

ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FENOLOXIDASE DE FUNGOS APHYLLOPHORALES.

**Francisco BRAGA DA PAZ JÚNIOR (1); Eliana SANTOS LYRA DA PAZ (2); Maria
Auxiliadora QUEIROZ CAVALCANTI (3)**

(1) Centro Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco – Uned Pesqueira, Loteamento Portal, BR 232, KM 214,
telefax: (87)3835-1796; e-mail: fbpjunior@cefetpesqueira.edu.br

(2) Universidade de Pernambuco, e-mail: eliana.lyra@upe.br

(3) Universidade Federal de Pernambuco, e-mail: xiliamac@terra.com.br

RESUMO

A utilização de fungos, especialmente os Basidiomycetes da ordem Aphyllophorales, no tratamento dos mais diversos tipos de efluentes tem sido bastante estudada, devido a sua capacidade em produzir enzimas extracelulares, tais como as peroxidases. Estas enzimas atuam sob compostos poluentes recalcitrantes, transformando-os em produtos menos tóxicos ao ambiente. Nestas enzimas faltam à inespecificidade pelo substrato, e com isso, são capazes de degradar uma série de poluentes, tais como: hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, dioxinas, pesticidas, incluindo organoclorados, metais pesados, explosivos e plásticos. O presente trabalho teve como objetivo isolar, identificar e avaliar a atividade fenoloxidase de Aphyllophorales coletados em madeiras na Mata Atlântica do Parque Dois Irmãos, Recife-PE. Após análise macroscópica (cor, dimensões, forma e consistência do basidioma) e cortes procedidos para exame microscópico dos isolados, foi identificada a espécie *Pycnoporus sanguineus*. Fragmentos do basidiocarpo, após assepsia com NaOCl a 3%, foram semeados em meio Agar-Sabouraud acrescido de tetraciclina (100 mg/L) e mantidos à temperatura ambiente ($\pm 28^{\circ}\text{C}$). Culturas puras do isolado fúngico foram utilizadas para detecção da atividade fenoloxidase em meio Agar-malte acrescido de ácido gálico a 0,5% m/V. *Pycnoporus sanguineus* apresentou reação fenoloxidase positiva, evidenciada pela presença de halo marrom avermelhado no meio após crescimento fúngico, sugerindo sua indicação para o tratamento e remoção de poluentes ambientais.

Palavras-chave: Basidiomycetes, Aphyllophorales, taxonomia, biodegradação, fenoloxidases.

1. INTRODUÇÃO

Os organismos degradadores de madeiras são importantes agentes utilizados em processo de biodegradação. Dentre estes, destacam-se os fungos Basidiomycetes pertencentes a ordem Aphyllophorales conhecidos popularmente como orelhas de pau (GILBERTSON, 1986). Estes fungos tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores, devido a sua capacidade de se adaptar rapidamente o seu metabolismo a diferentes fontes de carbono e energia, de produzir enzimas extracelulares (SILVA; ESPÓSITO, 2004), suportar mudanças bruscas na concentração de matéria orgânica, tolerar grandes variações no pH e temperatura, além de suportar a escassez de umidade e de oxigênio, viabilizando sua utilização em processos de biorremediação (SEKHAR, et al., 1998).

A importância dos fungos Aphyllophorales está diretamente relacionada a sua atividade sapróbica ou decompositora, particularmente, da lignina e celulose. Estes fungos podem causar dois tipos de podridão da madeira: a branca e a marrom. O fungo *Pycnoporus sanguineus*, causador da podridão branca, possui como característica a capacidade de degradar enzimaticamente a estrutura da lignina, celulose e hemicelulose presente na parede celular vegetal. O grande interesse biotecnológico desses fungos está na sua habilidade em produzir fenoloxidasas, tais como lacases, tirosinases e peroxidases, que podem atuar em substratos insolúveis, poluentes orgânicos, na degradação de lignina até a sua redução a concentrações mínimas, produzindo CO₂. De acordo com Durán e Esposito (2000), tais enzimas são de interesse em muitas atividades industriais e de pesquisa, destacando-se no tratamento de efluentes da indústria de papel e celulose, cosméticos, tintas, solventes e farmacêuticas, na biorremediação de solos contaminados, na degradação de materiais lignocelulolíticos, compostos fenólicos e xenobióticos.

