



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

LÍVIA RIBEIRO DA SILVA

**AÇÃO ENZIMÁTICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS
ASSOCIADOS A PLANTAS DO SEMIARIDO
ALAGOANO**

**RIO LARGO-AL
2025**

LÍVIA RIBEIRO DA SILVA

**AÇÃO ENZIMÁTICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS
ASSOCIADOS A PLANTAS DO SEMIARIDO
ALAGOANO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Engenharias e
Ciências Agrárias como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Tania Marta
Carvalho dos Santos.

RIO LARGO-AL
2025

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

S586a Silva, Livia Ribeiro da.

Ação enzimática de fungos endofíticos associados a plantas do semiárido alagoano. / Livia Ribeiro da Silva. – 2025.

35 f.: il.

Orientador: Tania Marta Carvalho dos Santos.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Graduação em Zootecnia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2025.

Inclui bibliografia.

1. Fungos filamentosos. 2. Metabolismo microbiano. 3. Biodegradação. I. Título.

CDU: 632.9(813.5)


FOLHA DE APROVAÇÃO

LIVIA RIBEIRO DA SILVA


PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS A PLANTAS DO SEMIARIDO ALAGOANO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia, do Campus de Engenharia e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas – CECA/UFAL e aprovado em 21 de maio de 2025


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 TANIA MARTA CARVALHO DOS SANTOS
Data: 21/05/2025 13:24:11-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

1º Examinador
Profª Drª Tania Marta Carvalho dos Santos

Documento assinado digitalmente
 YAMINA COENTRO MONTALDO
Data: 21/05/2025 13:32:40-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

2º Examinador
Profª Drª Yamina Coentro Montaldo

Documento assinado digitalmente
 PAULA CIBELLY VILELA DA SILVA
Data: 21/05/2025 13:35:23-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

3º Examinador
MsC Paula Cibelly Vilela da Silva

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me deu sabedoria, forças, coragem, e guiou na minha jornadas, de forma que sem Ele na minha vida, eu não seria nada.

As minhas tias Maria Cecília (*in memorian*), Ana Bernadete, Terezinha e Maria de Fátima, foram minhas mães, e aos meus tios Antônio e Rinaldo que foram meus pais, a toda minha família Ferreira, pois estavam sempre prontos a fazer tudo que estivesse ao alcance para me ver prosseguir,

Ao meu filho Pedro Duarte da Silva, que foi meu combustível para nunca desistir, foi meu colo e meus sorrisos em meio as lágrimas, foi ele que me deu forças e ânimo, para sempre persistir, superar os obstáculos e nunca deixar de seguir meus sonhos,

A minha orientadora e professora Tania Marta Carvalho dos Santos, que foi outra mãe, acolheu a mim, depois ao meu filho, foi uma pessoa fundamental na minha vida, como pessoa e profissional, sou imensamente grata a Deus por ter posto ela na minha vida.

Ao meu professor e amigo João Manoel da Silva, sempre preocupado e pronto a me ajudar, esteve comigo desde o começo deste projeto, aos seus ensinamentos devo esse trabalho.

A todos meus amigos e professores (as) de laboratório, Paula Cibelly Vilela da Silva, Yamina Coentro Montaldo, Jakes Halan de Queiroz Costa, Arthur Costa Pereira Santiago de Almeida, Daniele Herculano Alves, Bruna Brasil, Carlos Henrique, Evely Vitória Oliveira de Jesus, Clara Beatriz Ataide, e a turma de Zootecnia 2017.1 que foram meus professores, companheiros, irmãos, foi a família que eu ganhei, tendo papel fundamental nesse trabalho, para minha formação profissional e pessoal.

“Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.”
Fernando Pessoa.

RESUMO

O semiárido nordestino, a terceira maior região desse tipo na América do Sul, sofre com escassez hídrica agravada por ações humanas como o desmatamento e o uso predatório da caatinga. Em Alagoas, o clima varia do tropical úmido no leste ao semiárido no oeste, com baixos índices de chuva. Nesse contexto, fungos endofíticos — micro-organismos que vivem em tecidos vegetais sem causar danos aparentes — surgem como alternativa promissora por produzirem metabólitos bioativos com aplicações farmacológicas e industriais. O estudo teve como objetivo isolar, identificar e avaliar a atividade enzimática desses fungos, associados a plantas da Caatinga alagoana, coletadas na Fazenda Ribeiro, em Piranhas-AL. As amostras, coletadas durante o período chuvoso, foram processadas no Laboratório de Microbiologia Agrícola (CECA/UFAL). Foram identificados quatro isolados distintos pertencentes aos gêneros *Aspergillus* (A1 e A2) e *Penicillium* (P1 e P2), com base em características morfológicas. Esses fungos demonstraram capacidade de produzir enzimas extracelulares, como celulase e amilase, com destaque para o isolado A2. Os resultados reforçam o potencial biotecnológico dos fungos endofíticos da Caatinga, indicando a necessidade da conservação desse bioma como fonte de recursos sustentáveis e inovadores para a agroindústria e outras áreas da Biotecnologia.

Palavras-chave: Fungos filamentosos, Metabolismo microbiano, Biodegradação.

ABSTRACT

The northeastern semi-arid region, the third largest of its kind in South America, suffers from water scarcity exacerbated by human actions such as deforestation and the predatory use of the caatinga. In Alagoas, the climate varies from humid tropical in the east to semi-arid in the west, with low rainfall levels. In this context, endophytic fungi — microorganisms that live in plant tissues without causing apparent harm — emerge as a promising alternative for producing bioactive metabolites with pharmacological and industrial applications. The study aimed to isolate, identify, and evaluate the enzymatic activity of these fungi, associated with caatinga plants from Alagoas, collected at Fazenda Ribeiro in Piranhas-AL. The samples, collected during the rainy season, were processed in the Agricultural Microbiology Laboratory (CECA/UFAL). Four distinct isolates belonging to the genera *Aspergillus* (A1 and A2) and *Penicillium* (P1 and P2) were identified based on morphological characteristics. These fungi demonstrated the ability to produce extracellular enzymes, such as cellulase and amylase, with a highlight on isolate A2. The results reinforce the biotechnological potential of endophytic fungi from the Caatinga, indicating the need for the conservation of this biome as a source of sustainable and innovative resources for agribusiness and other areas of Biotechnology.

Keywords: filamentous fungi, microbial metabolism, biodegradation.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 8 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 12 |
| 2.1 Fungos endofíticos..... | 12 |
| 2.2 Plantas do Semiárido Alagoano..... | 13 |
| 2.3 Atividade Enzimática..... | 13 |
| 2.3.1 Principais Enzimas Fúngicas | 15 |
| 2.4 Mecanismos Bioquímicos de Ação..... | 18 |
| 2.5 Aplicações Industriais das Enzimas Fúngicas..... | 19 |
| 2.6 Aplicações na Zootecnia e Agricultura..... | 19 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 19 |
| 3.1 Área de Estudo..... | 19 |
| 3.2 Coleta e Preparação das Amostras..... | 20 |
| 3.3 Isolamento dos Fungos Endofíticos..... | 21 |
| 3.4 Atividade celulolítica..... | 21 |
| 3.5 Análise de ação aminolítica..... | 22 |
| 3.6 Testes de Atividade Enzimática..... | 22 |
| 3.7 Identificação e Preservação..... | 23 |
| 3.8 Análise Estatística..... | 23 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 23 |
| 4.1 Macro e Microscópica..... | 24 |
| 4.2 Avaliação qualitativa e quantitativa da Produção Enzimática..... | 24 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 31 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 32 |

1. INTRODUÇÃO

O semiárido é uma área de transição climática, onde qualquer redução em relação à média a pluviosidade, pode gerar impactos significativos. A escassez hídrica, é provocada por fatores humanos, como o desmatamento, práticas inadequadas de preparo do solo para o cultivo, e o uso da vegetação da caatinga como fonte de energia para cozinhar alimentos e alimentar fornos de indústrias diferentes portes (Bezerra, 2016). De forma que, a terceira e mais populosa região semiárida da América do Sul encontra-se no Nordeste do Brasil, abrangendo uma área onde predomina uma vegetação esparsa e baixa, conhecida como caatinga, que é única no mundo (Lemos, 2020).

