



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANA BEATRIZ DE ANDRADE SOUZA**

**PROSPECÇÃO DE PIGMENTOS DE FUNGOS ISOLADOS DE SOLO DE ÁREA  
PRESERVADA**

RECIFE  
2024

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
ANA BEATRIZ DE ANDRADE SOUZA

PROSPECÇÃO DE PIGMENTOS DE FUNGOS ISOLADOS DE SOLO DE ÁREA  
PRESERVADA

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, modalidade Bacharelado, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como um dos requisitos exigidos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Orientadora:** Profa. Dra. Virginia Medeiros de Siqueira.

RECIFE  
2024



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S729p Souza, Ana Beatriz de Andrade  
Prospecção de pigmentos de fungos isolados de solo de área preservada / Ana Beatriz de Andrade  
Souza. - 2024.  
51 f. : il.

Orientadora: Virginia Medeiros de Siqueira.  
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2024.

1. Fungos filamentosos. 2. Bioprospecção. 3. Pigmentos naturais. I. Siqueira, Virginia Medeiros de,  
orient. II. Título

CDD 574

---

ANA BEATRIZ DE ANDRADE SOUZA

**PROSPECÇÃO DE PIGMENTOS DE FUNGOS ISOLADOS DE SOLO DE ÁREA  
PRESERVADA**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, modalidade Bacharelado, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como um dos requisitos exigidos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas

Aprovado em 20/02/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Virginia Medeiros de Siqueira (1º titular/orientadora)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Profa. Dra. Luciana de Oliveira Franco (2º titular/membro interno)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Dra. Adriana Ferreira de Souza (3º titular/membro externo)  
Universidade Católica de Pernambuco

## **Agradecimentos**

É com grande emoção e gratidão que expresso meus agradecimentos a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho, que marca o culminar de um percurso acadêmico desafiador, porém enriquecedor.

Primeiramente, agradeço a Deus. Sua graça e orientação foram fundamentais para superar desafios e alcançar este momento de realização. A fé me deu a força necessária para persistir diante das adversidades e celebrar as vitórias.

Dedico palavras de profundo apreço à Professora Virgínia, minha orientadora, cuja sabedoria, paciência e comprometimento foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa. Sua orientação exemplar não apenas guiou meu trabalho, mas também me inspirou a alcançar padrões mais elevados de excelência acadêmica. Agradeço por sua dedicação incansável.

À minha mãe, cujo apoio incondicional foi uma fonte inesgotável de força e estímulo, expresso minha eterna gratidão. Seu encorajamento constante e compreensão foram a luz que iluminou os momentos desafiadores desta jornada. Cada conquista neste trabalho é também um reflexo do amor e suporte que recebi de você.

Além das pessoas diretamente envolvidas, expresso minha gratidão a todos os professores, colegas de classe e amigos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Cada interação foi uma peça essencial no quebra-cabeça desta trajetória.

Este trabalho representa não apenas uma conquista pessoal, mas também uma celebração das conexões e apoios que moldaram minha jornada acadêmica. A todos que de alguma forma contribuíram, meu mais sincero obrigado. Que este trabalho possa inspirar e contribuir para o avanço do conhecimento na área da Microbiologia.

## Resumo

Nos últimos anos, diversos estudos têm ressaltado os malefícios associados às substâncias artificiais utilizadas nas indústrias de alimentos, agricultura e farmacêutica, com ênfase nos prejuízos dos corantes sintéticos. Como alternativa a essas substâncias, a busca por fungos produtores de pigmentos tem se destacado como uma opção promissora. Especificamente, os fungos filamentosos têm a capacidade de produzir metabólitos secundários que podem substituir produtos sintéticos ou servir como matéria-prima para novos produtos, contribuindo para os desafios associados a essa problemática. Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar a capacidade de produção de pigmentos por fungos filamentosos isolados de solo em área preservada na UC Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Mata do Curado, Recife-PE. Após procedimentos de isolamento e quantificação, foram selecionados cinco isolados capazes de produzir pigmentos extracelulares em meio de cultura sólido, estes identificados como *Paecilomyces* (isolados 01 e 11), *Penicillium* (isolado 07), *Phoma* (isolado 16) e *Aspergillus* (isolado 18). Posteriormente, esses fungos foram cultivados em meios de cultura líquido e submetidos a diferentes condições de pH, nutrientes e temperatura, com agitação a 150 rpm por 9 dias. Como resultado, as condições em que todos os isolados mantiveram a produção de pigmentos foi em caldo batata dextrose e caldo czpeck, pHs 4,5 e 7,0, e temperatura de 25 °C, indicando assim que a temperatura de 15 °C foi um fator limitante quando comparados todos os isolados testados. Adicionalmente, o extrato contendo os pigmentos foram testados quanto à sua capacidade antimicrobiana, porém nenhum deles se mostrou ativo frente a *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Assim, conclui-se que solos de áreas preservadas são fontes de fungos capazes de produzir pigmentos extracelulares, os quais podem ser, em pesquisas futuras, explorando suas diversas aplicações. Por fim, os resultados destacam a importância da manutenção de áreas preservadas, não apenas pelo seu papel ecológico, mas também pelo biotecnológico aos mesmos.

**Palavras chave:** Fungos filamentosos, Bioprospecção, Pigmentos naturais.

## Abstract

In recent years, several studies have highlighted the harmful effects of artificial substances used in the food, agriculture, and pharmaceutical industries, especially synthetic dyes. As an alternative to these substances, the search for fungi producing pigments has emerged as a promising option. Specifically, filamentous fungi have the ability to produce secondary metabolites that can replace synthetic products or serve as raw material for new products, minimizing this problem. In this context, the present study aimed to evaluate the pigment production capacity of filamentous fungi isolated from soil in a preserved area at the Curado Forest Wildlife Refuge (RVS), Recife-PE. After isolation and quantification procedures, five isolates capable of producing extracellular pigments in solid culture medium were selected, identified as *Paecilomyces* (isolates 01 and 11), *Penicillium* (isolate 07), *Phoma* (isolate 16), and *Aspergillus* (isolate 18). Subsequently, these fungi were cultured in liquid culture media and subjected to different pH, nutrient, and temperature conditions, with agitation at 150 rpm for 9 days. As a result, the conditions in which all isolates maintained pigment production were in Potato Dextrose Broth and Czpeck Broth, pHs 4.5 and 7.0, and temperature of 25°C, indicating that 15°C was a limiting factor when compared to all isolates tested. Additionally, the extract containing the pigments was tested for its antimicrobial capacity, but none of them showed activity against *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. Thus, it is concluded that soils from preserved areas are sources of fungi capable of producing extracellular pigments, which can be further studied in future research for their various applications. Finally, the results presented here emphasize the importance of maintaining preserved areas, valuing the fungal component present in soils, and that besides their ecological role, it is possible to add biotechnological value to them.

**Keywords:** Filamentous fungi, Bioprospecting, Natural pigments

## Lista de figuras

- **Fig. 1:** Exemplos de pigmentos fúngicos que estão envolvidos em algumas aplicações alimentares e não alimentares. Adaptado de Elkhateeb & Daba, 2023.....**21**
- **Fig. 2:** Imagem de satélite do Jardim Botânico do Recife, coordenadas: -8.077043, -34.959561. Fonte: Google Maps 2023.....**24**
- **Fig. 3:** Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Peacilomyces* (isolado 01) em Agar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento vermelho extracelular.....**28**
- **Fig. 4:** Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Peacilomyces* (isolado 11) em Agar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento vermelho extracelular.....**28**
- **Fig. 5:** Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Penicillium* em ágar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento vermelho extracelular.....**29**
- **Fig. 6:** Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Phoma* em ágar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento amarelo extracelular.....**30**
- **Fig. 7:** Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Aspergillus* em Agar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento amarelo extracelular.....**31**
- **Fig. 8:** Produção de pigmentos extracelulares por (A) *Phoma* (isolado 16), (B) *Aspergillus* (isolado 18), (C) *Peacilomyces* (isolado 01), (D) *Penicillium* (isolado 07), (E) *Paecilomyces* (isolado 11) respectivamente, após 9 dias, sob as condições Caldo BD, Caldo CZ, pHs 7,0 e 4,5 e à temperatura de 15 °C.....**37**
- **Fig. 9:** Produção de pigmentos extracelulares por (A) *Phoma* (isolado 16), (B) *Aspergillus* (isolado 18), (C) *Peacilomyces* (isolado 01), (D) *Penicillium* (isolado 07), (E) *Paecilomyces* (isolado 11) respectivamente, após 9 dias, sob as condições Caldo BD, Caldo CZ, pHs 7,0 e 4,5 e à temperatura de 25 °C.....**38**

- Fig. 10: Alíquota dos meios dos extratos líquidos dos diferentes meios de cultura e pHs, mostrando o espectro de cores obtido na temperatura de 25°C.....**39**
- Teste de atividade antimicrobiana negativo frente a *Candida albicans* (A), *Escherichia coli* (B) e *Staphylococcus aureus* (C).....**39**

### Lista de tabelas

- Tabela 01. Positividade quanto a produção de pigmentos extracelulares pelos isolados fúngicos frente a diferentes condições: meio de cultura (nutrientes), temperatura e pH.....**33**

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| 1. Introdução.....  | 11 |
| 2. Justificativa.....   | 12 |
| 3. Objetivos.....   | 13 |
| 3.1 Objetivos gerais.....   | 13 |
| 3.2 Objetivos específicos.....  | 13 |
| 4. Revisão bibliográfica.....   | 14 |
| 4.1 Bioprospecção.....  | 14 |
| 4.2 Fungos: Características gerais e aplicações de fungos na biotecnologia.....     | 15 |
| 4.3 Prospecção de produtos naturais fúngicos.....                                   | 19 |
| 4.4 Unidades de conservação.....  | 22 |
| 5. Materiais e métodos.....   | 24 |
| 5.1 Local de amostragem.....  | 24 |
| 5.2 Isolamento e quantificação de fungos mesófilos.....                             | 25 |
| 5.3 Identificação dos isolados.....   | 25 |
| 5.4 Avaliação da produção de pigmentos.....   | 25 |
| 5.5 Avaliação da atividade antimicrobiana dos pigmentos fúngicos.....               | 26 |
| 6. Resultados e discussão.....  | 27 |
| 6.1 Quantificação, identificação e seleção dos isolados fúngicos.....               | 27 |
| 6.2 Avaliação da produção de pigmentos extracelulares sob diferentes condições..... | 31 |
| 6.3 Atividade antimicrobiana.....   | 38 |
| 7. Conclusão.....   | 39 |
| 8. Referências bibliográficas.....  | 40 |



## 1. Introdução

A bioprospecção é caracterizada como uma pesquisa sistemática cujo objetivo é encontrar organismos, enzimas, genes, compostos e processos que venham a ser sócio e economicamente relevantes, visando o desenvolvimento de produtos com aplicações, principalmente nos setores da indústria farmacêutica e alimentícia (Saccaro, 2011).

Em 2019, o relatório do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente revelou que o Brasil possui a maior diversidade biológica da Terra, abrigando de 15% a 20% de todas as espécies de organismos. Quanto à parcela fúngica, o país possui aproximadamente 13.800 espécies registradas, correspondendo a cerca de 14% da diversidade mundial (PNUMA, 2019). Assim, o Brasil representa uma grande riqueza de recursos biológicos, tornando as áreas preservadas inestimáveis fontes para pesquisas que objetivam a bioprospecção (Oliveira et al., 2021).

