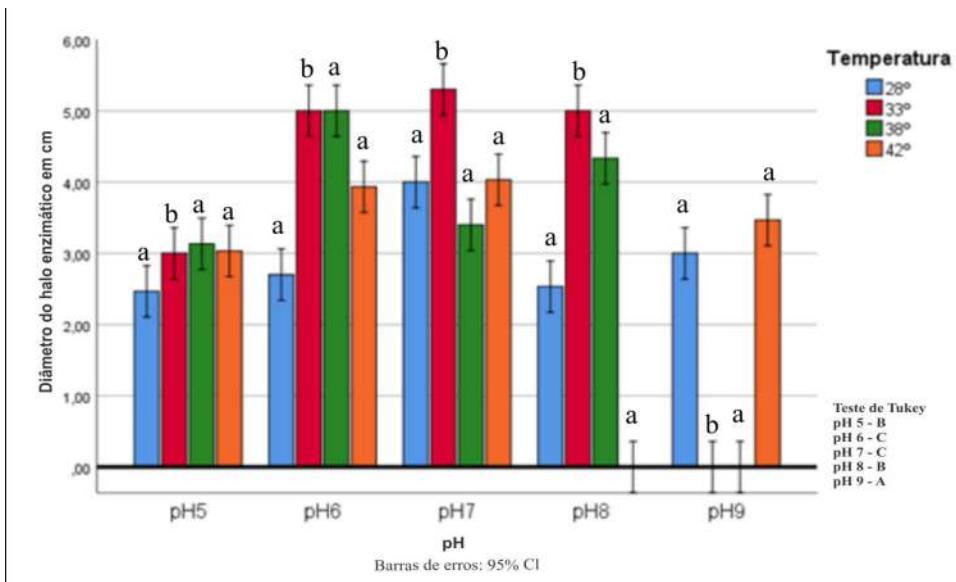


Figura 11 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Amilases por *Aspergillus oryzae*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

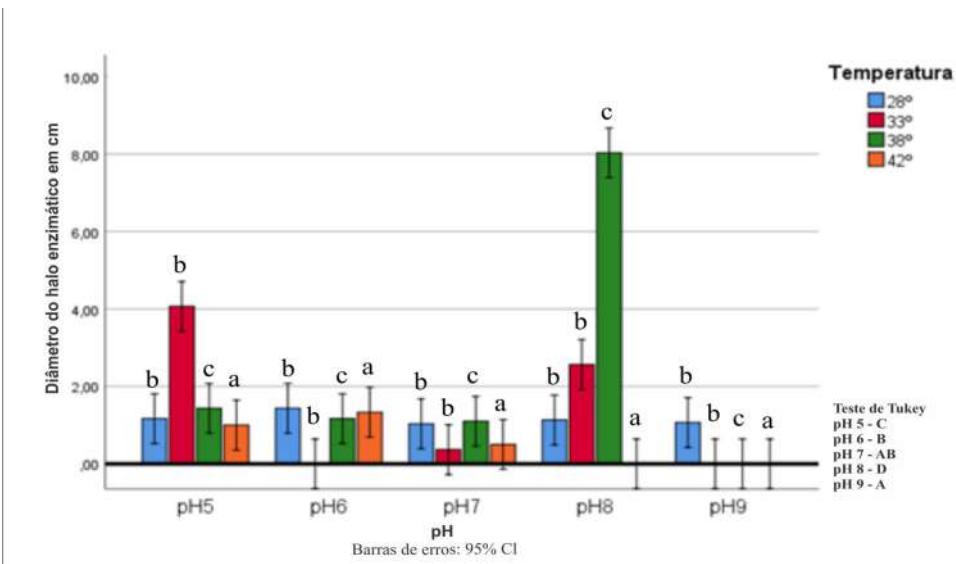


Figura 12 - Diâmetro médio do halo (cm) da atividade de Celulases por *Aspergillus oryzae*.

