

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CELULOLÍTICA DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE AMOSTRAS DE SOLO DA REGIÃO NORTE DO ESTADO DE MATO GROSSO

Jaqueline Aline Gerhardt¹, Ilio Fealho de Carvalho², Maurecilne Lemes da Silva³
Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli⁴, Robson Carlos Alnoch⁵

¹Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Mato Grosso/UNEMAT, Tangará da Serra, MT, Brasil. (jaquelinegerhardt@yahoo.com.br)

²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Mato Grosso/UNEMAT, Tangará da Serra, MT, Brasil.

³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Mato Grosso/UNEMAT, Tangará da Serra, MT, Brasil.

⁴Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo/USP, Ribeirão Preto, SP.

⁵Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brasil.

Recebido em: 31/03/2015 – Aprovado em: 15/05/2015 – Publicado em: 01/06/2015

RESUMO

Atualmente a demanda por energias limpas e renováveis como os biocombustíveis desenvolvidos a partir de resíduos agroindustriais é crescente. Os resíduos apresentam uma grande riqueza de celulose em sua constituição e, os fungos filamentosos no solo possuem alta capacidade de degradar essa celulose. O estudo teve como objetivo avaliar a produção de celulases de fungos filamentosos provenientes da região Amazônica, no norte do Estado de Mato Grosso, localizado nos municípios de Juína e Guarantã do Norte, em resíduos de bagaço de cana de açúcar. Foram pré-selecionadas oito linhagens de fungos a partir da técnica de halo de hidrólise do carboximetilcelulose (CMC). As linhagens foram cultivadas em meio de cultura contendo bagaço de cana de açúcar como fonte de carbono. A linhagem *Aspergillus* I destacou-se para CMCase com 0,37 U mL⁻¹ e β-glicosidase 8,46 U mL⁻¹, *Penicillium* I com 0,64 U mL⁻¹ para avicelase, e já para a produção de FPase, *Trichoderma* I 0,06 U mL⁻¹. A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se confirmar que os fungos filamentosos obtidos de amostras de solo da região Amazônica do norte de Mato Grosso têm atividade de celulase.

PALAVRAS-CHAVE: Bagaço de cana de açúcar, Fungos filamentosos, Celulases

EVALUATION OF ACTIVITY CELLULOLYTIC OF FUNGI FILAMENTOUS ISOLATED OF SAMPLES SOIL IN THE REGION NORTH OF STATE MATO GROSSO

ABSTRACT

The currently demand for clean and renewable energy such as biofuels developed from agroindustrial waste is growing. The residues present a wealth of cellulose in its constitution, and the filamentous fungi in the soil have a high ability to degrade the

cellulose. The aim of this study was to evaluate the cellulase production of filamentous fungi from the Amazon region, in the Northern State of Mato Grosso, located in the municipalities of Juína and Guarantã do Norte, in waste from sugar cane bagasse. We pre-selected eight lineages of fungi from the halo technique of hydrolysis of carboxymethylcellulose (CMC). The strains were grown in culture medium containing sugar cane bagasse as source of carbon. The strain *Aspergillus* I stood out for CMCase with 0.37 U mL⁻¹ and β -glucosidase 8.46 U mL⁻¹, *Penicillium* I with 0.64 U mL⁻¹ for avicelase and for the production of FPase, *Trichoderma* I 0.06 mL⁻¹ U. From the results obtained in this study may confirm that the filamentous fungi obtained from soil samples in the Amazon region of northern Mato Grosso has cellulase activity.

KEYWORDS: Sugar cane bagasse, Filamentous fungi, Cellulases

INTRODUÇÃO

O bioma amazônico ocupa grande parte do território brasileiro e possui a maior diversidade biológica do mundo, apresentando características peculiares quando ao seu solo e clima para o desenvolvimento de micro-organismos (THIEME, 2007). Alguns deles como os fungos filamentosos são responsáveis por promover a reciclagem de nutrientes, pois efetuam a hidrólise da parede celular vegetal através de enzimas excretadas (RUEGGER & TAUKE TORNISIELO, 2004).

A decomposição da celulose ou sua degradação requer um complexo de múltiplas enzimas que atuam sequencialmente de forma sinérgica, sendo dividido de acordo com a sua atuação na cadeia, classificando-se em três grandes grupos, as endoglucanases (CMCase), que clivam ligações internas da fibra celulósica, as exoglucanases (avicelase), que atuam na região externa da celulose; e as β -glicosidases que hidrolisam oligossacarídeos em glicose (LYND et al., 2002; MARTINS et al., 2008).