Os fungos estabelecem diferentes relações ecológicas e estão presentes em diversos habitats, incluindo os solos, onde os mesmos compõem uma fração considerável da diversidade microbiana. Esta diversidade é influenciada por fatores bióticos e abióticos que desempenham um papel crucial no desenvolvimento da vida nos solos e na própria comunidade microbiana. Dessa forma, as características físico-químicas e a composição microbiológica dos solos desencadeiam uma gama de adaptações metabólicas nos fungos, resultando na síntese de um vasto repertório de metabólitos secundários (Andreola & Fernandes, 2007; Van Der Heijden et al, 2008; Dabert & Delgen, 2002).

Metabólitos secundários fúngicos são compostos orgânicos que atuam mediando comunicação interespecíes, interações simbióticas, contra competidores e situações de estresse. Assim, esta diversidade metabólica aponta para uma diversidade de compostos naturais fúngicos bioativos e de interesse biotecnológico (Bills & Gloer, 2016). Corbu et al. (2023) revisaram recentemente sobre os papéis benéficos dos fungos, como a produção de enzimas, antibióticos e pigmentos. Em especial, com relação aos pigmentos, trabalhos recentes apontam fungos de solo como importante fonte desses compostos, sendo os gêneros *Penicillium*,

*Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces* e *Trichoderma* com maior destaque (Akilandeswari & Pradeep, 2016; Kalra et al., 2020).

Diante o exposto, o presente estudo destaca a relevância dos fungos de solo de área de Mata Atlântica na Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Mata do Curado, Recife/PE, como fontes de pigmentos naturais com potenciais aplicações biotecnológicas. Os resultados alcançados nesta pesquisa enfatizam a importância da existência e manutenção das Unidades de Conservação e, conseqüentemente, da diversidade microbiana presente no solo e do seu valor biotecnológico.

## **2. Justificativa**

Nos últimos anos vêm surgindo estudos sobre os efeitos nocivos causados pelas substâncias artificiais utilizadas na indústria alimentícia, agropecuária e farmacêutica; os efeitos que mais preocupam os cientistas e a área médica são problemas no aparelho reprodutor e no desenvolvimento do feto, cânceres dos mais diversos tipos e problemas cognitivos. Na busca de substâncias oriundas da natureza que sirvam de substitutas às substâncias artificiais, a bioprospecção de fungos se mostra uma importante área de estudo. Dentre os diferentes tipos de fungos, os filamentosos do solo são uma ótima alternativa pois estes organismos produzem metabólitos secundários com capacidade de substituir substâncias sintéticas na indústria ou ainda ser matéria prima de novos produtos.

Por ser um país megadiverso, o Brasil possui uma gama de espécies em seus biomas, incluindo espécies fúngicas. Porém, essa enorme biodiversidade é pouco valorizada, o que dificulta a descoberta de espécies com potencial econômico e biotecnológico. Assim, a importância das pesquisas que abordem este tema destaca a relevância desta monografia, ressaltando o papel dos fungos tanto para o funcionamento dos ecossistema, quanto para o desenvolvimento da ciência. Em especial, este é um estudo pioneiro que pesquisa pigmentos produzidos por fungos de solo da UC Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Mata do Curado, Recife/PE, e os

resultados obtidos no presente estudos podem enaltecer o papel da criação e manutenção de áreas preservadas da Mata Atlântica de Pernambuco.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivos Gerais**

Avaliar a produção de pigmentos extracelulares por fungos isolados de solo coletado em uma área preservada de Mata Atlântica na Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Mata do Curado, Recife/PE.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Isolar e quantificar fungos filamentosos presentes no solo coletado na Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Mata do Curado, Recife/PE
- Selecionar e identificar, por meio de taxonomia morfológica isolados fúngicos produtores de pigmentos extracelulares;
- Avaliar a influência de meios de cultura diferentes, pH e temperatura na produção de pigmentos extracelulares pelos fungos selecionados;
- Investigar a ação antimicrobiana dos pigmentos obtidos a partir dos isolados selecionados;

## **4. Revisão bibliográfica**

### **4.1 Bioprospecção**

O crescimento populacional aliado ao aumento do consumo de produtos industriais, desperta preocupações sobre seus impactos na saúde humana e a diminuição da biodiversidade. Essa redução pode ser atribuída à atividade humana e aos possíveis efeitos adversos decorrentes do uso de produtos químicos artificiais em cosméticos, alimentos e itens de higiene pessoal, os quais acabam chegando ao meio ambiente. Como consequência, a busca por compostos naturais provenientes de fontes renováveis, de fácil manutenção e baixo custo, que reduzam o impacto negativo no meio ambiente e os efeitos prejudiciais à saúde, tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas (Kalra et al., 2020, McCann et al., 2007).

A busca de novos recursos genéticos é o foco principal da bioprospecção. Esses recursos incluem uma ampla variedade de organismos e suas informações genéticas, bem como o conhecimento tradicional associado a eles. Esses recursos têm um grande potencial na criação de novos produtos e processos, especialmente na fabricação de medicamentos inovadores. Nesse contexto, encontrar novos produtos é de suma importância, pois isso tem impactos sócio econômicos significativos e está diretamente relacionado à saúde humana. O Brasil desempenha um papel fundamental nesse cenário devido à sua vasta biodiversidade, pois com aproximadamente 14% de todas as espécies de fungos descritas no mundo, o país se mostra um terreno fértil para a bioprospecção e a descoberta de novos recursos genéticos (Berlinck, 2012; Maia & Junior, 2010).

Em busca de métodos para extrair produtos naturais, a bioprospecção apresenta-se como uma excelente alternativa para obter valor econômico a partir da biodiversidade. Essa prática tem sido empregada por humanos há milhares de anos, existindo inúmeros registros que comprovam o uso de recursos naturais pelos nativos americanos na construção de moradias, fabricação de medicamentos e objetos, muito antes da chegada dos europeus ao continente americano (Berlinck, 2012).

Definida pela MP 2186-16/2001 como “uma atividade exploratória que visa identificar componentes do patrimônio genético e informações sobre conhecimento tradicional associado, com potencial de uso comercial”, a bioprospecção envolve uma busca sistemática e cuidadosa por organismos, genes, enzimas, compostos, processos e partes derivados de seres vivos em geral, que possuam o potencial de ser matéria-prima para a produção de produtos que sejam economicamente viáveis e rentáveis. Sendo imprescindível para diversos campos como biotecnologia, saúde, agricultura, indústria farmacêutica e de cosméticos (Palma & Palma, 2012; Saccaro, 2011).

Nas últimas décadas, os países que detêm a maior quantidade de diversidade biológica, iniciaram a discutir sobre a importância da propriedade em relação ao notável potencial econômico do patrimônio ecológico, dentre essas nações o Brasil se destaca como um dos participantes mais ativos nas discussões. No cenário brasileiro, o principal obstáculo para o desenvolvimento da bioprospecção está intimamente ligado ao ambiente regulatório, este cenário é resultado das características socioculturais internas, associadas às mudanças globais na abordagem ao patrimônio natural (Pinto et al, 2020).

É importante destacar que a busca por recursos na natureza, de forma sustentável e legal, difere da exploração ilegal conhecida como biopirataria. Enquanto a bioprospecção segue procedimentos econômicos de acordo com a lei, na biopirataria, os recursos são enviados para outros países e patenteados sem o reconhecimento das autoridades governamentais. A biopirataria tem sido alvo de acalorados debates a respeito da apropriação indevida por grandes indústrias internacionais do conhecimento adquirido por povos indígenas, quilombolas e outros grupos (Pinto et al, 2020; Galves et al., 2021).

#### **4.2 Fungos: Características gerais e aplicações na biotecnologia**

Os fungos são seres eucariontes, podendo ser unicelulares, como as leveduras, ou pluricelulares, como os fungos filamentosos. Estima-se a existência de cerca de 11,7 a 13,2 milhões de espécies de fungos no mundo, estes podem ser

encontrados em diferentes formas morfológicas como cogumelos, leveduras, bolores e mofos. Estes organismos podem ser utilizados em diversos setores como, por exemplo, na gastronomia, na medicina e na produção de diferentes objetos para uso doméstico, além das imensuráveis funções ecológicas exercidas por este grupo de microrganismos (Hyde, 2022; Teixeira, 2020).

Os fungos estão presentes no dia a dia de todos os seres vivos, graças a sua ampla distribuição no ambiente é possível encontrá-los até mesmo no ar na forma de esporos, e quando estas estruturas encontram um substrato adequado, se fixam e se desenvolvem, dando origem a uma nova forma vegetativa e capaz de se reproduzir. Esses organismos são altamente resistentes e são capazes de se desenvolver nos mais diversos tipos de substratos e condições ambientais (umidade, pH e temperatura), o que permite a sua existência em ambientes extremos como no Ártico, profundezas marítimas, seres vivos e seus detritos (Wikandari et al., 2022; Franç et al., 2015).

O Reino Fungi possui uma grande diversidade taxonômica, que se manifesta por meio da sua classificação em múltiplos Filos distintos, destes é possível citar os Filos Cryptomycota, Microsporidia, Blastocladiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota. Os filoz Cryptomycota e Microsporidia têm células com as dimensões mais reduzidas em comparação com os outros Filos de fungos. Esses Filos são representados sempre por células unicelulares. No filo Cryptomycota, os representantes possuem esporos flagelados e podem ser encontrados em ambientes aquáticos, terrestres ou como endoparasitas de organismos vivos. Já no filo Microsporidia, uma característica que permitiu a adaptação a um modo de vida parasita obrigatório em aves, peixes e invertebrados é o desenvolvimento de um tubo polar dos esporos desses organismos, usado para infiltrar-se nas células hospedeiras (Macedo, 2017; Tortora; Funke; Case; 2012).

A Blastocladiomycota tem seu processo reprodutivo baseado na produção de zoósporos, que são esporos flagelados capazes de se mover em meio líquido. Esses fungos dependem de água para se reproduzirem, sendo os únicos organismos do reino com ciclos de vida alternantes entre gerações haploides e diploides. Os zigomicetos (Zygomycota) utilizam a reprodução por meio de

zigósporos e podem ser encontrados de forma livre no solo ou em associações mutuamente benéficas ou parasitárias. Nos Filos Ascomycota e Basidiomycota, é possível encontrar espécies de vida livre, parasitas ou estabelecendo associações mutuamente benéficas. Ambos os Filos incluem leveduras e fungos macroscópicos. A diferença principal entre esses Filos está no tipo de esporângio e esporo produzido. Os ascomicetos têm esporângios em forma de saco chamados ascos, que produzem os ascósporos, enquanto os basidiomicetos têm esporângios chamados basídios, que produzem basidiósporos fora dos basídios (Macedo, 2017; Tortora; Funke; Case; 2012).

Os fungos filamentosos do solo executam um papel fundamental como decompositores, sendo essencial para ciclagem da matéria orgânica, colabora ativamente na distribuição de nutrientes e do carbono no substrato, sendo de extrema importância para o equilíbrio do ecossistema terrestre e para os seres vivos. Algumas espécies de fungos podem até mesmo decompor ou consumir materiais tóxicos como metais pesados, decorrente do seu arcabouço enzimático, sendo de grande utilidade para processos de biorremediação (Oliveira et al., 2021; Da Silva et al., 2018; Žifčáková et al., 2016).

Os fungos podem se reproduzir de forma sexuada e assexuada. A reprodução assexuada pode ocorrer por fragmentação, brotamento e esporulação; na fragmentação, o micélio se quebra para formar clones, no brotamento, surgem brotos ou gemas laterais a partir de um indivíduo leveduriforme, na esporulação, esporangióforos surgem a partir do micélio e liberam esporos, que se disseminam para formar novos micélios. A reprodução sexuada em fungos aquáticos ocorre por meio de gametas flagelados, que se unem para formar zigotos, já nos fungos terrestres, ocorre a produção de esporos por meiose, gerando hifas haploides que se fundem para formar hifas diplóides, onde ocorrerão novas meioses para a produção de mais esporos meióticos, a reprodução sexuada é caracterizada pela alternância entre meiose e fusão de hifas (Teixeira, 2020).