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente em relação ao pH de acordo com Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas não diferem significativamente em relação a temperatura segundo o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Sobral et al. (2017), ao analisarem a detecção enzimática de *Aspergillus flavus*, *A. japonicus*, *A. parasiticus* e *A. sydowii* isolados do ar, constataram a produção de amilases por

todos os isolados, exceção feita a *A. japonicus*. O pH dos meios de cultivo e temperatura de incubação das amostras não foram apresentados no trabalho, mas considerando que as metodologias clássicas para detecção enzimática consistem em meios de cultivo com pH 6.0 – 7.0 e temperaturas de incubação das amostras igual a 30°C - 35°C, o isolado de *A. flavus* deste estudo, nas condições recém mencionadas, apresentou maior produção de amilases em comparação com o isolado explorado por Sobral et al. (2017) que relataram halo por amilases de 6.0 mm. A detecção de amilases pelo isolado de *Aspergillus japonicus* não foi detectada sob as condições de pH 8.0 e temperaturas de 28°C e pH 9.0 e 28°C e 30°C, condições estas que, provavelmente, não foram utilizadas na análise enzimática de *A. japonicus* por Sobral et al. (2017). Desta forma, o isolado utilizado neste estudo se sobressai quanto à detecção de amilases em meio de cultivo sólido específico.

Ao avaliarem a produção de amilases e celulases por cinco amostras de *Aspergillus* endofíticos, Tavares et al. (2012) detectaram a produção destas enzimas por todos os isolados inoculados em meio de cultivo sólido e mantidos sob temperatura de 25°C. A menor temperatura usada neste trabalho foi 28°C e, de forma geral, o tamanho dos halos foram menores que aqueles desenvolvidos em maiores temperaturas. Os halos por amilases e celulases formados pelos isolados explorados por Tavares et al. (2012) variaram entre 2.0 cm – 3.0 cm e 2.6 cm – 3.5 cm, respectivamente. Enquanto que os isolados aqui analisados apresentaram halos por amilases e celulases variando entre 0,1 cm – 5,1 cm e 0,1 cm – 2.0 cm, respectivamente. Comparando os resultados aqui apresentados com os de Tavares et al. (2012), a produção de amilases foi maior no presente estudo onde a temperatura de incubação foi maior. Por outro lado, halos por celulases foram menores nestas condições de temperatura ( $\geq 28^{\circ}\text{C}$ ).

Fonseca et al. (2017), analisaram a produção de amilases em diferentes condições de pH e temperatura por amostras de *Aspergillus* isolados do solo. O isolado de *A. flavus*, diferente do isolado explorado neste trabalho, não apresentou produção em nenhuma condição de pH e temperatura. Na avaliação de Fonseca et al. (2017), *A. tamarii* (UCP 1261) apresentou maior halo por amilases em pH 6.0 sob temperatura de 37°C. A temperatura usada no presente estudo mais próxima de 37°C foi 38°C e nesta, *A. carbonarius*, *A. flavus*, *A. fumigatus* e *A. japonicus* formaram os maiores halos por amilases. *Aspergillus* (UCP 1392) formou maior halo em pH 6.0 e 7.0 a 45°C. A maior temperatura aqui usada foi de 42°C e somente *A. carbonarius* formou maior halo de amilases nesta. Além do mais, estes dados corroboram com esta pesquisa visto que *A. fumigatus*, *A. japonicus* var. *japonicus* e *A. oryzae* formaram maiores halos por amilases em pH 6.0, e *A. foetidus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus* var. *japonicus* e *A. oryzae* em pH 7.0. O isolado de *A. niger* (UCP 1382), avaliado por Fonseca et al. (2017) apresentou maior halo em pH 7.0 sob temperatura de 28°C. Nesta

temperatura, entre os fungos explorados no presente estudo, somente *A. japonicus* var. *japonicus* formou maior halo por amilases.

