

Adriane Theodoro Santos Alfaro  
Daiane Garabeli Trojan  
(orgs)

# Descobertas das Ciências Agrárias e Ambientais 2



Adriane Theodoro Santos Alfaro  
Daiane Garabeli Trojan  
(Organizadoras)

**DESCOBERTAS DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS E  
AMBIENTAIS 2**

---

Atena Editora

2017

2017 by Adriane Theodoro Santos Alfaro e Daiane Garabeli Trojan

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira

**Edição de Arte e Capa:** Geraldo Alves

**Revisão:** Os autores

#### **Conselho Editorial**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto (UFPEL)

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho (UnB)

Prof. Dr. Carlos Javier Mosquera Suárez (UDISTRITAL/Bogotá-Colombia)

Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior (UEPG)

Prof. Dr. Gilmei Francisco Fleck (UNIOESTE)

Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza (UEPA)

Prof. Dr. Takeshy Tachizawa (FACCAMP)

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior (UFAL)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adriana Regina Redivo (UNEMAT)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Deusilene Souza Vieira Dall'Acqua (UNIR)

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson (UTFPR)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes (Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatric)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves (UFT)

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera (IFAP)

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>
D448 Descobertas das ciências agrárias e ambientais 2 / Organizadoras Adriane Theodoro Santos Alfaro, Daiane Garabeli Trojan. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2017. 328 p. : il. ; 10.233 kbytes  Formato: PDF ISBN 978-85-93243-35-6 DOI 10.22533/at.ed.3562508 Inclui bibliografia  1. Agricultura. 2. Ciências ambientais. 3. Pesquisa agrária - Brasil. I. Alfaro, Adriane Theodoro Santos. II. Trojan, Daiane Garabeli. III. Título.  CDD-630

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores.

2017

Proibida a reprodução parcial ou total desta obra sem autorização da Atena Editora

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

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

## Apresentação

Descobertas das Ciências Agrárias e Ambientais – Vol. 2 aborda os desafios para a sociedade em relação aos problemas ambientais que se inter relacionam com a questão econômica.

Mesmo a agricultura sendo uma ciência milenar, com ensinamentos passados entre gerações, movedora de inúmeros artigos acadêmicos, sendo estudada permanentemente entre as mais notórias instituições no mundo inteiro, nos parece que isso tudo ainda é insuficiente.

Quando alguns profissionais pensam que detém todo o conhecimento necessário para domar os seus fundamentos, vem a agricultura e muda o jogo, e faz seus profissionais buscarem outros e novos caminhos, para solucionar seus problemas, para potencializar suas ações.

O que esta edição se propõe é demonstrar para nossos leitores a grandeza da agricultura e fazer-los enxergar soluções inovadoras, que resolvam problemas, dores latentes na cadeia agrícola, substituindo soluções fracassadas, equivocadas ou ineficientes.

Entendemos que temos como princípio oferecer oportunidades melhores, do que as que recebemos quando nós sentamos nos bancos escolares. E pensamos assim porque sabemos que está em nossas mãos criar informações que a agricultura e que o mercado agrícola precisa e merece ter.

E para isso ficar recebendo informações mastigas não é suficiente. Nunca foi. Precisamos aprender a buscar alimento na forma de informação. Precisamos saber transformar informação em resultado. Precisam transformar problemas em soluções. Precisam ser *high stakes*. E é essa proposta de valor que queremos compartilhar nessa edição.

O país trilha rumo ao progresso e tem que passar obrigatoriamente pelo desenvolvimento sustentável. Neste contexto, esta obra reúne o trabalho árduo de pesquisadores que buscam a transformação do século XXI, pois apresentam alternativas analíticas e estratégicas para um novo cenário sócio econômico ambiental.

Assim, esperamos que esta obra possa colaborar e estimular mais pesquisadores a transformar o século XXI através de um aparato científico-tecnológico que possa dar suporte ao nosso estilo de vida, com alto nível de conforto e com comprometimento da qualidade ambiental do nosso planeta.

*Adriane Theodoro Santos Alfaro*

*Daiane Garabeli Trojan*

## SUMÁRIO

**Apresentação.....03**

### CAPÍTULO I

A APLICAÇÃO DE GESSO NO SOLO E A APLICAÇÃO DE K, S E MO FOLIAR NA CULTURA DO MILHO

*Eloisa Lorenzetti, Juliano Tartaro, Vanessa de Oliveira Faria, Alfredo Alves Neto, Danielle Mattei e Nicanor Pilarski Henkemeier.....08*

### CAPÍTULO II

ADAPTAÇÃO DE UMA SEMEADORA-ADUBADORA PARA CAPTAÇÃO DE ÁGUA *IN SITU* NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