A seca resulta na escassez de água para a agricultura, no consumo humano e para os animais domésticos e selvagens, causando efeitos econômicos (como a perda de safras agrícolas e a morte de animais), sociais (com o aumento do desemprego, a fome e, em casos extremos, até a morte de pessoas, que muitas vezes migram em busca de condições de vida melhores) e ambientais (como a morte de fauna silvestre, esgotamento de fontes de água, degradação do meio ambiente e desertificação, especialmente em áreas onde houve interferência humana, como o desmatamento para variados fins) (De Nys *et al.*, 2016).

De acordo com a classificação de Köppen, toda a metade oriental do estado possui clima do tipo 'As', ou seja, tropical e quente com chuvas de outono/inverno, com precipitação pluviométrica média anual entre 1.000 mm a 1.500 mm. Por outro lado, a metade ocidental do estado, que corresponde ao agreste e sertão, apresenta condições semiáridas, com clima BSh, isto é, seco e quente, com precipitação pluviométrica média anual no Sertão entre 400 mm a 600 mm e no agreste de 600 mm a 900 mm (Barros, 2012).

As regiões naturais localizadas no bioma, em Alagoas, têm sido frequentemente eliminadas pela introdução de culturas como a palma, o crescimento urbano, além da exploração dos recursos florestais para uso como lenha em padarias, olarias e na produção de carvão. De acordo com o IBGE (2015), a porcentagem da área desmatada do bioma caatinga em Alagoas, até

2009, é de 82,6%, o que representa a maior proporção entre os estados que fazem parte desse bioma.

Desta forma, a busca por novos compostos bioativos de interesse farmacêutico, agrícola e industrial tem direcionado a atenção científica para micro-organismos associados a plantas, sobretudo os fungos endofíticos. Esses micro-organismos, que habitam os tecidos internos de plantas saudáveis sem causar-lhes danos aparentes, revelam-se fontes promissoras de metabólitos secundários com elevada potência biológica. Estudos indicam que diversos produtos naturais com aplicações terapêuticas, como antibióticos, anticancerígenos e imunossupressores, têm origem em micro-organismos, cuja capacidade biossintética continua sendo objeto de amplas investigações (Conti, 2012).

Dentre os grupos de micro-organismos associados às plantas, os endofíticos destacam-se por sua habilidade de estabelecer interações simbióticas complexas, moduladas por fatores como o estado fisiológico da planta hospedeira e o método de isolamento empregado (Selosse; Baudoin; Vandenkoornhuyse, 2004). Esses fungos colonizam tecidos internos, como folhas, caules e raízes, atuando em diversas frentes que beneficiam a planta, incluindo a produção de enzimas, a defesa contra fitopatógenos e a síntese de compostos bioativos com potencial farmacológico (Peixoto Neto; Azevedo; Araújo, 2002).

Além de sua função ecológica, os fungos endofíticos despertam interesse biotecnológico pela diversidade de enzimas que produzem, as quais são aplicáveis em processos industriais e ambientais. Estudos conduzidos com isolados endofíticos de espécies vegetais, como *Piper hispidum*, demonstram a ampla capacidade enzimática desses micro-organismos, ainda que as interações bioquímicas entre endófitos e hospedeiros permaneçam parcialmente elucidadas (Oliveira, 2010). Dessa forma, a exploração da microbiota endofítica configura-se como uma fronteira promissora para a inovação científica e tecnológica.

É inegável a importância de preservar a biodiversidade de se estudar como gerar interesse popular na conservação da mesma, além de seu valor intrínseco - o valor das espécies em si, - cada uma tem um papel funcional no ecossistema, seja como produtor de matéria orgânica ou decompositor, seja como presa ou predador.

Assim, Danielle (2010) entre outros autores, sugerem que certos fungos endofíticos produzem compostos igualmente presentes em suas plantas hospedeiras, como algumas enzimas como, a celulases, amilases e ligninases.

A produção de metabólitos secundários pelos fungos endofíticos pode ser influenciada pelas condições ambientais, bem como pelo estado fisiológico do hospedeiro, sendo alguns destes fatores capazes de alterar as condições internas da planta, levando a mudança do ambiente ao redor do endófito, que para se adaptar a essa nova condição pode produzir compostos que irão atuar neste processo (Azevedo *et al.*, 2002).

De acordo com Wallace (1994), o uso de *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus oryzae*, ou seus extratos, pode melhorar o ganho de peso e a produção de leite com intensidade semelhante aos ionóforos, em decorrência da resposta ao aumento na ingestão de matéria seca. Entretanto, as respostas são variáveis e dependem da quantidade oferecida e do tipo de dieta. Segundo Kamalamma *et al.* (1996), o emprego de culturas de leveduras nas dietas de ruminantes pode provocar alterações na razão acetato/propionato e ainda aumentar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado.

Segundo Hermosa *et al.* (2000), algumas espécies do gênero *Trichoderma* são amplamente estudadas por serem antagonistas de nematóides e fungos fitopatogênicos, sendo utilizados no controle biológico (*T. aperellum*, *T. harzianum* e *T. longibrachiatum*). Ulhoa & Peberdy (1992) acrescentaram que esta atividade de biocontrole deve-se à produção de enzimas hidrolíticas extracelulares degradadoras de parede celular tais como, celulases e quitinases. Melo (1998) afirmou que fungos do gênero *Trichoderma* têm habilidade significativa de biossíntese e facilidade de crescer em meio simples, contendo

basicamente glicose como fonte de carbono e alguns tipos de compostos orgânicos essenciais.

Enzimas exógenas podem ser derivadas de fontes animais, vegetais e microbianas e a *maioria* provém da fermentação de micro-organismos (Lima, 2002). O maior grupo é constituído pelos fungos, especialmente dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Para Costa *et al.*, (2004) elas se caracterizam por alta produção, menor custo e maior variabilidade e estabilidade e têm como característica comum a degradação dos carboidratos da parede celular dos vegetais.

Em face do exposto, fez-se necessário analisar e identificar o gênero dos fungos endofíticos, para posteriormente estimar o potencial enzimático, dos fungos isolados, que estão associados a plantas provenientes do semiárido, conferindo o potencial e riqueza biológica dessas espécies exclusivas do nosso Nordeste. De forma que, comprovado o valor biológico, incentive a conservação e reflorestamento das espécies botânicas estudadas, para o uso de suas propriedades enzimáticas tanto para indústria alimentícia, quanto para o uso em aditivos em ração animal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fungos Endofíticos

Micro-organismos são produtores relevantes de substâncias químicas com grande aplicação na indústria farmacêutica, pois são usadas como fármacos ou como estruturas-modelo para o planejamento e desenvolvimento de fármacos. Diversos antibióticos, anticancerígenos, imunossuppressores e agentes redutores do colesterol sanguíneo, entre outros, têm suas origens em produtos naturais microbianos. Os micro-organismos apresentam, portanto, uma surpreendente capacidade de produzir substâncias químicas com elevada potência biológica (Conti, 2012).

Conforme a saúde do hospedeiro na planta, a amostra para análise e o método de isolamento utilizado, os micro-organismos que mantêm a relação

simbiótica com as plantas são classificados em endofíticos, epifíticos, rizosféricos, entre outros. (Selosse; Baudoin; Vandenkoornhuyse, 2004).

Endofíticos são excelentes na síntese de enzimas, porém estes colonizam o interior das plantas saudáveis, como tecidos vegetais, folhas e ramos. Sabe-se que fungos viabilizam benefícios às plantas hospedeiras, atuando como controladores de outros tipos de micro-organismos causadores de doenças (Peixoto Neto; Azevedo; Araújo, 2002).

A interação entre planta e endofíticos, depende de um equilíbrio antagônico, pois micro-organismos considerados como endofíticos podem ser fitopatógenos em seu estado latente (Selosse; Baudoin; Vandenkoornhuyse, 2004). Verdadeiros endofíticos estão diretamente associados com a sanidade de seu hospedeiro, proporcionando-lhe benefícios através da produção, indução ou inibição de metabólitos primários e/ou secundários, com funções em controle biológico (fito-hormônios, herbicidas, antimicrobianos), regulação de estresse abiótico, biorremediadores e vetores gênicos (Borges, 2009).