Desde a antiguidade, os fungos têm desempenhado papéis fundamentais em atividades humanas, como na produção de pão, fabricação de bebidas alcoólicas e processamento de laticínios. Com os avanços da biotecnologia, seu uso na

produção comercial de produtos, como cogumelos comestíveis, álcoois, ácidos orgânicos, enzimas e corantes vem aumentando consideravelmente. Um exemplo de fungo amplamente utilizado ao longo dos anos é o *Aspergillus niger*, que vem sendo utilizado desde 1914 na produção de ácido cítrico no processamento de alimentos e bebidas. E também é possível citar a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que além de ser essencial no processo de fabricação de pães e vinhos, também é usada na vacina contra hepatite B (Tortora; Funke; Case; 2012).

Os produtos gerados por certas espécies de fungos têm despertado a curiosidade de pesquisadores pelo mundo, devido ao seu notável potencial biotecnológico, um dos campos em que os fungos têm suscitado interesse é na fabricação de pigmentos naturais, a procura mundial por pigmentos oriundos da natureza tem crescido consideravelmente em diferentes setores, como alimentício e cosmético, devido à sua capacidade de proporcionar alternativas mais seguras e sustentáveis. Os corantes sintéticos, que já foram associados a questões de saúde, têm sido objeto de regulamentações em toda a União Europeia desde 2010 (Fonte: Official Journal of the European Union), o que tem impulsionado a investigação e aprimoramento dos corantes naturais (Kalra et al., 2020; Lagashetti et al., 2019).

Pigmentos produzidos a partir de fungos, assim como os pigmentos produzidos a partir de algas, possuem uma vantagem quando comparados a pigmentos de origem vegetal ou animal: possuem um baixo custo e de fácil manutenção e processamento. Além disso, os têm sido reconhecidos por sua estabilidade química e luminosa, e sua grande diversidade de cores. Contudo, é importante destacar que essa prática demanda cuidado devido aos grandes riscos que as micotoxinas podem trazer, podendo restringir ou até mesmo inviabilizar o uso dos fungos e suas substâncias (Kalra et al., 2020, Joshi et al., 2003; Gmoser et al., 2017; Heer & Sharma, 2017; Galaffu et al., 2015).

Muitos fungos filamentosos são seguros para o consumo humano, o que permite o seu uso em uma ampla gama de aplicações práticas, como a produção de enzimas, antibióticos, compostos bioativos e ingredientes alimentícios naturais. Mas, apesar de promissora, a produção de pigmentos a partir de fungos enfrenta diversas dificuldades como, por exemplo, a dificuldade de encontrar pigmentos fúngicos nas



micotoxinas e a estabilidade e pureza do pigmento (Wikandari et al., 2022; Lebeau et al., 2017).

Certos fungos produzem substâncias tóxicas, como aflatoxinas, ocratoxinas e fumonisinas, estas substâncias são conhecidas como micotoxinas e podem ser prejudiciais tanto para a saúde humana e animal, e sua presença é um problema indesejado. Para serem utilizados na indústria alimentícia, os pigmentos precisam ser analisados por agências reguladoras para garantir que a substância seja segura para o consumo, e como a grande parte dos fungos sintetizam micotoxinas juntamente com os pigmentos, não é possível utilizá-los em produtos alimentícios (Wikandari et al., 2022; Dufossé et al., 2005; Food Administration Drug, 2015; Sigurdson et al., 2017).

Embora sejam mais estáveis do que pigmentos de origem vegetal e animal, os pigmentos sintetizados a partir de fungos ainda estão sujeitos à instabilidade resultante de diversas condições ambientais, como variações de pH, exposição à luz, umidade, temperatura e interação com diferentes matrizes alimentares. Essa instabilidade pode resultar na redução da vida útil e limitar sua aplicabilidade (Kalra et al., 2020; Ogbonna, 2016).

### **4.3 Prospecção de pigmentos fúngicos**

O Brasil é o país com a maior diversidade biológica do mundo, abrigando de 15% a 20% de todas as espécies existentes no planeta. Com mais de 120 mil espécies de invertebrados, cerca de 9 mil de vertebrados e mais de 4 mil espécies de plantas. Apesar do grande potencial para o desenvolvimento de novas biotecnologias, a imensa biodiversidade presente em território brasileiro é pouco explorada. A exploração desses recursos por órgãos e indústrias nacionais visando o desenvolvimento de produtos ainda é baixa, devido principalmente à falta de investimentos na área, fazendo com que organizações internacionais sejam a maioria dos interessados na exploração dos recursos naturais brasileiros (PNUMA, 2019).

A incrível diversidade do Brasil também abriga aproximadamente 13.800 variedades de fungos, equivalendo a cerca de 13% a 14% das espécies conhecidas em todo o mundo. No entanto, esses números são incertos devido à falta de uma lista de verificação (*check-list*) na época, o que resultou em vários desafios metodológicos que podem ter afetado o resultado final (Maia & Junior, 2010; Lewinsohn & Prado 2006; Oliveira et al., 2021).

Associada à diversidade de espécies, os fungos também representam uma enorme diversidade bioquímica e são capazes de produzir uma variedade de metabólitos secundários bioativos e de interesse biotecnológico, como enzimas, antimicrobianos, agentes antitumorais, imuno estimulantes e pigmentos (Sanchez & Demain, 2017).

Os fungos têm a capacidade de produzir uma ampla gama de cores, o que os torna uma excelente fonte de pigmentos naturais devido ao seu crescimento fácil e rápido. O uso mais antigo de pigmentos fúngicos data da utilização de pigmentos *Monascus* na produção de arroz com mofo vermelho, conhecido como ang-kak. O gênero *Monascus* é conhecido por produzir diferentes cores de pigmentos, como Monascina e ancaflavina (amarelo), monascorubrina e rubropunctatina (laranja), e monascorubramina e rubropuntamina (vermelho), porém esses pigmentos são sensíveis ao calor e à luz, instáveis em pH baixo e possuem baixa solubilidade em água (Shcherba et al, 2000; Jia et al, 2019; Lagashetti et al., 2019).

O gênero *Penicillium* é conhecido pela produção de antibióticos e também como produtor de pigmentos, e alguns destes podem ser similares aos produzidos por *Monascus*, porém os pigmentos de *Penicillium* são mais estáveis e solúveis. Também é possível citar as famílias *Chaetomiaceae*, *Chlorociboriaceae*, *Cordycipitaceae*, *Herpotrichiellaceae*, *Hypocreaceae*, *Hyaloscyphaceae*, *Hymenochaetaceae*, *Monascaceae*, *Nectriaceae*, *Ophiostomataceae*, *Pleosporaceae*, *Polyporaceae*, *Sordariaceae*, *Tremellaceae*, *Trichocomaceae*, *Tuberaceae* e *Xylariaceae* como potenciais produtoras de pigmentos. (Gomes et al, 2016; Shcherba et al, 2000; Ashok, 2021; Elkhateeb & Daba, 2023)

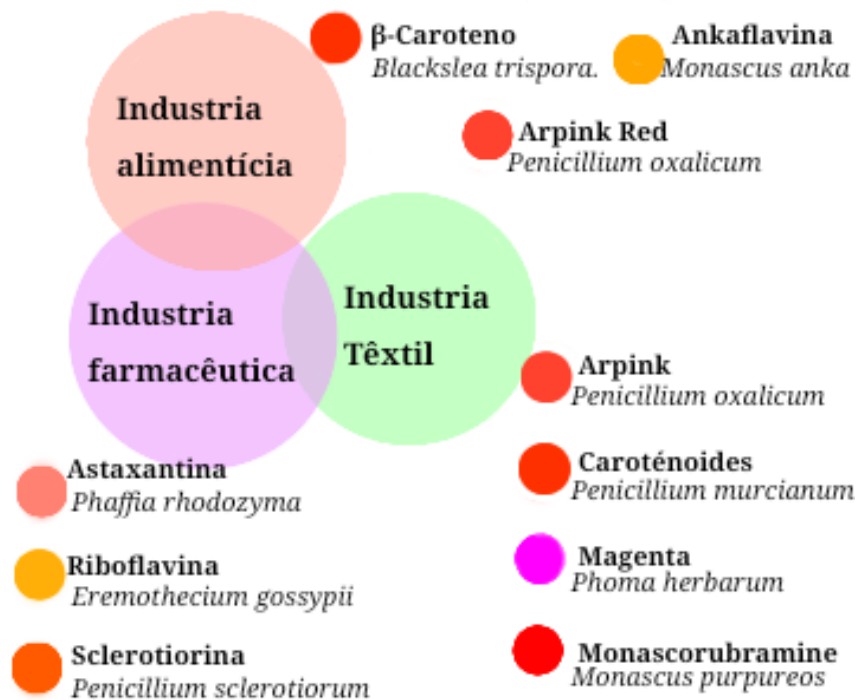


Fig. 1: Exemplos de pigmentos fúngicos que estão envolvidos em algumas aplicações alimentares e não alimentares. Adaptado de Elkhateeb & Daba, 2023.

A pesquisa sobre pigmentos fúngicos avançou bastante e suas aplicações vão além do uso tradicional como corantes. Esses pigmentos têm mostrado um grande potencial em áreas variadas, como farmacologia e cuidados com a saúde. Eles têm sido utilizados como agentes redutores de colesterol, como o monacolin K (lovastatina), além de possuírem propriedades antimicrobianas e antitumorais. Além disso, tem-se estudado o papel desses pigmentos na proteção contra estresses ambientais, como radiação e variações de temperatura (Elkhateeb & Daba, 2023; Lin & Xu, 2020).

A melanina, em especial, tem sido destacada por sua atuação na patogênese e resistência a medicamentos em fungos patogênicos. Os avanços nas áreas de tecnologia microbiológica, bioquímica, genética e genômica têm aberto novas oportunidades para explorar a origem, a bioatividade, as relações entre estrutura e atividade e os métodos de produção desses pigmentos. Além disso, a crescente demanda por opções ecológicas e seguras tem impulsionado a pesquisa em pigmentos de fungos, tanto na descoberta de novas fontes quanto na aplicação de

técnicas de engenharia genética para melhorar a produção desses pigmentos. Nesse sentido, é crucial desenvolver abordagens que permitam a produção em larga escala desses pigmentos, seguindo as exigências de qualidade e sustentabilidade estabelecidas pelos mercados atuais (Meruvu & Dos Santos, 2021; Lin & Xu, 2020; Lagashetti et al., 2019.).

#### **4.4 Unidades de Conservação**

O Brasil destaca-se por ser um dos poucos países a adotar medidas e políticas para cumprir as 20 metas internacionais de biodiversidade 2011-2020, também conhecidas como Metas de Aichi. Entre essas metas, podemos ressaltar: Promover a conscientização e enfatizar a importância da diversidade biológica, integrar os valores da biodiversidade nas políticas, planejamento e decisões em todos os setores, diminuir a pressão direta sobre a biodiversidade e incentivar o uso sustentável, Preservar e recuperar ecossistemas e habitats essenciais, reduzir a degradação dos habitats e fragmentação das paisagens, Prevenir a extinção de espécies ameaçadas e melhorar seu status de conservação, Assegurar a preservação de áreas protegidas (Wenceslau; Barden; Turatti, 2020).

