



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

CAMPUS DE ARAPIRACA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – LICENCIATURA PLENA

LUCAS DE ALMEIDA SILVA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE PIGMENTOS DE
FUNGOS ISOLADOS DE LIQUENS DA ANTÁRTICA**

ARAPIRACA – AL

2019

Lucas de Almeida Silva

Atividade Antioxidante e Antimicrobiana de Pigmentos de Fungos Isolados de Líquens da Antártica

Monografia apresentada ao curso em Ciências Biológicas – Licenciatura Plena da Universidade Federal de Alagoas – *Campus* de Arapiraca como requisito para obtenção de grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Alysson Wagner Fernandes Duarte.

Arapiraca - AL
2019

LUCAS DE ALMEIDA SILVA

Pigmentos de Fungos Isolados de Líquens da Antártica: Atividade Antioxidante e Antimicrobiana

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas – Licenciatura Plena, da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, *Campus* de Arapiraca, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Data de Aprovação: 20 de dezembro de 2019.

Banca Examinadora

Alysson Wagner Fernandes Duarte
Prof. Dr. Alysson Wagner Fernandes Duarte - Presidente

Aline Cavalcanti de Queiroz
Prof.^a Dr.^a Aline Cavalcanti de Queiroz – Membro 1

Kelly Fernanda Seára da Silva
Dr.^a Kelly Fernanda Seára da Silva – Membro 2

Arapiraca, 20 de dezembro de 2019.

Dedico esse trabalho ao meu pai Arlindo Lopes da Silva (*in memoriam*), pelo qual me fez ser o ser humano que sou, com todo amor, carinho e paciência, que até seu último dia de vida me propiciou.

Pai, te amo.

AGRADECIMENTOS

Então... Chegando ao fim de um ciclo... Esta etapa foi conquistada através de MUITOS incentivos, MUITOS sorrisos, MUITAS lágrimas, INÚMEROS conselhos, palavras boas e ruins, e até mesmo “puxões de orelha”.

Agradeço a Deus, pelo dom da vida, pela paciência e coragem dadas a mim.

Agradeço a minha mãe, Maria de Almeida Silva, que sempre esteve comigo, nos melhores e piores momentos de minha vida, mandando ir dormir depois de uma longa noite mal dormida ou por estudar demais para provas ou atividades seguintes, mãe, por tudo muito obrigado!

Aos meus irmãos, Renato de Almeida Silva, José Willian de Almeida Silva e Adrielle de Almeida Silva por me incentivarem nessa caminhada do curso de graduação e no término desse trabalho de conclusão de curso, ao meu cunhado, Carlos Eduardo por me incentivar sempre, e ao meu sobrinho Davi de Almeida Liberato por me proporcionar sorrisos e gargalhadas nos mais diversos momentos, e por me fazer rir quando me pergunta, Tio ‘Uca, você vai ‘pa’ escola!?! O Tio ‘Uca te ama! Amo todos vocês.

Ao meu pai, Arlindo Lopes da Silva (*in memoriam*), que em menos de um mês de curso veio a me deixar nesse mundo, mas que sempre esteve em meus pensamentos e lembranças, obrigado pelo amor, carinho, ensinamentos e dedicação em toda minha vida. Papai, eu te amo eternamente!

Ao meu grupinho de academia, em especial Helô por sempre estar comigo, parceira de viagens, prova, apresentação, e rolês aleatórios por aí, a Jesga, Osmanzinho, NaKelly, Larissinha, e Jenny, obrigado por todo incentivo e por todas as gargalhadas jogadas fora. Migooooooooos, amo vocês!

Ao meu orientador, Alysson Wagner Fernandes Duarte, por toda atenção, dedicação, ‘puxão de orelha’ e por me proporcionar uma vaga no melhor projeto em Microbiologia que pude participar, estudando sobre líquens do ambiente antártico, e fazendo com que as pessoas me apelidassem de Lucas das Bactérias ou dos Pigmentos, muito obrigado!

Aos meus colegas de classe, que me fizeram ter os melhores 3 anos e meio de curso feliz, dançante e divertido, a vocês eu agradeço, Raquel, Clara, Jéssica Emily, Duda, Ana Paula, Renata, Amandinha, Amanda Mendes, Karol, Bia, Gaby, Bruna, Wesley, Milton e Larissa – obrigado por todo conhecimento compartilhado e adquirido com vocês. Os Frescos nos tornamos, Os Frescos somos e Os Frescos eternizaremos!

Ao meu amigo de alguns períodos e de curso, Adriano, por quem estive comigo em todo esse processo do curso e construção do TCC. Muito obrigado amigo, te devo muito!

Aos meus parças de laboratório, Mayanne por quem me ajudou bastante nesse processo de aprendizagem de tudo que absorvi como informação no LABMEG e LABMIP, a minha parceira de pesquisa Hyandra – por quem me ajudou bastante, Tiago e Sabrina – por proporcionar alegria, risadas e muitas placas lavadas, obrigado meus parças!

Aos meus familiares, primos, tias, tios, avós e demais, por me incentivar cada vez mais nessa jornada acadêmica. Em especial também as minhas primas, Bianca, Letícia, Karlla, Conceição, Iane, Rafaella. E aos meus amigos de longa data, Gilvânia, Elynha, Jane, Vivi, Maria, Michel, Gideone Felipe, Martinha, Tiago D., Joice Barbosa e ao Wanderson F., foi quem me proporcionou primeiramente essa paixão pela microbiologia.

Encarecidamente a professora Márcia Cristina (Paleo-Deusa), pela qual me ajudou imensamente, além de um incentivo GIGANTESCO para finalizar esse trabalho. Aos professores do curso que foram indispensáveis para esse meu processo de formação, e aos professores das séries anteriores (ensino médio e fundamental I e II), vocês são excelentes e vou levá-los para sempre em minha memória!

A Universidade Federal de Alagoas – *Campus* de Arapiraca, a FAPEAL (Processo 60030 1074/2016) e CNPq (Processo 433388/2018-8), pois me proporcionaram, inclusive financeiramente, o início e término desse trabalho.

Eu sou muito grato a todos vocês!

Não vale a pena mergulhar nos sonhos e esquecer de viver. Muitas vezes sonhamos demais e não acordamos pra tomar uma atitude. As consequências dos nossos atos são sempre tão complexas, tão adversas, que prever o futuro é uma tarefa realmente difícil. Afinal, aquilo que amamos sempre será parte de nós.

Albus Percival Wulfric Brian Dumbledore – Harry Potter

RESUMO

Em condições extremas, os microrganismos da Antártica resistem a circunstâncias adversas, tais como escassez de água e nutrientes, altas radiações e temperaturas negativas. Por sobreviverem a baixas temperatura e excesso de radiação solar, os microrganismos desse lugar produzem metabólitos secundários de interesse biotecnológico, como os pigmentos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a produção de pigmentos por leveduras e fungos filamentosos isolados de líquens da Antártica, bem como prospectar a capacidade antioxidante e ação antimicrobiana desses metabólitos. Os isolados foram inicialmente triados em relação a produção de pigmentos em meio de cultura sólido Ágar Extrato de Levedura e Malte (YMA) a 15,0 °C. Posteriormente foi realizado o cultivo dos isolados e a produção dos pigmentos em meio líquido. Os pigmentos foram extraídos em etanol e submetidos à varredura de absorbância em espectrofotômetro de luz UV-visível acoplado a um computador em um intervalo de 200 a 800 nm. O ensaio antioxidante foi realizado pelo método de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), utilizando o substrato 2,4,6-tripiridil-s-triazina, e a curva padrão padronizada com FeSO₄ e leitura de absorbância a 595 nm. A atividade antimicrobiana foi realizada utilizando o método de difusão em disco, em placas contendo meio de cultura sólido Ágar Mueller Hinton, utilizando os microrganismos indicadores *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Candida albicans* ATCC 10231, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli* ATCC 25922, aplicando o pigmento em discos estéreis e incubando a uma temperatura de 37,0 °C durante 18 e 20 horas. Foram obtidos 32 extratos metabólitos de pigmentos por fungos da Antártica, variando entre as cores amarelo, laranja, vermelho e creme. A caracterização parcial dos pigmentos apresentou picos máximos em comprimento de onda entre 370 e 500 nm e em relação a atividade antioxidante, os melhores resultados apresentam atividade entre 1,94 e 1,80 mM de FeSO₄ correspondentes aos isolados AFL19 e 19L15, respectivamente. Para atividade antimicrobiana, o melhor resultado observado foi contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Nesse sentido, pode-se concluir que os pigmentos produzidos por fungos da Antártica possuem colorações variando principalmente entre laranja, amarelo e vermelho e em uma caracterização inicial aponta para uma possível aplicação antioxidante e antimicrobiana desses metabólitos

Palavras-chaves: Extremófilos. Fungos. Prospecção. Leveduras. Pigmentos Intracelulares.

ABSTRACT

Under extreme conditions, Antarctic microorganisms resist adverse circumstances such as water and nutrient scarcity, high radiation and negative temperatures. By surviving low temperatures and excessive solar radiation, the microorganisms in this place produce secondary metabolites of biotechnological interest, such as pigments. The objective of this work was to evaluate the pigment production by yeast and filamentous fungi isolated from Antarctic lichens, as well as to prospect the antioxidant capacity and antimicrobial action of these metabolites. The isolates were initially screened for pigment production in solid yeast and malt extract agar medium (YMA) at 15.0 °C and then the isolates were cultured and the pigment production in liquid medium. The pigments were extracted in ethanol and subjected to absorbance scanning on a UV-visible light spectrophotometer coupled to a computer in a range of 200 to 800 nm. The antioxidant assay was performed by the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method using the 2,4,6-tripidyl-s-triazine substrate and the standard curve standardized with FeSO₄ and absorbance reading at 595 nm. Antimicrobial activity was performed using the disk diffusion method in plates containing solid culture medium Mueller Hinton Agar using the indicator microorganisms *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Candida albicans* ATCC 10231, *Streptococcus agalactiae* and *Escherichia coli* ATCC 25922, applying the pigment to sterile discs and incubating at 37.0 °C for 18 and 20 hours. Thirty two Antarctic fungal pigment metabolite extracts were obtained, ranging from yellow, orange, red and cream. The partial characterization of the pigments presented maximum peaks in wavelength between 370 and 500 nm and in relation to antioxidant activity, the best results presented activity between 1.94 and 1.80 mM FeSO₄ corresponding to isolates AFL19 and 19L15, respectively. And for antimicrobial activity, the best result was against Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*. In this sense, it can be concluded that the pigments produced by Antarctic fungi have colors ranging mainly from orange, yellow and red and in an initial characterization points to a possible antioxidant and antimicrobial application of these metabolites.