Apesar de inúmeros trabalhos sobre os fungos isolados em Mata Atlântica, escassos são os estudos sobre os pertencentes à ordem Aphyllophorales no Nordeste do Brasil que ressaltam, também, sua aplicação enzimática em processos biotecnológicos. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo isolar, identificar e avaliar a atividade fenoloxidase de Aphyllophorales coletados de madeiras em áreas de Mata Atlântica da Reserva Ecológica do Parque de Dois-Irmãos, Pernambuco.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Filo Basidiomycota

Os fungos pertencentes ao Filo Basidiomycota caracterizam-se por produzirem basidiosporos, em estruturas especializadas, denominadas basídios. Com base nos caracteres morfológicos e na sequência de DNAr, os Basidiomycetes constam de três classes: Hymenomycetes onde estão inseridas as ordens Agaricales e Aphyllophorales, Ustilaginomycetes e Urediniomycetes (ALEXOPOULOS *et al.* 1996).

Segundo Donk (1964) e Hawksworth *et al.* (1995), a ordem Aphyllophorales é caracterizada pela presença de holobasídios em himênio bem definido. O basidiocarpo, também chamado de basidioma, carpóforo, corpo de frutificação, himenóforo ou esporóforo, apresenta coloração, consistência e morfologia variadas. A coloração do basidiocarpo pode variar de branco a marrom escuro, passando por tonalidades amareladas, ferrugíneas ou vináceas. Quanto à consistência, o basidiocarpo pode ser esponjoso, carnoso, papiráceo, coriáceo, suberoso ou lenhoso. Em relação à morfologia, o basidiocarpo pode ser ressupinado (encontra-se totalmente aderido ao substrato), efuso-reflexo (parte está aderida ao substrato e a outra se projeta na borda, formando o píleo) ou pileado (com ou sem estipe).

A ordem Aphyllophorales é o grupo mais importante deste filo, com cerca de 1200 espécies descritas. Estudos realizados por alguns autores têm demonstrado a importância desta ordem como fitopatógenos (STALPERS; LOERAKKER, 1982), nematófagos (TZEAN; LIOU, 1993), inibidores de térmitas (GRACE *et al.* 1992) e, também, como comestíveis (PEGLER; SPOONER, 1992) e medicinais (WALDER *et al.* 1995). Contudo, a principal importância dos membros de Aphyllophorales é sua ação decompositora, principalmente na degradação da celulose e lignina

2.2 Enzimas produzidas por Basidiomycetes

A maioria dos processos biotecnológicos utilizando os fungos Basidiomycetes baseiam-se nos seus produtos metabólicos, como enzimas e polissacarídeos. Dentro dessa classe, destaca-se a ordem Aphyllophorales pela sua atividade sapróbica ou degradadora, particularmente, da lignina e celulose (ALEXOPOULOS *et al.* 1996).

A importância do complexo enzimático desses fungos está diretamente relacionada com a degradação de uma ampla variedade de poluentes orgânicos, devido as suas enzimas degradadoras de constituintes da madeira (LEONOWICZ *et al.*, 1999). A completa degradação da lignina é um processo oxidativo que tem sido executado com eficiência pelos Basidiomycetes, tais como *Phanerochaete chrysosporium* (TATARKO; BUMPUS, 1998), *Phlebia radiata* (KANTEINEN *et al.* 1989), *Lentinula edodes* (BOER *et al.* 2002), entre outros.

Segundo Kerem *et al.* (1997), os fungos são capazes de deteriorar a madeira pela degradação seletiva da celulose. O material resultante desse processo de degradação pode ser utilizado como fertilizante de solo uma vez que é rico em nutrientes e serve como forragem para ruminantes. Esses organismos contribuem também na biotransformação de herbicidas (BERGER, 1998), branqueamento de polpa (CAROLINA *et al.* 1998); degradação de explosivos (STAHL; AUST, 1993) devido ao seu sistema enzimático que pode atuar em substratos insolúveis, poluentes orgânicos, na degradação de lignina até a sua redução a concentrações mínimas, produzindo CO₂ e H₂O.