*Marcelo Queiroz Amorim, Carlos Alessandro Chioderoli, Elivânia Maria Sousa Nascimento, Jean Lucas Pereira Oliveira, Daniel Albiero e José Evanaldo Lima Lopes.....28*

### CAPÍTULO III

ADUBAÇÃO NITROGENADA EM SOJA: UM ESTUDO SOBRE POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES

*Artur Sousa Silva, Larisse Pinheiro Schmid, Jeissica Taline Prochnow, Lariza Lustosa de Oliveira e Thiago Henrique Gurgel Martins.....39*

### CAPÍTULO IV

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR ISOLADOS DO FUNGO *PYCNOPORUS SANGUINEUS* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO

*Omari Dangelo Forlin Dildey, Simone Castagna Angelim Costa, Irineia Paulina Baretta, Aline Maiara Lorenzetti, Bruna Broti Rissato, Cristiane Cláudia Meinerz e Roberto Luiz Portz.....47*

### CAPÍTULO V

AVALIAÇÃO DE UM MODELO DE COLETOR SOLAR CONSTRUÍDO COM GARRAFAS PET PARA SECAGEM DE PRODUTOS AGRÍCOLAS

*Arlindo Fabrício Corrêa, Armin Feiden, Antônio Cesar Godoy, Jair Antonio Cruz Siqueira e Carlos Eduardo Camargo Nogueira.....57*

### CAPÍTULO VI

BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS: MEMBRANA E SISTEMAS DE SECREÇÃO

*Eloisa Lorenzetti, Eliana Pelicon Pereira Figueira, Maria Cristina Copello Rotili, Anderson Luis Heling, Jeferson Carlos Carvalho e Odair José Kuhn.....72*

## CAPÍTULO VII

COINOCULAÇÃO DE *Rhizobium tropici* E *Azospirillum brasilense* VISANDO A SUSTENTABILIDADE DA PRODUÇÃO DO FEIJOEIRO EM SOLO ARENOSO DO CERRADO

*Fábio Steiner, Alan Mario Zuffo, Arnaldo Cintra Limede e Carlos Eduardo da Silva Oliveira*.....86

## CAPÍTULO VIII

CONCENTRAÇÕES DOS ÍONS AMÔNIO E NITRATO NO CRESCIMENTO INICIAL DE PLANTAS

*Janderson do Carmo Lima, Uasley Caldas de Oliveira, Aline dos Anjos Souza, Mariana Nogueira Bezerra e Anacleto Ranulfo dos Santos*.....105

## CAPÍTULO IX

CONTROLE DE DOENÇAS EM VIVEIRO FLORESTAL POR RIZOBACTÉRIAS E RESIDENTES DE FILOPLANO

*Ana Claudia Spassin, Alexandre Techy de Almeida Garrett e Flávio Augusto de Oliveira Garcia*.....116

## CAPÍTULO X

CONTROLE *IN VITRO* DE *PHYTOPHTHORA CITRICOLA* POR DIFERENTES ISOLADOS DE *TRICHODERMA SPP.*

*Omari Dangelo Forlin Dildey, Karen Cristine Backes Barichello, Cristiane Cláudia Meinerz, Bruna Broti Rissato, Nicanor Pilarski Henkemeier, Laline Broetto, Odair José Kuhn e Claudio Yuji Tsutsumi*.....135

## CAPÍTULO XI

CONTROLE *IN VITRO*, *IN VIVO* E PÓS COLHEITA DA ANTRACNOSE EM MORANGUEIRO

*Lana Paola da Silva Chidichima, Eduardo Fernandes Polvani, Marlon Akiyama Ribas, Márcia de Holanda Nozaki, Camila Hendges e Maria José Biudes Rodrigues*.....147

## CAPÍTULO XII

EFEITO ALELOPÁTICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE CRAMBE (*Crambe abyssinica*) SOBRE O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PICÃO- PRETO (*Bidens pilosa*).

*Silene Tais Brondani e Ana Paula Moraes Mourão Simonetti*.....161

## CAPÍTULO XIII

ÉPOCAS DE SEMEADURA DE GENÓTIPOS DE CANOLA (*Brassica napus* L. var. oleifera) EM TRÊS ANOS DE CULTIVO NO ESTADO DA PARAÍBA

*Roberto Wagner Cavalcanti Raposo, Gilberto Omar Tomm, Samuel Inocência Alves da Silva e Annie Evelyn Souto Raposo*.....169

#### CAPÍTULO XIV

##### ESTIMATIVA DE EVAPOTRANSPIRAÇÃO NO TOMATEIRO TIPO GRAPE

*Gabriel Siqueira Tavares Fernandes , Edivania de Araujo Lima, Joana D'arc Mendes Vieira , Daniela Vieira Chaves, Lucas Carvalho Soares e Poline Sena Almeida.....176*