Estas enzimas têm aplicações em diversos setores industriais como na fabricação de detergentes, bebidas, têxtil, papel e celulose e de alimentos (GUIMARÃES et al., 2006) e também na produção do álcool de segunda geração, obtido a partir da hidrólise de resíduos agroindustriais (MUSSATTO et al., 2010).

Atualmente a demanda de utilização de bioetanol tem sido cada vez mais empregada pelo mercado global, uma vez que a preocupação ambiental seja inegável e a redução de combustíveis fósseis se faz necessário, e a utilização de fontes alternativas é promissora. Neste contexto, a biomassa lignocelulósica tem sido alvo de várias pesquisas por apresentar uma fonte renovável de energia e disposta em grande quantidade no meio ambiente (MAEDA et al., 2013; SILVA, 2015). Apesar de ser uma alternativa promissora, a sua produção em alta escala é limitante, devido ao alto custo de obtenção e produção das enzimas que são responsáveis pela hidrólise enzimática (SIQUEIRA et al., 2010).

De acordo com os dados da Companhia Nacional de Desenvolvimento (CONAB), a produção de cana de açúcar no Brasil na safra de 2014/15 atingiu cerca de 594 milhões de toneladas, distribuída nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul e, estima-se que a produção de cana-de-açúcar na safra de 2015 gere 180 milhões de toneladas de bagaço (CONAB, 2015).

O bagaço de cana de açúcar em sua maioria é composto por dois tipos de polissacarídeos a celulose e a hemicelulose, a mais abundante é a celulose correspondendo a um total de 33 a 36%, e a segunda mais predominante é a hemicelulose 28 a 30%, podendo apresentar variações, outro composto que possuem uma complexa estrutura que sobrepõe estes compostos é a lignina (BETANCUR & PEREIRA, 2010).

Diversos estudos têm sido realizados com diferentes resíduos agroindustriais utilizados como substratos mais eficientes e viáveis na expressão e produção das enzimas de interesse, associado ao baixo custo de produção (AGUIAR & MENEZES, 2000; RUEGGER & TAUKE-TORNISIELO, 2004; BASSO et al., 2010; MAEDA et al., 2011; VALENCIA & CHAMBERGO, 2013).

O estudo teve como objetivo avaliar a produção de celulasas de fungos filamentosos provenientes da região Amazônica, no norte do Estado de Mato Grosso, localizado nos municípios de Juína e Guarantã do Norte, em resíduos de bagaço de cana de açúcar.

MATERIAL E MÉTODOS

Os micro-organismos utilizados para a produção das enzimas do complexo celulolítico foram isolados de amostras de solo coletadas nos municípios de Juína a longitude de 11°28'10" de latitude sul e 58°33'48' e Guarantã do Norte a longitude de 9°41'57" de latitude sul e 54°45'25" localizadas na região norte do Estado de Mato Grosso.

A seleção das linhagens fúngicas foi realizada a partir do cultivo em meio sintético composto de (CMC) carboximetilcelulose (10,0 g L⁻¹) como única fonte de carbono, NaNO₃ (3,0 g L⁻¹), K₂HPO₄ (1,0 g L⁻¹), MgSO₄ (0,5 g L⁻¹), KCl (0,5 g L⁻¹), FeSO₄·7H₂O (10,0 mg L⁻¹) e ágar (20,0 g L⁻¹), pH±7,8 e incubadas em estufa bacteriológica a 28 °C por cinco dias. Em seguida, foram submetidas a choque térmico de 50 °C por 16 h. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de solução corante vermelho congo a 2,5 g L⁻¹ em tampão Tris HCl 0,1 M, pH 8,0. Após 30 minutos, as placas foram lavadas com 5 mL de solução de NaCl 0,5 M e então medido o diâmetro das colônias e dos halos com paquímetro (NOGUEIRA & CAVALCANTI, 1996). As linhagens que revelaram índice enzimático a partir de 1,4 foram avaliadas para atividade de endoglucanase (CMCase) de acordo com metodologia de RUEGGER & TAUKE-TORNISIELO (2004), após foram selecionadas as seguintes cepas *Penicillium* I, *Penicillium* II, *Penicillium* III, *Penicillium* IV, *Penicillium* V, *Trichoderma* I, *Aspergillus* I e *Penicillium* VI.