Keywords: Extremophiles. Fungi. Prospection. Yeasts. Intracellular Pigments.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Líquens saxícolas presentes em rochas da Antártica.....	17
FIGURA 2 - A, B e C. Líquens que habitam rochas e solos na Antártica	18
FIGURA 3 - Caracterização macroscópicas das leveduras da Antártica produtoras de pigmentos em meio de cultura YMA cultivadas a 15 °C durante 7 dias. A. Leveduras. B. Fungo filamentososo (1LF19).....	26
FIGURA 4 - Pigmentos produzidos por fungos filamentosos e leveduras isoladas de líquens da Antártica.....	26
FIGURA 5 - Perfis de varredura de absorvância (intervalo de 200 a 800 nm) dos pigmentos produzidos por leveduras isoladas de líquens da Antártica.....	28
FIGURA 6 - Placas de Petri em experimentos de atividade antimicrobiana de pigmentos produzidos por fungos da Antártica. A. <i>Staphylococcus aureus</i> e B. <i>Candida albicans</i> . C. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Proporção quantitativa dos isolados de líquens, juntamente com sua coloração a partir da colônia em meio sólido.	25
TABELA 2 - Atividade antioxidante dos pigmentos prospectados por leveduras da Antártica	31
TABELA 3 - Halos de inibição de crescimento (mm) de amostras de pigmentos produzidos por leveduras e fungo filamentoso da Antártica.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CYP P450	Citocromo P450
CO ₂	Dióxido de carbono
EM	Extrato de Malte
FeSO ₄	Sulfato de ferro (II)
FRAP	<i>Ferric reducing Antioxidant Power</i>
g/L	Gramas por litro
Km	Quilômetros
MIC	Concentração Inibitória Mínima
ml	Mililitros
Mm	Milimolar
N	Amostras que não tiveram resultados satisfatórios
N	Número
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NCEx	Núcleo de Ciências Exatas
Nm	Nanômetros
OPERANTAR	Operação Antártica
O ₂	Gás oxigênio
Ph	Potencial Hidrogeniônico
Rpm	Rotações por minuto
TPTZ	2,4,6-Tripyridyl-s-triazine
UV	Ultravioleta
UVA	Radiação Ultravioleta do tipo A
UVB	Radiação Ultravioleta do tipo B
YMA	<i>Yeast Malt Agar</i>
°C	Graus célsius
µm	Micrômetro
µg	Microgramas
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Objetivos.....	15
1.1.1 Geral	15
1.1.1 Específico	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Características do Ambiente Antártico.....	16
3.2 Extremófilos e psicrotolerantes	16
3.3 Diversidade de fungos na Antártica.....	17
3.4 Pigmentos microbianos	18
3.5 Pigmentos com ação antimicrobiana	19
3.6 Pigmentos com atividade antioxidante.....	20
3 METODOLOGIA	22
3.1 Isolamento dos fungos de amostra de líquens	22
3.2 Reativação dos isolados e meios de cultivo.....	22
3.3 Produção e extração dos pigmentos a partir dos isolados	22
3.4 Perfil de absorbância dos pigmentos produzidos por fungos da Antártica.....	23
3.5 Avaliação da capacidade antioxidante.....	23
3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
4.1 Caracterização inicial dos pigmentos produzidos por fungos da Antártica.....	25
4.2 Atividade antioxidante de pigmentos de fungos da Antártica.....	30
4.3 Atividade antimicrobiana de pigmentos de fungos da Antártica.....	32
5 CONCLUSÕES	36
6 REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

Os seres extremófilos são descritos como organismos capazes de sobreviver em diferentes condições limitantes, como diferentes temperaturas e essa sobrevivência são resultantes de um processo adaptativo ao longo dos anos (BARATO, 2014). O ambiente antártico é descrito por ser um deserto gelado, onde apresenta condições bem adversas, tais como altas radiações UVA e UVB, salinidade, indisponibilidade de água na forma líquida, além de um frio extremo. E tais características limitam a sobrevivência de muitos organismos naquele ambiente (SOUZA, 2016). Entretanto, os microrganismos que adaptados a esse ambiente possuem uma plasticidade metabólica adaptativa essencial na sobrevivência a tais condições adversas (DUARTE, 2015).

Organismos mesófilos possuem uma faixa ótima de crescimento entre 25,0 e 40,0 °C, enquanto os termófilos variam de 40 a 85,0 °C (BLUMER-SCHUETTE, 2014; GEORLETTE, 2003) e os psicrófilos entre 10,0 a 15,0 °C (BENDIA, 2018; GERDAY, 1997). Outro termo utilizado para os organismos habitantes do frio são os psicrotolerantes, são aqueles que possuem um crescimento entre 10,0 a 20,0 °C e a temperatura ótima de crescimento é acima dessa temperatura. Na Antártica ocorrem principalmente os psicrófilos e os psicrotolerantes (HELMKE, 2004).

Devido a tais condições adversas, os microrganismos existentes nesse ambiente produzem biomoléculas diferenciadas e, dentre essas moléculas bioativas, estão os pigmentos, que são substâncias de coloração diferenciada que podem ser encontradas em plantas, macro e microrganismos e que podem ser extraídas e utilizadas para diversas finalidades, dentre elas, a aplicação biotecnológica (SOUSA, 2016).

Pigmentos são substâncias capazes de corar diversos materiais e são utilizadas na produção de alimentos, cosméticos, fármacos, indústria de tecidos, dentre outras aplicações (ABEROUMAND, 2011). Podem ser encontrados em diversos organismos e substratos, desde vegetais e microrganismos associados a líquens. Em vegetais, podemos encontrar a clorofila, sendo o pigmento mais abundante desses organismos (VOLP, 2009). Em líquens, podemos encontrar uma diversidade múltipla de pigmentos e corantes, dentre eles o carotenoide, onde pode ser encontrado em diversas espécies de microrganismos (KIRTI et al., 2014). Kirti (2014) destaca que as bactérias podem abrigar uma diversidade de pigmentos como carotenoides, além de β -caroteno, zeaxantina, astaxantina e violaceína.

Os antioxidantes são substâncias que retardam a oxidação de outras moléculas e essa oxidação é uma reação química que tem por função transferir elétrons ou hidrogênio de

substância para um agente oxidativo (MOSCA, 2017). Essa troca de elétrons desempenha uma reação de oxidação que produz radicais livres e a presença desses radicais livres promovem situações críticas para manutenção da fisiologia funcional do organismo (BIANCHI, 1999). Esses radicais acometem as células saudáveis, as danificando ou ocorrendo morte celular. Portanto, os antioxidantes são substâncias importantes para reduzir a ação deletéria dos radicais livres sobre as células. Os antioxidantes podem ser encontrados em vegetais, vitaminas, alimentos, pigmentos e organismos macro e microscópicos. Os antioxidantes são compostos por substâncias enzimáticas e não-enzimáticas (MOREIRA; SHAMI, 2004).

Como principais agentes antioxidantes não enzimáticos: α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno enzimático, ácido ascórbico (vitamina C), flavonoides, proteínas do plasma, selênio, glutathiona, clorofilina, L-cisteína e curcumina, esses agentes não enzimáticos são divididos em lipofílicos e hidrofílicos. E, os enzimáticos: catalase, superóxido dismutase, NADPH-quinona oxido redutase, glutathiona peroxidase, enzimas de reparo, que agem evitando o acúmulo de peróxido de hidrogênio e o ânion radical superóxido (MOSCA, 2017).

Os radicais livres são átomos ou moléculas produzidas continuamente durante os processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes no metabolismo. As principais fontes de radicais livres são as organelas citoplasmáticas que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, gerando grande quantidade de metabólitos. (SHAMI; MOREIRA, 2004, p. 2).

Uma preocupação na saúde pública atual é a resistência que os microrganismos patogênicos vêm obtendo no decorrer dos tempos, chamada de resistência antimicrobiana. Está sendo descrita como um dos fatores que mais acometem casos de óbito no mundo. São descritas mais de 700.000 mortes por ano em todo o mundo apenas pela resistência que esses microrganismos têm desenvolvido. Vale ressaltar também, que os antimicrobianos estão entre as classes de medicamentos mais prescritas (ESTRELA, 2018). A resistência antimicrobiana é influenciada diretamente pelo uso excessivo de antibióticos dentro ou fora de instituições de saúde, além do uso incorreto desses fármacos, pela interrupção de um tratamento longo ou ainda pelo extensivo uso desses fármacos no setor pecuário. Esses fatores são importantes no aumento global da ocorrência das superbactérias. Essas superbactérias são formadas pelo uso incorreto dos antibióticos, podendo ser gerada de forma aleatória, quando ocorre uma alteração no material genético bacteriano, e por adquirir um tipo de material genético externo, seja por outras bactérias ou por vírus (SANTOS, 2004; FRACAROLLI et al., 2017).

Neste sentido, a busca por substâncias naturais com melhores atividades antioxidantes e antimicrobianas é uma demanda atual. E estudar compostos produzidos por microrganismos de ambientes pouco conhecidos ou explorados como a Antártica pode ser bastante promissor. Nessa perspectiva, o presente trabalho busca avaliar a produção de pigmentos extraídos de fungos da Antártica, bem como as propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Avaliar a produção de pigmentos por fungos isolados de líquens da Antártica, bem como a atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos pigmentados.