As Unidades de Conservação (UC) têm uma função significativa na conquista de muitas metas de preservação, pois desempenham um papel relevante na manutenção da biodiversidade, tanto de espécies animais e vegetais quanto dos recursos naturais. As UCs são áreas territoriais criadas e protegidas pelo Poder Público com o propósito de conservação, uma vez que essas regiões abrangem recursos ambientais de grande relevância. Essas áreas executam um papel fundamental na proteção das espécies e no incentivo de atividades educacionais voltadas para a conscientização ambiental. Esses territórios estão sujeitos a regulamentos e normas especiais, sendo regulamentados pela Lei Federal nº 9.985/2000 e pela Lei nº 14.247/2002. Essas leis estabeleceram o Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC) e o Sistema Estadual de Unidades de Conservação (SEUC), respectivamente (Tofeti, 2023).

As UCs podem ser Parques, Reservas Particulares do Patrimônio Natural, Estradas-Parque, Áreas de Proteção Ambiental, Reservas de Desenvolvimento Sustentável, entre outros, e são formadas por meio de estudos técnicos das áreas propostas e consulta à população. Estas áreas são consideradas uma das estratégias mais eficazes para a conservação da rica biodiversidade brasileira, podendo ser classificadas em dois grupos, as Unidades de Proteção Integral e as Unidades de Uso Sustentável (SEMAD). As Unidades de Proteção Integral têm por objetivo principal a preservação integral da natureza, permitindo apenas um uso indireto de seus recursos naturais, enquanto as Unidades de Uso Sustentável, cujo objetivo é conciliar a conservação do meio ambiente com a utilização sustentável de parte de seus recursos naturais (Da Silva-Melo, 2020).

Essas áreas desempenham funções cruciais que merecem destaque devido à sua contribuição na regulação da qualidade da água destinada ao consumo, na manutenção da fertilidade do solo, no equilíbrio climático, na preservação da qualidade do ar e como base para a produção de medicamentos. Além disso, elas proporcionam áreas verdes para atividades de lazer, educação, cultura e ecoturismo (SEMAD).

O Refúgio de Vida Silvestre (RVS) é uma UC que permite o uso dos recursos naturais pelo proprietário desde que este uso seja compatível com os objetivos da Unidade de Conservação (Art. 13, Lei 13.787/2009). O RVS Mata do Curado, localizado em Recife-PE, próximo a BR 232, encontra-se na bacia hidrográfica do Rio Tejipió, sendo constituída por remanescente do bioma Mata Atlântica, abrangendo 102,96 hectares. Foi titulado em 1987, pela Lei nº 9.989, como Reserva Ecológica, e em 2011 foi categorizado como RVS, pela Lei nº 14.324, a fim de ser compatibilizado nas categorias criadas pelo Sistema Estadual de Unidades de Conservação (SEUC) (CPRH-PE).

## 5. Materiais e métodos

### 5.1 Local de coleta e amostragem

As amostras de solo foram coletadas na Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Mata do Curado, Recife/PE no Jardim Botânico de Recife, em uma área de Mata Atlântica caracterizada como área preservada (Figura 2).



Fig. 2: Imagem de satélite do Jardim Botânico do Recife, coordenadas: -8.077043, -34.959561. Fonte: Google Maps ©2023.

No local foi demarcado uma área de 2 m x 2 m, na qual o solo foi coletado de três pontos equidistantes, numa profundidade de 20 cm da camada superior com auxílio de uma pá, acondicionado em sacos plásticos previamente esterilizados, etiquetados, conservados em caixas de isotérmicas e encaminhados para o Laboratório de Microbiologia Agrícola e Ambiental da UFRPE, onde foram realizadas as análises microbiológicas. A temperatura do solo foi aferida no momento da coleta, utilizando um termômetro de solo.

## **5.2 Isolamento e quantificação de fungos mesófilos**

Para o isolamento e quantificação dos fungos, foi realizado a técnica da diluição seriada (Pelczar et al. 1996) a qual consiste em adicionar 25 g do solo em um Erlenmeyer contendo 225 mL de salina (0,85 %) previamente autoclavada (diluição  $10^{-1}$ ) e homogeneização por 1 min por agitação. Desta primeira diluição, foi transferido 1 mL para tubo de ensaio contendo 9 mL de salina (0,85%), e assim sucessivamente até a diluição  $10^{-6}$ . Das últimas quatro diluições, foi semeado 0,1 mL em placas de Petri pelo método de espalhamento em superfície, em triplicatas, contendo os meios de cultura e Agar Sabouraud Dextrose 4% (Agar SAB; Kasvi) acrescidos de cloranfenicol (0,5 g/L) para a inibição de crescimento bacteriano, e incubadas a 28 °C por até 14 dias. A quantificação foi feita nas placas de Petri que apresentaram entre 20 e 200 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), sendo os resultados expressos em UFC por grama de solo.

## **5.3 Seleção, purificação e identificação dos isolados fúngicos**

Após isolamento e quantificação dos fungos, por meio de observação macroscópica, foram selecionadas colônias fúngicas as quais foram transferidas para novas placas de Petri com Agar SAB e, após a confirmação da pureza, foram então repicadas para tubos de ensaio contendo o Agar Batata Dextrose (Agar BDA; Kasvi) e mantidos sob refrigeração.

A identificação dos isolados purificados foi realizada através da taxonomia clássica com a utilização de literatura específica (Ellis, 1971; Sutton 1980; Domsch et al.1980; Deifert et al., 2011), a partir da observação das características macromorfológicas e micromorfológicas das colônias. A macromorfológica inclui a textura da colônia, coloração do micélio, forma e abundância dos conídios. E na micromorfologia foram observadas as estruturas reprodutivas assexuadas e sexuadas.

## **5.4 Avaliação da produção de pigmentos**

Das colônias fúngicas selecionadas e purificadas, foi realizada a avaliação da produção de pigmentos extracelulares daquelas que já demonstraram em meio de

cultura sólido alguma produção destes pigmentos no processo de isolamento e purificação.

Após esta seleção, os fungos foram transferidos para placas de Petri contendo Agar SAB, incubadas por até 7 dias a 28 °C. Decorrido esse período, um disco da cultura fúngica (0,5 cm Ø) foi removido e transferido para Erlenmeyers contendo 250 mL de meio de cultura, nas seguintes condições de meio de cultura e pH:

- Caldo Czapek-Dox (CZ) com pH 7;
- Caldo Czapek-Dox (CZ) com pH 4,5;
- Caldo Batata Dextrose (Caldo BD; 200g de infusão de batata/L acrescido de 20 g de dextrose/L) com pH 7;
- Caldo Batata Dextrose (Caldo BD; 200g de infusão de batata/L acrescido de 20 g de dextrose/L) com pH 4,5.

Cada fungo selecionado foi submetido a cada condição descrita acima, e incubado a 15°C e 25°C sob agitação constante de 150 rpm. A cada 24 horas, durante um período de 9 dias, foram observadas as possíveis alterações na coloração dos meios de cultura e confirmação da produção do pigmento.

Ao final dos 9 dias de incubação, foi retirado o extrato fúngico e centrifugado por 10 min a 6000 rpm. Após centrifugação, o sobrenadante foi separado em novo tubo de ensaio para confirmação da produção do pigmento extracelular e posterior avaliação da sua atividade antimicrobiana.

## **5.5 Avaliação da atividade antimicrobiana**

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada com os pigmentos extracelulares frente aos microrganismos *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Para tal foi realizado o método de difusão em poços seguindo metodologia descrita por Ostrosky et al. (2008). Os microrganismos testes foram repicados previamente e após 24 horas de crescimento foi feita uma



suspensão celular dos mesmos em água destilada e esterilizada, correspondente a  $10^8$  células/mL, segundo comparação da turbidez com a escala de McFarland número 0,5.

Desta suspensão, os microrganismos testes foram semeadas em tapete com o auxílio de um *swab* em Ágar Mueller Hinton (Agar MH; Kasvi) em placas de Petri; em cada placa, foram feitos poços de 0,5 cm, dentro dos quais foram pipetados 50 µl do extrato fúngico (pigmento extracelular) obtido de cada isolado testado. As placas de Petri foram incubadas a 37 °C por até 48 horas e os extratos considerados com atividade antimicrobiana positiva foram aqueles que apresentaram um halo inibitório ao redor do poço. Todo o experimento foi realizado em triplicatas.

## **6. Resultados e discussão**

### **6.1 Quantificação, identificação e seleção dos isolados fúngicos**

Após o isolamento foi analisada a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) nos pontos, os resultados revelaram a presença de  $8 \times 10^4$  UFC/g no ponto 1,  $8,6 \times 10^4$  UFC/g no ponto 2 e  $1 \times 10^4$  UFC/g no ponto 3.

Depois do período de isolamento, foram selecionadas e purificadas 18 colônias a fim de verificar a produção de pigmentos extracelulares. Entre estas colônias, foram identificadas cinco que demonstraram capacidade na produção destes pigmentos, as quais foram identificadas como pertencendo aos gênero *Paecilomyces* (isolados 01 e 11; Figura 3 e 4), *Penicillium* (isolado 07; Figura 5), *Phoma* (isolado 16; Figura 6) e *Aspergillus* (isolado 18; Figura 7).

*Paecilomyces* é um fungo filamentososapróbio de alta esporulação e rápido crescimento, que pode ser encontrado em uma ampla faixa de temperatura e habitats, como solos, florestas, desertos, sedimentos e esgoto. O gênero *Paecilomyces* possui hifas septadas hialinas amareladas, muitas vezes com paredes lisas e conidióforos verticilados ou irregularmente ramificados, e fiáides com base larga e pescoço alongado. Os conídios são unicelulares; hialino, em cadeias. Diversas espécies de *Paecilomyces* são capazes de produzir pigmentos e

metabólitos secundários com propriedades como inseticidas, antimicrobianas, ou citotóxicas. *Paecilomyces sinclairii*, por exemplo, é utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica devido a sua capacidade de produzir pigmentos vermelhos em grande quantidade (Borba & Brito, 2016; Moreno-gavira et al, 2020; Dai et al, 2020; Cho et al, 2002; Nam et al, 2001; Hyung et al, 2013; Asaff et al, 2005).

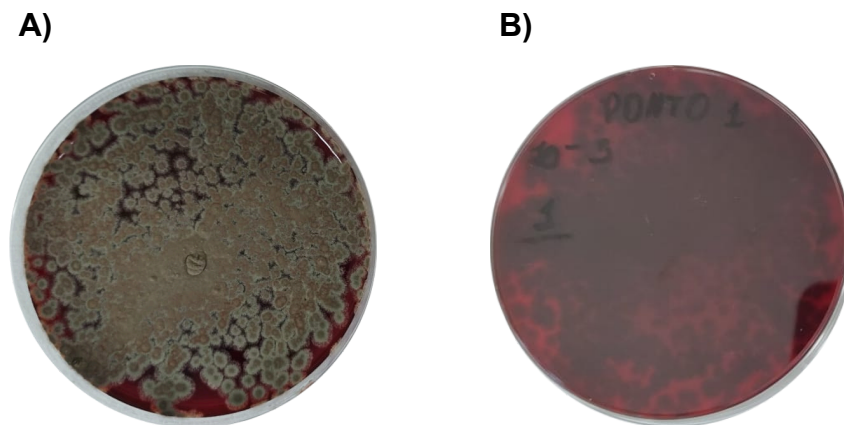


Fig. 3: Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Paecilomyces* (isolado 01) em Agar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento vermelho extracelular.