O bagaço de cana de açúcar utilizado como substrato foi cedido pela Usina Itamarati localizada no município de Nova Olímpia-MT. O bagaço foi lavado em água corrente para a retirada de resíduos e em seguida enxaguado com água destilada e colocado para secar a 60 °C em estufa por 48 horas. Após foi moído e passado em peneira com granulação de 60 Mesh.

As oito linhagens foram cultivadas em meio composto por 1% de bagaço de cana de açúcar, sais de VOGEL (1964) a 2%, 0,1% de peptona A e o pH ajustado em 5,0. Após, as linhagens foram inoculadas com uma suspensão de 2 mL com 1 x 10⁷ esporos, e incubados em mesa orbital, sob agitação de 125 rpm, à temperatura de 28 °C por um período de 4 dias. Para o cultivo das linhagens no controle foi

utilizado (CMC) carboximetilcelulose. O cultivo das linhagens foi realizado em duplicata.

Para a determinação da atividade enzimática de CMCase, avicelase e FPase, foram incubados, 10 mL de solução tampão acetato de sódio 50 mM, com pH 5,0, 5 mL do caldo filtrado e 1% de substrato para cada enzima a ser avaliada. Para a avaliação da atividade da CMCase (CMC), avicelase (avicel) e celulase total (FPase) utilizou-se papel filtro Whatman nº 1 picado. Em seguida, os frascos foram incubados em banho Maria a 50 °C por 90 minutos.

Já para a dosagem das enzimas foram retirados 1,5 mL das amostras a cada 30 minutos de incubação e transferidos 0,5 mL da amostra para três tubos de ensaio, e em seguida foram adicionados 0,5 mL de DNS (ácido dinitrosalicílico), para paralisar a atividade enzimática, de acordo com a metodologia proposta por MILLER (1959). Após, os tubos foram fervidos por 5 minutos para o desenvolvimento da cor, e então, adicionados 5 mL de água destilada. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm.

A atividade de β -glicosidase foi realizada através da incubação de 20 μ L da solução de p-nitrophenil - β -D-glicopiranosídeo (pNM β G) (4mM), 180 μ L de tampão citrato de sódio (50 mM, pH 4,8) e 200 μ L do extrato enzimático em banho Maria a 50 °C por 20 minutos. Após incubação, adicionou-se 2 mL de CaCO₃. A avaliação da atividade β -glicolítica foi determinada com a utilização do substrato cromogênio pNM β G, no comprimento de onda a 410 nm, de acordo com LEITE et al., (2007). Para o branco, foram retiradas amostras antes da incubação da reação.

Uma unidade de atividade enzimática (U) foi considerada a quantidade de enzima necessária para a formação de 1 μ mol de açúcar redutor por mL por minuto nas condições do ensaio realizado. Para β -glicosidase, U corresponde à formação de p-nitrophenol. As médias obtidas foram comparadas utilizando o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, no programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As oito linhagens cultivadas no bagaço de cana de açúcar como fonte carbono, apresentaram atividade de celulase. Na produção da atividade para a enzima CMCase foi obtido para a linhagem *Aspergillus* I 0,37 U mL⁻¹, a linhagem de *Penicillium* IV 0,11 U mL⁻¹ e a de *Penicillium* III 0,07 U mL⁻¹, conforme descrito na Figura 1. No trabalho de AGUIAR & MENEZES (2000) cultivando *Aspergillus niger* IZ-9 em meio de cultura com bagaço de cana de açúcar obtiveram atividade máxima de 0,25 U mL⁻¹, menor que o obtido neste estudo.

No cultivo das linhagens em meio contendo o CMC, correspondendo a fonte de carbono controle, a linhagem *Aspergillus* I apresentou atividade de CMCase de 0,71 U mL⁻¹, *Penicillium* II 0,61 U mL⁻¹, *Trichoderma* I 0,37 U mL⁻¹ e *Penicillium* I 0,36 U mL⁻¹ (Figura 1). LIAO et al., (2015) também utilizaram uma linhagem do gênero *Penicillium* para a produção de CMCase em diferentes resíduos agroindustriais e obteve resultados de 2,0 U mL⁻¹. Esses resultados demonstram que o substrato sintético pode ser mais eficiente para a produção de CMCase quando comparado ao bagaço de cana de açúcar, para estas linhagens avaliadas. Entretanto, a eficiência da hidrólise da celulose de resíduos agroindustriais apresenta alguns desafios, como a alta resistência da parede celular para a conversão e na junção da lignina com a

celulose, o que promove a dificuldade no acesso das enzimas do complexo celulolítico (MAEDA et al., 2013).