2.3 As fenoloxidasas

O uso de enzimas para o tratamento e remoção de poluentes ambientais e industriais tem atraído a atenção de vários pesquisadores devido à alta eficiência, seletividade e por suas reações ambientalmente amigáveis. Dentre as enzimas estudadas com este propósito, o grupo das fenoloxidasas, tais como as lacases, tirosinases e peroxidases têm sido avaliadas por removerem compostos fenólicos e xenobióticos (IKEHATA, 2004).

Segundo Ferraz (2004) as enzimas envolvidas na degradação de lignina podem ser agrupadas em, pelo menos, duas classes distintas: as fenoloxidasas e enzimas que produzem peróxido de hidrogênio. As fenoloxidasas compreendem um grupo de enzimas característico por pertencerem as metaloproteínas. Entre as fenoloxidasas, ainda podem ser divididas em dois subgrupos: um contendo as enzimas dependentes de peróxido ou peroxidase, as quais estão envolvidas na biodegradação da lignina; o outro grupo contém as lacases (enzimas cuproproteínas que não dependem de peróxido para atuar). As enzimas que produzem peróxido são acessórias às peroxidases.

As peroxidases (E.C. 1.11.1.7) incluem um grupo de enzimas, hemoproteínas, que catalisam reações de oxidação-redução usando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) como aceptor de elétrons para catalisação de diferentes reações oxidativas (DURÁN; ESPÓSITO, 2000). As peroxidases são oxidoreduções produzidas por uma grande variedade de microrganismos (ASSIS *et al.* 2005) e plantas (GOMES *et al.* 2005).

De acordo Ikehata *et al.* (2004), a peroxidase de rabanete (HRP), lignina peroxidase (LiP), manganês peroxidase (MnP) e a cloroperoxidase (CPO) têm sido bastante utilizadas em processos de biorremediação, principalmente no tratamento de resíduos industriais.

Dentre as peroxidases, as LiP's (EC 1.11.1.14), também conhecida como diarilpropano peroxidase, diarilpropano oxigenase ou ligninase I estão entre as mais conhecidas. Vários estudos tem sido realizados para avaliar a capacidade enzimática de Aphylllophorales, dentre eles destacam-se *Phanerochaete chrysosporium* (MARTINS *et al.* 2002), de *Pycnoporus sanguineus* (ALONSO *et al.*, 1993), *Cerioporiopsis subvermispora* (SOUZA-CRUZ *et al.*, 2004) e *P. sajor-caju* (KAMIDA; DURRANT, 2005) que já despertaram o interesse dos cientistas devido a habilidade em produzir LiP que é capaz em mineralizar compostos aromáticos.

As vantagens potenciais do tratamento enzimático quando comparado com tratamentos convencionais incluem: a aplicação em poluentes recalcitrantes, operação de altas e baixas concentrações de contaminantes em uma ampla variação de pH, uma gama de temperatura e salinidade e a facilidade no controle do processo. (DURAN; ESPÓSITO, 2000). O aumento da vida útil das enzimas, com a concomitante redução de custos do tratamento, tem sido obtido por meio de processos de imobilização. Essa técnica permite que a enzima se associe química ou fisicamente a um suporte biologicamente inerte (SILVA; ESPOSITO, 2004)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coletas, herborização e análise dos basidiomas

Amostras de basidiocarpo foram coletados em áreas remanescentes do Mata Atlântica da Reserva Ecológica do Parque de Dois Irmãos, na área do Açude do Prata, situada em Recife-PE. Os basidicarpos coletados foram acondicionados individualmente em sacos de papel, tomando-se o cuidado de retirá-los com uma pequena porção do substrato. As observações macroscópicas dos espécimes foram feitas sempre que possível, a fresco, no local da coleta, referindo-se principalmente a cor, dimensões, forma e consistência do basidioma.