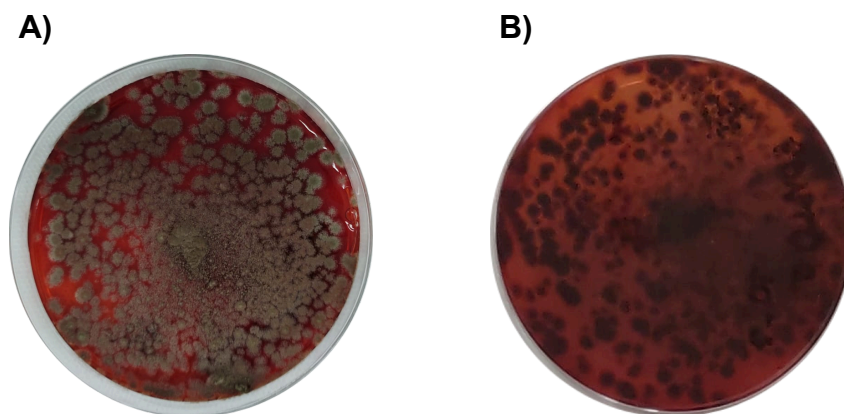


Fig. 4: Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Paecilomyces* (isolado 11) em Agar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento vermelho extracelular.

*Penicillium* é um dos fungos mais comuns e amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrado no solo, ar, ambientes extremos e até em alimentos, e é caracterizado pela formação de uma estrutura ramificada de conídios que terminam em células conidióginas (fiálides), com ramificações monoverticilado,

biverticilado e triverticilado. Esse gênero é capaz de produzir uma variedade de metabólitos secundários, incluindo várias micotoxinas nocivas e compostos antibacterianos, o que o torna extremamente importante em várias áreas como na biotecnologia, fitopatologia e na medicina, sendo responsável pela produção de imunossupressores, agentes redutores de colesterol e compostos antifúngicos, e se destaca por ser a matéria prima da penicilina, a primeiro antibiótico natural da História. Além disso, esses fungos são capazes de sintetizar pigmentos com potenciais propriedades biológicas, como, por exemplo, ação antioxidante e atividade antibacteriana (Lucas et al, 2007; Kwon et al, 2002; Houbraken et al, 2020; Yadav et al, 2018; Pandit et al, 2018).

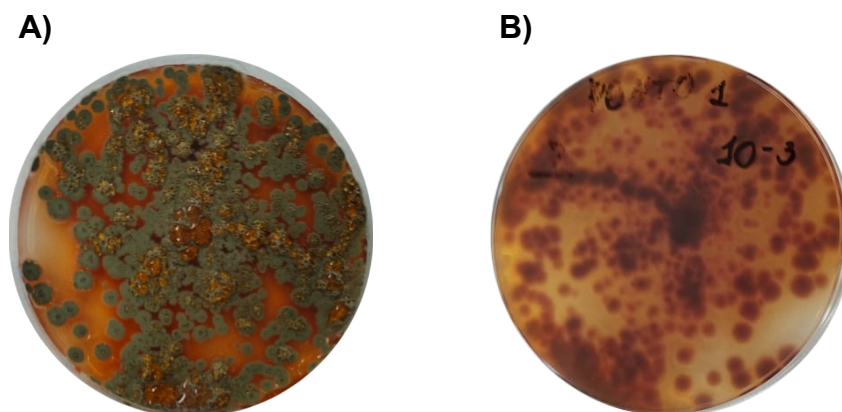


Fig. 5: Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Penicillium* (isolado 7) em ágar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com produção de pigmento vermelho extracelular.

*Phoma* é o principal gênero da ordem Pleosporales, contando com aproximadamente 3.000 táxons. Dentre esses, cerca de 110 espécies são patogênicas, sendo conhecidas por causar doenças em folhas, frutos e ramos de cafeeiros, pois fungos que pertencem ao gênero *Phoma* são frequentemente encontrados em plantas cultivadas de grande importância econômica, causando doenças altamente devastadoras. Algumas espécies desse gênero são capazes de produzir pigmentos, como a melanina, que possui atividades antioxidantes, antimicrobianas e anticancerígenas significativas (Deb et al, 2020; Surendirakumar et al, 2022).

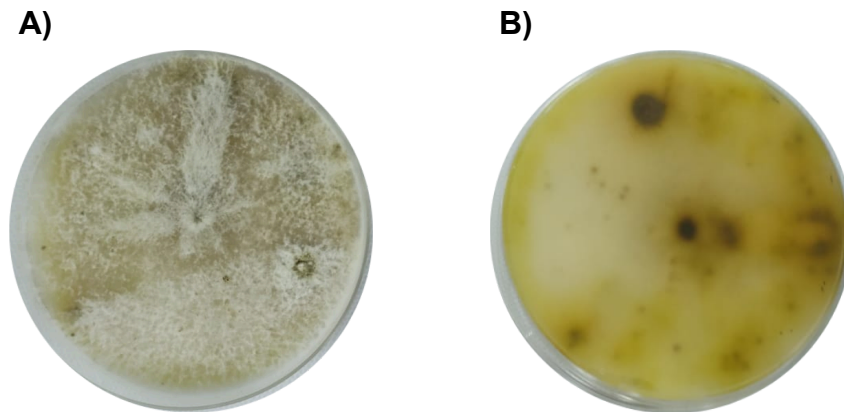


Fig. 6: Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Phoma* (isolado 16) em ágar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento amarelo extracelular.

Espécies de *Aspergillus* são capazes de se desenvolver em ambientes ricos em oxigênio e até mesmo em ambientes com poucos nutrientes. Além disso, eles podem crescer em uma ampla faixa de temperaturas, pH e salinidade. Nas regiões tropicais e subtropicais, esses fungos são mais comuns do que o gênero *Penicillium*; eles podem ser encontrados tanto como endófitos, saprófitos, parasitas e patógenos humanos. A reprodução do *Aspergillus* ocorre de forma assexuada, com a produção de filídios e conídios em cadeia. O conidióforo desse fungo é simples, geralmente não-septado e apresenta uma vesícula na extremidade, onde se encontram os filídios. Além disso, eles são capazes de produzir pigmentos, como a melanina, que desempenham um papel protetor contra as condições ambientais e na patogenicidade (El-Hawary et al, 2020; Ma et al, 2016; Lee et al, 2013; Samson & Varga, 2010; Brakhage et al, 2005).

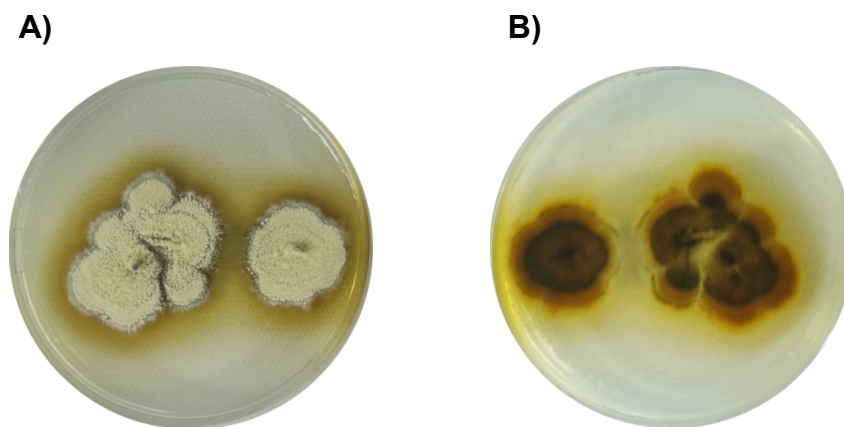


Fig. 7: Macroscopia (A – verso; B – reverso) de colônias de *Aspergillus* (isolado 18) em Agar BDA após 14 dias de crescimento a 28 °C, com forte produção de pigmento amarelo extracelular.

## 6.2 Avaliação da produção de pigmentos extracelulares sob diferentes condições

Fatores físico-químicos interferem no metabolismo fúngico e conseqüentemente na produção de metabólitos, assim, no presente trabalho, foi analisado como a composição do meio de cultura (estado físico e nutrientes), a temperatura e o pH influenciariam na produção de pigmentos extracelulares pelos fungos que previamente demonstraram a produção de pigmentos em meio de cultura sólido.

Quando cultivados em Agar SAB (utilizado no isolamento dos fungos), já era possível observar a produção de pigmentos extracelulares em alguns dos isolados. A confirmação dessa produção ocorreu após a purificação dos mesmos em Agar BDA. A mudança de meios sólidos para meios líquidos (Caldo CZ e Caldo BDA) foram utilizados para verificar se a mudança no estado físico do meio bem como sua composição nutricional afetariam a produção de pigmentos extracelulares pelos fungos. Após a mudança do meio sólido para os meios de cultura líquidos foi possível constatar que os isolados fúngicos continuavam produzindo pigmentos extracelulares.

Para os fungos filamentosos substratos sólidos facilitam a produção de metabólitos secundários, uma vez que eles são o habitat natural para a maioria das espécies de fungos. Por esta razão, muitas pesquisas têm interesse na fermentação em substratos sólidos (SSF), inclusive utilizando resíduos agroindustriais e valorizando as tecnologias ambientalmente limpas (Grewal, et al. 2022). Por outro lado, a produção industrial mostra preferência pelo uso de processos fermentativos em meios líquidos, devido a uma recuperação e purificação mais fácil do produto, além de que a fermentação em meio líquido permite uma padronização das condições do processo, como controle dos nutrientes e pH (Aldfred et al. 2005).

Adicionalmente às vantagens relacionadas ao processo fermentativo em meio de cultura líquido, estudos mostram que também é importante levar em consideração que o estado físico do substrato influencia na micromorfologia dos fungos, e que esta pode influenciar na otimização da produção de pigmentos. Esta relação é bem documentada no trabalho de Mapari; Meyer; Thrane (2008).

Além de possuir a vantagem sobre o controle dos parâmetros da fermentação, outra vantagem do meio de cultura líquido é a facilidade na separação da biomassa após o processo fermentativo. Quando cultivado nesse tipo de ambiente, o micélio fúngico consegue se desenvolver de forma mais dispersa, melhorando, assim, a produção dos pigmentos. Além disso, a utilização de meios líquidos também permite separar o pigmento extracelular da biomassa com facilidade, através de procedimentos como centrifugação, filtração a vácuo ou filtração em papel filtro (Mascarin et al, 2015; Farinas, 2015; Maganhoto, 2020). No presente trabalho foi possível observar que os isolados selecionados continuavam produzindo pigmentos extracelulares em meio de cultura líquido e que a utilização de um processo simples (centrifugação) foi satisfatório para separar a biomassa fúngica do fermentado líquido contendo o pigmento.

No que diz respeito à composição nutricional, foram testados dois meios de cultivo, o Caldo Batata Dextrose (BD) e o Caldo Czapek (CZ). A principal diferença entre esses dois meios é que o meio BD possui amido enquanto o CZ não. O amido

é capaz de se transformar em glicose, que é uma fonte de carbono que influencia diretamente no crescimento e na biossíntese de muitos metabólitos secundários, incluindo a indução da produção de pigmentos (Pradeep, 2013; Geweely, 2011; Premalatha et al., 2012; Teixeira et al., 2012).

Por este motivo, diversos pesquisadores afirmam que o Agar de Batata Dextrose e o Caldo de Batata Dextrose são os melhores meios de cultivo para o crescimento micelial e a produção de pigmentos. Além disso, esses meios podem conter componentes como íons metálicos ou outros micronutrientes adequados para o funcionamento eficaz das enzimas, promovendo o metabolismo do crescimento e a produção de pigmentos (Boonyapranai et al, 2008; Premalatha et al, 2012). Enquanto isso, o CZ é um meio rico em minerais e sacarose, sendo relativamente pobre em carboidratos. Essa composição torna o meio carente em nutrientes e com uma oferta limitada de energia. Diversas pesquisas que comparam o crescimento fúngico em diferentes meios indicam que o CZ exibe uma taxa de crescimento fúngico inferior quando comparado a outros meios analisados (Peres et al, 2003; Fernandes, 2008)

Os resultados obtidos quanto à capacidade de produção de pigmentos extracelulares pelos isolados fúngicos testados frente às diferentes condições (nutrientes, temperatura e pH) estão listados na Tabela 1.