1.1.2 Específicos

- Avaliar a produção de pigmentos produzidos por fungos isolados da Antártica;
- Avaliar a atividade antioxidante dos pigmentos de fungos da Antártica;
- Realizar ensaios de atividade antimicrobiana frente a microrganismos patogênicos;
- Caracterizar o perfil de varredura de absorbância dos pigmentos produzidos por fungos da Antártica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características do Ambiente Antártico

A Antártica é caracterizada como um dos ambientes mais extremos da Terra, muitas vezes é levada como um ambiente de uma única paisagem, pelo fato de apresentar muito gelo a retratando de modo homogênea. No entanto, a Antártica possui uma pluralidade de ambientes tanto marinhos, quanto terrestres, com condições extremas, de altas pressões, escassez de água e nutrientes, onde somente organismos com adaptações fantásticas são capazes de sobreviver a esse tipo de ambiente (ROSA, 2010). O continente Antártico possui uma área de 13.829.430 km², onde somente 44.829 km² não é coberto pelo gelo. Devido estar localizada no eixo polar da Terra – Círculo Polar Antártico – essa condição faz com que em meses dos equinócios de inverno, as noites sejam muito longas e nos meses de solstícios de verão, os dias sejam longos, dado isso, a temperatura desse ambiente é extremamente baixa, chegando a -89,2 °C, possuindo uma camada de gelo com cerca de 1.829 km de espessura chegando ao mar e perfazendo enormes falésias de gelo (SILVA, 2018).

2.2 Extremófilos e psicrotolerantes

Os extremófilos são organismos que sobrevivem a ambientes extremos. Ao remeter extremófilos, esse termo é genericamente tratado como impossibilidade de sobrevivência de todos ou qualquer organismo, mais precisamente o ser humano. No entanto, este termo é mais utilizado quando se refere aos organismos microscópicos, os quais conseguem sobreviver relativamente bem em seu habitat e nicho ecológico com diferentes pressões seletivas (NICOLAU, 2010). Microrganismos extremófilos são influenciados por fatores físicos e químicos como baixa pressão, temperatura, altas radiações UVA e UVB, salinidade, pH e indisponibilidade de água na sua forma líquida e baixa disponibilidade de nutrientes. Alguns organismos que vivem em ambientes extremos possuem terminologias bem variadas, como: psicrófilos, termófilos, acidófilos, alcalófilos, oligotrófilos, dentre outros (DUARTE, 2015).

Os psicrófilos, do grego *psykhrós*, frio e *philein*, amar, são microrganismos que habitam ambientes frios, com temperaturas variadas de -20,0 °C para um ótimo desenvolvimento microbiano, e que essa temperatura esteja num ponto de congelamento de água. As enzimas que fazem parte de seu desenvolvimento celular, são caracterizadas por uma alta atividade catalítica e que podem trabalhar em temperaturas na faixa de 10,0 e 20,0 °C. Essas enzimas atualmente são usadas para produção de cosméticos, indústria de alimentos e

detergentes. Os termos psicrófilos e psicrotolerantes podem ser distinguidos de maneira que psicrófilos são organismos que vivem em ambientes frios, com faixa de temperatura até 15,0 °C, e os psicrotolerantes são organismos que são adaptados a sobreviverem em temperaturas baixas, porém a temperatura ótima é superior a 20,0 °C (GARCÍA-LÓPEZ, 2017).

2.3 Diversidade de fungos na Antártica

Os microrganismos representam a maior parte da diversidade encontrada na Antártica, mais especificamente os fungos, podem ser encontrados em diversos substratos, como plantas, solo, rochas, gelo e animais. Devido as condições extremas, os microrganismos contribuem para a biodiversidade na Antártica, e estão representados como a maior diversidade biológica naquele lugar, pois sua capacidade adaptativa as tais condições extremas se sobressaem devido sua forte aptidão de colonização em diferentes substratos, outrossim de uma facilidade na dispersão e colonização com baixo teor de gasto de energia metabólica (GOMES, 2017).

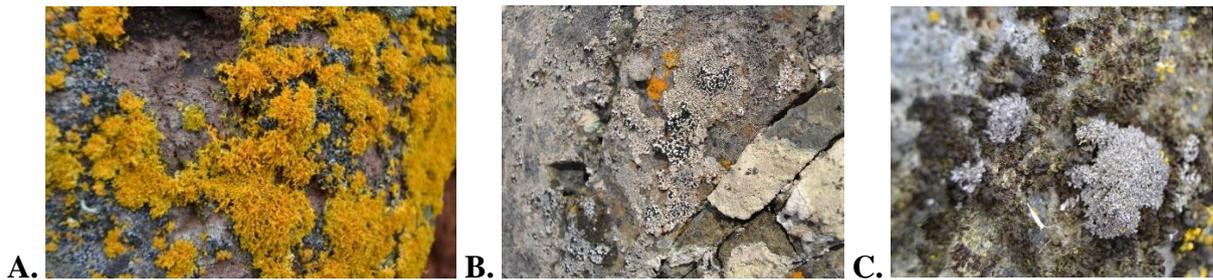
Os líquens são substratos muito presentes na Antártica (Figuras 1 e 2). Os líquens, do grego *Leikhen*, que significa planta rastejante, são descritos como estruturas complexas, onde existe uma associação entre dois organismos, um fotobionte (microalga ou cianobactéria) e um micobionte (fungo), essa associação é caracterizada como mutualística, onde prevê o benefício para ambos os dois organismos (MOREIRA, 2013; DUARTE, 2015). Os microrganismos estão sendo representados como a maior diversidade do ambiente antártico, nos mais diversos tipos de ambientes (ONOFRI, 2004).

Figura 1 - Líquens saxícolas (coloração amarela) presentes em rochas da Antártica.



Fonte: Acervo Pessoal de Alysson Wagner Fernandes Duarte, 2015/2016.

Figura 2 - A, B e C - Líquens que habitam rochas e solos na Antártica.



Fonte: Acervo Pessoal de Alysson Wagner Fernandes Duarte, 2015/2016.

Duarte et al. (2018) aponta que a maioria dos fungos recuperados da Antártica são cosmopolita, ou seja, foram transportados para esse ambiente por correntes marítimas ou por animais migratórios, e outros que são denominados indígenas, pois estão bem adaptados às condições e podem se reproduzir normalmente em baixas temperaturas de forma sem haver prejuízos para colônias seguintes. A diversidade fúngica da Antártica é composta por espécies dos filos *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Glomeromycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota*, são encontrados em diversos tipos de substratos, como rochas, sedimentos de lagos, neve, solos, plantas, água, sedimentos marinhos e macroalgas (GOMES, 2017).

Um tipo de microrganismo que pode sobreviver a ambiente extremófilo frio e pode ser encontrada na Antártica são as leveduras do antigo gênero polifilético *Rhodotorula*, que atualmente foram classificadas em diferentes gêneros (WANG et al., 2015). As culturas são leveduriformes, ovais, esferoidais ou alongadas, com uma reprodução por brotamento polar ou multilateral e são incapazes de produzir esporos, além da ausência de formação rudimentar de pseudo-hifas. Possuem ótimo crescimento de 24 a 48 horas, com temperaturas ótimas variando entre 25,0 a 37,0 °C de incubação. Sua coloração varia entre amarelo e vermelho, com aspecto liso e mucoso (SOUSA, 2016).

2.4 Pigmentos

Pigmentos são substâncias químicas naturais (ou artificiais) liberadas por diversas plantas ou alguns tipos de organismos, de modo que estão relacionadas a diversas atividades biológicas. A clorofila é o pigmento verde natural mais abundante, relacionada ao processo de fotossíntese, está atrelada a diversos tipos de plantas, inclusive crassuláceas, plantas da caatinga, devido em seu organismo possuir cloroplastos, organelas responsáveis pela produção da clorofila. Outro pigmento que pode ser obtido de vegetais é a cúrcuma, extraída da raiz de rizomas tumerosas, mais especificamente da planta *Curcuma longa*, é um pigmento

de cor amarelo-limão brilhante. Assim como a betalaína, de colorações variando de amarelo para vermelho (VOLP, 2009).

Outra fonte de pigmentos está nos microrganismos, podendo encontrar uma diversidade de pigmentos, dentre eles o grupo dos carotenoides e são encontrados em diversos organismos microscópicos, como fungos, algas, bactérias. Os tipos de pigmentos encontrados, são: cantaxantina, licopeno, melanina, rodoxantina, riboflavina e demais (KIRTI et al., 2014), dando coloração a diversos alimentos, comidas, tecidos e outros (UENOJO et al., 2007). Devido essa abundância de pigmentos, as indústrias de comércio têxtil, farmacêutica e alimentícia estão sempre à procura de novos pigmentos naturais, pois o interesse em pigmentos derivados de substâncias sintéticas está diminuindo devido as propriedades tóxicas presentes nas fontes. Enquanto os pigmentos extraídos de microrganismos estão recebendo maior visibilidade por serem de origem natural (ABEROUMAND, 2011; KIRTI et al, 2014; UENOJO et al., 2007; MESQUITA et al., 2017; MALIK et al., 2012).

Em uma expedição OPERANTAR, no verão antártico de 2015, foram coletadas algumas amostras de fungos, e entre elas foi encontrado um fungo filamentosso de coloração azul, cultivado em em ágar Sabouraud e então identificado por taxonomia polifásica como *Antarctomyces pellizariae*, uma nova espécie de *Ascomycota* (MENEZES et al., 2016). Devido essa capacidade dos microrganismos antárticos de produzirem compostos naturais, vem sendo explorada cada vez mais, biomoléculas como enzimas capazes de produzir pesticidas, proteínas anticongelantes e pigmentos fotoprotetores, perfazendo assim, novos compostos para uso em biotecnologia (VALDUGA et al., 2009; SILVA, 2013; TULI et al., 2014).

2.5 Pigmentos com Ação Antimicrobiana

Antimicrobianos ou antibióticos são substâncias produzidas por organismos capazes de causar efeitos adversos em outros organismos (DAVIES, 1990), e que muitas dessas substâncias proporcionam vantagem competitiva para o organismo produtor (RODRIGUES, 2009). Os antimicrobianos são classificados de acordo com a finalidade que são produzidos, classificados como bactericidas, quando afetam a célula bacteriana, bacteriostáticos, quando inibem o crescimento dos microrganismos (GUIMARÃES, 2010).

Microrganismos de ambientes de clima seco e frio produzem bioativos naturais que demonstraram eficácia com atividade antimicrobiana (CAVICCHIOLI, 2002; MOJIB, 2010). Guimarães (2010), aponta que entre as décadas de 1960 e 1980, os antibióticos

semissintéticos chegaram no mercado, onde eram eficazes para tratar microrganismos patogênicos tanto Gram-positivos quanto Gram-negativos, e que já existia relatos de resistência aos antibióticos naturais.