Outros estudos como os de Akula e Golla (2018) e Arast e Girma (2018) têm ressaltados que pH e temperatura são parâmetros que influenciam a produção de amilases e celulases por fungos do gênero *Aspergillus*, assim contribuindo com os resultados aqui relatados. Shah et al. (2014) salientam que a produção de enzimas corresponde de forma proporcional ao crescimento do fungo.

Segundo Chalfoun e Batista (2003), *Aspergillus* se desenvolve bem sob as temperaturas 25°C, 37°C e 42°C. Com isso, é comum táxons deste gênero apresentarem maior produção enzimática em alguma destas temperaturas ou em temperaturas próximas a estas, como os dados apresentados neste manuscrito. Cinco dos seis isolados avaliados quanto à detecção de celulases apresentaram maior produção em pH alcalino, estes dados diferem daqueles de Castro e Júnior (2010) e Alves et al. (2020) que apresentaram maior atividade celulolítica de *Aspergillus* sp. em substratos com pH entre 4.0 e 5.0.

A otimização da produção de enzimas hidrolíticas, como amilases e celulases por *Aspergillus* tem sido bastante avaliada em fermentação submersa, sendo poucos os estudos voltados para análise qualitativa como se caracteriza este estudo.

#### **4. CONCLUSÃO**

A interação dos parâmetros de temperatura e pH influenciaram na formação do halo de amilases e celulases por fungos do gênero *Aspergillus* em meio de cultura sólida específica. Este estudo aponta que a não produção ou baixa produção de amilases e celulases, em análise qualitativa, por espécies de *Aspergillus* podem estar relacionadas, não somente à espécie e isolado, mas também ao valor de pH e temperatura utilizados que não favoreceram a produção enzimática pelo fungo. Adicionalmente, triagem da atividade enzimática com isolados do ar demonstrou que os mesmos apresentam, de forma geral, a mesma produção de amilases e celulases que os fungos de solo e endofíticos, demonstrando assim a propriedade biotecnológica dos fungos anemófilos.

## 5 REFERÊNCIAS

- AAL, R. A. A. E.; SHETAIA, Y. M.; SHAFEI, M. S.; GOMAA, S. K.; MENOUFFY, H. A. E.; EL-REFAI, H. A. Optimization of parameters for lipase production by *Aspergillus niger* NRRL-599 using response surface methodology. **Egyptian Pharmaceutical Journal**, [Mumbai], v. 18, v. 2, p. 165-171, 2019.
- ABDULLAH, R.; JAFER, A.; NISAR, K.; KALEEM, A.; IQTEDAR, M.; IFTIKHAR, T.; SALEEM, F.; NAZ, S. Process optimization for pectinase production by locally isolated fungal strain using submerged fermentation. **Biociêncie Journal** [Porto Alegre], v.34, n.4, p.1025-1032, 2018.
- AKULA, S.; GOLLA, N. Optimization of celulase production by *Aspergillus niger* isolated from forest soil. **The Open Biotechnology Journal**, [Hilversum], v. 12. p. 256-269, 2018.
- AL-MAQTARI, Q. A.; AL-ANSI, W.; MAHDI, A. A. Microbial enzymes produced by fermentation and their applications in the food industry - A review. **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, [Bhopal], v. 8, n. 1, p. 62-82, 2019.
- ALVES, M.H.; TAKAKI, G.M.C.; PORTO, A.L.F.; MILANEZ, A.I. Screeaning of *Mucor* spp. for production of amylase, lipase, polygalacturonase and protease. **Brazilian Journal of Microbiology**, [Rio de Janeiro], v. 33, p. 325-330, 2002.
- ALVES, R.O.; OLIVEIRA, R.L.; SANTOS, A.F.M.S.; PORTO, T.S. Produção de celulases por *Aspergillus japonicus* URM5620 e *Aspergillus niger* URM5741 por diferentes processos fermentativos utilizando bagaço de canade-açúcar como substrato. **Revista GEAMA – Ciências Ambientais e Biotecnologia**, [Recife], v. 6, n. 1, p. 44-50, 2020.
- ARAST, G.; GIRMA, A. Isolation, production and characterization of amylase enzyme using the isolate *Aspergillus niger* FAB-211. **International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research**, [Nova Iorque], v.9, n.2, p.7-14, 2018.
- AVENDAÑO, K. A.; ANGUIANO, M.; LÓPEZ, C. E.; MONTAÑEZ, L. E.; SIFUENTES, L.; BALAGURUSAMY, N. Microbial enzymes Applications in food processing. **Agro FOOD Industry Hi Techv**, [Milano], v.27, n. 4, p. 63-67, 2016.
- BARRIOS-GONZÁLEZ, J. Solid-state fermentation: Physiology of solid medium, its molecular basis and applications. **Process Biochemistry**, [Barking], v. 47, n. 2, p.175-185, 2012.
- BHAVSAR, N.H.; RAOL, B.V.; AMIN, S.S.; RAOL, G.G. Production, optimization and characterization of fungal celulose for enzymatic saccharification of lignocellosic agro-waste. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**,