Outra análise realizada com fungos endofíticos isolados de *Piper hispidum* (Oliveira, 2010), realizados a partir de 58 isolados avaliados qualitativamente para as atividades de amilase, lipase, protease, celulase, pectinase e xilanase. De forma que obtiveram 39,7% dos isolados endofíticos, com habilidades para utilizarmos em processos enzimáticos, porém, mesmo com diversas pesquisas na área, as relações bioquímicas entre endófitos e suas plantas hospedeiras ainda não estão totalmente esclarecidas.

2.2 Plantas do Semiárido Alagoano

As plantas do semiárido alagoano são caracterizadas por sua adaptação a condições de seca e solos pobres. Espécies como o marmeleiro (*Croton sonderianus*), a jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) e o mandacaru (*Cereus jamacaru*) são comuns e representam fontes promissoras de fungos endofíticos. De forma que, a caatinga é composta por uma grande variedade de espécies animais e vegetais, logo, também é observada uma grande diversidade de micro-organismos associados a estes indivíduos (Costa *et. al.*, 2014).

2.3 Atividade enzimática

Enzimas fúngicas são proteínas catalíticas produzidas por fungos (incluindo bolores, leveduras e cogumelos) que degradam ou transformam compostos orgânicos complexos em produtos mais simples. Esses biocatalisadores apresentam alta eficiência e especificidade, atuando em diversas reações metabólicas sem serem consumidos no processo. Além disso, fungos filamentosos secretam grandes quantidades de enzimas extracelulares, facilitando a produção em larga escala e a purificação a baixo custo (Souza, 2015).

Fungos filamentosos exercem importantes funções vitais nos ecossistemas naturais, como recirculação da biomassa os fungos filamentosos representam recursos genéticos para aplicação em muitos processos e produtos biotecnológicos (Nodvig, 2015). Na área da biotecnologia, os biocatalisadores possuem uma relevância fundamental, sendo que a maioria é obtida a partir de micro-organismos. O setor global de enzimas é vasto, abrangendo aquelas que são derivadas de microorganismos naturalmente selecionados ou geneticamente modificados para alcançar uma produção mais eficaz e atuar em condições que envolvem temperaturas elevadas ou outros tipos de estresse (Serafini *et al.*, 2001).

Além disso, as enzimas de origem fúngica são amplamente empregadas em processos industriais em grande escala, como na fabricação de papel e celulose, alimentos, bebidas, vinhos, produtos de limpeza, indústria têxtil e biocombustíveis. A maior parte das enzimas utilizadas globalmente é produzida por fungos filamentosos. Devido à sua diversidade metabólica e à vasta gama de ambientes que ocupam, muitos fungos apresentam grande potencial para a descoberta de novas enzimas com aplicações industriais (Meyer *et al.*, 2009).

Tal fato tem provocado, nos últimos anos, uma intensa corrida científica por materiais resultantes de bioprocessos. Por este motivo, o mercado global de produtos fermentados (excluindo biocombustíveis), que atualmente está por volta de US\$24,3 bilhões, deve crescer a uma taxa de

cerca de 7,7% ao ano até atingir o valor de US\$35,1 bilhões em 2020 (MARKET, 2016).

Esse domínio deve-se principalmente a algumas espécies de micro-organismos, como bactérias e fungos, produzirem extracelularmente ou intracelularmente enzimas versáteis e atraentes comercialmente, com uma grande variedade de estruturas. Muitas enzimas microbianas, como amilases, proteases, pectinases, lipases, xilanases, celulases e lacases, são produzidas extracelularmente e algumas enzimas como a catalase de *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus niger* são enzimas intracelulares (Liu & Kokare, 2017).

Em suma, as enzimas fúngicas oferecem uma alternativa viável e ecologicamente amigável em substituição a catalisadores químicos tradicionais, assim devido precauções com a saúde e meio ambiente intensificaram o interesse para o desenvolvimento de tecnologias alternativas, garantindo rendimentos competitivos e proteção das culturas, em uma abordagem sustentável levando a um equilíbrio ecológico à longo prazo (Singh *et al.*, 2017).

2.3.1 Principais Enzimas Fúngicas

Existem milhares de enzimas diferentes produzidas por fungos, as quais podem ser classificadas de acordo com vários critérios, como estrutura, local de atuação ou tipo de reação catalisada. O sistema de classificação oficial da IUBMB agrupa as enzimas em grandes classes baseadas no tipo de reação: oxidoreduases, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases e, mais recentemente, translocases (IUBMB, 2025). Dentre essas, as mais relevantes em fungos para aplicações industriais são as hidrolases (enzimas que catalisam reações de hidrólise, quebra de ligações pela adição de água) e as oxidoreduases (enzimas que catalisam reações de oxidação-redução) (Nee'nigam; Pandey, 2009). A maioria das enzimas extracelulares de fungos envolvidos na degradação de biomassa vegetal pertence a essas duas classes. A seguir, destacam-se os principais tipos de enzimas fúngicas e suas funções:

- Celulases: Conjunto de hidrolases que degradam celulose (principal polímero estrutural de plantas, formado por glicose).

Incluem endoglucanases, exoglucanases (celobiohidrolases) e β glicosidases, que atuam de forma sinérgica para converter fibras de celulose em açúcares simples como a glicose (Sanchez; Cardona, 2008).

- São produzidas por fungos decompositores de lignocelulose, com destaque para *Trichoderma reesei* (anamorfose de *Hypocrea jecorina*), amplamente utilizado industrialmente para obter coquetéis celulolíticos na fabricação de etanol de segunda geração e outras aplicações.

A procura por enzimas celulolíticas a partir do isolamento de fungos são mais estudados e já apresentam muitos resultados descritos na literatura. Eles produzem maior quantidade de celulases pois é esse seu mecanismo de fitopatogenicidade. Já os endofíticos apresentam essa produção de celulases e principalmente de hemicelulases também por esse mecanismo para se inserir no tecido vegetal. Em ensaios com 110 fungos filamentosos isolados Delabona (2011) testou o potencial enzimático de 110 fungos, dentre estes, os isolados de *Aspergillus fumigatus* e *A. niger* apresentaram a maior produção enzimática para a enzima celulase.

- Amilase fúngica é uma enzima hidrolítica produzida por diversos fungos filamentosos, notadamente espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus*. Essa enzima é capaz de catalisar a hidrólise de polissacarídeos, como o amido, em açúcares mais simples, principalmente maltose e glicose. Ela se divide em dois tipos principais: α -amilase (endomilase) e glucoamilase (exomilase), que atuam de forma complementar na degradação do amido.

A amilase é uma enzima com habilidade para quebrar conexões glicosídicas do tipo α -1,4 e α -1,6 do amido, resultando em uma variedade de produtos, como dextrina e, conseqüentemente, pequenos polímeros contendo unidades de glicose. (Pandey *et al.*, 2005). Além de ser muito utilizada em

processos industriais, tais como nas indústrias de alimentos, têxteis, papel e celulose, detergente e farmacêutica (Souza; Magalhães, 2010).

Vários estudos descrevem produção de amilases por fungos endofíticos de forma promissora (Ayob; SimaranI, 2016; Fouda *et al.*, 2015; Jagannath *et al.*, 2021). Além de Farouk, Attia e El-Katatny (2020), que através das plantas de soja cultivadas na cidade de Minia, no Egito, realizaram o isolamento de fungos endofíticos com o objetivo de testar qualitativamente a produção de enzimas como amilases, celulase e xilanases .

Muitas espécies de *Aspergillus* e *Rhizopus* são utilizadas como fonte fúngica de γ -amilase (Pandey *et al.*, 2005). Geralmente, a produção de amilase por meio isolamento de fungos endofíticos, tem sido feita por fermentação submersa e a fermentação em estado sólido, que são utilizadas, na maioria das vezes, para fomentar a produção de β -mananases microbianas. Vários grupos de pesquisa possuem como objetivo melhorar a produção de endo- β -mananase através da otimização do processo (Srivastava & Kapoor, 2017).