O método de difusão em disco é uma técnica para realização de testes de sensibilidade aos antimicrobianos (CUTRIM, 2017), devido ser uma técnica antiga, ainda é muito utilizada em diversos laboratórios, devido seu resultado ser muito preciso e não requer equipamentos para avaliar (FRANÇA, 2015). Um outro método, é o da Concentração Inibitória Mínima (MIC), que visa verificar uma concentração que um antimicrobiano é capaz de inibir o crescimento bacteriano, levando em consideração de quanto menor o MIC, maior será a potência, conseqüentemente, maior será a dificuldade em desenvolver resistência (CUTRIM, 2017).

Podem agir em diferentes sítios de ação, como na síntese da parede celular, permeabilidade da membrana, síntese proteica e nos ácidos nucleicos. Alguns aminoácidos são precursores para a biossíntese de antibióticos β -lactâmicos, como a penicilina (CUNHA et al., 2010). Com essa descoberta dos metabólitos secundários, em 1929, por Alexander Fleming, foi produzido a partir desses metabólitos secundários, a penicilina (*Penicillium crysogenum*) (TAKAHASHI et al., 2017).

2.6 Pigmentos com Atividade Antioxidantes

Os antioxidantes atuam na estabilização de radicais livres, que podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou até mesmo na membrana. Entre os radicais livres, os que são mais reativos são: peróxido de hidrogênio e o ânion superóxido, ambos podem estimular a produção de outros radicais livres, como óxido nítrico e o monofosfato de guanosina cíclico, onde atua no relaxamento da musculatura lisa vascular (BIANCHI; , 1999; MILANI, 2012; MOSCA, 2017).

Os radicais livres são oriundos naturalmente do próprio organismo humano, possui uma grande importância nas funções biológicas, metabólicas e na ativação do sistema imune. No sistema imunológico, os radicais livres possuem ação na eliminação de bactérias externas e são denominados radicais livres endógenos, cuja suas fontes são os peroxissomos, enzimas do citocromo (CYP) P450, na respiração aeróbica e nas inflamações (MOSCA, 2017).

Como principais agentes antioxidantes não enzimáticos: α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno enzimático, ácido ascórbico (vitamina C), flavonoides, proteínas do plasma, selênio, glutathiona, clorofilina, L-cisteína e curcumina. Esses agentes não enzimáticos são divididos

em lipofílicos e hidrofílicos. E, os enzimáticos: catalase, superóxido dismutase, NADPH-quinona oxido redutase, glutathione peroxidase, enzimas de reparo, que agem evitando o acúmulo de peróxido de hidrogênio e o ânion radical superóxido (BIANCHI, 1999; MOSCA, 2017).

Um estudo feito por Oliveira (2012), mostra a eficiência de pigmentos com atividade antioxidante extraídos de cianobactérias, serem mais eficazes que pigmentos de vegetais. Devido estarem expostas a diversas variações de luz e concentrações de O₂ e CO₂, proporciona a sua sobrevivência e muita eficiência ao estresse oxidativo, inclusive, diversos trabalhos foram feitos afim de avaliar a capacidade antioxidante de microalgas e fungos associados a líquens em diferentes sistemas biológicos, incluindo cianobactérias *Spirulina* e *Nostoc* (OLIVEIRA, 2012).

3 METODOLOGIA

3.1 Isolamento dos fungos de amostra de líquens

Os fungos utilizados neste trabalho foram isolados de líquens coletados na Antártica. Foram isolados fungos de 28 amostras de líquens coletadas nos verões de 2015/2016, 2016/2017 durante as operações (OPERANTAR XXXIV e OPERANTAR XXXV). Os líquens foram identificados utilizando aspectos morfológicos e anatômicos em microscópio Zeiss Stemi 2000C e Axiolab, pelo professor Dr. Jair Putzke da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), *Campus* São Gabriel. Foram obtidos no total 409 leveduras e 31 fungos filamentosos nos meios de cultura Extrato de Levedura e Malte (*Yeast Malt Agar* – YMA) e Ágar Extrato de malte (EM). Esta coleção de microrganismos encontra-se preservada por criopreservação em solução de glicerol (20%) em ultrafreezer a -80 °C no Complexo de Ciências Médicas e Enfermagem, *Campus* de Arapiraca.

3.2 Reativação dos isolados e meios de cultivo

Utilizaram-se dois meios de cultura, um para levedura: *Yeast Malt Agar* (YMA), cuja composição química é composta por (em g/L): extrato de levedura, 3,0; peptona, 5,0; glicose, 10,0; extrato de malte, 3,0 e ágar, 20,0. E para fungos filamentosos, utilizou-se meio Extrato de Malte (EM), com composição (em g/L): extrato de malte, 3,0 e ágar, 20,0. Foram adicionados em um Erlenmeyer com tampão de gaze e algodão estéreis e então levados para autoclave a 121,0 °C, durante 15 minutos e após esterilizado, o meio foi vertido em placas de Petri estéreis e ausência de qualquer partícula de água, na capela de fluxo laminar. Os isolados foram cultivados a 15,0 °C para análise da produção de pigmentos em meio sólida e posterior obtenção da biomassa para os ensaios em meio líquido.

3.3 Produção e extração dos pigmentos a partir dos isolados

Para a produção dos pigmentos, foi realizada a triagem das leveduras e fungos filamentosos em meio de cultura sólido Ágar Extrato de Levedura e Malte cultivados até 7 dias a 15,0 °C. Aqueles fungos que apresentaram produção de pigmentos em meio sólido foram cultivados no mesmo meio de cultura acima, porém sem a adição de ágar. Os inóculos das leveduras foram padronizados em espectrofotômetro de luz UV-visível a uma densidade óptica de 600 nm de absorbância e, após esta padronização, foram inoculados 1 mL em 50 mL

de meio de cultura esterilizados em Erlenmeyers de 125 mL. Este material foi incubado em incubadora com agitação tipo *shaker* a 120 rpm (rotações por minuto), durante 7 dias a 15,0 °C. Para os fungos filamentosos a inoculação foi padronizada com 3 discos de 5 mm da região mais distal do fungo filamentoso crescido durante 7 dias a 15,0 °C.

Após o crescimento microbiano em meio de cultura líquido por 7 dias, os extratos foram submetidos a centrifugação a 5.400 rpm durante 10 minutos a 10,0 °C, sendo descartado o sobrenadante e o *pellet* contendo a biomassa celular com o pigmento intracelular submetido a etapa de lavagem com água esterilizada, novamente centrifugado e adicionado 5,0 mL de álcool etílico absoluto e levados ao vórtex para que ocorresse a lise celular, uma vez que os pigmentos eram de origem intracelular. Os tubos foram novamente centrifugados e descartados o *pellet* e o extrato contendo o pigmento armazenado em freezer a -20,0 °C até a realização dos ensaios de antioxidantes, antimicrobianos e perfil de varredura de absorvância.

Já para o fungo filamentoso, o pigmento produzido era extracelular e após o cultivo em meio líquido o pigmento foi separado do micélio por filtração em gaze esterilizada, utilizando-se um funil e um Erlenmeyer (ambos estéreis). Para isto, colocou-se o papel filtro e a gaze e então foi adicionado o extrato pigmentado do fungo filamentoso, retida a biomassa e coletado o pigmento. Em seguida foi realizada a filtração do extrato em membrana 0,22 µm e o extrato pigmentado armazenado em freezer a -20,0 °C até a realização dos ensaios.

3.4 Perfil de absorvância dos pigmentos produzidos por fungos da Antártica

Os extratos brutos contendo os pigmentos foram submetidos a ensaios de caracterização preliminar, utilizando-se varredura de absorvância em um espectrofotômetro de luz UV-visível afim de avaliar o perfil de absorvância dos pigmentos em diferentes comprimentos de onda. O ensaio foi realizado no intervalo de 200 a 800 nm em espectrofotômetro marca MultiSpec – 1501 do Laboratório Biospeckle, situado no Núcleo de Ciências Exatas (NCEX) da Universidade Federal de Alagoas – *Campus* de Arapiraca. A calibração do equipamento se deu com a solução branco utilizando o solvente utilizado na extração do pigmento, o etanol absoluto. Em seguida as amostras foram avaliadas e realizadas as curvas de absorvância versus comprimento de onda.

3.5 Avaliação da capacidade antioxidante

A atividade antioxidante foi realizada pelo método de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) ou Poder Antioxidante de Redução do Ferro. Este método foi desenvolvido para determinar a redução de ferro em substâncias biológicas. A solução de FRAP foi preparada a partir da mistura de 50 mL do tampão do acetato de sódio (pH 3,6), 5 mL da solução de 2,4,6-tripiridil-*sI-triazina* (TPTZ) e 5 mL de cloreto férrico, deixadas em local fresco e ao abrigo da luz. Em seguida, em microtubos de 1,5 mL, adicionou-se 530 µL da solução de FRAP, 30 µL de água destilada e 40 µL do extrato contendo o pigmento microbiano e então foram incubados em banho maria por 30 minutos a 37,0 °C, e posteriormente realizada a leitura de absorvância em espectrofotômetro de luz UV-visível a 595 nm. A curva padrão foi realizada utilizando as soluções de sulfato de ferro II (FeSO₄) nas concentrações de 2,5, 1,25, 0,625, 0,312, 0,156 e 0,078 mM. A solução “branco foi realizada utilizando-se o solvente etanol no lugar do extrato contendo o pigmento microbiano. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana

Para avaliação da atividade antimicrobiana foi utilizado o método de difusão em disco e os microrganismos indicadores avaliados foram: *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Candida albicans* ATCC 10231, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli* ATCC 25922. Os ensaios foram realizados em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton, com inóculo padronizado a 10⁷ células, que configura num ensaio de antibiograma, onde o inóculo da célula dos microrganismos indicadores é padronizado em espectrofotômetro de luz UV-visível. Com a ajuda de um *swab* submerso no inóculo, as células foram espalhadas sobre toda a placa de Petri com meio de cultura sólido e, após isso, foram adicionados de 5 a 9 discos de papel de filtro de 5 mm (milímetros) esterilizados, por cima do inóculo espalhado na placa, seguido da inoculação de 10 µL em cada papel filtro de cada pigmento microbiano. Utilizaram-se como controles positivos os discos de antibióticos oxacilina, penicilina, vancomicina, azitromicina, gentamicina e ampicilina. Como controle negativo utilizou-se o etanol absoluto, devido o pigmento ser em extrato etanólico e as placas foram visualizadas após 18 a 20 horas de incubação a 37,0 °C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização inicial dos pigmentos produzidos por fungos da Antártica

Os pigmentos produzidos por fungos da Antártica tiveram colorações bem diferenciadas, variando entre rosa, vermelho, amarelo, creme e laranja (Tabela 1, Figura 3). Em meio sólido, a proporção teve um total de 31 isolados, a maioria de cor laranja (n = 14), seguida de amarelo (n = 12), rosa (n = 2), vermelho (n = 1) e creme (n = 2).