[Kancheepuram], v.4, n.3, p.30-46, 2015.

CASTRO, A.M.; JÚNIOR, N. P. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, [São Paulo], v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CHALFOUN, S.M.; BATISTA, L.R. **Fungos associados a frutos e grãos do café: Aspergillus e Penicillium**. Brasília: Informação Tecnológica, 2003.

CHANDRASEKARAN, S.; KUMARESAN, S. S. P.; MANAVALAN, M. Production and optimization of Protease by filamentous fungus isolated from paddy soil in Thiruvarur District Tamilnadu. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, [Gwalior], v.3, n.6, p.66-69, 2015.

CHAUDHURI, A; BASU, C.; BHATTACHARYYA, S.; CHAUDHURI P. Developement of health risk rating scale for indoor airborne fungal exposure. **Archives of Environmental & Occupational Health**, [Washington], v. [15], p. 1-9, 2019.

DINGLE, J.; TEID, W.W.; SOLOMONS, G.L. The enzymic degradation of pectin and other polysaccharides. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [Londres], v.4, p.149-155, 1953.

EL-BAKRI, M.; ABRAHAM, J.; CERDA, A.; BARRENA, R.; PONSÁ, S.; GEA, T.; SÁNCHEZ, A. From wastes to high value added products: novel aspects of SSF in the production of enzymes. **Critical Reviews Environmental Science and Technology**, [Boca Raton], v. 45, n. 18, p. 1999-2042, 2015.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Surrey: Common- Wealth Mycological Institute, 1971.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 2010.

FONSECA, T.C.S.; SILVA, P.H.; SOUZA, A.F.; BARBOSA, G.K.; MESSIAS, A.S.; SILVA, C.A.A.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Taxonomic Approach to *Aspergillus* sp. Isolated from Caatinga Soil and Potential to Amylase Production. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [Kancheepuram], v. 6, n. 12, p. 3023-3028, 2017.

FU, X.; NORBÄCKC, D.; YUAN, Q.; LIB, Y.; ZHU, X.; JAMAL H. H.; HASHIMH, Z.; ALI, F.; ZHENGJ, YI-WU; LAI, XU-XIN; SPANGFORT, M. D.; DENG, Y.; SUN, Y. Indoor microbiome, environmental characteristics and asthma among junior high school students in Johor Bahru, Malaysia. **Environment International**, [Amsterdam], v. 138, p. 1-9, 2020.

GUPTA, R.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V.K.; CHAUCHAN, B. Microbial  $\alpha$ -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, [Londres], v.38, n.11, p.

1599-1616, 2003.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S.L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**, [Lancaster], v. 67, p. 597-607, 1975.