#### CAPÍTULO XV

##### EXTRATO DE SEMENTE DO ABACATE PARA INDUÇÃO DA FITOALEXINA GLICEOLINA EM COTILÉDONES DE SOJA

*Vanessa de Oliveira Faria, José Renato Stangarlin, Eloisa Lorenzetti, Jonathan Fernando Varoni, Carla Rosane Kosmann, Juliana Yuriko Habtzreuter Fujimoto, Sidiane Coltro-Roncato e Omari Dangelo Forlin Dildey.....183*

#### CAPÍTULO XVI

##### FERTILIZANTE ORGANOMINERAL NO DESEMPENHO AGRONÔMICO E PRODUTIVIDADE DE FEIJÃO APLICADO NO SULCO DE PLANTIO

*Eli Carlos de Oliveira, José Roberto Pinto de Souza, Luiz Henrique Campos de Almeida e Adilson Luiz Seifert.....190*

#### CAPÍTULO XVII

##### FLAGELO BACTERIANO

*Anderson Luis Heling, Jeferson Carlos Carvalho, Eloisa Lorenzetti, Odair José Kuhn, Eliana Peliçon Pereira Figueira e Maria Cristina Copello Rotili.....198*

#### CAPÍTULO XVIII

##### INDUÇÃO DE FITOALEXINA EM FEJJOEIRO PELAS SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS PHOSPHORUS E CALCAREA CARBONICA

*Bruna Broti Rissato, Omari Dangelo Forlin Dildey, Edilaine Della Valentina Gonçalves-Trevisoli, Laline Broetto, Sidiane Coltro-Roncato e José Renato Stangarlin.....206*

#### CAPÍTULO XIX

##### INOCULAÇÃO E APLICAÇÃO FOLIAR DE MOLIBDÊNIO EM AMENDOIM CULTIVADO EM ÁREA DE PASTAGEM DEGRADADA

*Mateus Vieira Trevisan, Fábio Steiner, Alan Mario Zuffo, Arnaldo Cintra Limede e Carlos Eduardo da Silva Oliveira.....214*

#### CAPÍTULO XX

##### METODOLOGIA PARA DELIMITAÇÃO DE ÁREAS DE PRESERVAÇÃO PERMANENTE (APP) DE ENCOSTAS EM UMA BACIA HIDROGRÁFICA

*Luciano Cavalcante de Jesus França, João Batista Lopes da Silva, Danielle Piuzana Mucida, Gerson dos Santos Lisboa, José Wellington Batista Lopes, Samuel José Silva Soares da Rocha e Vicente Toledo Machado de Moraes Júnior.....234*

## CAPÍTULO XXI

MODELO DESCRITIVO DA RELAÇÃO ENTRE O PIB E A PRODUÇÃO DE SOJA NO ESTADO DO PARANÁ

*Genilso Gomes de Proença, Matheus de Lima Goedert, Ivan Coltro e Silvana Ligia Vincenzi e Carla Adriana Pizarro Schmidt.....248*

## CAPÍTULO XXII

RELAÇÃO DA TEMPERATURA DO AR COM O TEOR DE CLOROFILA NO TOMATEIRO

*Gabriel Siqueira Tavares Fernandes , Edivania de Araujo Lima , Joana D'arc Mendes Vieira , Daniela Vieira Chaves , Adalberto Carvalho Trindade e Victor Alves Brito.....258*

## CAPÍTULO XXIII

*Trichoderma* sp. COMO BIOPROTETOR DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) CULTIVADAS EM SOLO INFESTADOS COM *Macrophomina phaseolina*

*Laline Broetto, Omari Dangelo Forlin Dildey, Sidiane Coltro-Roncato, Bruna Broti Rissato, Alice Jacobus de Moraes e Odair José Kuhn.....264*

## CAPÍTULO XXIV

VARIABILIDADE ESPACIAL DOS ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO E RECOMENDAÇÃO DE CALAGEM EM TAXA FIXA E VARIÁVEL

*João Henrique Gerardi Pereira, Douglas Wrubleski de Carvalho, Arlindo Fabrício Corrêa, Gustavo Ferreira Coelho, André Luis Piccin e Arlen Roberto Bassi.....274*

## CAPÍTULO XXV

APLICAÇÃO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTOXICOLÓGICOS UTILIZANDO *Daphnia magna* E *Eisenia andrei* COMO BIOINDICADORES EM SOLOS DE CULTIVO DE TABACO ORGÂNICO E CONVENCIONAL, MUNICÍPIO DE SANTA CRUZ DO SUL, RS, BRASIL