Geralmente, leveduras e fungos filamentosos são altamente promissores para a síntese de enzimas de relevância biotecnológica e industrial, devido à ampla atividade catalíticas, sua adaptabilidade fácil, à viabilidade da produção de enzimas por meio de fermentação em larga escala, e à expressão de enzimas extracelulares. Alguns dos motivos para a busca do isolamento dessas enzimas, é a simplicidade das necessidades nutricionais, além da habilidade em degradar materiais lignocelulósicos, permitindo assim, o cultivo à base de resíduos – fungos, bactérias e leveduras – que apresentam uma composição centesimal que exige uma proporção carbono:nitrogênio:fósforo, igual a 100:20:1 (Woiciechowski *et al.*, 2013).

2.4 Mecanismos Bioquímicos de Ação

No nível molecular, as enzimas fúngicas obedecem aos mesmos princípios catalíticos de outras origens, reduzindo a energia de ativação das reações por meio da estabilização do estado de transição e formação de intermediários transitórios. Em seu sítio ativo (geralmente uma cavidade

tridimensional da proteína), um pequeno número de aminoácidos catalíticos interage especificamente com o substrato (“chave-fechadura” ou via ajuste induzido) para converter reagentes em produtos (Berg; Tymoczko; Stryer, 2008). Muitos fungos secretam enzimas inicialmente como zimogênios inativos, os quais são ativados extracelularmente (por clivagem proteolítica ou ligação a cofatores) apenas no local de ação, evitando auto degradação da célula produtora.

2.5 Aplicações Industriais das Enzimas Fúngicas

As enzimas de fungos têm papel central em numerosos processos biotecnológicos e industriais, dado seu amplo espectro de atividades catalíticas. A seguir são discutidas as principais aplicações por setor, Em especial, os fungos possuem grande importância econômica, relacionada principalmente à saúde humana e a produção de alimentos. Na indústria farmacêutica, muitos produtos são feitos a partir de fungos ou baseados em seus biocompostos. Desta forma, o uso industrial das enzimas obtidas especialmente de *Aspergillus* e *Trichoderma* sp. são os mais diversos, os quais incluem celulases, lacases, lipases, pectinases, proteases e xilanases (Hawksworth, 2009).

2.6 Aplicações na Zootecnia e Agricultura

O uso de enzimas microbianas na zootecnia permite melhorar a digestibilidade de alimentos fibrosos, reduzir custos com suplementação e otimizar o desempenho animal. Em agricultura, enzimas fúngicas podem atuar na solubilização de nutrientes e na proteção contra patógenos. A exploração dos fungos endofíticos do semiárido surge como alternativa promissora para sistemas produtivos sustentáveis.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

As plantas foram obtidas na região de Caatinga do semiárido nordestino, no estado de Alagoas, na Fazenda Ribeiro, localizada na AL-220 com as

seguintes coordenadas geográficas: Latitude 9° 35' 59" Sul e Longitude 37° 45' 31" Oeste. Em relação à classificação climática de Köppen, Piranhas está localizada na região BSh, que é caracterizada por um clima seco, com temperatura média de 21.5°C . As foram coletadas as folhas mais novas das plantas, segundo os padrões internacionais de coleta incluindo as coordenadas geográficas. As coletas serão realizadas durante o período de chuva (em função do estado fenológico das espécies incluindo a coleta de flores, frutos e sementes, quando presentes).

3.2 Coleta e Preparação das Amostras

Foram coletadas as folhas mais novas das plantas, dentro das coordenadas geográficas, realizadas durante o período de chuva em função do estado fenológico das espécies incluindo a coleta de flores, frutos e sementes, quando presentes e encaminhadas ao laboratório de Microbiologia Agrícola do Campus de engenharias e ciências agrárias – CECA/AL

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e refrigeradas, para serem transportadas para o Laboratório de Microbiologia, do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, onde foi realizado o isolamento dos micro-organismos endofíticos.

As folhas coletadas de cada espécie foram acondicionadas em sacos plásticos e refrigeradas até o momento da desinfestação. Para desinfecção, as amostras sadias de tecidos vegetais foram lavadas sequencialmente com etanol 70% durante 30 segundos, hipoclorito de sódio 3% durante 3 minutos, etanol 70% durante 30 segundos e duas vezes com água destilada esterilizada durante 6 minutos. A eficiência da desinfecção do material vegetal foi avaliada pelo plaqueamento em meio batata-dextrose-ágar (BDA), alíquotas da água utilizada na última lavagem do material vegetal e pelo pressionamento dos fragmentos desinfetados sobre o meio de cultura.

As amostras vegetais desinfetadas superficialmente foram cortadas em fragmentos pequenos de 1x1 cm² e distribuídos na superfície dos meios de

Martin com rosa bengala. As placas inoculadas foram incubadas a 28°C até o crescimento dos fúngico.

3.3 Isolamento dos Fungos Endofíticos

Após a visualização do crescimento dos fungos purificados, seguindo a metodologia de foi realizada Técnica do Microcultivo em lâmina. Para cada colônia de fungo isolada, duas placas de microcultivo foram preparadas. Nesta técnica, é colocado sobre uma lâmina esterilizada um fragmento em cubo de BDA, e sob um pequeno bastão de vidro recurvado, em uma placa de Petri estéril, forrada com papel de filtro autoclavado e umedecido em água destilada. Para que o fungo seja inoculado nos quatro cantos do cubo de meio, são sobrepostas lamínulas esterilizadas. A placa tampada e incubada à 30°C por 3 a 5 dias, ficou em observação para avaliação do crescimento com ou sem pigmentação. Após este período a lamínula foi retirada cuidadosamente com auxílio de uma pinça. O cubo de ágar foi desprezado e, adicionando-se uma alíquota de corante lactofenolazul-algodão, depois disso uma lamínula foi colocada, para visualização das estruturas. Ao microscópio observou-se o aparecimento de colônia, micélio, estruturas de esporulação. Com base na morfologia da cepa e seguindo o Manual de Identificação de Fungos, a identificação inicial do micro-organismo foi executada.

3.4 Atividade celulolítica

Com o auxílio de uma alça de platina, fragmentos dos fungos coletados em placas de Petri purificadas, foram transferidos para o meio de cultura seletivo contendo 10g/L de CMC, NaNO₃ , 3g/L, MgSO₄ 0,5g/L, KCl 0,5g/L, FeSO₄7H₂O 0,01g/L, K₂HPO₄ 1g/L e Ágar 18g/L, fazendo correção para pH 5. Após três dias em temperatura ambiente, as placas foram levadas para incubação em uma estufa para cultura microbiana a 38 °C durante mais três dias.

Ao fim desse período, foi realizada a revelação do halo de hidrólise para celulase adicionando-se 10 mL de solução corante de vermelho congo (2,5 g/L de vermelho congo) e após 5min lavar com solução de HCL (tampão Tris HCL

0,1 M, pH 8,0), sobre cada colônia e incubação das placas em temperatura ambiente por 30min. Logo após, o corante é desprezado e as placas de Petri são descoradas com 5 mL de solução de NaCl 0,5 M neste mesmo tampão, por 15min. A degradação da carboximetilcelulose ao redor da colônia fúngica é detectada através da formação de um halo amarelo ao redor da colônia (Nogueira; Cavalcanti, 1996; Pointing, 1999).

3.5 Análise de ação aminolítica

Para a triagem de Amilase, foi utilizado um meio específico contendo: 2g/L (NH₄) SO₄, 2g/L de CaCO₃, 1g/L de KH₂PO₄, 1g/L de NaCl, 20g/L de Ágar e 10g/L de amido solúvel em pH 7,4. Após 96 horas de incubação à temperatura ambiente, foi evidenciada a atividade amilolítica, através de uma solução 10 ml de lugol. A formação de uma zona amarelada ao redor da colônia fúngica e o desenvolvimento de coloração azul na superfície restante da placa de Petri indica a ocorrência da hidrólise do amido (Hankin; Anagnostakis, 1975).