KLICH, M.A.; PITT, J.I. **A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs**. North Ryde: Csiro, 1988.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.M.; HEIS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. **Tratado de Micologia médica**. São Paulo: Sarvier, 2002.

MARTIN, J.P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. **Soil Science** [Baltimore], v. 69, n. 3, p. 215-232, 1950.

ORLANDELI, R.C.; SPECIAN, V.; FELBER, A.C.; PAMPHILE, J.A. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **SaBios: Revista Saúde e Biologia**, [Campo Mourão], v. 7, n. 3, p. 97-109, 2012.

PATEL, K.; PATEL, H.; SHAH, G. Production and Optimization of Cellulase Enzymes from Newly Isolated Fungi. **Journal of pure and applied microbiology**, [Bhopal], v. 8, n. 5, p. 4163-4169, 2014.

PEIXOTO, S.C.; JORGE, J.A.; TERENZI, H.F.; POLIZELI, M.L.T.M. *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformes*: a thermotolerant fungus with potential for production of thermostable amylases. **International Microbiology**, [Nova Iorque], v.6, p. 269-274, 2003.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and food spoilage**. London: Blackie Academic and Professional, 1997.

PRADO, F. B.; ROCHA, W. C.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; SILVA, L. P.; SILVA, L. S. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, M. F. S. 2017. Produção de compostos bioativos por *Aspergillus* mantidos sob duas condições de preservação. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, (Belém), v. 12, n. 1, p.37-47, 2017.

SANTOS, F.J.; FERREIRA, J.M.S.; RIBEIRO, V.J.O.; OLIVEIRA, A.C.L.; AZEVEDO, A.G.C. **Protocolo para produção massal de fungos entomopatogênicos II- *Hirsutella thompsonii* (Fischer)**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

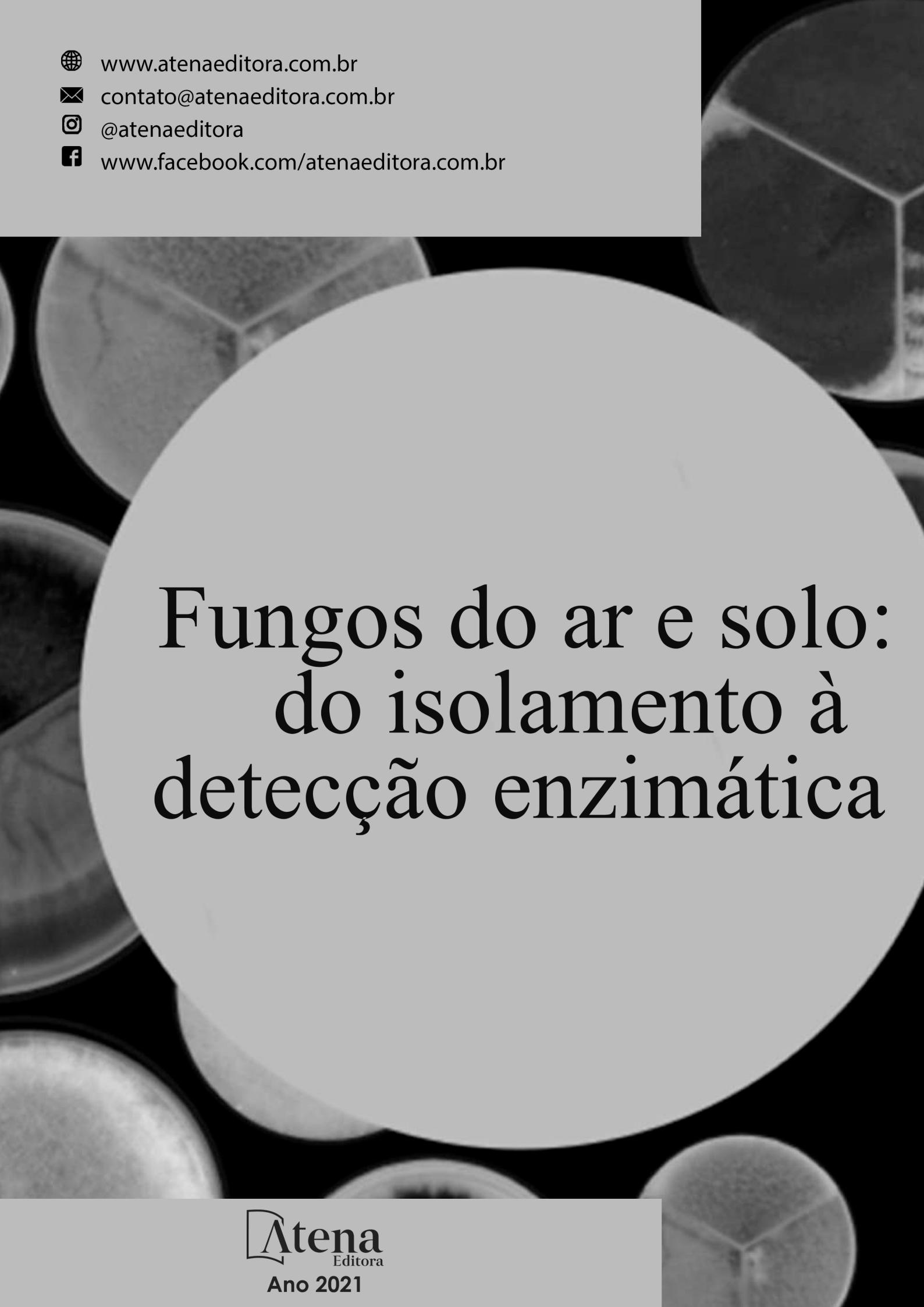
SHAH, I.J.; GAM, P.N.; SHUKLA, R.M.; ACHARYA, D.K. Optimization for  $\alpha$ -amylase production by *Aspergillus oryzae* using submerged fermentation technology. **Basic Research Journal of Microbiology**, [Nova Iorque], v. 1, n. 4, p. 1-10, 2014.