*Daiane Cristina de Moura, Alexandre Rieger e Eduardo Alcayaga Lobo.....288*

***Sobre as organizadoras.....309***

***Sobre os autores.....310***

## **CAPÍTULO IV**

### **AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR ISOLADOS DO FUNGO PYCNOPORUS SANGUINEUS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO**

---

**Omari Dangelo Forlin Dilley  
Simone Castagna Angelim Costa  
Irineia Paulina Baretta  
Aline Maiara Lorenzetti  
Bruna Broti Rissato  
Cristiane Cláudia Meinerz  
Roberto Luiz Portz**

# AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR ISOLADOS DO FUNGO *PYCNOPORUS SANGUINEUS* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO

**Omari Dangelo Forlin Dilley**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná UNIOESTE

**Simone Castagna Angelim Costa**

Universidade Paranaense UNIPAR

**Irineia Paulina Baretta**

Universidade Paranaense UNIPAR

**Aline Maiara Lorenzetti**

Universidade Paranaense UNIPAR

**Bruna Broti Rissato**

Universidade Estadual de Maringá UEM

**Cristiane Cláudia Meinerz**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná UNIOESTE

**Roberto Luiz Portz**

Universidade Federal do Paraná UFPR

**RESUMO:** Avaliação da produção de enzimas extracelulares por isolados *Pycnoporus sanguineus* em diferentes meios de cultivo. Os fungos são organismos heterotróficos, com ampla distribuição geográfica, e com uma diversa gama de exemplares. Dentre os pertencentes do filo Basidiomycota, o *P. sanguineus* representa uma espécie amplamente estudado devido as suas propriedades de produção de enzimas, utilizadas na indústria farmacêutica, têxtil e papelreira, e também é utilizado no controle de patógenos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a produção de enzimas extracelulares por isolados de *P. sanguineus* em diferentes meios de cultivo. Os Isolados de *P. sanguineus* (ISO 02; ISO 04; ISO 08; ISO 10; ISO 13; ISO 14; ISO 15 e ISO 17) foram avaliados quanto à produção de enzimas extracelulares: amilase, lipase e protease. A avaliação constituiu na medida do diâmetro do halo, por cinco dias, sendo que os dados foram submetidos ao teste de Tukey para comparação das médias. Embora variando em comportamento, os isolados apresentaram atividade para produção de lipase e amilase, sendo mais acentuada a atividade amilolítica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Basidiomicetos; atividade enzimática; orelha-de-pau.

## 1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos heterotróficos, e que podem ser benéficos, sendo utilizados na obtenção de vários conservantes; medicamentos e outras drogas, e nocivos, causando doenças em animais e plantas (DIOGO; SARPIERI; PIRES, 2005).

São facilmente encontrados em toda parte do globo terrestre em diversos habitats como solo, plantas, animais vivos e mortos, serrapilheira e tantos outros que contenham matéria orgânica passível a colonização e sobrevivência (BONONI;

GRANDI, 1999), onde desempenham sua função na decomposição de resíduos orgânicos (PUTZKE; PUTZKE, 1998).

Segundo Raven; Evert e Eichhorn (2001) a diversidade fúngica é estimada num total de aproximadamente 1 milhão e 500 mil espécies, sendo que somente 70.000 espécies de fungos foram identificadas até agora, e cerca de 1.700 novas espécies são descobertas a cada ano.

Dentre os filos pertencentes do reino Fungi, encontra-se o filo Basidiomycota, com 22.300 espécies (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001). O grupo dos basidiomicetos inclui os cogumelos ou orelhas-de-pau; os fungos gelatinosos; as ferrugens e carvões (BONONI; GRANDI, 1999). A ordem Aphyllophorales, da classe Basidiomycetes, compreende uma gama extensiva de exemplares, sendo que reúne cerca de 400 gêneros e 1200 espécies principalmente saprófitas (PUTZKE; PUTZKE, 1998). Na ordem Aphyllophorales encontram-se os fungos da família poliporácea, os representantes desta família apresentam ampla distribuição nos biomas terrestres (VIEIRA et al., 2006; ABRAHAO; GUGLIOTTA; GOMES, 2009).

Pertencente a família poliporácea *Pycnoporus sanguineus* é conhecido popularmente como orelha-de-pau devido ao hábito do basidioma, possui basidiocarpos de coloração vermelho-alaranjada (BALDO, 2008). É um fungo do tipo saprófita, amplamente distribuído na natureza, em regiões de clima mais ameno e em florestas tropicais (GARCIA, 2006), sendo encontrado em madeira, solo e folheto, onde se fixam e se alimentam desempenhando papel fundamental na degradação de celulose e lignina de materiais vegetais lenhosos (ABRAHÃO, 2009), portanto, na ciclagem de nutrientes e na manutenção dos ecossistemas terrestres (ABRAHÃO; GUGLIOTTA; GOMES, 2009). Estes fungos são capazes de quebrar a cadeia de lignina, composto mais resistente da madeira, por meio da produção de enzimas para que estas penetrem na madeira para quebrar as moléculas, causando a chamada podridão que são de três tipos: branca, parda e cinza (BONONI; GRANDI, 1999).