Para a atividade de avicelase (Figura 02), os resultados obtidos mais expressivos foram com as linhagens *Penicillium* I produzindo $0,64 \text{ U mL}^{-1}$, *Penicillium* II com $0,57 \text{ U mL}^{-1}$ e *Penicillium* V $0,51 \text{ U mL}^{-1}$. As demais linhagens também produziram resultados consideráveis desta enzima, acima de $0,25 \text{ U mL}^{-1}$, com exceção de *Trichoderma* I que produziu $0,07 \text{ U mL}^{-1}$.

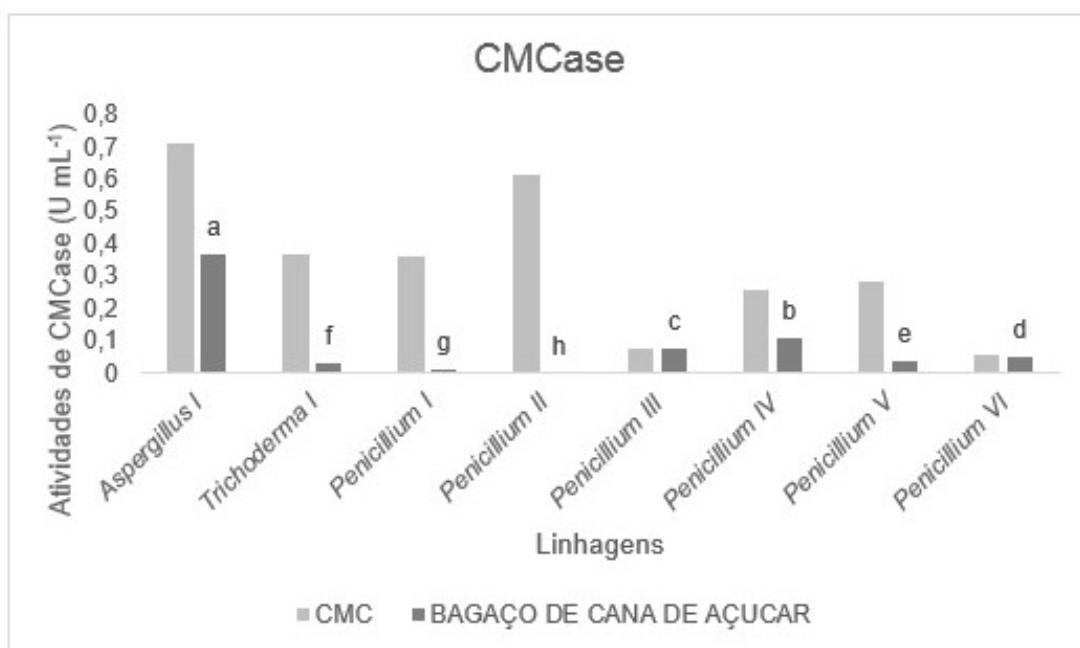


FIGURA 1 Produção de CMCase das oito linhagens de fungos filamentosos na presença do substrato de bagaço de cana de açúcar comparado com o controle CMC. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A avaliação da atividade de avicelase utilizando três linhagens do gênero *Pleurotus* na presença do substrato com bagaço de cana de açúcar MENEZES et al., (2009), obtiveram resultados de $0,08 \text{ U mL}^{-1}$ mais baixos quando comparado aos apresentados neste trabalho. Os perfis de atividade para avicelase, não apresentaram grandes diferenças entre si, indicando a possibilidade de que o resíduo industrial pode ser eficiente e também, que as linhagens avaliadas, mostram-se promissoras para a produção para a enzima exoglucanases (Figura 2).