Tabela 01. Positividade quanto a produção de pigmentos extracelulares pelos isolados fúngicos frente a diferentes condições: meio de cultura (nutrientes), temperatura e pH.

| Fungo (n° do<br>isolado) | Caldo  | Caldo   | Caldo   | Caldo   | Caldo  | Caldo  | Caldo   | Caldo   |
|--------------------------|--------|---------|---------|---------|--------|--------|---------|---------|
|                          | CZ/15° | CZ/15 ° | CZ/25 ° | CZ/25 ° | BD/15° | BD/15° | BD/25   | BD/25   |
|                          | C/4,5  | C/7,0   | C/4,5   | C/7,0   | C/4,5  | C/7,0  | ° C/4,5 | ° C/7,0 |
| <i>Peecilomyces</i> (01) | -      | -       | +       | +       | +      | +      | +       | +       |
| <i>Peecilomyces</i> (11) | -      | -       | +       | +       | +      | +      | +       | +       |
| <i>Phoma</i> (16)        | -      | -       | -       | -       | -      | -      | +       | +       |
| <i>Aspergillus</i> (18)  | -      | -       | +       | -       | -      | -      | +       | +       |

---

|                         |   |   |   |   |   |   |   |   |
|-------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| <i>Penicillium</i> (07) | + | - | - | + | + | + | + | + |
|-------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|

---

+ = com produção de pigmento; - = sem produção de pigmento

Utilizar diferentes fatores como pH, nutrientes, temperatura e agitação é fundamental para observar como estes podem afetar o crescimento fúngico e a produção de pigmentos. Um estudo realizado por Amanullah et al (1999) revelou que o aumento da frequência de agitação pode melhorar a transferência de oxigênio, e consequentemente aumenta a biomassa fúngica. A fim de verificar como três tipos de agitação podem afetar o crescimento fúngico de *Monascus sp.*, Esteves (2005) testou diferentes rotações e constatou que em 500 rpm ocorreu um melhor aumento celular, enquanto em 300 rpm ocorreu uma maior produção pigmentos com uma menor concentração de citrina. Concluindo que a variação deste fator pode influenciar em diferentes fases do ciclo do fungo e na produção de metabólitos.

A influência da temperatura no crescimento e desenvolvimento dos fungos é evidente, sendo um dos fatores que mais influenciam o crescimento fúngico por atuar de forma direta no metabolismo, ciclo de vida e reprodução. Cada espécie possui uma faixa de temperatura ideal distinta como, por exemplo, o *Colletotrichum gloeosporioides* que em um estudo foi submetido a diferentes temperaturas e foi possível concluir que a temperatura ideal para o desenvolvimento micelial, produção e germinação de conídios do complexo é de 28°C. Já a temperatura mais adequada para certos aspectos do desenvolvimento de *Lentinus strigosus* é de 35°C. Também existem fungos conhecidos como extremófilos, que são capazes de sobreviver em condições ambientais extremas, como algumas espécies do gênero *Aspergillus* que foram encontrados em solos da antártica (Poltronieri et al, 2013; Sales-Campos & Ceci, 2020; Figueiredo et al, 2018; Kostadinova et al, 2009), enfatizando assim como os fungos são adaptados e uma ampla faixa de temperatura e que a temperatura ótima de crescimento e produção de metabólitos pode variar entre diferentes gêneros, espécies, como também entre cepas da mesma espécie.



O pH do meio influencia diretamente no crescimento fúngico, produção de pigmentos e ativação das enzimas responsáveis pelo metabolismo secundário dos fungos filamentosos. Um estudo utilizando *Monascus purpureos* mostrou que o pH ideal para o crescimento fúngico é em torno de 5,5, enquanto para a produção de pigmentos, o pH ideal é cerca de 8,0 (Orzoco et al, 2003). Contudo, em pHs ácidos ocorre a inibição de pigmentos vermelhos, apesar de favorecer o crescimento fúngico; a possibilidade é de que a liberação dos pigmentos intracelulares ocorra melhor níveis mais alcalinos de pH, pois favorece aumento da permeabilidade celular ou mesmo a lise celular (Esteves, 2005; Sluden et al, 2002).

Neste trabalho, como resultado do estudo do gênero *Phoma* (isolado 16) revelou uma temperatura ideal de 25 °C para a produção de pigmentos, evidenciada pela presença desses compostos nos meios BD, sem variação significativa na cor e intensidade conforme os diferentes valores de pH analisados (figura 9 A). No entanto, destacou-se a limitação desse isolado em produzir pigmentos no meio de cultura CZ, bem como a ausência dessa produção a uma temperatura de 15 °C. Na Figura 9 (A) ilustra de maneira clara a produção de pigmentos no meio BD após 9 dias a 25 °C, contrastando com a Figura 8 (A), que demonstra a ausência de pigmentação em todos os meios à temperatura de 15 °C. Esses resultados ressaltam a sensibilidade desse gênero à temperatura e à composição do meio de cultura, elementos cruciais para o desenvolvimento desse processo de produção de pigmentos.

O *Peacilomyces* (isolado 1), foi observado que a temperatura ideal para a formação de pigmentos foi de 25°C. Foi constatado que os pigmentos estavam presentes em todos os meios de cultivo, conforme evidenciado na figura 9 (C), no entanto, a intensidade dos pigmentos variava de acordo com o meio utilizado, sendo os meios CZ mais “claros” do que os meios BD. Adicionalmente, observou-se que a coloração dos pigmentos era mais vibrante em pH 4,5, indicando uma maior afinidade para a produção desses compostos em ambientes ácidos. A produção de pigmentos a 15°C (figura 8 C) foi notada exclusivamente nos meios BD, destacando-se o meio BD com pH 7, que adquiriu uma textura espumosa. Em

contraste, nos meios CZ, não foi registrada a produção de pigmentos a 15°C, embora o meio CZ com pH 4,5 tenha apresentado certa turbidez. Resultados semelhantes foram observados no estudo com *Peacilomyces* (isolado 11), conforme evidenciado nas figuras 8 E (15°C) e 9 E (25°C).

O *Aspergillus* (isolado 18) identificou-se que a temperatura ideal para a produção de pigmentos foi de 25 °C, conforme evidenciado na Figura 9 B. Similar ao isolado 16, este não apresentou capacidade de sintetizar pigmentos a 15 °C, como ilustrado na Figura 8 B. Além disso, o isolado demonstrou uma preferência pronunciada pelo meio BD. No meio CZ pH 7,0, não se registrou produção de pigmentos. Já no meio CZ com pH 4,5, observou-se uma produção mínima e praticamente imperceptível de pigmentos (figura 9 B), sugerindo uma maior afinidade do fungo por ambientes ácidos. Esses resultados ressaltam as especificidades do *Aspergillus* (isolado 18) em relação à temperatura e à acidez do meio de cultura, fatores determinantes para a sua resposta na síntese de pigmentos.

E, por fim, o gênero *Penicillium* (isolado 7), destaca-se como um dos mais reconhecidos produtores de pigmentos, e este estudo revelou sua notável capacidade nesse aspecto. À temperatura de 15°C (figura 8 D), observou-se a produção de pigmentos em todos os substratos, com exceção do CZ pH 7,0. Os meios BD exibiram cores distintas, incluindo tons intensos de marrom (BD, pH 4,5) e vermelho vivo (BD, pH 7,0). A produção de pigmentos foi otimizada aos 25°C, onde ocorreu em todos os meios e diferentes níveis de pH analisados. Entretanto, o meio BD pH 7,0 destacou-se notavelmente dos demais, apresentando uma coloração marrom intensa (Figura 9 D).

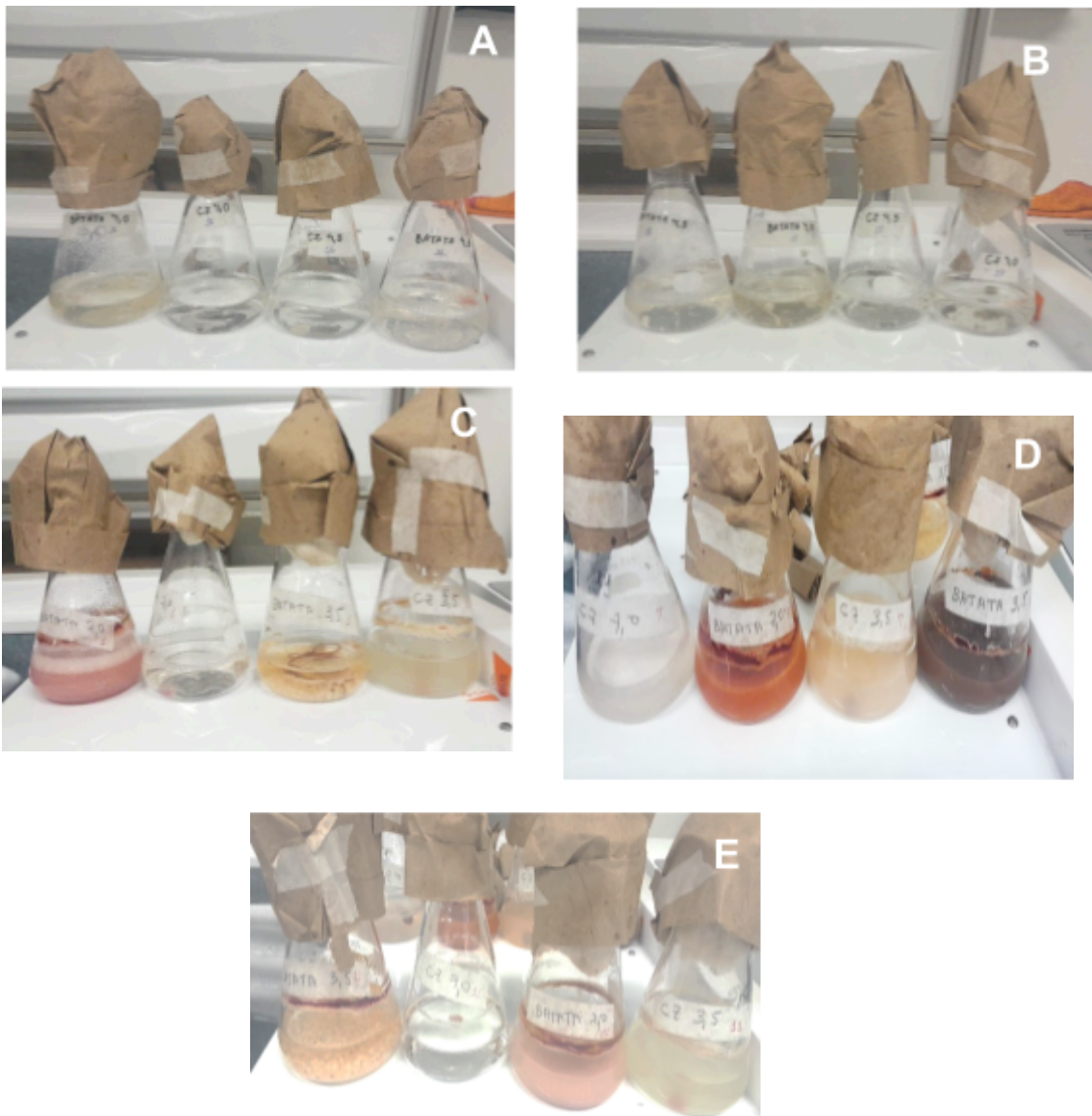


Fig. 8: Produção de pigmentos extracelulares por (A) *Phoma* (isolado 16), (B) *Aspergillus* (isolado 18), (C) *Paecilomyces* (isolado 01), (D) *Penicillium* (isolado 07), (E) *Paecilomyces* (isolado 11) respectivamente, após 9 dias, sob as condições Caldo BD, Caldo CZ, pHs 7,0 e 4,5 e à temperatura de 15 °C.