Representam um conjunto de organismos bastante explorado pelas indústrias devido as suas propriedades; sendo que na indústria farmacêutica, estudos realizados mostram a capacidade de produzir metabólitos, o qual se destaca a cinabarina, um derivado fenoxazínico com atividade antibacteriana e antiviral (SMANIA; SMANIA; LEITE, 1998); na indústria têxtil, no tratamento de efluentes devido a capacidade de descolorir, e também de degradar e mineralizar uma ampla gama de diferentes estruturas de corantes, além de inúmeros outros compostos orgânicos tóxicos e recalcitrantes (MACHADO et al, 2006), na indústria papelreira, no tratamento dos efluentes dos processos de polpação e branqueamento (MATHEUS; OKINO, 1999), além destes, podem ser utilizados no controle de patógenos.

Em estudo realizado por Baldo (2008) verificou-se que plantas com mancha angular causada por *Colletotrichum lindemuthianum*, tratadas com filtrado da cultura de *P. sanguineus* apresentaram reduções consideráveis dos sintomas. De acordo com Assi (2005), extratos aquosos de basidiocarpos de *P. sanguineus*

controlaram a antracnose causada por *Colletotrichum lindemuthianum* em feijoeiro, o que pode ter ocorrido tanto por atividade antimicrobiana, através da inibição da germinação de conídios, quanto por indução de resistência local e sistêmica, através da ativação de peroxidases.

A biodiversidade desses organismos sugere novos estudos desse grupo, objetivando avaliar a atividade enzimática desses fungos considerando o potencial dessas enzimas para uso industrial (SILVA et al., 2006). A produção dessas enzimas pode ser avaliada através da habilidade do organismo degradar substratos específicos, como aqueles indicativos de atividade lipolítica, amilolítica e proteolítica, dentre outras (ASSIS et al., 2010).

Por meio da determinação da atividade enzimática de fungos em substratos sólidos específicos, é avaliado a maior ou menor capacidade de fungos produzirem as enzimas amilase, lipase e protease. Esta análise é considerada um método adicional e simples para a identificação de variantes genéticas em uma população, para diferenciação de espécies ou caracterização de isolados dentro de uma mesma espécie, pela presença ou ausência de enzimas específicas (BOCHESE et al., 2003; FILHO; OLIVEIRA; MENEZES, 2003).

Desta forma, o presente trabalho procurou avaliar a produção de enzimas extracelulares produzidas por *P. sanguineus* isolados em diferentes meios de cultivo, de modo a fornecer subsídios básicos para diferenciação e identificação de variabilidade em diferentes isolados.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia, do curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense, Campus Toledo, PR. Os isolados de *Pycnoporus sanguineus* utilizados no trabalho foram cedidos pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, PR.

Os isolados foram avaliados quanto às atividades amilolítica, lipolítica, e proteolítica, em meios de cultura sólidos. Para tanto, discos de meio contendo estruturas do fungo, retirados de colônias jovens, foram repicados individualmente para o centro de placas de Petri, contendo os meios sólidos para o estudo das enzimas, incubadas por cinco dias. Em todos os casos, os isolados de *P. sanguineus* (ISO 02; ISO 04; ISO 08; ISO 10; ISO 13; ISO 15 e ISO 17) foram incubados em condições de luz contínua e a temperatura de 26° C ± 2° C. Para detectar a atividade amilolítica, lipolítica e proteolítica, foi utilizada metodologia descrita por Assis et al. (2010).

### Atividade amilolítica

A habilidade dos isolados de *P. sanguineus* em degradar o amido,

determinada em meio constituído de extrato de carne, 3,0 g; peptona, 5,0 g; ágar, 15,0 g; água destilada, 1000 mL e 0,2% de amido solúvel. Discos de micélio retirados de colônias jovens foram transferidos para o centro de placas de Petri, contendo o referido substrato. Após cinco dias de incubação, foram adicionados à colônia 5 mL de uma solução de iodo (lugol) para detecção do substrato degradado, visualizado como uma zona amarela ao redor da colônia de cada isolado, sendo essa zona medida (mm) em dois sentidos diametralmente opostos utilizando régua milimetrada.