Tabela 1 - Proporção quantitativa dos isolados de líquens, juntamente com sua coloração a partir da colônia em meio sólido.

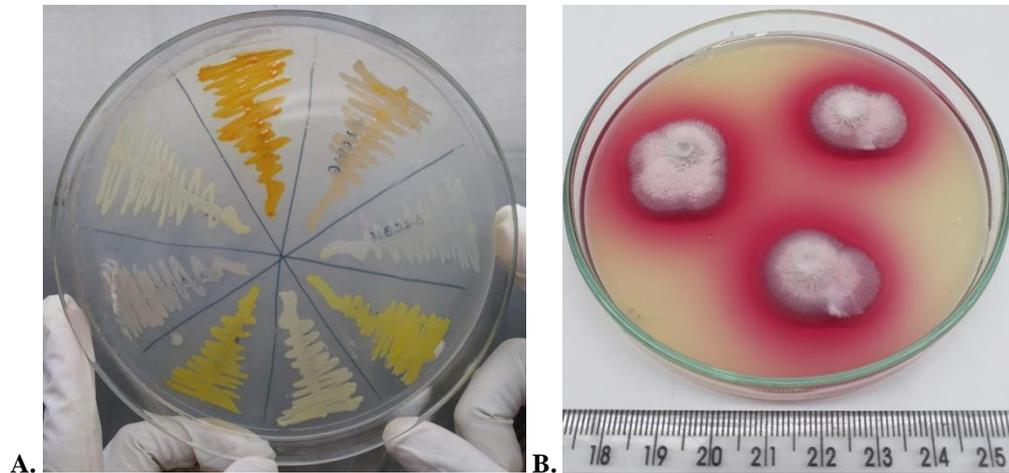
Identificação dos Líquens (código)	Código dos isolados	Quantidade	Coloração do isolado
<i>Usnea aurantiacoatra</i> L1	NL1	1	Laranja
<i>Usnea aurantiacoatra</i> L2	4L2	1	Amarelo
<i>Usnea aurantiac-atra</i> L3	10L3	1	Amarelo
<i>Xanthoria candelaria</i> L4	3L4	1	Rosa
<i>Xanthoria candelaria</i> L6	1L6	1	Laranja
<i>Mastodia tessellata</i> L14	AL14	1	Amarelo
<i>Caloplaca regalis</i> L15	3L15, 9L15, 10L15, 11L15, 12L15, 19L15, 32L15	7	Amarelo (n = 1) e laranja (n = 6)
<i>Umbilicaria decussata</i> L16	7L16, 8L16, 11L16, 12L16, 13L16	5	Amarelo (n = 2), creme (n = 2) e laranja (n = 1)
<i>Lecania brialmontii</i> L19	6L19, 12L19, LL19, AFL19, 1LF19, 2L19	6	Amarelo (n = 3), laranja (n = 1), rosa (n = 1) e vermelho (n = 1)
<i>Usnea aurantiacoatra</i> L21	AL21	1	Laranja
<i>Usnea aurantiacoatra</i> L31	4L31, 6L31, 10L31, 11L31, 30L31	5	Amarelo (n = 3) e laranja (n = 2)
<i>Usnea aurantiacoatra</i> L34	2L34	1	Amarelo

Total

31

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Figura 3 - Caracterização macroscópicas das leveduras da Antártica produtoras de pigmentos em meio de cultura YMA cultivadas a 15 °C durante 7 dias. **A.** Leveduras. **B.** Fungo filamentososo (1LF19).



Fonte: **A.** Próprio autor; **B.** Mayanne Karla, 2019.

A maior proporção de isolados de fungos produtores de pigmentos foram isolado do líquen *Caloplaca regalis*, com um total de 7 isolados com cores variando entre amarelo e laranja, seguido dos isolados do líquen *Lecania brialmontii*, com 6 isolados pigmentados de cor amarelo, laranja e rosa, e *Usnea aurantiacoatra* com 5 isolados de pigmentos em laranja, rosa e vermelho. De maneira geral, predomina pigmentos laranja (Figura 4).

Figura 4 - Pigmentos produzidos por fungos filamentosos e leveduras isoladas de líquens da Antártica.



Fonte: Próprio autor, 2019.

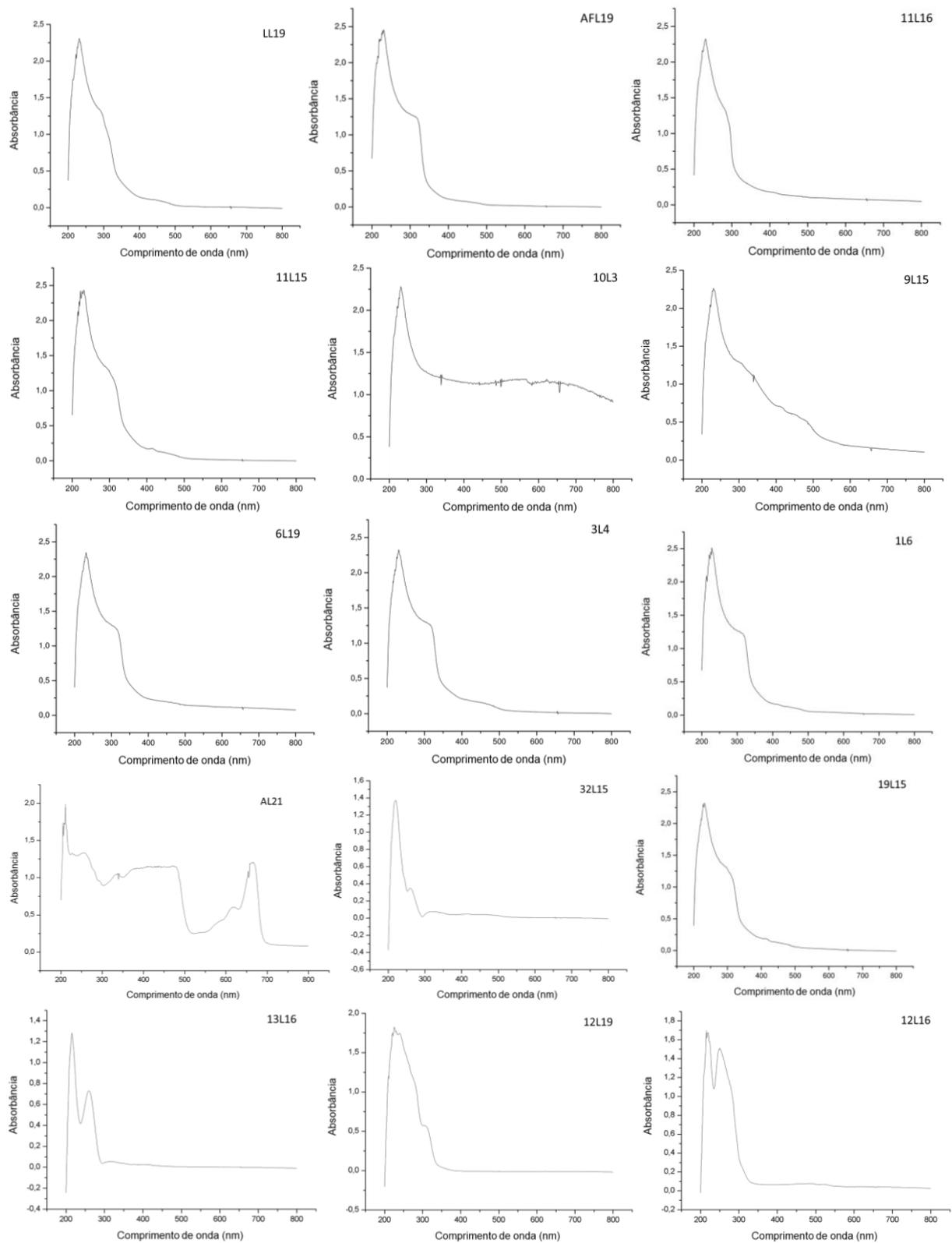
Santiago (2015) obteve 50 espécies isoladas de fungos filamentosos para os talos de *Usnea*, inclusive *Usnea aurantiacoatra*, um dos principais gêneros de líquens da Antártica, caracterizado como um gênero bastante diversificado e que pode abrigar um alto número de microrganismos, inclusive no continente antártico.