A identificação foi realizada principalmente com base nas características microscópicas (FIDALGO, 1968), através de cortes finos feitos a mão livre, com lâminas de aço, de partes do contexto e himênio dos basidiomas. Os cortes foram colocados entre lâminas e lamínulas de vidro e corado com hidróxido de potássio (KOH) a 3% e solução aquosa de floxina 1% (MARTIN, 1934) para corar as microestruturas e azul de Amann (KOTLABA; KOHLMAYER, 1964) para detectar reação cianófila nas paredes dos esporos e das hifas. O reagente de Melzer (SINGER, 1951) foi utilizado para testar as reações amilóides e dextrinóides de esporos e de outras microestruturas encontradas no himênio, no contexto e na superfície dos basidiomas. As microestruturas foram analisadas segundo as recomendações de Teixeira (1995). Após a análise dos basidioma e das microestruturas dos espécimes coletados foi realizada a identificação taxonômica com auxílio de bibliografias especializadas para identificação das espécies (BONONI, 1984; CAVALCANTI, 1976; GILBERTONI, 2004; GULGLIOTA; CAPELARI, 1995).

O isolamento dos fungos Aphyllophorales coletados foi realizado retirando-se fragmentos do contexto ou do himenóforo com lâmina de aço, mergulhando-se em uma solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3%, por um minuto, colocando-o em seguida, num tubo com Sabouraud acrescido de tetraciclina (100mg/L) e incubados à temperatura ambiente ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$), por um período de doze dias até a observação do crescimento micelial (CAVALCANTI, 1972).

3.2 Detecção da atividade fenoloxidasas

A habilidade do fungo em degradar compostos fenólicos foi determinada pelo teste de Bavendamm, que permite distinguir isolados capazes de produzir fenoloxidasas. Para isso, blocos de 3mm^2 de cada cultura fúngica foram transferidos para meio ágar-malte acrescido de ácido gálico a 0,5% m/V e incubados por 10 dias em sala climatizada à temperatura de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$. Após esse período de incubação realizou-se avaliação da atividade enzimática através de medições do halo de degradação do substrato com o auxílio de uma régua milimetrada. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram halo acastanhado no meio após o crescimento dos fungos, indicando oxidação do ácido e conseqüente presença de oxidase (DAVIDSON *et al.* 1938).

4. ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

4.1 Isolamento e caracterização da espécie fúngica

Dentre os isolados de Aphyllophorales coletados em áreas de remanescentes de Mata Atlântica de Pernambuco, identificou-se duas amostras da mesma espécie pertencentes a Família Polyporaceae Corda.

Família Polyporaceae Corda

- *Pycnoporus sanguineus* (L.:Fr.) Murr, Burr Torrey Bot. Cl. 31:421, 1904. (Figura 1)

Basidioma anual, sésil, estipitado a subestipitado. Píleo flabeliforme, espatulado ou dimidiado, coriáceo, 1,0-6,0 x 0,7-0,55 x 0,1-0,7cm, Superfície himenial glabra, radialmente zonada ou não. Margem, inteira, aguda. Contexto 0,1cm, superfície himenial poróide, poros circulares a angulares. 5-6mm. Sistema hifálico trimitico; hifas generativas hialinas, com grampo de conexão, parede fina, 2,5-3,6µm; hifas esqueléteas amareladas, com parede espessa, 5,5-7,0µm; hifas conectivas hialinas, com parede espessa, 1,8-2,5µm, basídios clavados, 9,0-10,5 x 3,5-5,5 µm, basidiósporos cilíndricos, hialinos, parede fina, lisa, 4,5- 5,4 x 2,7µm.



Figura 1 - Basidiocarpo de *Pycnoporus sanguineus* degradando madeira.

Material examinado: BRASIL. Pernambuco: Recife, Reserva Ecológica de Dois Irmãos, em madeiras caídas em decomposição.

Distribuição geográfica: Ocorre nas regiões tropicais da Ásia, África e América (RYVARDEN; JOHANSEN, 1980).

Os espécimes apresentaram basidioma avermelhados característico da espécie *Pycnoporus sanguineus*. Esta espécie já foi relatada anteriormente para o Estado de Pernambuco (CAVALCANTI, 1976; SILVA; MINTER, 1995; GILBERTONI; CAVALCANTI, 2003).