SOBRAL, L. V.; MELO, K. N.; SOUZA, C. M.; SILVA S. F.; SILVA, G.L.R.; SILVA, A. L.F.; WANDERLEY, K. A.A.; OLIVEIRA, I. S.; CRUZ, ROBERTA. Antimicrobial and enzymatic activity of anemophilous fungi of a public university in Brazil. **Anais da**

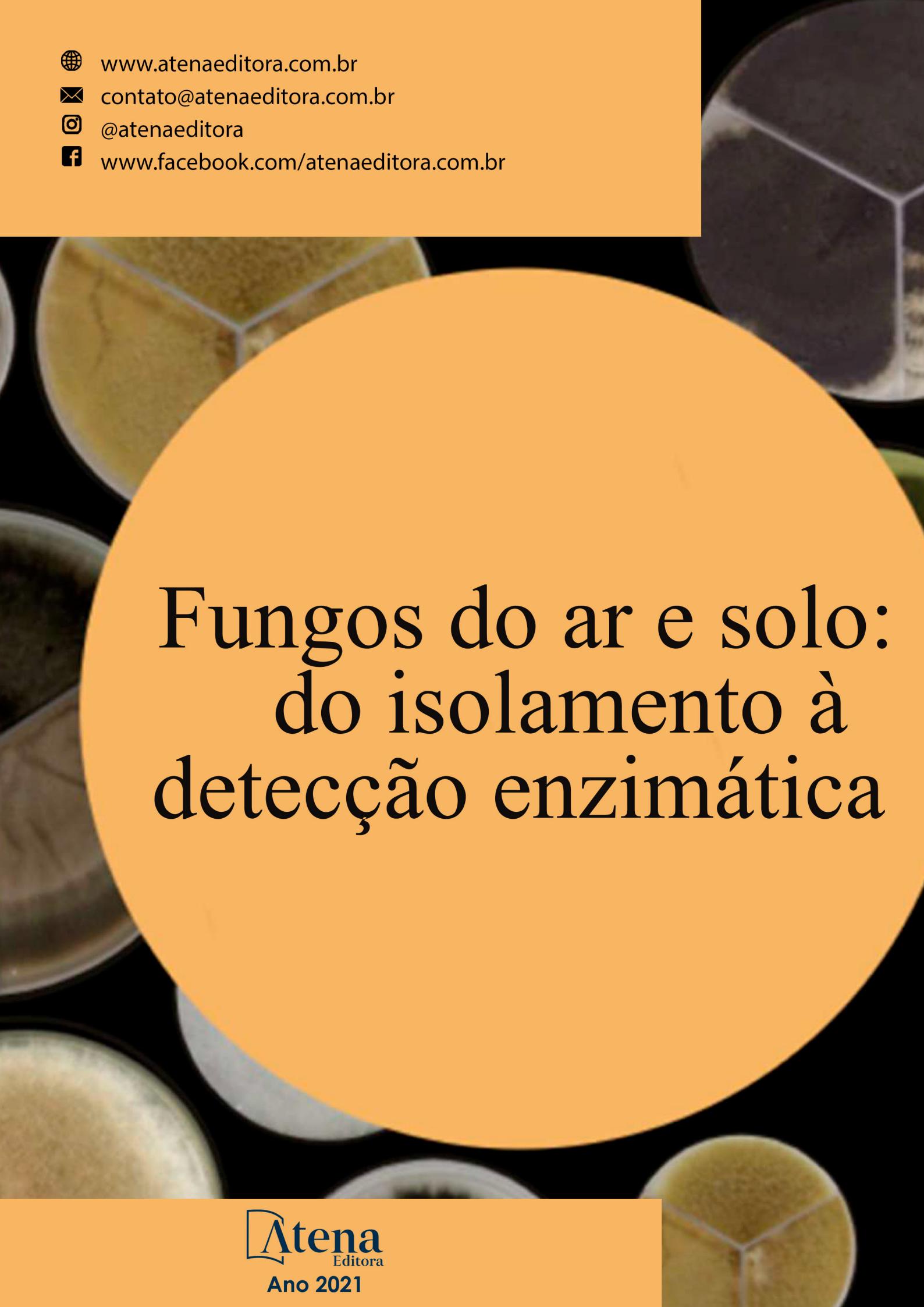
**Academia Brasileira de Ciências**, [Rio de Janeiro], v. 89, n. 3, p. 2327-2356, 2017.

TANAKA, D.; SATO, K.; GOTO, M.; FUJIYOSHI, S.; MARUYAMA, F.; TAKATO, S.; SHIMADA, T.; SAKATOKU, A.; AOKI, K.; NAKAMUR, S. Airbone microbial communities at high-altitude and suburban sites in Toyama, Japan suggest a new perspective for bioprospecting. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [Lausanne], v. 7, n. 12, p. 1-11, 2019.

TAVARES, A.C.D.; FONSECA, J.S.F.; FONSECA, T.R.B.; BARRONCAS, J.F.B.; SOUZA, R.A.T.; SILVA, T.A.; TEIXEIRA, M.F.S. Extracellular Enzymes of Anamorphic Fungi Isolated from *Morinda citrifolia* L. **Biochemistry and Biotechnology Reports** [Londrina], v. 1, n. 2, p. 1-6, 2012.

- 
- 🌐 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)
  - ✉️ [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)
  - 📷 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
  - FACEBOOK [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

# Fungos do ar e solo: do isolamento à detecção enzimática

- 
- 🌐 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)
  - ✉️ [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)
  - 📷 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
  - FACEBOOK [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

# Fungos do ar e solo: do isolamento à detecção enzimática