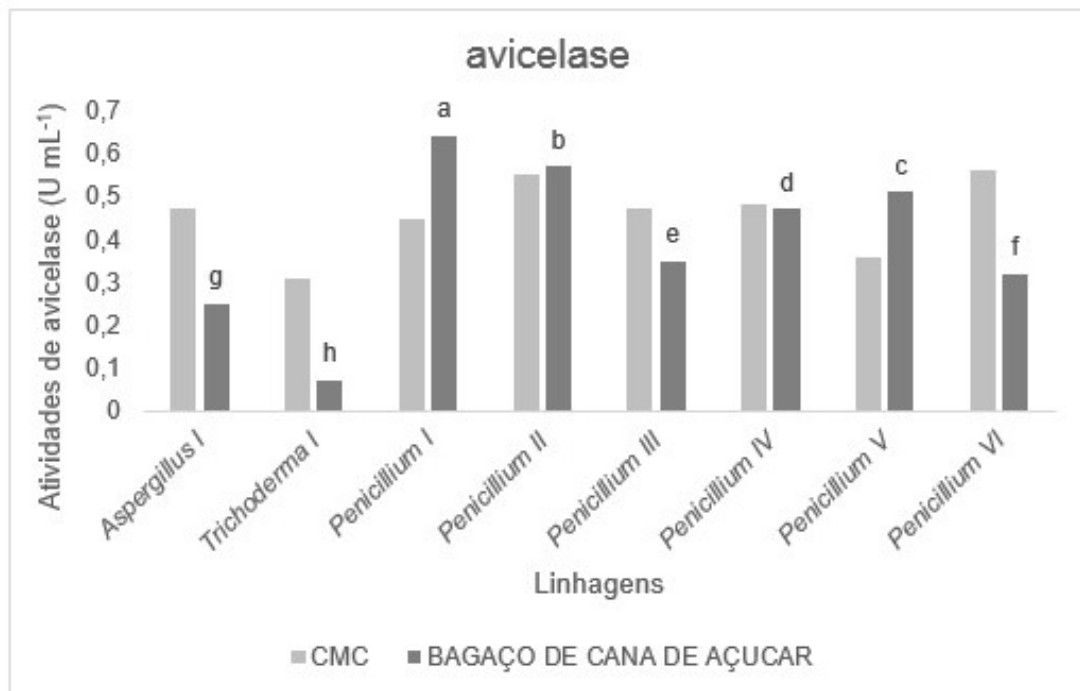


FIGURA 2 Produção de avicelase das oito linhagens de fungos filamentosos na presença do substrato de bagaço de cana de açúcar comparado com o controle CMC. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para atividade β -glicosidase, as linhagens *Aspergillus* I produziram $8,46 \text{ U mL}^{-1}$, *Penicillium* V $8,45 \text{ U mL}^{-1}$ e *Penicillium* IV $6,03 \text{ U mL}^{-1}$, foram as que produziram as melhores atividades (Figura 3). Todas as linhagens diferenciaram-se estatisticamente entre si, e em geral, obtiveram elevados níveis de atividade. Entretanto, destacam-se as linhagens de *Penicillium* III $4,68 \text{ U mL}^{-1}$, *Penicillium* I $4,63 \text{ U mL}^{-1}$ e *Penicillium* II $3,76 \text{ U mL}^{-1}$. As β -glicosidase têm papel fundamental na etapa final da hidrólise enzimática, pois são responsáveis pela formação de monômeros de açúcares, mantendo um elevado grau de conversão em altas concentrações de glicose (SORENSEN et al., 2013).

No trabalho de FERREIRA JR. et al., (2011) avaliando a degradação do bagaço de cana de açúcar em linhagens de fungos filamentosos isolados da Caatinga, obtiveram resultados maiores para β -glicosidase em resíduos sem nenhum tratamento com resultados acima de $5,0 \text{ U mL}^{-1}$, e foram obtidos valores abaixo de $2,0 \text{ U mL}^{-1}$ utilizando resíduos que foram tratados quimicamente.