3.6 Testes de Atividade Enzimática

A atividade enzimática será verificada pela inoculação dos isolados em meios específicos: CMC para celulasas, gelatina para proteases e amido para amilases. Após incubação, será aplicado reagente indicativo (ex: lugol para amido) e medido o halo de degradação.

O índice enzimático (IE) é obtido a partir do diâmetro do halo de degradação (Dh), dividido pelo Diâmetro da colônia (Dc). Utilizando a fórmula do índice enzimático : $IE = Dh/Dc$ (Hankin; Anagnostakis, 1975).

3.7 Identificação e Preservação

Os fungos foram identificados por morfologia e comparações com chaves taxonômicas. Cepas com maior atividade sendo preservados em tubos inclinados com óleo mineral.

3.8 Análise Estatística

Os dados de halo enzimático foram submetidos a análise descritiva e ANOVA, com uso de software estatístico apropriado (SISVAR). Já para elaboração dos gráficos, foi utilizado o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

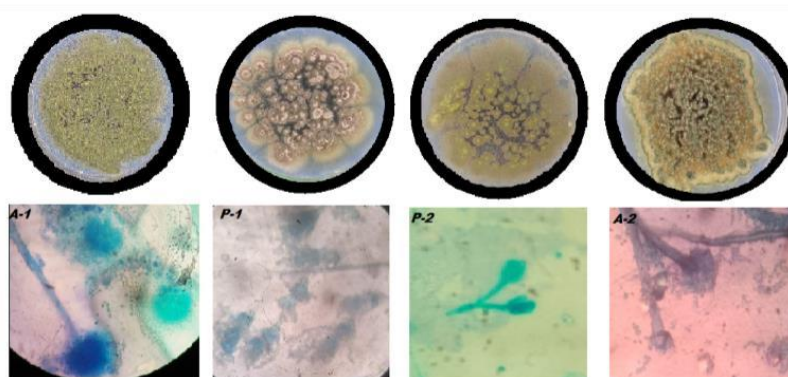
Isolou-se 4 purificados de fungos endofíticos a partir das plantas do semiárido alagoano, muitos dos quais produtores de enzimas com atividade significativa. A produção de enzimas como celulase e amilase pode revelar o potencial desses microorganismos para aplicação no aumento da digestibilidade de forrageiras e na decomposição de biomassa vegetal.

Trabalhos anteriores apontam que fungos endofíticos de regiões semiáridas possuem adaptações que favorecem a produção enzimática mesmo sob estresse ambiental. Tais características são valiosas para a agropecuária local, pois permitem o aproveitamento de resíduos fibrosos de forma mais eficiente e sustentável.

4.1 Macro e Microscópica

Após a purificação dos fungos em placas de Petri com crescimento suficiente para visualizar suas estruturas morfológicas, as placas com maior crescimento foram separadas para a captura das fotografias. Das mesmas placas, foram preparadas lâminas, coradas com azul de metileno, para microcultivo e posterior observação ao microscópio óptico. Cada isolado foi nomeado, tais como A-1 e A-2 se trata do gênero *Aspergillus* isolados das folhas de Quixabeira e Angico Vermelho respectivamente, enquanto as P-1 e P-2 do gênero *Penicillium* isolados a partir das folhas de Imburana e Pereiro respectivamente.

FIGURA 1: Imagens circulares referentes a observação em lupa e imagens A1, P1, P2 e A2, referentes as respectivas imagens sobrepostas, vistas ao microscópio óptico.



Fonte: Autor, 2025

A observação microscópica comprova a existência de fungos endofíticos associados às plantas do semiárido, estimulando a prospecção desses microorganismos e associação com vegetais típicos de habitats áridos e semiáridos (Freire *et al.*,

2015). No presente estudo, foram obtidos 4 isolados morfologicamente distintos, sendo possível a identificação dos gêneros: *Aspergillus* e *Penicillium*, por meio da visualização de suas estruturas morfológicas típicas como esporo e coloração.

O gênero *Penicillium* abriga espécies de interesse agrícola como promotores de crescimento vegetal, assim como para a indústria farmacêutica por meio da sua diversidade em compostos voláteis (Silva, 2021a). Além do mais, a utilização deste gênero de fungo promove crescimento de plantas, seja por meio da produção e síntese de hormônios vegetais como as giberelinas ou por meio de mecanismos indiretos que atuam na nutrição da planta, como a solubilização de fosfato (Elsharkawy *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, tem aumentado a busca por parte da indústria na utilização de fontes fúngicas que produzam enzimas fermentativas de produtos com baixo valor agregado, bem como para a degradação de resíduos industriais. Algumas espécies do gênero *Aspergillus*, são importantes para aplicação na fermentação de produto alimentício oriental e para aplicação industrial na

produção de ácidos orgânicos, metabólitos secundários, enzimas e na biotransformação de químicos (Samson; Varga, 2010).

A utilização de *A. niger*, tem se mostrado eficaz na indústria farmacêutica, por consequência da biotransformação. Este é um procedimento usado para a descoberta e investigação de novos fármacos, utilizando habitualmente fármacos que possuem determinados efeitos adversos prejudiciais para o humano e que requerem melhorias (Pollard & Woodley, 2007).

Além do mais, estes 4 isolados foram separados dos 10 utilizados por Da Silva (2018), que apresentaram potencial como produtores de compostos com atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, esta pode ser encontrada na medicina veterinária em casos de infecção do trato urinário em cães, mastite bovina, dermatite no coelho e piodermite profunda (Serrano *et al.*, 2017). Já a *S. Aureus*, está associada às mais diversas infecções como foliculite, pneumonia e mastite bovina, além de ser constantemente relacionado à mastite bovina (Silva *et al.*, 2021b; Gasparotto *et al.*, 2016). Apesar da *E. coli* ser uma Gram-negativa onde a maioria das cepas raramente causa doença, são encontrados dois grandes grupos de *E. coli* patogênicas: os patógenos intestinais, que causam diarreia (abordados no presente trabalho) e os extraintestinais, que causam várias infecções em humanos e animais, tais como: do trato urinário, pneumonia, meningite, septicemia e outras (Croxen *et al.*, 2013; Gyles, C. L.; Fairbrother, 2010; Fratamico, *et al.* 2016).

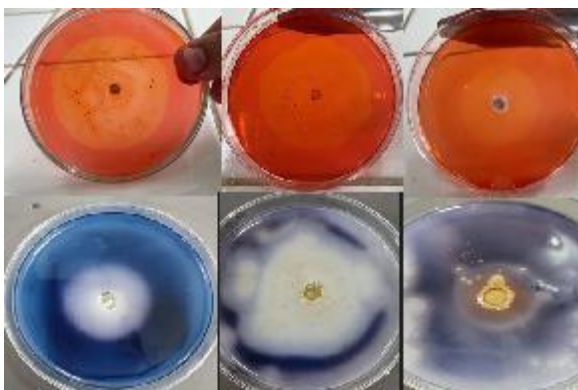
4.2 Avaliação qualitativa e quantitativa da Produção Enzimática

Para alcançarmos a seleção de produtos naturais a partir de recursos microbianos começa pela coleta do material biológico, é preciso começar por uma triagem de materiais para chegar a uma seleção final dos melhores candidatos a partir de uma lista reduzida de opções, que culmina com o desenvolvimento de um produto comercial (Oliveira; Sette; Fantinatti-garboggini, 2006).

Visto isto, a avaliação semiquantitativa, também chamada de índice enzimático (IE) na produção de enzimas por microorganismos, viabiliza a elaboração de uma lista com as melhores opções, que se baseia na relação direta entre a capacidade de degradação do substrato pelo micro-organismo e o diâmetro da área degradada, ou seja, o halo formado pela hidrólise do meio seletivo para a enzima testada (Hankin; Anagnostakis, 1975).

Para mensurar a atividade enzimática (PZ), como demonstrada na figura 2, foi realizada com base na metodologia do índice enzimático, é determinada pela razão entre o diâmetro da colônia e o diâmetro da zona de degradação enzimática acrescido da área de crescimento da colônia (Cuzzi *et al.*, 2011).

Figura 2: Imagens capturadas das placas de petri revelando degradação, onde as 3 superiores mostra ação sobre celulose e as 3 inferiores de amido.