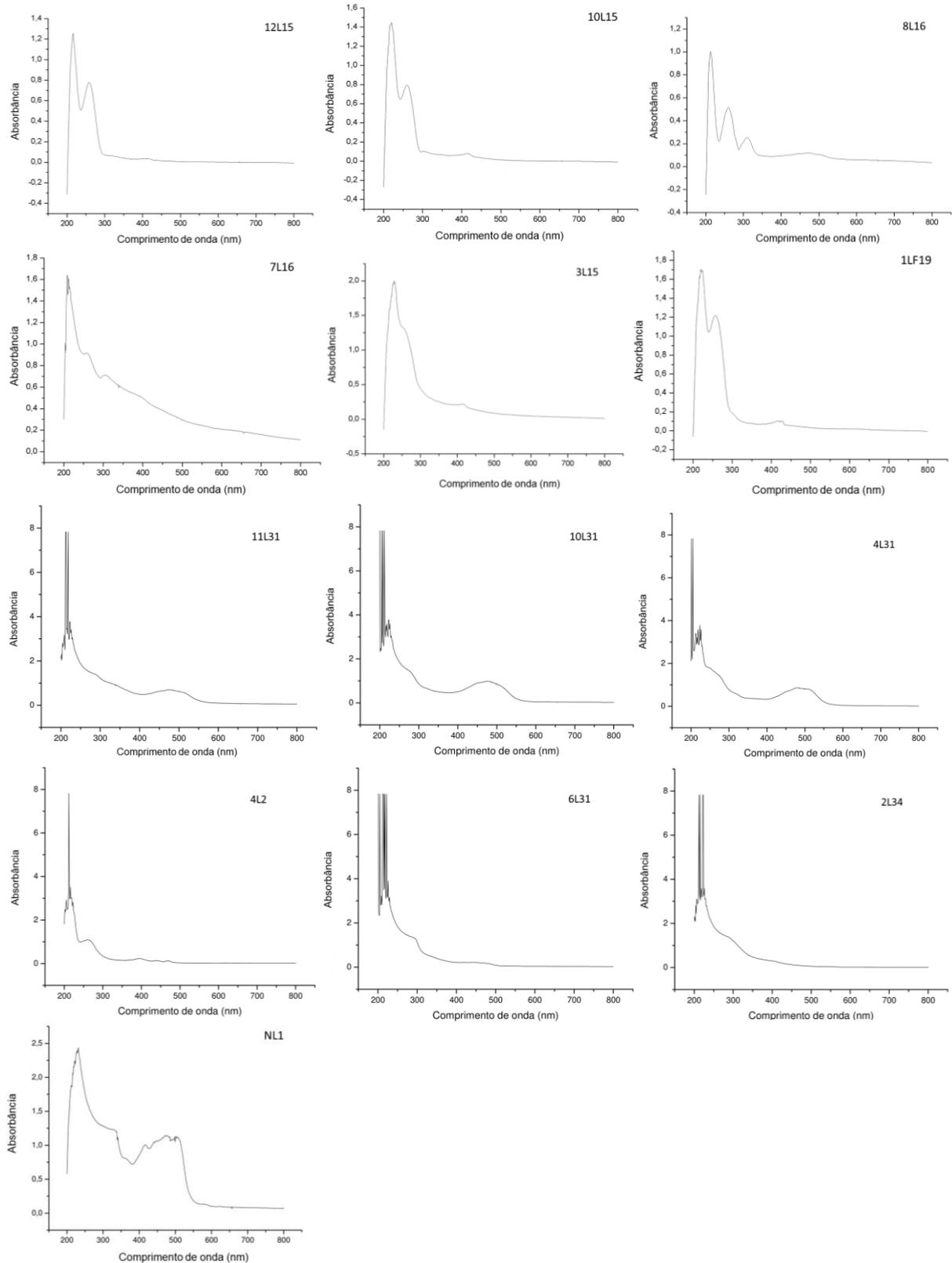
A procura por diferentes fontes de pigmentos com interesse biotecnológico, vem crescendo nos últimos anos. Podendo ser encontrados em diversas fontes, os pigmentos são uma das substâncias mais abundantes nos corpos celulares viventes no planeta, dando cor a diferentes formas de vida, sua absorção refletida pelo sol faz com que absorva e intensifique ainda mais sua pigmentação (VALDUGA, 2009; SILVA, 2013). Além disso, Valduga (2009) explica alguns fatores que podem tanto beneficiar a produção de pigmentos ou a degradação do mesmo: como o meio de cultura, que pode interferir na produção do pigmento, se torna um fator limitante quando não obtêm a concentração exata de glicose e sacarose para formas de carbono, o pH quando não calibrado interfere no crescimento celular e na produção do produto. E outros efeitos como aeração ou agitação, temperatura e luminosidade, são efeitos que se não forem controlados, o pigmento degrada e não será obtido resultado satisfatório.

A melanina é caracterizada como o pigmento de cor marrom, onde pode ser encontrada em fungos e estudos apontam que microrganismos de ambientes extremos são bons produtores de melanina, devido sua forte ação fotoprotetora (KIRTI, 2014; ABEROUMAND, 2011; MALIK, 2012; TULI, 2014; GARCÍA-LÓPEZ, 2017).

Das 28 amostras de pigmentos fúngicos utilizados para caracterização de varredura em espectrofotômetro de luz UV-visível, observou-se que os pigmentos apresentaram maior absorbância nos comprimentos de onda variando de 370 ao 500 nm (Figura 4). Devido problemas com contaminação e degradação do pigmento as outras amostras não foram possíveis de fazer a leitura de varredura.

Figura 5 - Perfis de varredura de absorvância (intervalo de 200 a 800 nm) dos pigmentos produzidos por leveduras isoladas de líquens da Antártica.





Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

De acordo com Oliveira (2017), o fungo *Monascus ruber* produz pigmentos de cores amarelo, laranja e vermelho, e apresentam maior absorbância na faixa de 400 a 510 nm, utilizando o intervalo do comprimento de onda de 350 a 550 nm. Variantes como pH (5 a 10)

no meio de cultura sólido para *Monascus ruber*, facilitaram a produção do pigmento vermelho característico do fungo. Mojib (2010) e colaboradores descreveram um estudo sobre um comprimento de onda de um pigmento descrito como violaceína, isolado de *Chromobacterium violaceum* obteve um pico de absorvância em 575 nm quando avaliado em comprimento de onda entre 450 a 690.

Foi observado que os microrganismos quando são postos em temperaturas iguais ou próximas a temperatura similar do ambiente onde habitavam, o seu potencial de produção de pigmento aumenta. Silva (2018) e colaboradores, remete, bactérias que são submetidas a temperaturas de cultivo mais baixas, do tipo psicotolerantes, apresentaram maior produção de carotenoide. Estudos apontam que substâncias pigmentadas possuem um diferencial de aplicação biotecnológica quando comparadas a substâncias translúcidas.

4.2 Atividade Antioxidante de Pigmentos de fungos da Antártica

Os pigmentos prospectados foram submetidos aos ensaios da atividade antioxidante pelo método de FRAP (Tabela 2). Os extratos etanólicos pigmentados com atividade antioxidante que apresentaram melhores resultados em mM de FeSO₄ foi o isolado AFL19, isolado do líquen *Lecania brialmontii*, com 1,94 mM, seguido do isolado 19L15 (*Caloplaca regalis*), com concentração de 1,80 mM, e outros isolados dos líquens *Lecania brialmontii* e *Usnea aurantiacoatra*.

Substâncias antioxidantes retardam o envelhecimento (MOSCA, 2017), o licopeno é um antioxidante encontrado em diversos alimentos como tomate, melancia, seu interesse para indústria tanto biotecnológica quanto para a saúde, vem aumentando devido suas propriedades protetoras sobre a carcinogênese, além disso, os estudos só vêm aumentando quando foi feita comparações da ingestão de licopeno com relação a diminuição do câncer de próstata (SHAMI; MOREIRA, 2004).

Outros antioxidantes que são muito utilizados e que estão intimamente relacionados na redução de radicais livres no processo de atividade cancerígena é o selênio e o zinco, fontes promissoras e ricas em diversos alimentos, a quercentina é presente na maioria das frutas e vegetais, é um flavonóide muito encontrado e abundante em vinhos. Algumas características devem ter atenção, a quercentina quando ingerida excessivamente, pode ocasionar uma reação com ferro torna-se um pró-oxidante (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

De acordo com Dieser (2010) e seus colaboradores, a causa de alguns isolados não terem obtidos resultados suficientes, como coloração e índices maiores de antioxidantes, pode

estar atrelado ao fato de haver em diversas vezes um congelamento e descongelamento desses extratos pigmentados, devido eles serem extremófilos do tipo psicrotolerantes, e outro fator de luminosidade, pois alguns dos pigmentos são fotossensíveis, e, após feita a prospecção dos pigmentos, em diversas vezes, são submetidos a incidência luminosa, e isso acaba se tornando um fator prejudicial a produção desses compostos, e que acomete diretamente na degradação do pigmento em leveduras.

Tabela 2 - Atividade antioxidante dos pigmentos prospectados por leveduras da Antártica.

Líquén de isolamento	Código do pigmento	Coloração do pigmento	Concentração de antioxidante (mM de FeSO₄)
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	NL1	Laranja claro	0,89
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	4L2	Amarelo	0,89
<i>Xanthoria candelaria</i>	10L3	Amarelo	0,55
<i>Xanthoria candelaria</i>	3L4	Rosa claro	1,36
<i>Mastodia tessellata</i>	1L6	Laranja	1,49
<i>Caloplaca regalis</i>	AL14	Amarelo	1,39
<i>Caloplaca regalis</i>	3L15	Laranja	0,12
<i>Caloplaca regalis</i>	9L15	Amarelo	0,90
<i>Caloplaca regalis</i>	10L15	Laranja	0,07
<i>Caloplaca regalis</i>	11L15	Laranja	1,75
<i>Caloplaca regalis</i>	12L15	Laranja	0,84
<i>Caloplaca regalis</i>	19L15	Laranja	1,80
<i>Umbilicaria decussata</i>	32L15	Laranja	0,08
<i>Umbilicaria decussata</i>	7L16	Amarelo	0,06
<i>Umbilicaria decussata</i>	8L16	Amarelo	0,00
<i>Umbilicaria decussata</i>	11L16	Creme	0,37
<i>Umbilicaria decussata</i>	12L16	Creme	0,10
<i>Lecania brialmontii</i>	13L16	Laranja	0,10
<i>Lecania brialmontii</i>	6L19	Amarelo	1,64
<i>Lecania brialmontii</i>	12L19	Laranja	0,10
<i>Lecania brialmontii</i>	LL19	Amarelo	1,58
<i>Lecania brialmontii</i>	AFL19	Rosa	1,94
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	1LF19	Vermelho	0,13
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	AL21	Laranja	0,19
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	4L31	Laranja	0,30
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	6L31	Amarelo	1,64
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	10L31	Laranja	0,44
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	11L31	Laranja	1,11
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	30L31	Amarelo	0,89
<i>Usnea aurantiacoatra</i>	2L34	Amarelo	0,72

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

4.3 Atividade Antimicrobiana de Pigmentos de fungos da Antártica

Ao analisar os resultados da atividade antimicrobiana, observou-se que os isolados 2L19, 4L2 e 8L16 apresentaram resultados interessantes frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, com halos de inibição de 29,5 mm, 21 mm e 14,5 mm, respectivamente. Os isolados 4L31 e 10L31 tiveram resultados frente a *Bacillus subtilis* ATCC 6051 e *Micrococcus luteus* ATCC 4698 com valores de 9 e 10 mm, respectivamente. Para *Candida albicans* ATCC 10231, alguns isolados apresentaram resultados satisfatórios como inibidores de crescimento para levedura, com halos entre 10 a 11,5 mm. E para as bactérias *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, tiveram resultados variando entre 8 mm a 12,5 mm (Tabela 3). Na figura 3 mostra os resultados da atividade antimicrobiana após a ação dos pigmentos sobre os microrganismos indicadores.