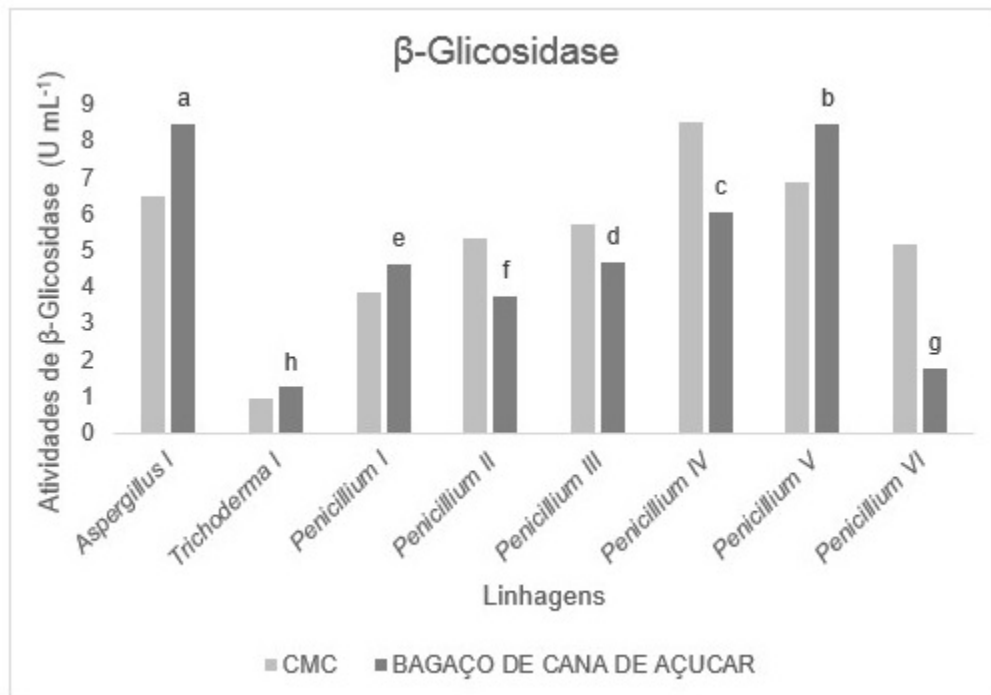


FIGURA 3 Produção de β-glicosidase das oito linhagens de fungos filamentosos na presença do substrato de bagaço de cana de açúcar comparado com o controle CMC. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para a produção de celulase total (FPase), a linhagem que se demonstrou mais promissora foi *Trichoderma* I com atividade de celulase total de $0,06 \text{ U mL}^{-1}$, e ainda revelou um padrão de atividade completamente diferente quando comparado com as demais linhagens como observado na Figura 4. As linhagens *Aspergillus* I, *Penicillium* III, *Penicillium* IV, não apresentaram variações entre si, com produção de $0,02 \text{ U mL}^{-1}$. Avaliando a atividade enzimática de celulase total com *Trichoderma reesei* BASSO et al., (2010) descreveu resultados bem próximos aos encontrados neste trabalho, com valores máximos de $0,05 \text{ U mL}^{-1}$, utilizando o bagaço de cana de açúcar como fonte de carbono. Alguns gêneros como *Penicillium*, *Aspergillus* e *Trichoderma* já são descritos como bons produtores de enzimas do complexo celulolítico (AGUIAR & MENEZES, 2000; CASTRO & PEREIRA, 2010; MAEDA et al., 2011; MAEDA et al., 2013).

É importante ressaltar que fungos filamentosos coletados na região Amazônica do norte de Mato Grosso utilizados na avaliação da atividade celulolítica em bagaço de cana de açúcar, não se encontram em seu ambiente natural, e de acordo com RUEGGER & TAUKE-TORNISIELO (2004) o ambiente artificial nas condições de cultivo não promovem competição e interação com demais micro-organismos, que também atuam na hidrólise de materiais orgânicos, sendo assim, é quase impossível a degradação completa dessa biomassa. Porém, outros fatores também podem influenciar na atividade dessas enzimas como a necessidade nutricional dos micro-organismos e a síntese de metabólitos desejados (PANDEY et al., 2000).