Fonte: Autor, 2025.

De forma que, d_c é referente ao diâmetro da colônia e d_{hc} o diâmetro da colônia + a área de degradação do meio. Com o resultado, os fungos podem ser classificados como fortemente positivas (PZ 3; $IE < 0,64$), positivas (PZ 2; $IE > 0,64 < 1,0$) e negativas (PZ 1; $IE > 1,0$) para a atividade enzimática alvo da pesquisa.

Desta forma, o estudo de enzimas a partir da degradação de halo enzimático realizado em meio sólido permite um screening rápido e simples de diversos fungos para presença ou a ausência de enzimas específicas úteis na

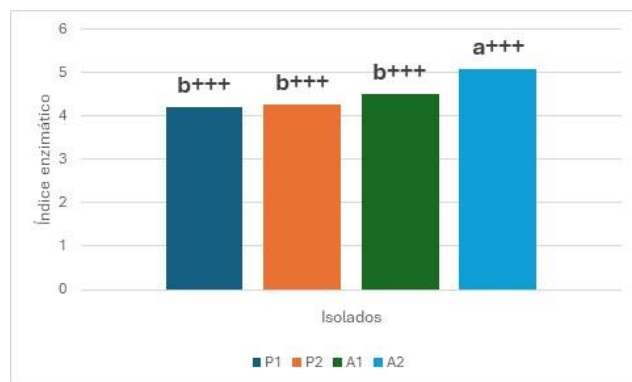
seleção de isolados com elevados níveis de polissacarídeos (Monteiro *et al.*, 2020).

Nas condições estabelecidas para esse experimento foi possível detectar o halo de degradação enzimática produzido por quatro isolados morfológicamente distintos, de fungos endofíticos sendo possível a identificação dos gêneros: *Aspergillus* e *Penicillium*, por meio da visualização de suas estruturas morfológicas como esporos, hifas e conídios.

Conforme ilustrado na Figura 3, isolado A2 apresentou a maior atividade celulolítica (IE 5,08) diferindo significativamente dos demais. O índice enzimático variou entre 4,22 e 5,03 (isolados P1 e A2 respectivamente).

Figura 3: Índice enzimático (IE) de celulase de isolados de fungos endofíticos oriundos da caatinga de Alagoas cultivadas em meio sólido, durante sete dias.

Média de três repetições

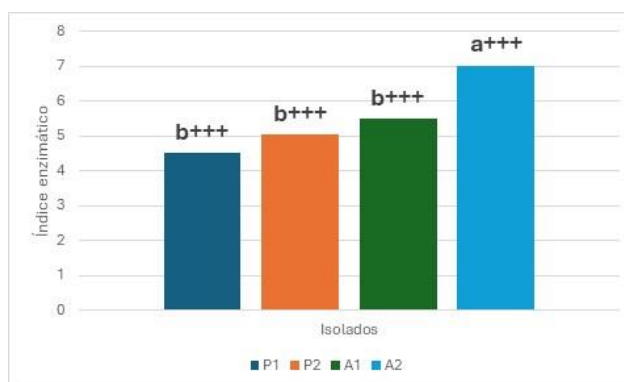


Medias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Teste de Scott Knott ($p < 0,05$) Não produtoras (IE=0)-; Fracamente produtoras ($1 < \text{IE} < 1,5$)+; Moderadamente produtoras ($1,5 \leq \text{IE} < 2$)++; Fortemente produtoras ($\text{IE} \geq 2$)+++ (Autor, 2025).

Os resultados para amilase estão apresentados na Figura 4, todos os isolados apresentaram atividade enzimática. O índice enzimático variou entre 4,5 e 7,01 (isolados P1 e A2 respectivamente). Os isolados P1, P2 e A1, não diferiram estatisticamente entre si [Teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)].

Figura 4: Índice enzimático (IE) de amilase de isolados de fungos endofíticos oriundos da caatinga de Alagoas cultivadas em meio sólido, durante sete dias.

Média de três repetições.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Teste de Scott Knott ($p < 0,05$) Não produtoras ($IE=0$)-; Fracamente produtoras ($1 < IE < 1,5$)+; Moderadamente produtoras ($1,5 \leq IE < 2$)++; Fortemente produtoras ($IE \geq 2$)+++ (Autor, 2025).

Conforme se verifica, tanto para celulase como para amilase todos os isolados testados foram considerados fortemente produtores da enzimas segundo os critérios propostos por Lealem e Gashe (1994), considera-se que um microorganismo apresenta bom desempenho na produção de enzimas extracelulares em meio sólido quando o seu Índice Enzimático (IE) é igual ou superior a 2,0.

Os micro-organismos são cruciais em processos ecológicos, como a decomposição de matéria orgânica, mineralização de nutrientes e remoção de toxinas. Em muitos desses processos, eles utilizam enzimas extracelulares para converter substratos complexos em formas que podem ser absorvidas. No entanto, a produção de enzimas extracelulares é reduzida quando os nutrientes estão em abundância (Allison, 2005).

A habilidade dos micro-organismos de conseguirem buscar e explorar diferentes substratos e obterem os nutrientes necessários em ambientes oligotróficos ou estressantes como a folha serve como uma estratégia de evitarem a desnutrição ou morte celular (Burns *et al.*, 2013) os resultados obtidos demonstram que os isolados estudados no presente trabalho, apresentaram habilidade para degradar diferentes substratos.

Por ser o único e exclusivo bioma brasileiro de fato, a Caatinga possui necessidade gritante de ser conservada, visando a manutenção do seu alto grau de endemismo e riqueza de espécies pois, a ação antrópica, principal causa de sua degradação, continua acentuada, de forma que o uso inadequado e insustentável de seus recursos naturais coloca em risco este bioma (Santos, 2021).

O gênero *Penicillium*, é apresentado na literatura por promover o crescimento em plantas, como descreve ElSharkawy *et. al.* (2017), através da produção e síntese de hormônios vegetais como as giberelinas ou até por mecanismos indiretos que corroboram para uma nutrição eficaz das plantas, como a solubilização de fosfato.

Atualmente, só tem ampliado a procura das indústrias para o uso de espécies fúngicas que sintetizem enzimas fermentativas a partir de produtos com baixo valor agregado, além de serem utilizadas na decomposição de resíduos industriais (Samson & Varga, 2009; Silva *et al*, 2024).

Algumas espécies do gênero *Aspergillus spp*, são fundamentais para utilização na fermentação de produto alimentício e ainda na produção de ácidos orgânicos, metabólitos secundários, enzimas e na biotransformação de químicos (Samson & Varga, 2009; Silva *et al*, 2024).

A utilização de *Aspergillus niger*, é eficiente em fármacos, em função da sua capacidade de biotransformação.

Procedimento este, que inovou a indústria farmacêutica, pois causam menos efeitos adversos e prejudiciais aos seres humanos que necessitam de melhores condições de vida (Pollard & Woodley, 2007).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou o potencial biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas nativas da Caatinga alagoana, especialmente no que se refere à produção de enzimas extracelulares como celulasas e amilases.

A identificação dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, ambos reconhecidos por sua relevância industrial e agrícola, reforça a importância da prospecção microbiana em ambientes semiáridos, frequentemente negligenciados, mas ricos em biodiversidade e adaptabilidade.

A metodologia empregada permitiu não apenas a identificação morfológica dos isolados, mas também a avaliação eficaz da atividade enzimática, indicando alto desempenho enzimático por parte dos microrganismos testados. Com os dados revelados através desta pesquisa, esperamos contribuir com dados relevantes sobre a biodiversidade microbiana da Caatinga e incentivar o uso sustentável de seus recursos.

Dessa forma, o presente trabalho contribui significativamente para o conhecimento científico sobre a microbiota endofítica da Caatinga e reforça a necessidade urgente de conservação desse bioma, não apenas pela sua riqueza florística, mas também pelo potencial biotecnológico associado à sua microbiota. A continuidade de estudos voltados à caracterização funcional desses microrganismos poderá favorecer o desenvolvimento de bioinsumos e soluções sustentáveis para os desafios da agropecuária no semiárido brasileiro, unindo conservação ambiental e inovação tecnológica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLISON, S. D. Cheaters, diffusion and nutrients constrain decomposition by microbial enzymes in spatially structured environments. **Ecology Letters**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. 626–635,

2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.14610248.2005.00756.x>. Acesso em: 19 mai 2025.