### **Atividade lipolítica**

A atividade lipolítica foi determinada empregando meio de cultura basal na seguinte composição: peptona, 10,0 g; NaCl, 5,0 g; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,1 g; ágar, 17,0 g e água destilada (1000 mL), contendo como substrato lipídico, sorbitol monolaurato - Tween 20. O Tween 20 foi autoclavado separadamente, por 15 minutos e adicionado, posteriormente, ao meio basal, na proporção de 1 mL para cada 100 mL do meio. Discos de micélio de *P. sanguineus* foram transferidos para o centro de placas de Petri e a atividade lipolítica avaliada pela presença de um halo opaco formado em torno das colônias, após cinco dias de incubação. A medição do halo foi realizada da mesma forma descrita no item anterior.

### **Atividade proteolítica**

A atividade proteolítica dos isolados de *P. sanguineus* foi testada pela hidrólise de caseína em meio ágar-leite: leite desnatado, 100 mL; ágar a 2%; água destilada, 500 mL. Da mesma maneira que nos testes anteriores os discos de micélio do fungo foram transferidos para o centro de placas de Petri e incubadas durante cinco dias. A atividade da enzima foi avaliada pela presença de halo de degradação em torno das colônias. A medida do halo foi efetuada da mesma forma já descrita. A avaliação consistiu na medição do diâmetro do halo em dois sentidos diametralmente opostos.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo os dados submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5%, utilizando o software SISVAR para comparação das médias.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os isolados de *P. sanguineus* avaliados neste trabalho demonstraram somente atividade enzimática para produção de amilase e lipase, sendo que não houve atividade proteolítica perceptível por difusão em substrato específico. Tabela 1 demonstra a atividade lipolítica dos isolados de *P. sanguineus* e a possibilidade

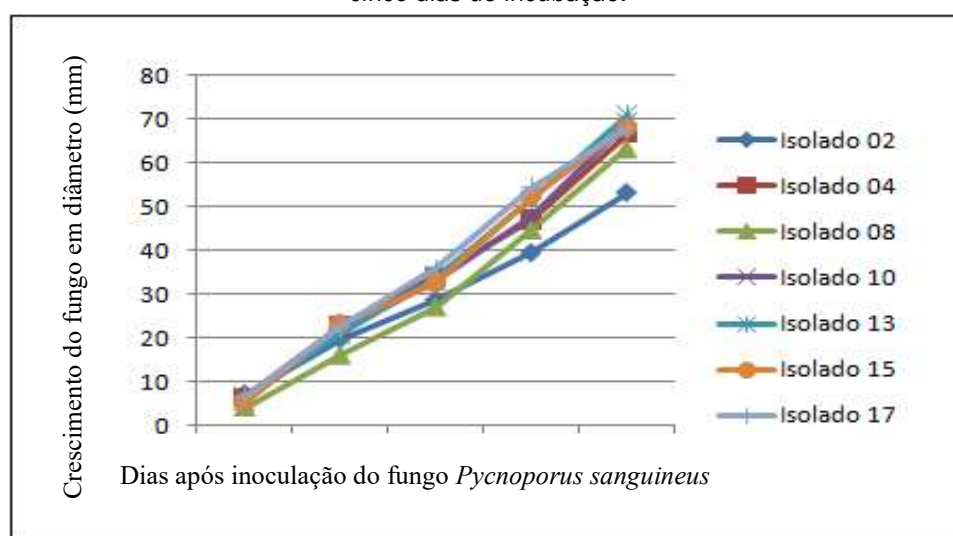
de separá-los em três grupos distintos.

**Tabela 1:** Atividade enzimática de isolados de *P. sanguineus* por difusão em substrato sólido lipolítico. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Isolado	Diâmetro da colônia	Halo (mm)	Halo/Diâmetro da colônia
02	31,0	49,0	1,58c
04	38,66	52,6	1,36b
08	23,5	33,83	1,43b
10	26,0	40,0	1,53c
13	32,0	45,5	1,42b
15	51,0	73,75	1,44b
17	34,16	47,16	0,72a

Quanto à atividade da enzima lipase (Figura 1) detectada pela presença de halo opaco em torno das colônias, todos os isolados apresentaram halo de degradação, na maioria superior a 40,0 mm, diferindo significativamente do isolado ISO-8 (33,8 mm) que apresentou a menor média. O ISO-8 mostrou ser uma variante genética com menor capacidade para produção de lipase. O halo opaco é proveniente da formação de cristais de cálcio do ácido láurico, liberado pela ação da enzima ou pela completa degradação dos sais lipídicos em meios contendo sorbitol monolaurato (Tween 20) como substrato lipídico (FILHO; OLIVEIRA; MENEZES, 2003). A maior ou menor capacidade de fungos em produzir enzimas em diferentes meios, permite diferenciar isolados de uma mesma espécie de forma simples.

FIGURA 1: Crescimento diário dos isolados de *Pycnoporus sanguineus* em meio sólido lipolítico, aos cinco dias de incubação.