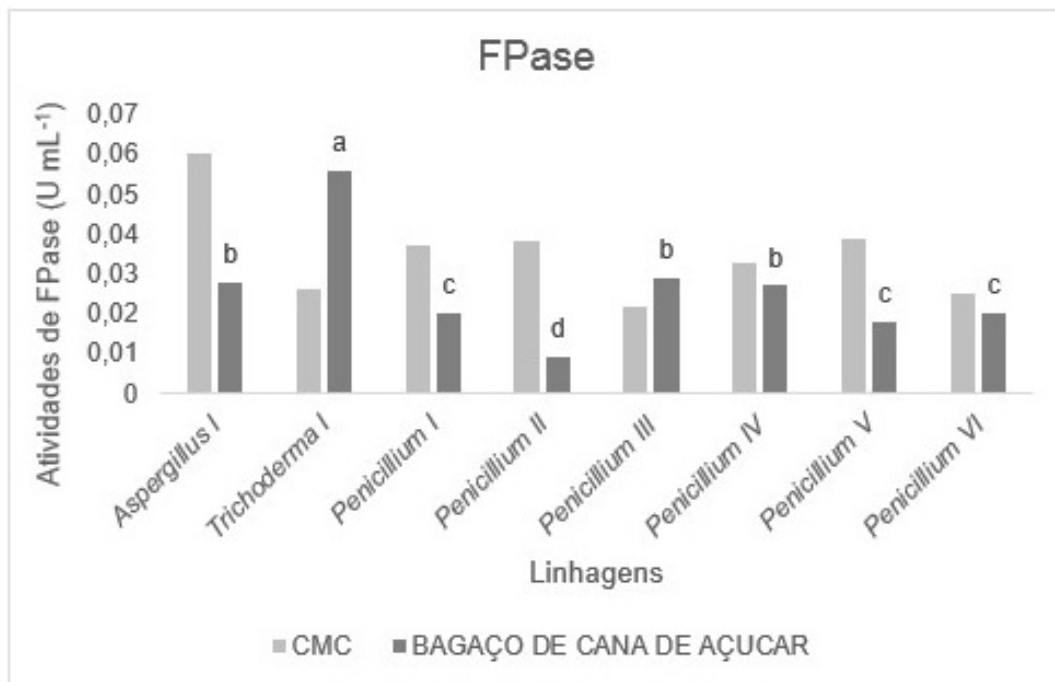


FIGURA 4 Produção de FPase das oito linhagens de fungos filamentosos na presença do substrato de bagaço de cana de açúcar comparado com o controle CMC. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

CONCLUSÃO

A utilização de fungos filamentosos, isolados de amostras de solo da floresta Amazônica, se mostrou em geral promissora no processo de hidrólise da celulose presente no bagaço de cana de açúcar, o qual por sua vez também se mostrou como uma fonte de elevado potencial biotecnológico. Dentre as oito linhagens estudadas, a que mais se destacou foi *Aspergillus* I com atividade de CMCase de $0,37 \text{ U mL}^{-1}$ e para β -glicosidase atividade de $8,46 \text{ U mL}^{-1}$, já para produção de avicelase *Penicillium* I foi obtido atividade de $0,64 \text{ U mL}^{-1}$ e para a produção de celulase total foi o *Trichoderma* I com atividade de $0,06 \text{ U mL}^{-1}$.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. L.; MENEZES, T. J. B. Produção de celulases e xilanases por *Aspergillus niger* IZ-9 usando fermentação submersa sobre bagaço de cana de açúcar. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 57 -70, 2000.
- BASSO, T. O.; GALLO, C. R.; BASSO, L. C. Atividade celulolítica de fungos filamentosos isolados de bagaço de cana de açúcar e madeira em decomposição. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 11, p. 1282-1289, 2010.
- BETANCUR, G. J. V.; PEREIRA, Jr., N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I. Diluted acid pretreatment optimization.

Electronic Journal of Biotechnology, v. 13, n. 3, p. 1-9, 2010.

CASTRO, A. M; PEREIRA, N. J. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Avaliação da safra agrícola de cana-de-açúcar**. Brasília, 2013. Disponível em:< www.conab.gov.br/>. Acesso em: 17 mar. 2015.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Widows versão 4.0**. In 45^a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, p. 255-258, 2000.

FERREIRA JUNIOR, O. L.; VILELA, E. S. D.; GIOVEDY, J. S.; SILVA, C. M. M. S.; MELO, I. S. Atividade de enzimas lignocelulolíticas envolvidas na degradação do bagaço de cana de açúcar por linhagens fungicas da Caatinga. **Congresso interinstitucional de iniciação científica**, 5, 2011. Anais... Campinas: Embrapa Monitoramento por satélite.

GUIMARÃES, L. H. S.; PEIXOTO-NOGUEIRA, S. C.; MICHELIN, M.; RIZZATTI, A. C. S.; SANDRIM, V. C.; ZANOELO, F. F.; AQUINO, A. C. M. M.; JUNIOR, A. B.; POLIZELI, M. L. T. M. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. **Brazilian Journal of Microbiololy**, v. 37, p. 474-480, 2006.