Fig. 9: Produção de pigmentos extracelulares por (A) *Phoma* (isolado 16), (B) *Aspergillus* (isolado 18), (C) *Peecilomyces* (isolado 01), (D) *Penicillium* (isolado 07), (E) *Peecilomyces* (isolado 11) respectivamente, após 9 dias, sob as condições Caldo BD, Caldo CZ, pHs 7,0 e 4,5 e à temperatura de 25 °C.





Fig. 10: Alíquota dos meios dos extratos líquidos dos diferentes meios de cultura e pHs, mostrando o espectro de cores obtido na temperatura de 25 °C.

### 6.3 Atividade antimicrobiana

Em relação a atividade antimicrobiana, foram testados os extratos dos pigmentos dos cinco fungos selecionados em placas inoculadas com *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Onde os extratos que apresentarem um halo inibitório ao redor do poço seriam considerados como tendo atividade antimicrobiana positiva, porém nenhum deles apresentou área de inibição frente a nenhum dos microrganismos utilizados. Ou seja, os extratos testados são desprovidos de atividade antimicrobiana nas condições analisadas.

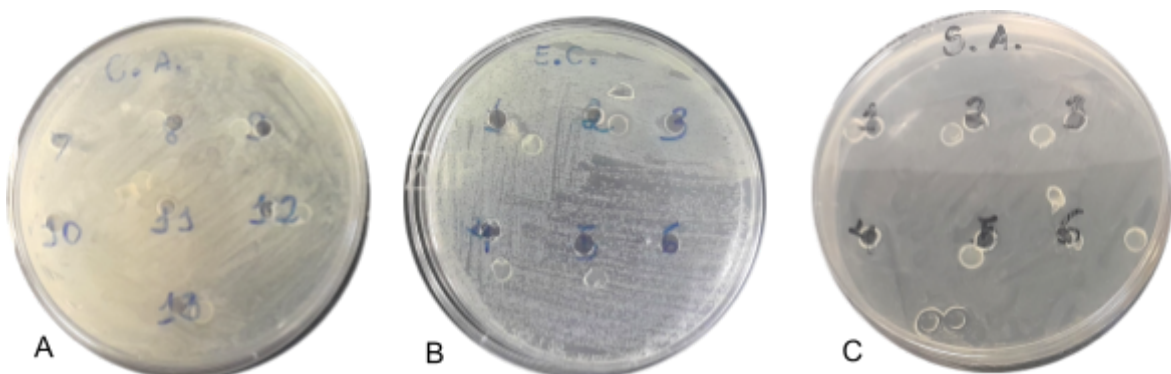


Fig. 11: Teste de atividade antimicrobiana negativo frente a *Candida albicans* (A), *Escherichia coli* (B) e *Staphylococcus aureus* (C).

## 7. Conclusão

Desta forma, foi possível constatar que o solo de áreas preservadas são habitados por fungos filamentosos, sendo comprovado que estes são fontes de pigmentos naturais, uma vez que cinco dos isolados avaliados foram capazes de produzir pigmentos extracelulares sob diferentes condições, além de que foram capazes de produzir um grande espectro de cores de pigmentos com possíveis usos em diversas áreas da indústria (Fig. 10).

Ao avaliar a capacidade de fungos filamentosos em produzir pigmentos sob diferentes condições de meio de cultura e em combinação de duas variações de temperatura e pH, foi observado que os fungos apresentaram uma maior produção de pigmento a 25°C em comparação com 15°C. O meio de cultura CZ teve um desempenho baixo em ambas as temperaturas e pHs, devido à baixa fonte de carbono em sua composição. Por outro lado, o meio BD apresentou um desempenho excelente, uma vez que o amido e a sacarose são fontes essenciais de alimento para o crescimento fúngico. Não foi observada uma diferença significativa na produção de pigmento entre os pHs 7,0 e 4,5, mesmo que os fungos prefiram um meio ácido.

Após a realização de testes de atividade antimicrobiana com os extratos dos pigmentos dos cinco fungos em placas inoculadas com *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, foi observado que não havia nenhuma área de inibição ao redor dos poços. Portanto, todos os extratos testados foram considerados sem atividade antimicrobiana contra os microrganismos utilizados neste estudo

## 8. Referências Bibliográficas

AKILANDESWARI, P.; PRADEEP, BV26701360. **Exploration of industrially important pigments from soil fungi.** Applied microbiology and biotechnology, v. 100, n. 4, p. 1631-1643, 2016.

Aldfred D, Penn J, Magan N (2005) Water availability and metabolomic profiles of *Epicoccum nigrum* and *Sarophorum palmicola* grown in solid substrate fermentation systems. Mycologist 19:18–23

AMANULLAH, A., R. BLAIR, A. W. NIENOW, et al. Effects of agitation intensity on mycelial morphology and protein production in chemostat cultures of recombinant *Aspergillus oryzae*. Biotechnology and bioengineering, v.v. 62, p.p.434-446. 1999.

ANDREOLA, F., FERNANDES, S.A.P. 2007. **A Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas** In: Silveira, A.P.D., Freitas, S.S. (eds). Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental, p. 30-37. Instituto Agronômico, Campinas, SP.

ASAFF, Ali; CERDA-GARCÍA-ROJAS, Carlos; DE LA TORRE, Mayra. Isolation of dipicolinic acid as an insecticidal toxin from *Paecilomyces fumosoroseus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 68, p. 542-547, 2005.

ASHOK, Ganapathy et al. Natural Pigments from Filamentous Fungi: Production and Applications. **Industrially Important Fungi for Sustainable Development: Volume 2: Bioprospecting for Biomolecules**, p. 651-678, 2021.

BRAKHAGE, A. A.; LIEBMANN, B. *Aspergillus fumigatus* conidial pigment and cAMP signal transduction: significance for virulence. **Medical mycology**, v. 43, n. Supplement\_1, p. S75-S82, 2005.

BERLINCK, Roberto Gomes de Souza. **Bioprospecção no Brasil: um breve histórico.** Ciência e Cultura, v. 64, n. 3, p. 27-30, 2012.

Bills GF, Gloer JB. 2016. Biologically active secondary metabolites from the fungi. *Microbiol Spectrum* 4(6):FUNK-0009-2016. doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0009-2016.

BOONYAPRANAI, Kongsak et al. Optimization of submerged culture for the production of naphthoquinones pigment by *Fusarium verticillioides*. **Chiang Mai J Sci**, v. 35, n. 3, p. 457-466, 2008.

BORBA, C. M.; BRITO, M. M. S. Paecilomyces: Mycotoxin production and human infection. **Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxigenic and Mycotic Fungi; Paterson, RRM, Lima, N., Eds**, p. 401-421, 2016.

CAMACHO, Emma et al. **The structural unit of melanin in the cell wall of the fungal pathogen Cryptococcus neoformans**. *Journal of Biological Chemistry*, v. 294, n. 27, p. 10471-10489, 2019.

CARO, Yanis et al. **Pigments and colorants from filamentous fungi**. 2016.

CHO, Youn Jeung et al. Effect of carbon source and aeration rate on broth rheology and fungal morphology during red pigment production by *Paecilomyces sinclairii* in a batch bioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 95, n. 1, p. 13-23, 2002.

CORBU, Viorica Maria et al. **Current Insights in Fungal Importance A Comprehensive Review**. *Microorganisms*, v. 11, n. 6, p. 1384, 2023.

CPRH. **RVS Mata do Curado**. Disponível em: <<https://www2.cprh.pe.gov.br/uc/rvs-mata-do-curado/>>. Acesso em: 01 ago. 2023.

DABERT, P., DELGEN, J. 2002. **Contribution of molecular microbiology to the study in water pollution removal of microbial community dynamics**. *Environmental Science & Bio/Technology* 1: 39-49. 9 - Lambais, M.R., Cury, J.C., Maluche-Baretta, C.R., et al. **Diversidade Microbiana nos Solos: Definindo Novos Paradigmas**. *Tópicos em Ciência do Solo* 4: 43-84. 2005.



DA SILVA, L. L. et al. **Bioprospecção de Fungos de um Fragmento de Cerrado no Brasil Central para Aplicações Biotecnológicas**. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, v. 7, n. 1, p. 288–305, 2018.

DA SILVA-MELO, Marta Regina; DE MELO, Gleidson André Pereira; GUEDES, Neiva Maria Robaldo. **Unidades de conservação: Uma reconexão com a natureza, pós covid-19**. *Revista Brasileira de Educação Ambiental (RevBEA)*, v. 15, n. 4, p. 347-360, 2020.

DAI, Ze-Bao; WANG, Xin; LI, Guo-Hong. Secondary metabolites and their bioactivities produced by *Paecilomyces*. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5077, 2020.

DEB, Debasish; KHAN, Ahamed; DEY, Nrisingha. Phoma diseases: Epidemiology and control. **Plant Pathology**, v. 69, n. 7, p. 1203-1217, 2020.

DOMSCH KH, GAMS W, ANDERSON T.H. **Compendium of soil fungi**. v1. Academic press, London,1980.

DUFOSSÉ, Laurent et al. **Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality?**. *Trends in Food Science & Technology*, v. 16, n. 9, p. 389-406, 2005.

EL-HAWARY, Seham S. et al. Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus *Aspergillus*. **RSC advances**, v. 10, n. 37, p. 22058-22079, 2020.

Ellis M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. CMI, Kew, 1971.

ELKHATEEB, Waill; DABA, Ghoson. Fungal Pigments: Their Diversity, Chemistry, Food and Non-Food Applications. **Applied Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 735-751, 2023.

ESTEVEES, D. Produção do pigmento Monascus por *Monascus ruber* cct 3802 em cultivo submerso. **Universidade Federal de Santa Catarina**, 2005.

FERNANDES, Diana de Almeida Carmona. **Ocorrência de fungos e bactérias em águas não tratadas destinadas a consumo humano**. 2008. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências e Tecnologia.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION et al. **Direct food substances affirmed as generally recognized as safe**. Food and Drug Administration, p. 417-418, 2015.

FRAÇ, Magdalena et al. **Fungal biodiversity and their role in soil health**. Frontiers in microbiology, v. 9, p. 707, 2018.

GALAFFU, Nicola; BORTLIK, Karlheinz; MICHEL, Martin. **An industry perspective on natural food colour stability**. In: Colour additives for foods and beverages. Woodhead Publishing, 2015. p. 91-130.

GALVES, Jeane Macelino; OLIVEIRA, Diná Almeida de; CORREIA, Kelly Bárbara dos Santos. **Bioprospecção na Amazônia: um mapeamento sistemático dos recursos biológicos e genéticos**. 2021.

GEWEELY, Neveen Saleh. Investigation of the optimum condition and antimicrobial activities of pigments from four potent pigment-producing fungal species. **Journal of Life Sciences**, v. 5, n. 9, p. 201, 2011.

GMOSE, R. et al. **Filamentous ascomycetes fungi as a source of natural pigments**. Fungal Biology and Biotechnology, 4 (1), 1–25. 2017.

GOMES, Dhionne Corrêia; TAKAHASHI, Jacqueline Aparecida. Sequential fungal fermentation-biotransformation process to produce a red pigment from sclerotiorin. **Food Chemistry**, v. 210, p. 355-361, 2016.

Grewal J, Woła Cewicz M, Pyter W, Joshi N, Drewniak L, Pranaw K. Colorful Treasure From Agro-Industrial Wastes: A Sustainable Chassis for Microbial Pigment Production. *Front Microbiol.* 2022 Jan 31;13:832918. doi: 10.3389/fmicb.2022.832918. PMID: 35173704; PMCID: PMC8841802.

FARINAS, C. S. Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 52, p. 179-188, 2015.