4.2 Características da cultura de *Pycnoporus sanguineus*

Colônia de crescimento rápido, recobrimdo a placa em 10 dias; zonada, branca a princípio, tornando-se, posteriormente, salmon-clara, pulverulenta, com área concêntricas e elevadas, de cor escarlate, cotonosas, apresentando grânulos e poros também de cor escarlate; margem lisa; reverso zonado, cor de mel. Micélio periférico com hifas hialinas, nodoso-septadas, ramificadas, 1,5-4µm de diâmetro; micélio aéreo com hifas septadas, frequentemente distorcidas, com protuberâncias; hifas fibrosas, com paredes grossas, 2-3µm de diâmetro; oídios formados da fragmentação das hifas nodoso-septadas; clamidósporos numerosos em culturas velhas, terminais e intercalares, 11-15 µm x 7,5-9µm. Cristas de formas variadas. Não foram observados basídios.



Figura 2 - Aspectos morfológicos da cultura micelial de *P. sanguineus*: a) frente, b) reverso.

4.3 Atividade fenoloxidase

Os isolados fúngicos apresentaram reação positiva quando cresceram em meio BDA acrescido de ácido gálico (formação de halo com pigmentação escura marrom avermelhada), indicando presença de fenoloxidase no meio de cultivo (Figura 2). Esses estão de corroboram com os obtidos por Castro e Silva (2006) que também verificaram produção de fenoloxidase em isolados de *P. sanguineus* coletados no Estado do Amazonas.

As fenoloxidasas são produzidas principalmente por Basidiomycetes da podridão branca, sendo também detectada em fungos da podridão marrom (DURÁN; ESPOSITO, 1997). Kirk e Kelman (1965) relataram que muitos Basidiomycetes produzem fenoloxidasas extracelular detectável pela formação halos em meio contendo fenóis.

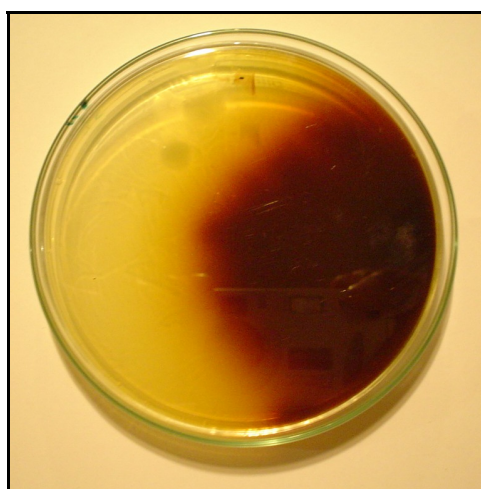


Figura 3. Reação fenoloxidase positiva de *Pycnoporus sanguineus* em agar malte acrescido de ácido gálico após 10 dias de cultivo.

5. CONCLUSÕES

- Foram isolados e purificados dois isolados fúngicos de áreas de Mata Atlântica do Parque de Dois-Irmãos;
- A espécie isolada foi *Pycnoporus sanguineus*.
- Os isolados fúngicos identificados demonstraram potencial enzimático para serem aplicados em processos de biorremediação.