LEITE, R. S. R.; GOMES, E.; SILVA, Characterization and comparison of thermostability of purified β -glucosidases from a mesophilic *Aureobasidium pullulans* and a thermophilic *Thermoascus aurantiacus*. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1101-1106, 2007.

LIAO, H.; FAN, X.; MEI, X.; WEI, Z.; RAZA, W.; SHEN, Q.; XU, Y. Production and characterization of cellulolytic enzyme from *Penicillium oxalicum* GZ-2 and its application in lignocellulose saccharification. **Biomass and Bioenergy**, v. 74, p. 122-134, 2015.

LYND L. R.; WEIMER P. J.; ZYL W. H. V.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.

MARTINS, L. F.; KOLLING, D.; CAMASSOLA, M.; DILLON, A. J. P.; RAMOS, L. P. Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* cellulases in relation to their activity against various cellulosic substrates. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1417-1427, 2008.

MAEDA, R. N.; BARCELOS, C. A.; SANTA ANNA, L. M. M.; PEREIRA, J. N. Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis

of sugar cane bagasse for second generation ethanol production by fed batch operation. **Journal of Biotechnology**, v. 163, p. 38-44, 2013.

MAEDA, R. N.; SERPA, V. I.; ROCHA, V. A. L.; MESQUITA, R. A. A.; SANTA ANNA, L. M. M.; CASTRO, A. M. de; DRIEMEIER, C. E.; PEREIRA Jr, N.; POLIKARPOV, I. Enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse using *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma harzianum* cellulases. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 1196-1201, 2011.

MENEZES, C. R.; SILVA, I. S.; DURRANT, L. R.; Bagaço de cana: fonte para a produção de enzimas ligninocelulolíticas. **Estudos Tecnológicos**, v. 5, n. 1, p. 68-78, 2009.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MUSSATO, S. I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P.M.R.; SILVA, J.P.A.; CARNEIRO, L.M.; ROBERTO, I.C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J.; Technological trends, global market, and challenges of bioethanol production. **Biotechnology advances**, v.28, p.817-830,2010.

NOGUEIRA, E. B. S.; CAVALCANTI, M. A. Q. Cellulolytic fungi isolated from processed oats. **Revista de Microbiologia**, v. 27, n. 1. p. 7-9, 1996.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T. Biotechnological potential of agroindustrial residues. I; sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v.74, p.69-80, 2000.

RUEGGER, M. J. S.; TAU-KORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins. São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 2, p. 205-211, 2004.

SILVA, C. F. L.; SCHIRMER, M. A.; MAEDA, R. N.; BARCELOS, C. A. Potential of giant reed (*Arundo donax* L.) for second generation ethanol production. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, p. 10-15, 2015.

SIQUEIRA, F. G. de; SIQUEIRA, L. G. de; JARAMILLO, P. M. D.; SILVEIRA, M. H. L.; ANDREAS, J.; COUTO, F. A.; BATISTA, L. R.; FERREIRA FILHO, E. X. The potential of agroindustrial residues for production of holocellulase from filamentous fungi. **International Biodeterioration and Biodegradation**, V.64, P. 20-26,2010.

SORENSEN, A.; LÜBECK, M.; LÜBECK, P. S.; AHRING, B. K. Fungal Beta-Glucosidases: A Bottleneck in Industrial Use of Lignocellulosic Materials, **Biomolecules**, v. 3, p. 612-631, 2013.

THIEME, M.; LEHNER, B.; ABELL, R.; HAMILTON, S. K.; KELLNDORFER, J.; POWELL, G.; RIVEROS, J. C. Freshwater conservation planning in

datapoor areas: an example from a remote Amazonian basin (Madre de Dios River, Peru and Bolivia). **Biological Conservation**, v. 13, n. 4, p. 484-501, 2007.

VALENCIA, E. Y.; CHAMBERGO, F. S.; Mini-review: Brazilian fungi diversity for biomass degradation. **Fungal Genetics and Biology**, v. 60, p. 9-18, 2013.

VOGEL, H. F. Distribution of lysine pathways among fungi: evolutionary implications. **The American Naturalist**, v. 98, n. 903, p. 435-446, 1964.