ALMEIDA, Claudeni Gomes Fonseca *et al.* Levantamento de Espécies Arbóreas de Matas Ciliares como Subsídio a Implantação de Sistemas Agroflorestas em

Áreas de Agricultura Familiar no Vale do Mucuri, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Agroecologia** [Volumes 1 (2006) a 12 (2017)], v. 4, n. 1, 2009.

AUGUSTO, Lia Giraldo da Silva. Uso dos agrotóxicos no semiárido brasileiro. In: **É veneno ou é remédio: agrotóxicos, saúde e ambiente**. p. 59-73. 2003.

AZEVEDO, João Lúcio. Microrganismos endofíticos. **Ecologia microbiana**, p. 117-137, 1998.

AYOB, F.W.; SIMARANI, K. Endophytic filamentous fungi from a *Catharanthus roseus*: identification and its hydrolytic enzymes. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, p. 273– 278, 2016.

BARROS, A. H. C; . ARAÚJO, F.; JOSE, C. de A. F; ADEMAR, B. da S; SANTIAGO. G. A. C. F. **Climatologia do Estado de Alagoas**. Dados eletrônicos. Recife: Embrapa Solos. 2 Ed. 32 p. 2012.

BERG, Jeremy M.; TYMOCZKO, John L.; STRYER, Lubert. Bioquímica. Tradução de Antonio José Magalhães da Silva Moreira, João Paulo de Campos, Paulo Armando Motta. **Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**. 6. ed. 1114 p., 2008. Dis

BEZERRA, Macio Bento. A crise hídrica como reflexo da seca: o Nordeste Setentrional em alerta. **Revista de Geociências do Nordeste**, v. 2, p. 623-632, 2016.

BORGES, Warley de S. *et al.* Endophytic fungi: natural products, enzymes and biotransformation reactions. **Current Organic Chemistry**, v. 13, n. 12, p. 1137-1163, 2009.

BURNS, Richard G. *et al.* Enzimas do solo em um ambiente em mudança: conhecimento atual e direções futuras. **Biologia e Bioquímica do Solo**, v. 58, p. 216-234, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>. Acesso em: 19 de mai 2025

CONCEIÇÃO, T. A. **Estudo da produção de enzimas ligninolíticas por fungos Agaricomycetes cultivados em resíduos agroindustriais do Estado da Bahia**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal de Feira de Santana, Feira de Santana, 93 f. 2010.

CONTI, Raphael; GUIMARÃES, Denise O.; PUPO, Mônica T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbioses como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 3, p. 43-47, 2012.

COSTA, M. M. *et al.* Potencial dos micro-organismos da Caatinga: uma abordagem molecular. **Serviço de Aplicações Agrícolas**, 2014. Disponível em: <https://www.sidalc.net/search/Record/digitalice-doc1001293/Description#holdings>. Acesso em: 18 maio 2025.

CROXEN, Matthew A. *et al.* Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.

CUZZI, C. *et al.* Enzimas extracelulares produzidas por fungos endofíticos isolados de Baccharis Dracunculifolia D. C. (Asteraceae). **Global Science and Technology**, v. 4, n. 02, p. 47-57, mai/ago. 2011.

DANIELLE DE SOUZA VIEIRA, Paula. **Fungos endofíticos associados a algodoeiros transgênico e não transgênico**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

2010.

DE LIMA ANDRADE, Esdras; OLIVEIRA, Alex Nazário Silva. **Áreas Ambientalmente Potenciais Para A Criação De Unidades De Conservação Do Bioma Caatinga Nos Municípios Alagoanos Ribeirinhos Do Rio São Francisco. I**

Simpósio da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco – JuazeiroBA. 5 a 9 junho de 2016.

DELABONA, P. S. **Bioprospecção de fungos produtores de celulases da região amazônica para produção de etanol celulósico.** 2011. 122p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

DE NYS, Erwin; ENGLE, Nathan Lee; MAGALHAES, Antonio Rocha. **Secas no Brasil: política e gestão.** The World Bank, 2016.

DE SOUZA, Paula Monteiro; DE OLIVEIRA MAGALHÃES, Pérola. Application of microbial α -amylase in industry—A review. **Brazilian journal of microbiology**, v. 41, n. 4, p. 850, 2010.

ELSHARKAWY, M. M.; ABASS, J. M.; KAMEL, S. M.; HYAKUMASHI, M. The plant growth promotin fungi *Penicillium* sp. GP16-2 enhance the growth and confers protection against Cucumber mosaic virus in tobacco. **Journal of Virological Sciences**, v. 1, p. 145- 154, 2017.

FAROUK, H. M.; ATTIA, E. Z.; EL-KATATNY, M. H. Hydrolytic enzyme production of endophytic fungi isolated from soybean (*Glycine max*). **J. Mod. Res.**, n. 2, p. 1-7, 2020.

FOUDA, A. H.; HASSAN, S. E. D.; EID, A. M.; EWAIS, E. E. D. Biotechnological applications of fungal endophytes associated with medicinal plant *Asclepias sinaica* (Bioss.). **Annals of Agricultural Science**, v. 60, p. 95–104, 2015.

FRATAMICO, Pina M. *et al.* Advances in molecular serotyping and subtyping of *Escherichia coli*. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 195060, 2016.

FREIRE, K. T. L. S., *et al.* Fungos endofíticos de *Opuntia Ficusindica* (L.) Mill. (Cactaceae) s;adia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (COCKERELL, 1896) (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE). **Gaia Scientia**, v. 9, n. 2, 2015.

GASPAROTTO, Paulo Henrique *et al.* Principais gêneros bacterianos causadores de mastite isolados no Laboratório de Microbiologia Veterinária na Clínica Escola de Medicina Veterinária do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná-RO.

Revista Veterinária Em Foco, v. 14, n. 1, 2016.

GLIENKE C. **Variabilidade Genética no fungo endófito *Guignardia citricarpa* detectada por RAPD**. Dissertação de Mestrado Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 115p. 1995.

GRIEBELER, Nara Elisandre *et al.* Seleção de fungos filamentosos produtores de amilases, proteases, celulasas e pectinases. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 13, 2015.

GYLES, C. L.; FAIRBROTHER, J. M. *Escherichia coli*. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**, v. 4, p. 267308, 2010.

HAMMEL, K.E.. Fungal degradation of lignin. In: CADISCH, G.; GILLER, K.E. (eds) Plant litter quality and decomposition.

CAB-International, p. 33- 46, 1997.

HANKIN, Lester; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**,

v. 67, n. 3, p. 597-607, 1975.

HAWKSWORTH, D. L. Mycology: a Neglected Megascience. In: RAI, M.; BRIDGE, P. D. **Applied Mycology**, Londres: CAB,

p. 1-16. 2009.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores de Desenvolvimento Sustentável**. 2015.

INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY Recomendações sobre nomenclatura bioquímica e orgânica, símbolos e terminologia. Material preparado por G. P. MOSS. **School of Physical and Chemical Sciences**. Última atualização em 8 de Abril de 2025. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/>. Acesso em: 20 maio 2025.

JAGANNATH, S.; KONAPPA, N.; LOKESH, A.; BHUVANESHWARI, D. T.; UDAYASHANKAR, A. C.;

CHOWDAPPA, S. *et al.* Bioactive compounds guided diversity of endophytic fungi from *Baliospermum montanum* and their potential extracellular enzymes. **Analytical Biochemistry**, A.

227189932. 2021.

JAKIEVICIUS, M. Coordenadoria de Educação Ambiental. **Matas Ciliares e o Meio Ambiente Rural: uma proposta de trabalho para educadores**. São Paulo: SMA/CEA. 152p. 2011.

KERN, M. E.; BLEVINS, K.S. **Micologia Médica**. 2ed. São Paulo: Editora Premier, p.256, 1999.