FIGUEREDO, Hebert Morais et al. Taxonomia, diversidade e caracterização fisiológica de fungos presentes em solos congelados e termais da Antártica. 2018.

HEER, Kanchan; SHARMA, Somesh. **Microbial pigments as a natural color: a review**. *Int J Pharm Sci Res*, v. 8, n. 5, p. 1913-1922, 2017.

HOUBRAKEN, J. et al. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Studies in mycology**, v. 95, p. 5-169, 2020.

HYDE, Kevin D. **The numbers of fungi**. *Fungal Diversity*, v. 114, n. 1, p. 1-1, 2022.

HYUNG, J. J. et al. *Paecilomyces variotii* extracts for preventing and treating infections caused by fish pathogenic microorganisms. **KR Patent**, v. 2013051523, 2013.

JIA, Lili et al. Monascorubrin and rubropunctatin: Preparation and reaction characteristics with amines. **Dyes and Pigments**, v. 170, p. 107629, 2019.

JOSHI, V. K. et al. **Microbial pigments**. 2003.

KALRA, Rishu; CONLAN, Xavier A.; GOEL, Mayurika. **Fungi as a potential source of pigments: Harnessing filamentous fungi**. *Frontiers in Chemistry*, v. 8, p. 369, 2020.

KOSTADINOVA, N.; KRUMOVA, E.; TOSI, S.; PASHOVA & ANGELOVA, M. Isolation and Identification of Filamentous Fungi from Island Livingston, Antarctica. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 23:sup1, p. 267-270, 2009.

KWON, Oh Eok et al. Phenylpyropene A and B, new inhibitors of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase produced by *Penicillium griseofulvum* F1959. **The Journal of Antibiotics**, v. 55, n. 11, p. 1004-1008, 2002.

LAGASHETTI, Ajay C. et al. **Fungal pigments and their prospects in different industries**. *Microorganisms*, v. 7, n. 12, p. 604, 2019.

LEBEAU, Juliana et al. **Production and new extraction method of polyketide red pigments produced by ascomycetous fungi from terrestrial and marine habitats**. *Journal of Fungi*, v. 3, n. 3, p. 34, 2017.

LEE, Yoon Mi et al. Marine-derived *Aspergillus* species as a source of bioactive secondary metabolites. **Marine biotechnology**, v. 15, p. 499-519, 2013.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. **Síntese do conhecimento atual da biodiversidade**

**brasileira**. In: Lewinsohn, T. M. (Org.). Avaliação do Estado do Conhecimento da Biodiversidade Brasileira. Brasília: MMA, 2006. p. 21-109. v. 1.

LIN, Lan; XU, Jianping. **Fungal pigments and their roles associated with human health**. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 280, 2020.

LUCAS, Esther MF; CASTRO, Mateus C.; TAKAHASHI, Jacqueline A. Antimicrobial properties of sclerotiorin, isochromophilone VI and pencolide, metabolites from a Brazilian cerrado isolate of *Penicillium sclerotiorum* Van Beyma. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 785-789, 2007.

MA, Yang-Min et al. Cytotoxic and antibiotic cyclic pentapeptide from an endophytic *Aspergillus tamarii* of *Ficus carica*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 19, p. 3789-3793, 2016.

MACEDO, E. C. **Principais grupos de fungos: uma interpretação com base em sua sistemática filogenética**. 2017. Tese de Doutorado. Dissertação (Dissertação do Programa de Mestrado Profissional em Ensino de Ciências e Matemática) IFSP, São Paulo.

MAIA, Leonor C. JUNIOR, A. DE C. **Os Fungos do Brasil**. 2010.

MAGANHOTO, NELSON HENRIQUE. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS PARA FERMENTAÇÃO LÍQUIDA SUBMERSA DE *Clonostachys rosea*, 2020

MASCARIN, G.M. et al. Glucose concentration alters dissolved oxygen levels in liquid cultures of *Beauveria bassiana* and affects formation and bioefficacy of blastospores. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 16, p. 6653-6665, 2015b.

MATA-GÓMEZ, Luis Carlos et al. **Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview**. Microbial cell factories, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2014.

MERUVU, Haritha; DOS SANTOS, Júlio César. Colors of life: **A review on fungal pigments**. Critical reviews in biotechnology, v. 41, n. 8, p. 1153-1177, 2021.

MCCANN, Donna et al. **Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial**. The lancet, v. 370, n. 9598, p. 1560-1567, 2007.

MEIRELLES G, Ruppelt BM. **Exploração da biodiversidade brasileira como fonte de insumos farmacêuticos ativos vegetais (IFAVs): desafios da indústria farmacêutica nacional**. Rev Fitos. Rio de Janeiro. 2023; 17(2): 236-259. e-ISSN 2446.4775.

MORENO-GAVÍRA, Alejandro et al. Paecilomyces and its importance in the biological control of agricultural pests and diseases. **Plants**, v. 9, n. 12, p. 1746, 2020.

NAM, Kyong Suk et al. Cytotoxic activities of acetoxyscirpenediol and ergosterol peroxide from Paecilomyces tenuipes. **Life sciences**, v. 69, n. 2, p. 229-237, 2001.

OGBONNA, Christiana N. **Production of food colourants by filamentous fungi**. African Journal of Microbiology Research, v. 10, n. 26, p. 960-971, 2016.

OLIVEIRA, Juliano et al. **Fungos, diversidade e prospecção no Brasil: Um recurso pouco explorado?**. Metodologias e Aprendizado, v. 4, p. 149-163, 2021.

OSTROSKY, Elissa A.; MIZUMOTO, Miriam K.; LIMA, Marcos E.L.; KANECO, Telma M.; NISHIKAWA, Suzana.O.; FREITAS, Beatriz R. **Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais**. Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, v.18, n.2, p.301-307, 2008.

PALMA, Carol Manzoli; PALMA, Mario Sergio. **Bioprospecção no Brasil: análise crítica de alguns conceitos**. Ciência e Cultura, v. 64, n. 3, p. 22-26, 2012.

PATTENDEN, Gerald. **Synthesis of asperenone, a new pigment from Aspergillus niger and Aspergillus awamori**. Tetrahedron Letters, v. 10, n. 46, p. 4049-4052, 1969.

PELCZAR Jr., J.M., et al. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. Edição: 2.ed. Local: São Paulo Editor: Makron Data: 1996.

PERES, Ângela Pimenta et al. Variabilidade morfocultural e genética de fungos associados à podridão peduncular do mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 1053-1062, 2003.

PINTO, L. M. R. B; FRAXE, T. J, P; SILVA, M. L. **Um breve panorama da bioprospecção: sua origem, suas definições, potencial econômico e status-quo no Brasil**. Revista Terceira Margem Amazônia, v. 6, n.15, p. 90-102, 2020.

PNUMA (Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente). **Brasil possui entre 15% e 20% da diversidade biológica mundial**. ONU News, 2019. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2019/03/1662482>>. Acesso em: 18 jul. 2023.

Poltronieri, T.P.S.; Azevedo, L.A.S.; Silva, D.E.M. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, isolados de frutos de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart). *Summa Phytopathologica*, v.39, n.4, p.281-285, 2013.

PRADEEP, F. Stanly; PRADEEP, B. V. Optimization of pigment and biomass production from *Fusarium moniliforme* under submerged fermentation conditions. **culture**, v. 10, n. 11, 2013

PRADEEP, F. Stanly et al. Influence of culture media on growth and pigment production by *Fusarium moniliforme* KUMBF1201 isolated from paddy field soil. **World Applied Sciences Journal**, v. 22, n. 1, p. 70-77, 2013.

PREMALATHA, B. et al. Production and characterization of naphthoquinone pigment from *Fusarium moniliforme* MTCC6985. **World J Pharm Res**, v. 1, p. 1126-1142, 2012.

**REGULATIONS COMMISSION REGULATION (EU) No 1063/2010**. Official Journal of the European Union. 18 nov. 2010

S.A.S. Mapari, A.S. Meyer, U. Thrane. Evaluation of *Epicoccum nigrum* for growth morphology and production of natural colorants in liquid media and on a solid rice medium *Biotechnol Lett*, 30 (2008), pp. 2183-2190

SACCARO, Nilo. **Desafios da bioprospecção no Brasil**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada-IPEA, 2011.

SALES-CAMPOS, Ceci; DE ANDRADE, M. C. N. Temperatura e meio de cultura mais favoráveis ao crescimento micelial de uma linhagem de *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 539-543, 2020.

Sanchez S, Demain AL. **Bioactive Products from Fungi**. *Food Bioactives*. 2017 Jan 11:59–87. doi: 10.1007/978-3-319-51639-4\_3. PMID: PMC7122484.

SEMAD: **Unidades de Conservação**. Disponível em: <<https://www.meioambiente.gov.br/meio-ambiente-e-recursos-h%C3%ADricos/parkes-e-unidades-de-conserva%C3%A7%C3%A3o.htm>>. Acesso em: 01 ago. 2023

SHCHERBA, V. V. et al. Antioxidant properties of fungal melanin pigments. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 36, p. 491-495, 2000.

SHIGETO, Shinsuke; TAKESHITA, Norio. **Microespectroscopia Raman e Imagem de Fungos Filamentosos**. *Micróbios e ambientes*, v. 37, n. 6, pág. ME22006, 2022.

SIGURDSON, Gregory T.; TANG, Peipei; GIUSTI, M. Mónica. **Natural colorants: Food colorants from natural sources**. *Annual review of food science and technology*, v. 8, p. 261-280, 2017.

Silva LE, Dotto ARF, Rebelo RA. **Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica: a atuação da REBIFLORA no Litoral do Paraná e Santa Catarina.** Rev Fitos. Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 227-237. e-ISSN 2446.4775.

SUTTON B.C. The Coelomycetes. **Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata.** 1st ed Kew: CMI. 1980.

SURENDIRAKUMAR, Kannaiah et al. Characterization and biological activities of melanin pigment from root endophytic fungus, *Phoma* sp. RDSE17. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 3, p. 171, 2022.

TEIXEIRA, D. A. **Microbiologia Básica.** Minas Gerais: NICE, 2020.

TEIXEIRA, Maria FS et al. Amazonian biodiversity: pigments from *Aspergillus* and *Penicillium*-characterizations, antibacterial activities and their toxicities. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 6, n. 3, p. 300-311, 2012.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia.** 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

VAN DER HEIJDEN, M.G.A., BARDGETT, R. D., VAN STRAALLEN, N.M. 2008. **The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems.** Ecology Letters 11(3): 296–310.

WENCESLAU, FRANCLIN FERREIRA; BARDEN, JÚLIA ELISABETE; TURATTI, LUCIANA. **O BRASIL E AS METAS DE AICHI: UMA ANÁLISE SOBRE O CUMPRIMENTO DA META 11 BRAZIL AND AICHI'S GOALS: AN ANALYSIS OF THE FULFILLMENT OF GOAL 11.** Revista Internacional de, p. 113, 2020.

WIKANDARI, Rachma; HASNIAH, Nurul; TAHERZADEH, Mohammad J. **The role of filamentous fungi in advancing the development of a sustainable circular bioeconomy.** Bioresource Technology, v. 345, p. 126531, 2022.

WÖSTEN, Han AB. **Fungos filamentosos para a produção de enzimas, produtos químicos e materiais.** Opinião atual em biotecnologia , v. 59, p. 65-70, 2019.



ZABALA, Angelica O. et al. **Discovery and characterization of a silent gene cluster that produces azaphilones from *Aspergillus niger* ATCC 1015 reveal a hydroxylation-mediated pyran-ring formation.** *Chemistry & biology*, v. 19, n. 8, p. 1049, 2012.

ŽIFČÁKOVÁ, Lucia et al. **Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter.** *Environmental microbiology*, v. 18, n. 1, p. 288-301, 2016.