Santos (2007) e colaboradores fizeram um estudo sobre a resistência de *Staphylococcus aureus* frente a alguns tipos de antibióticos, a vancomicina é um glicopeptídeo criado na década de 50, afim de inibir o crescimento dessa cepa, no entanto foi deixada de lado devido ao aparecimento de outros antibióticos, tais como metilina, oxacilina e outras isoxazolilpenicilinas. Quando descoberta, a metilina, foi vastamente eficiente contra cepas de *S. aureus*, após obterem resistência, as cepas de *S. aureus* ficaram conhecidas como *Staphylococcus aureus* resistente a metilina, então utilizaram a vancomicina como próximo antibiótico, no entanto, em 1998, em um estudo feito por Hanaki (1998) e colaboradores, obtiveram resultados sobre cepas de *S. aureus* resistentes à vancomicina em testes clínicos.

Tabela 3 - Halos de inibição de crescimento (mm) de amostras de pigmentos produzidos por leveduras e fungo filamentosos da Antártica.

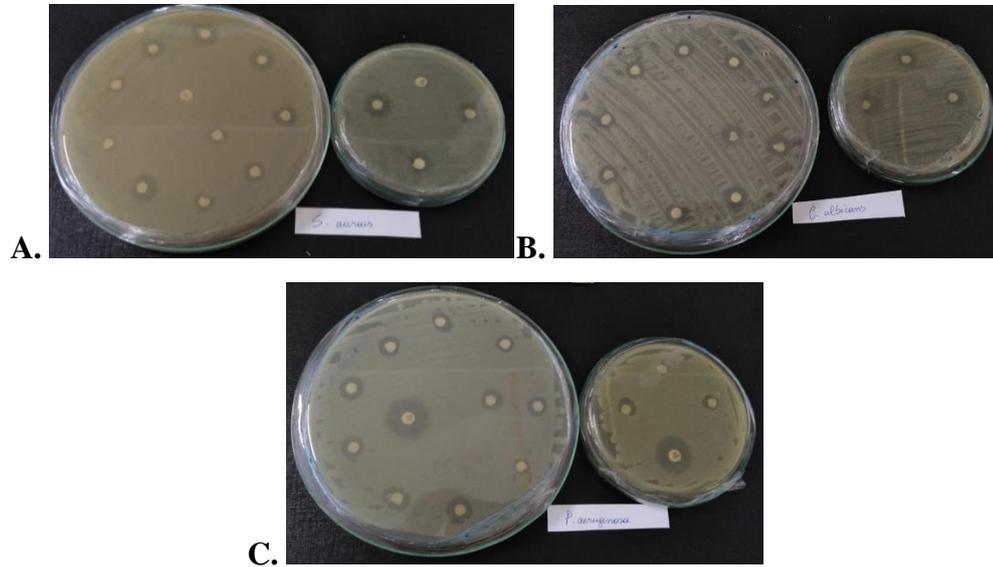
Isolado fúngico (código)	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
2L19	29,5 mm	N	N	N	-	-	-
4L2	21,0 mm	N	N	N	-	-	-
8L16	14,5 mm	-	-	10,5 mm	9,0 mm	8,5 mm	11,0 mm
7L16	13,5 mm	-	-	11,0 mm	8,5 mm	9,0 mm	11,5 mm
10L15	12,0 mm	-	-	11,0 mm	9,5 mm	10 mm	11,0 mm
19L15	15,0 mm	-	-	11,5 mm	7,5 mm	8,0 mm	8,5 mm
13L16	11,5 mm	-	-	11,0 mm	9,0 mm	8,5 mm	12,5 mm
3L15	12,5 mm	-	-	11,0 mm	8,0 mm	9,0 mm	12,0 mm
AL21	13,5 mm	-	-	8,5 mm	11,5 mm	8,0 mm	9,0 mm
32L15	12,5 mm	-	-	10,0 mm	10,0 mm	8,5 mm	10,5 mm
6L31	7,0 mm	-	7,0 mm	-	-	-	-
11L31	N	N	N	N	-	-	-
4L31	N	N	N	N	-	-	-
10L31	N	N	N	N	-	-	-

6L9	N	N	N	N	-	-	-
1LF19	N	N	N	N	-	-	-
Oxacilina (OXA) 1 µg	27,5 mm	14,5 mm	-	-	-	-	-
Penicilina (PEN) 10 U.N.	23 mm	13 mm	30,5 mm	-	-	-	-
Vancomicina (VAN) 30 µg	-	-	17,5 mm	-	-	-	-
Azitromicina (AZI) 15 µg	N	-	-	-	-	-	-
Ampicilina (AMP) 10 µg	-	-	-	-	-	12,6 mm	-
Gentamicina (GEN) 10 µg	-	-	-	-	-	-	21 mm
Álcool etílico 10 µL	10 mm	N	10,7 mm	5,4 mm	10 mm	8,5 mm	6 mm

(N) Amostras que não tiveram resultado satisfatório. (-) Pigmentos ou antibióticos não testados.

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Figura 6 - Placas de Petri em experimentos de atividade antimicrobiana de pigmentos produzidos por fungos da Antártica. **A.** *Staphylococcus aureus* e **B.** *Candida albicans*. **C.** *Pseudomonas aeruginosa*.



Fonte: Próprio autor, 2019.

Em um estudo feito por Mojib (2010), obtiveram pigmentos extraídos de uma cepa bacteriana *Flavobacterium* sp., e descobriram que esse pigmento está ligado aos pigmentos carotenoides de *Flavobacterium* sp. O pigmento foi caracterizado com um perfil de 440 nm, sendo semelhante aos carotenoides da bactéria e de flexirubinas. E para que o pigmento constatado como flexirubina fosse conformado, fizeram uma análise de cromatografia líquida-espectrometria de massa, e o resultado foi positivo.

A violaceína é um pigmento bastante encontrado em microrganismos do ambiente antártico, na Ilha de Rei George, Antártica (ASENCIO et al. 2014). O extrato de *Janthinobacterium lividum*, isolada do solo da Península Fields com pigmento violaceína apresentou resultados satisfatórios contra *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella. Typhimurium* (FRANÇA, 2015). Na busca por antimicrobianos ou antibióticos capazes de inibir, matar ou retardar o crescimento de bactérias patogênicas, vem se tornando um grande desafio, inclusive para a saúde, sem contar pela alta taxa de resistência aos antimicrobianos/antibióticos que os microrganismos vêm adquirindo (RODRIGUES, 2009; CUTRIM, 2017).

5 CONCLUSÃO

Os fungos da Antártica apresentam potencial para produção de pigmentos de diferentes colorações, prevalecendo aqueles de coloração laranja, amarelo, vermelho e rosa, com um total de 31 pigmentos de extratos metabólicos.

Os melhores pigmentos com atividade antioxidantes foram produzidos por leveduras, com valores ótimos entre 1,94 mM de FeSO₄, para a levedura AFL19, isolada do líquen *Lecania brialmontii* de coloração rosa, e a levedura 19L15, isolada do líquen *Caloplaca regalis*, com 1,80 mM de FeSO₄.

Para atividade antimicrobiana, foi possível concluir que os melhores extratos apresentaram atividade principalmente contra *Staphylococcus aureus*, como melhor resultado o extrato 2L19, extraído do líquen *Lecania brialmontii* e o pigmento 4L2, isolado do líquen *Usnea aurantiacoatra*.

A caracterização do perfil de varredura de absorbância dos pigmentos produzidos por fungos da Antártica teve comprimentos de onda variando entre 370 a 500 nm.

De maneira geral, observa-se que os pigmentos intracelulares extraídos de fungos da Antártica possuem metabólitos secundários com atividades antioxidantes e antimicrobiana, aumentando a eficiência desses microrganismos e obtendo resultados promissores para futuras pesquisas atreladas a ambientes extremos com potencial biotecnológico.

REFERÊNCIAS

- ABEROUMAND, A. A Review Article on Edible Pigments Properties and Sources as Natural Biocolorants in Foodstuff and Food Industry. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, v. 6, n. 1, p. 71-78, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/228492881_A_Review_Article_on_Edible_Pigments_Properties_and_Sources_as_Natural_Biocolorants_in_Foodstuff_and_Food_Industry. Acesso em: 10 dez. 2019.
- ASENCIO, G. et al. Antibacterial activity of the Antarctic bacterium *Janthinobacterium* sp: SMN 33.6 against multi-resistant Gram-negative bacteria. **Journal of Biotechnology**, v. 17, p. 1-5, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S071734581300002X>. Acesso em: 12 dez. 2019.
- BARATO, M. B. **Fungos derivados da Antártica: biodiversidade e produção de enzimas lignocelulolíticas a baixas e médias temperaturas**. 2014. 75f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2014. Disponível em: http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UNSP_36fe4e00fc37dabc6ddb4595b98e0140. Acesso em: 11 dez. 2019.
- BENDIA, A. G. et al. Surviving in hot and cold: psychrophiles and thermophiles from Deception Island volcano, Antarctica. **Extremophiles**. v. 22, p. 917–929. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30109444>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- BIANCHI, M. L P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, maio/ago., 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rn/v12n2/v12n2a01.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- BLUMER-SCHUETTE, S. E. et al. Thermophilic lignocellulose deconstruction. **FEMS Microbiol Rev.** v. 38, p. 393–448. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24118059>. Acesso em: 14 dez. 2019.
- CAVICCHIOLI, R. et al. Low-temperature extremophiles and their applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 253–261. 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12180102>. Acesso em: 15 dez. 2019.
- CUNHA, M. N. C. et al. Actinomicetos produtores de inibidores de β -lactamases com atividade antimicrobiana frente a isolados de mastite bovina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.62, n.6, p.1312-1319, 2010. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-6028>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- CUTRIM, E. S. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidantes dos óleos essenciais de *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) e *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) frente às bactérias patogênicas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2017. Disponível em: <https://monografias.ufma.br/jspui/handle/123456789/1519>. Acesso em: 09 dez. 2019.

DAVIES, J. What are antibiotics? Archaic functions for modern activities. **Molecular Microbiology**, v. 4, n. 8, p. 1227-1232. 1990. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2280684>. Acesso em: 08 dez. 2019.