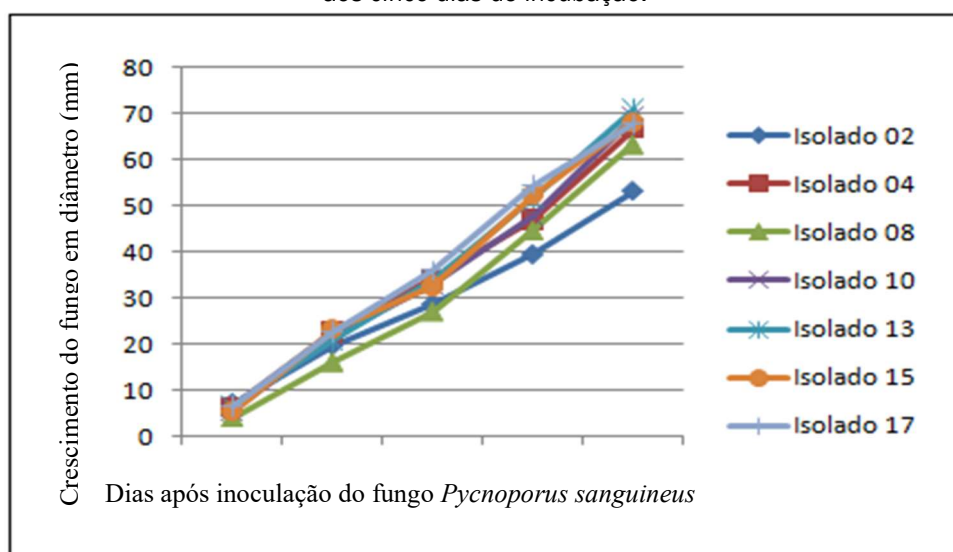


Em relação à atividade amilolítica, a enzima amilase tornou-se evidente por meio de degradação do meio específico, sobre o qual todos os isolados testados

mostraram alta capacidade em produzi-la. As amilases são comuns em fungos, que podem utilizar o amido como fonte de energia para o crescimento e esporulação, sendo que a produção destas enzimas por fungos varia de acordo com o gênero e a espécie, em função da concentração de amido no meio de cultura, como também do período de incubação (ASSIS, et al. 2010).

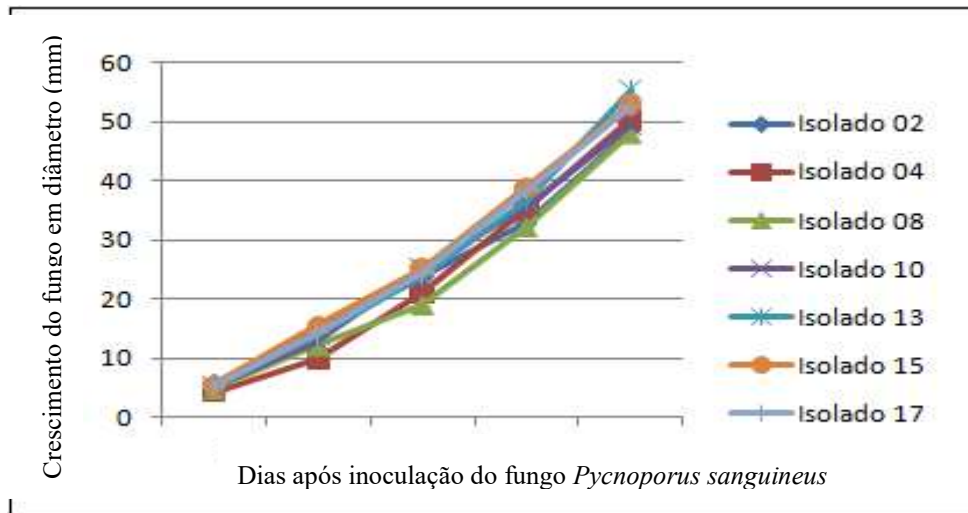
Lima (2000), trabalhando com *Colletotrichum graminicola*, verificou que um período de incubação superior a 10 dias favoreceu a maior degradação do amido para todos os isolados testados.

FIGURA 2: Crescimento diário dos isolados de *Pycnoporus sanguineus* em meio sólido amilolítico, aos cinco dias de incubação.



Para a produção de protease, nenhum dos isolados apresentou capacidade de produção dessa enzima após cinco dias de incubação. Segundo Assis et al. 2010, a variação da atividade proteolítica de alguns fungos é decorrente da sua própria constituição genética, cuja expressão depende também do pH e temperatura, assim como, da presença de fontes de carbono, nitrogênio e/ou enxofre no meio.

FIGURA 3: Crescimento diário dos isolados de *Pycnoporus sanguineus* em meio sólido proteolítico, aos cinco dias de incubação.



#### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se que os isolados de *Pycnoporus sanguineus* apresentaram atividade enzimática para produção de amilase e lipase; sendo que nenhum dos isolados apresentou atividade enzimática para produção de protease.

Os isolados diferiram na capacidade de produção de enzimas, isto indica a possibilidade de se diferenciar isolados deste fungo mediante o emprego de meios seletivos para avaliar a atividade de enzimas extracelulares.

#### REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, M. C. **Estudo da diversidade de basidiomicetos poliporóides de fragmentos florestais remanescentes do noroeste Paulista**. 2009. 242 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.

ABRAHÃO, M. C.; GUGLIOTTA, MELLO, A.; GOMES, E. Poliporóides (Basidiomycota) em fragmentos de mata no perímetro urbano de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira Botânica**, v.32, n.3, p.427-440, 2009.

ASSI, L. **Controle de Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. Et. Magn.) Scrib, na cultura do feijão (Phaseolus Vulgaris L.) pelo extrato do cogumelo Pycnoporus sanguineus (L. ex. Fr.)**. 2005. 51 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2005.

ASSIS, T. C. et al. Diferenciação de isolados de Colletotrichum gloeosporioides por meio de padrões eletroforéticos de proteínas totais e isoesterase, e produção de

enzimas extracelulares. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.2, p.140-144, 2010.

BALDO, M. **Aspectos histológicos e bioquímicos da indução de resistência de feijoeiro e atividade antifúngica por derivados de *Pycnoporus sanguineus***. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2008.

BOCHESE, C. A. C. et al. Virulência, Atividade Enzimática e Padrões de Isoesterases de Isolados de *Pyrenophora chaetomioides*, Agente Etiológico da Mancha de Grãos e Folhas de Aveia. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.1, p.11-16, 2003.

BONONI, V.; GRANDI, R. **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos**. Rio de Janeiro: [S. n.], 1999. 181 p.

DIOGO, H. C.; SARPIERI, A.; PIRES, M. C. Preservação de fungos em água destilada. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.80, n.6, p.591-594, 2005.

FILHO; R. M. L.; OLIVEIRA, S. M. A.; MENEZES, M. Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* spp. Associados a doenças de pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.6, p.620-625, 2003.

GARCIA, T. A. **Purificação e caracterização das lacases de *Pycnoporus sanguineus***. 2006. 126 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

LIMA, M. L. F. **Caracterizações patogênicas, fisiológica e enzimática de isolados de *Colletotrichum graminicola* (Ces) G.W. Wilson, agente causal da antracnose do milho, Zeamays L.** 2000. 87 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2000.

MACHADO, K. M. G. et al. Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from brazilian ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.481-487, 2006.

MATHEUS, D. R.; OKINO, L. K. Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos. In: BONONI, V.; GRANDI, R. **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos**. Rio de Janeiro: [S. n.], 1999. 107-138 p.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. **Os Reinos dos Fungos**. Santa Cruz do Sul: Edunisc, 1998. 665p.

RAVEN, P.; EVERT, R.; EICHHORN, S. **Biologia vegetal**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 830 p.

SMANIA, E. F. A.; SMANIA, J. A.; LEITE, C. L. Cinnabarin síntese por *Pycnoporus sanguineus*-Tensões e atividade antibacteriana dos produtos alimentares. **Revista de Microbiologia**, v.29, n.4,1998.

SOUZA, H. Q; OLIVEIRA, L. A; ANDRADE, J. S. Seleção de Basidiomycetes da Amazônia para produção de enzimas de interesse biotecnológico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.116-124, 2008.

VIEIRA, I. M. et al. Basidiomicetos da cidade de cascavel – Oeste do Paraná – e suas aplicações em biotecnologia. **Estud. Biol.**, v.28, n.65, p.21-31, 2006.

**ABSTRACT:** Evaluation of extracellular enzymes production by *Pycnoporus sanguineus* isolates in different growing medium Fungi are heterotrophic organisms, with wide geographic distribution and with a diverse range of specimens. Among those belonging to Basidiomycota phylum, *P. sanguineus* is a widely studied species due to its properties for the production of enzymes, used in pharmaceutical, textile and paper industry, and is also used to control pathogens. This study aimed to evaluate the production of extracellular enzymes by *P. sanguineus* isolates in different growing medium. The isolates of *Pycnoporus* s. (ISO 02; ISO 04; ISO 08; ISO 10; ISO 13; ISO 14; ISO 15 and ISO 17) were analyzed for production of extracellular enzymes: amylase, lipase and protease. The halo diameter was measured during five days and the data were submitted to the Tukey test to compare mean. Thought varying in behavior the isolate showed activity for the production of lipase and amylase, which was more pronounced in amylase activity.

**KEYWORDS:** Basidiomycetes; enzymatic activity; wood ear.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-93243-35-6



9 788593 243356