KILIKIAN, B. V.; PESSOA JUNIOR, A. Purificação de produtos biotecnológicos. *Biotecnologia Industrial*. **Engenharia Bioquímica**, v. 2, p. 1, 2001.

KOJO, Toshihiro *et al.* Characterization of amylolytic enzyme overproducing mutant of *Aspergillus luchuensis* obtained by ion beam mutagenesis. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 63, n. 6, p. 339-346, 2017.

LEMONS, José de Jesus Sousa. **Vulnerabilidades induzidas no semiárido**. E-book. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2020.

Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/54842>. Acesso em: 18 de Maio de 2025.

LI, H.; QING, C.; ZHANG, Y., ZHAO, Z. Screening for endophytic fungi with antitumour and antifungal activities from Chinese medicinal plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 21, p.1515–1519, 2005.

LIMA, Eduardo Neório. **A organização espacial como dimensão da totalidade construída pelo Canal do Sertão em Alagoas**. 113 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Instituto de Geografia, Desenvolvimento e Meio Ambiente, Programa de Pós-Graduação em Geografia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2022.

LIU, X.; KOKARE, C. Microbial Enzymes of Use in Industry. **Biotechnology of Microbial Enzymes**. Elsevier Inc. All rights reserved, 2017.

LYND, L.R. *et al.* Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66 , p. 506-577, 2002.

LORITO, M.; WOO, S.L.; HARMAN, G.E.; MONTE, E. **Translational research on Trichoderma: from ‘Omics to the field. Annual Review of Phytopathol**, v. 48, p. 395- 417, 2010.

MACHADO, P. C. **Identificação molecular e caracterização bioquímica de bactérias endofíticas associadas à cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) com potencial biotecnológico.** 2015. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

MEYER, Anne S.; ROSGAARD, Lisa; SØRENSEN, Hanne R. The minimal enzyme cocktail concept for biomass processing.

Journal of Cereal Science, v. 50, n. 3, p. 337-344, 2009.

NEE'NIGAM, Poonam Singh; PANDEY, Ashok. **Biotechnology for Agro-Industrial-Residues-Utilisation.** Springer, 2009.

NØDVIG, Christina S. *et al.* A CRISPR-Cas9 system for genetic engineering of filamentous fungi. **PloS one**, v. 10, n. 7, p. e0133085, 2015.

NOGUEIRA, Eliane Barbosa da Silva; CAVALCANTI, Maria Auxiliadora. Cellulolytic fungi isolated from processed oats. **Rev. microbiol**, p. 7-9, 1996.

OLIVEIRA, V. M.; SETTE, L. D.; FANTINATTIGARBOGGINI, F. Preservação e Prospecção de Recursos Microbianos. **Multi Ciência**, n. 7, p. 1-19, out. 2006.

OLIVEIRA, Rafael Lopes *et al.* **Avaliação do potencial biotecnológico de fungos endofíticos de Piper hispidum.** 2010.

OLIVEIRA, Iara Nunes de. **Deteção de pigmentos e metabólitos secundários bioativos de extratos de fungos endofíticos associados à Manilkara salzmannii, planta da restinga de Salvador, Ba.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 89 f. 2018.

PANDEY, A.; WEBB, C.; SOCCOL, C. R.; LARROCHE, C. *Enzyme Technology.* New Delhi: **Asiatech Publishers**, 760 p. 2005.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Micro-organismos endofíticos: interação com as plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n. 29, p. 62-76, 2002.

PEREIRA, J.O., AZEVEDO, J.L.; PETRINI, O. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: A first report. **Mycologia**, v. 85, p. 362 – 364, 1993.

PETRINI, O. Fungal endophyte of tree leaves. In :ANDREWS, J.; HIRANO, S. S. (Eds). **Microbial Ecology of Leaves.** New York: Springer Verlag. pp.179-197. 1991.

POINTING, Stephen B. Qualitative methods for the determination of lignocellulolytic enzyme production by tropical fungi. **Fungal diversity**, 1999.

POLLARD, David J.; WOODLEY, John M. Biocatalysis for pharmaceutical intermediates: the future is now. **TRENDS in Biotechnology**, v. 25, n. 2, p. 66-73, 2007.

RUEGGER, M. J. S.; TAUKE-TORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**,

v. 27, n. 2, p. 205-211, 2004.

RODRIGUES, K. F. and PETRINI, O. **Biodiversity of endophytic fungi in tropical regions. In: Diversity of Tropical Microfungi.** (K. D. HYDE, Editor), . University of Hong Kong Press. 1997.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.** 2018. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. 2016. Disponível em: <<https://www.rstudio.com/>>.

SERAFINI, L A e BARROS, N M DE e AZEVEDO, João Lúcio de. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria.** Guaíba: Agropecuária, p.463, 2001. Acesso em: 18 maio 2025.

SAMSON, Robert A.; VARGA, János. **Molecular systematics of Aspergillus and its teleomorphs. In: Aspergillus: molecular biology and genomics.** Horizon Press, p. 19-40.2009.

SANCHEZ, Oscar J.; CARDONA, Carlos A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource technology**, v. 99, n. 13, p. 5270-5295, 2008.

SELOSSE, Marc-André; BAUDOIN, Ezékiel; VANDENKOORNHUYSE, Philippe. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. **Comptes rendus biologiques**, v. 327, n. 7, p. 639-648, 2004.

SEMARH. **Secretaria de Estado do Meio Ambiente e dos Recursos Hídricos.** Dados de Precipitação Mensal. Última atualização julho, 2023. Disponível em: <https://dados.al.gov.br/catalogo/dataset/dados-de-precipitacaomensal>.

SERRA, Letícia Silva et al. Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. **Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB**, v. 1, n. 4, p. 2-25, 2016.

SERRANO, Isa *et al.* Antimicrobial resistance and genomic repPCR fingerprints of *Pseudomonas aeruginosa* strains from animals on the background of the global population structure. **BMC veterinary research**, v. 13, p. 1-8, 2016.

SILVA, João Manoel da. **Bioprospecção de fungos rizosféricos associados à cactáceas em área de processo de desertificação para promoção de crescimento em plantas.** Tese (doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Química e Biotecnologia, RENORBIO, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 113 f. 2021a.

SILVA, Lais M. et al. surto de colonização/infecção por *pseudomonas aeruginosa* em uti de pacientes com covid-19: descrição de casos e medidas adotadas. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, p. 101369, 2021b.

SMITH, D.; ONIONS, A.H.S. **The preservation and maintenance of living fungi.** Page Bros, Norwick. 1983.

SOUZA, P. M. de. **Produção de proteases por fungos filamentosos isolados do cerrado brasileiro.** 2015. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências

Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
Disponível em:
https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9134/tde-15052015-134608/publico/Paula_Monteiro_de_Souza_DO_corrigena.pdf.
Acesso em: 17 maio 2025.

SRIVASTAVA, Praveen Kumar; KAPOOR, Mukesh.
Production, properties, and applications of endo- β -mannanases.
Biotechnology advances, v. 35, n. 1, p. 1-19, 2017.

SUNITHA, V. H.; DEVI, D. Nirmala; SRINIVAS, C.
Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 9, n. 1, p. 01-09, 2013.

VAISHNAV, Neha *et al.* Penicillium: the next emerging champion for cellulase production. **Bioresource Technology Reports**, v. 2, p. 131-140, 2018.

VITOLO, M.; PESSOA, A. **Biotecnologia farmacêutica: aspectos sobre aplicação industrial**. 1ed. São Paulo-SP: Blucher, 2015.

WANG, Y. G. *et al.* Antioxidant activity of secondary metabolites and mycelium extracts of endophytic fungi isolated from *Astragalus monadelphus*. **Bulgarian Chem Commun**, v. 48, n. 4, p. 787-792, 2016.

WOICIECHOWSKI, Adenise Lorenci *et al.* Emprego de resíduos agroindustriais em bioprocessos alimentares. **Biotecnologia de Alimentos**, v. 1, p. 143-171, 2013.

ZERAIK, A.E; SOUZA, F.S; FATIBELLO-FILHO, O.

Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação.

Química Nova, v. 31, n. 4, p. 731-734, 2008.