DIESER, M.; GREENWOOD, M.; FOREMAN, C. M. Carotenoid Pigmentation in Antarctic Heterotrophic Bacteria as a Strategy to Withstand Environmental Stresses. **Arctic, Antarctic, and Alpine Research**, v. 42, n. 4, p. 396–405. 2010. Disponível em: <https://bioone.org/journals/Arctic-Antarctic-and-Alpine-Research/volume-42/issue-4/1938-4246-42.4.396/Carotenoid-Pigmentation-in-Antarctic-Heterotrophic-Bacteria-as-a-Strategy-to/10.1657/1938-4246-42.4.396.full>. Acesso em: 07 dez. 2019.

DUARTE, A. W. F. **Biodiversidade de leveduras derivadas de ecossistemas Antárticos marinhos e terrestres e prospecção de lipases**. 2015. 178f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia, USP/IPT/Instituto Butantan, São Paulo, 2015. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-31082015-133533/pt-br.php>. Acesso em: 09 dez. 2019.

DUARTE, A. W. F. et al. Cold-adapted enzymes produced by fungi from terrestrial and marine Antarctic environments. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 4, p. 600–619. 2017. doi: 10.1080/07388551.2017.1379468. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29228814>. Acesso em: 09 dez. 2019.

ESTRELA, T. S. Resistência Antimicrobiana: enfoque multilateral e resposta brasileira. In: Bruno Pereira Rezende; Fábio Rocha Frederico; Wesley Lopes Kuhn. (Org). Saúde e Política Externa: os 20 anos de Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde: (1998-2018). 1ed. **Brasília: Editora Ministério da Saúde**, v. 1, p. 307-327, 2018. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/outubro/22/18_Tatiana_Estrela.pdf. Acesso em: 12 dez. 2019.

FRANÇA, P. **Investigação genética e funcional da produção de compostos antimicrobianos por bactérias oriundas da antártica**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/316713>. Acesso em: 08 dez. 2019.

FRACAROLLI, I. S. L. OLIVEIRA, S. A. MARZIALE, M. H. P. Colonização bacteriana e resistência antimicrobiana em trabalhadores de saúde: revisão integrativa. **Acta Paul Enferm.**; v. 30, n. 6, p. 651-7. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-21002017000600651&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 09 dez. 2019.

GARCÍA-LÓPEZ, E. et al. **Color-producing extremophiles**. [S. l.]: John Wiley & Sons, Inc, published 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119166191.ch3>. Acesso em: 08 dez. 2019.

GEORLETTE, D. et al. Structural and Functional Adaptations to Extreme Temperatures in Psychrophilic, Mesophilic, and Thermophilic DNA Ligases*, **The Journal of Biological Chemistry**, Papers in Press, July 10, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12857762>. Acesso em: 09 dez. 2019.

- GERDAY, C. et al. Psychrophilic enzymes: a thermodynamic challenge. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1342, n. 2, p. 119–131. 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167483897000939?via%3Dihub>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- GOMES, E. C. Q. **Diversidade e bioprospecção de fungos presentes em solos antárticos**. 2017. 67f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro preto, 2017. Disponível em: <https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/8724>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim. Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000300035. Acesso em: 11 dez. 2019.
- HANAKI, H. et al. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. **J Bras Patol Med Lab**. v. 43. n. 6. p. 413-423. December. 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9738837>. Acesso em: 11 dez. 2019.
- HELMKE, E.; WEYLAND, H. Psychrophilic *versus* psychrotolerant bacteria – occurrence and significance in polar and temperate marine habitats. **Cellular and Molecular Biology TM**, v. 50, n. 5, p. 553-561. 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/8167306_Psychrophilic_versus_psychrotolerant_bacteria_-_Occurrence_and_significance_in_polar_and_temperate_marine_habitats. Acesso em: 12 dez. 2019.
- KIRTI, K. et al. Colorful World of Microbes: Carotenoids and Their Applications. **Hindawi Publishing Corporation**. Advances in Biology. V. 2014, Article ID 837891, p. 13, 2014. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ab/2014/837891/>. Acesso em: 13 dez. 2019.
- MALIK, K.; TOKKAS, J.; GOYAL, S. Microbial Pigments: A review. **International Journal of Microbial Resource Technology**. v.1, n. 4 (December). 2012. Disponível em: <http://www.ijmrt.inpressco.com/wp-content/uploads/2012/12/IJMRT-12-14-94-F.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2019.
- MENEZES, G. C. A. et al. *Antarctomyces pellizariae* sp. nov., a new, endemic, blue, snow resident psychrophilic ascomycete fungus from Antarctica. **Extremophiles**. Springer Japan, n. 21, p. 259-269, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27900476>. Acesso em: 14 dez. 2019.
- MESQUITA, S. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERVULO, E. F. C. Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Mercado. **Rev. Virtual Quim**. v 9, n. 2, p. 672-688, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000300022. Acesso em: 14 dez. 2019.

- MILANI, L. I. G. Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte. **BRAZILIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY**. Campinas, v. 15, n. 2, p. 118-124, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1981-67232012000200003&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 12 dez. 2019.
- MOJIB, N. et al. Antimycobacterial activity in vitro of pigments isolated from Antarctic bactéria. **Antonie van Leeuwenhoek**. v. 98, p. 531–540. 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20556653>. Acesso em: 11 dez. 2019.
- MOREIRA, M. G. **Diversidade e atividade antimicrobiana de fungos endofíticos associados à Araucaria angustifolia (Bertol.) O., Kuntze**. 2013. 68f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2013. Disponível em: <https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/3311>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- MOSCA, S. S. SANCHES, R. A. COMUNE, A. C. A importância dos antioxidantes na neutralização dos radicais livres: uma revisão. **Revista Saúde em Foco – Edição nº 9 – Ano: 2017**. Disponível em: http://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/063_radicaislivres.pdf. Acesso em: 11 dez. 2019.
- NICOLAU, P. B. **Microrganismo e ambiente: ar e água, solo e extremos**. 2016. 48f. Monografia. Universidade Aberta de Portugal, Lisboa, 2016. Disponível em: <http://repositorioaberto.uab.pt/handle/10400.2/6135>. Acesso em: 07 dez. 2019.
- OLIVEIRA, C. A. **Carcaterização da produção de pigmentos e da atividade antioxidante de *Nostoc* spp. Sob diferentes intensidades luminosas**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/5353>. Acesso em: 07 dez. 2019.
- OLIVEIRA, C. F. D. **Produção de pigmentos por *Monascus ruber* CCT 3802 a partir do xarope de maltose como substrato**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimento) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017. Disponível em: https://ppgcta.agro.ufg.br/up/71/o/Disserta%C3%A7%C3%A3o__Camila_Fernanda_Oliveira.pdf. Acesso em: 06 dez. 2019.
- ONOFRI, S., SELBMANN, L., ZUCCONI, S.P. Antarctic microfungi as models for exobiology. **Planetary and Space Science**, n. 52, p. 229-237, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003206330300182X>. Acesso em: 08 dez. 2019.
- RODRIGUES, A. **Atividade antimicrobiana e produção de enzimas de interesse biotecnológico de bactérias isoladas de diferentes habitats**. 2009. 80f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de patologia tropical e saúde pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/1719>. Acesso em: 13 dez. 2019.
- ROSA, L. H. et al. Endophytic fungi Community associated with the dicotyledonous plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) in Antarctica. **FEMS Microbiol**

Ecol v. 73, p. 178–189. 2010. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20455944>. Acesso em: 13 dez. 2019.

ROSA, L. H. *Fungi of Antarctica Diversity, Ecology and Biotechnological Applications*. Springer Nature Switzerland AG, Minas Gerais. 2019.

SANTIAGO, I. F. **Diversidade e bioprospecção de fungos associados a líquens presentes em ecossistemas extremos**. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015. Disponível em:
<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUBD-AA9GXT>. Acesso em: dez. 2019.

SANTOS, A. L. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J Bras Patol Med Lab**. v. 43, n. 6, p. 413-423. dezembro 2007. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442007000600005. Acesso em: 14 dez. 2019.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enferm**; v. 13, n. 64-70. 2004. Disponível em:
<http://www.scielo.br/pdf/tce/v13nspe/v13nspea07.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2019.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, abr./jun., 2004. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/250041212_Licopeno_como_agente_antioxidante. Acesso em: 13 dez. 2019.

SILVA, D. C. **O sistema do tratado antártico como mecanismo de preservação ambiental e os riscos para além de 2041**. 2018. 84f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Direito) – Universidade Caxias do Sul, Canela, 2018. Disponível em:
<https://repositorio.ucs.br/xmlui/bitstream/handle/11338/4893/TCC%20Diego%20Cardoso%20da%20Silva.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 09 dez. 2019.

SILVA, W. S. **Produção de pigmentos fúngicos e seu uso no tingimento de tecidos**. 2013. 65f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Universidade Federal de São João Del Rei, Ouro Branco, 2013. Disponível em: <https://ufsj.edu.br/portal-repositorio/File/ppgtds/DISSERTACOES/Wesley.pdf>. Acesso em: 08 dez. 2019.

SOUSA, T. G. C. **Seleção das leveduras do gênero *Rhodotorulas* do ambiente antártico para produção de biossurfactante**. 2016. 72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/304803>. Acesso em: 07 dez. 2019.

SOUZA, C. O. et al. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Rev Pan-Amaz Saude**. v. 7, n. 2, p. 79-91. 2016. Disponível em:
http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232016000200079. Acesso em: 11 dez. 2019.

TAKAHASHI, J. A. A. Fungos Filamentosos e Química: Velhos Conhecidos, Novos Aliados. **Rev. Virtual Quim.**, v. 9, n. 6, p. 2351-2382, 2017. Disponível em:

<http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/TakahashiNoPrelo.pdf>. Acesso em: 09 dez. 2019.

TULI, H. S. et al. Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. **J Food Sci Technol**. Springer. v. 52, n. 8, p. 4669-78, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26243889>. Acesso em: 07 dez. 2019.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Quim. Nova**, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000300022. Acesso em: 07 dez. 2019.

VALDUGA, E. et al. Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Quim. Nova**, v. 32, n. 9, p. 2429-2436, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000900036. Acesso em: 13 dez. 2019.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. S. Pigmentos naturais bioativos. **Alim. Nutr.**, Araraquara v.20, n.1, p. 157-166, jan./mar. 2009. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/959/786>>.. Acesso em: 12 dez. 2019.