6. REFERÊNCIAS

- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**, 4th ed, New York: Jonh Wiley & Sons, 1996. 869p.
- ASSIS, R. A.; LOBATO, F.C.F.; SERAKIDES, R. Detecção imunohistoquímica de várias espécies de *Clostridia* em tecidos parafinizados de cobaias inoculadas experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol.25, p.4-8, 2005.
- ALONSO, S.K.; SILVA, A.G.; KASUYA, M.C.M.; BARROS, N.F.; CAVALLAZZI, J.R.P.; BETTUCCI, L.; LUPO, S.; ALFENAS, A.C. Isolamento e seleção de fungos causadores da podridão branca de madeira em florestas de *Eucalyptus* spp. Com potencial de degradação em cepas e raízes. **Revista árvore**, v.31, p.145-155, 2007.
- BERGER, B.M. Parameters influencing biotransformation rates of Phenylurea herbicides by soil microorganisms. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.60, n.2, p.71-82, 1998.
- BOER, C. G.; OBICI, L.; SOUZA, C. G. M.; PERALTA, R. M. Decolorization of synthetic dyes by solid state cultures of *Lentinula (Lentinus) edodes* producing manganese peroxidase as the main ligninolytic enzyme. **Bioresource Technology**, v.94, p.107-112, 2002.
- BONONI, V. L. Basidiomycetes do Parque Estadual da Ilha do Cardoso: IV. Adições às famílias Hymenochaetaceae, Stereaceae e Thelephoraceae. **Rickia**, 11, .43-52, 1984.
- CASTRO E SILVA, A.; FERREIRA, S.F.; FONSECA, M.D.P.; ROLAND, I.A. Efeito da fonte de carbono na atividade enzimática dos fungos degradadores de madeira *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes* sp. em cultura sob agitação. In: Anais da 58ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 2006, Florianópolis.
- CAROLINA, P.; ROMULO, O.; JOSE, R.; IRINA, U.; JAIME, B.; JUANITA, F.; JAIME, R. Kraft pulp bleaching by dihydroxybenzenes and siderophores from white rot fungi. **Proceedings of the International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry**, v.1, CPPA, Montreal, Canada. p.161-164, 1998.
- CAVALCANTI, M.A.Q. Caracteres culturais de alguns Basidiomycetes isolados em Recife. Universidade Federal de Pernambuco – Instituto de Micologia - Departamento de Micologia Biotológica. Recife, 1972.
- CAVALCANTI, M.A.Q. Introdução ao conhecimento dos Basidiomycetes poliporóides da Zona da Mata de Pernambuco. Recife, 1976, 200p. (Tese de livre-docência), Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- DAVIDSON, R. W.; CAMPBELL, W. A.; BLAISDELL, D. J. Differentiaton of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. **Journal Agriculture Research**, v.57, 683-695, 1938.
- DONK, M. A. A conspectus of the families of Aphyllophorales. **Personia**, v.3, p.199-324, 1964.
- DURÁN N.; ESPÓSITO, E. Biodegradação de lignina e tratamento de efluentes por fungos lignolíticos. In: Melo, I. S.; Azevedo, J. L. (ed.) **Microbiologia Ambiental**. Jaguarariúna: Embrapa-CNPMA, v.12, p. 269-292, 1997.
- FERRAZ, A. L. Fungos decompositores de materiais lignocelulósicos. In: ESPÓSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Orgs). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, p. 215-242, 2004.
- FIDALGO, O. As microestruturas e sua importância na sistemática dos fungos superiores. **Rickia**, v.3, 117-159, 1968.
- GILBERTONI, T.B. Aphyllophorales (Basidiomycotina) em áreas de Mata Atlântica do nordeste brasileiro. Recife, 2004, 258p. Tese (Biologia de Fungos) Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Micologia, Recife.
- GILBERTONI, T.B.; CAVALCANTI, M.A.C. A mycological survey of Aphyllophorales (Basidiomycotina) of the Atlantic Rain Forest in the state of Pernambuco, Brazil. **Mycotaxon**, v.89, p.203-211, 2003.
- GILBERTSON, R.L.; RYVARDEN, L. North American Polypores. Oslo, Fungiflora. 1986.

- GOMES, F. B.; MORAES, J. C.; SANTOS, C. D. Indução de resistência em plantas de trigo por silício e pulgões. **Scientia Agrícola**, s/p, v.62, 2005.
- GRACE, J. K.; GOODWELL, B. S.; Jones, W. E.; CHANDHOKE, V.; JELLISON, J. Evidence for inhibition of termite (Isoptera: Rhinotermitidae) Feeding by extracellular metabolites of a wood decay fungus. **Proceedings, Hawaiian Entomological Society**, v.31, p.249-252, 1992.
- GUGLIOTTA, A M.; CAPELARI, M. Polyporaceae from Ilha do Cardoso, SP, Brasil. **Mycotaxon**, v.56, p. 107-113, 1995.
- HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, D. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**, CAB International, Cambridge, 1995, 616p.
- IKEHATA, K.; BUCHANAN, I. D.; SMITH, D. W. Recent developments in the production of extracellular fungal peroxidases and laccases for waste treatment. **Journal Environmental Engineering Science**, v.3, p. 1-19, 2004.
- KANTEINEN, A.; HATAKKA, A.; VIIKARI, L. Production of lignin peroxidase and laccase by *Phlebia radiata*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.31, p.234-239, 1989.
- KEREM, Z.; BAO, W.; HAMMEL, K. E. Extracellular degradation of polyethers by the brown rot fungus *Gloeophyllum trabeum*. **Biological Sciences Symposium**, p.461-462, 1997.
- KIRK, T. K.; KELMAN, A. Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood-decaying Basidiomycetes. **Phytopathology**, v.55, p.739-745, 1965.
- KOTLABA, F.; KOHLMAYER, E. The Higher Fungi. **Marine mycology**. New York, Academic Press, 1964.
- LEONOWICZ, A.; MATUSZEWSKA, A.; LUTEREZK, J.; ZIEGENHANGEN, D.; WOJTÁS-WASILEWSKA, M.; Cho, N.; HOFRICHTER, M.; ROGALSKI, J. Biodegradation of lignin by White rot fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v.27, p.175-185, 1999.
- MARTIN, C. G. Three new Heterobasidiomycetes. **Mycologia**, v.26, p.261-265, 1934.
- MARTINS, M. A. M.; QUEIROZ, M. J.; SILVESTRE, A. J. D.; LIMA, N. Relationship of chemical structure of textile dyes on the pre-adaptation medium and the potentialities of their biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*. **Research in Microbiology**, v.153, p. 361-368, 2002.
- PEGLER, D. N.; SPOONER, B. **The mushroom identifier**. The Apples Press, London, 1992, 144p.
- RIVARDEN, L.; JOHANSEN, I. A preliminary polypore flora of East Africa. **Fungiflora**, Oslo, 1980, 836p.
- SEKHAR, K.C.; SUBRAMANIAN, S.; MODAK, J.M.; NATARAJAN, K.A. Removal of metal ions on industrial biomass with reference to environmental control. **Intern. J. Min. Proces.**, v.53, p.107-120, 1998.
- SILVA, M.; ESPÓSITO, E. O papel dos fungos na recuperação ambiental. In: Espósito, E.; Azevedo, J. L. (Orgs). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**, Caxias do Sul: Educs, 2004, p. 337-378.
- SILVA, M.; MINTER, D. W. Fungi from do Brasil – Recorded by Batista and co-workers. **Mycological papers**, v.169, p.1-585, 1995.
- SINGER, R. The Agaricales (mushrooms) in Modern Taxonomy. **Lilloa**. Tucumán. 1951. 832p.
- STAHL, J.D.; AUST, S. D. Metabolism and detoxification of TNT by *Phanerochaete chrysosporium*. **Biochemistry and Biophysics Research Communications**. v.192, n.2, p.477-482. 1993.
- SOUZA-CRUZ, P. B.; FREER, J.; SIIKA-AHO, M.; FERRAZ, A. Extraction and determination of enzymes produced by *Ceriporiopsis subvermispora* during biopulping of *Pinus taeda* wood chips. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, p.228-234, 2004.
- STALPERS, J. A.; LOERAKKER, W. M. *Laetisaria* and *Limonomyces* species (Corticaceae) causing pink diseases in turf grasses. **Canadian Journal of Botany**, v.60, p.529-537, 1982.
- TATARKO, M.; BUMPUS, J. A. Biodegradation of Congo red by *Phanerochaete chrysosporium*. **Water Research**, v.32, p.1713-1717, 1998.
- TEIXEIRA, A. R. Método para estudo das hifas do basidiocarpo de fungos poliporáceos. **Instituto de Botânica**. Manual, n.6, São Paulo. 1955. 20p.

TZEAN, S. S.; LIOU, J. Y. Nematophagus resupinate basidiomycetous fungi. **Phytopathology**, v.83, p. 1015-1020, 1993.

WALDER, R.; KALVATCHEV, Z.; GARZARO, D.; BARRIOS, M. *In Vitro* antiviral activity from *Fomitella supina*, *Phellinus rhabarbarinus*, *Trichaptum perrottettii* and *Trametes cubensis*. **Fitoterapia**, v.66, p. 249-256, 1995a.