

# MICRORGANISMOS EPIFÍTICOS DA VASSOURINHA - *Baccharis dracunculifolia* D. C. (*Asteraceae*)

Simone Link\*  
Sideney Becker Onofre\*\*

**RESUMO:** A espécie *Baccharis dracunculifolia* D.C. (*Asteraceae*) possui uma importância biológica e ecológica para o levantamento de microrganismos epifíticos, levando em consideração a sua capacidade de adaptação aos diversos biomas de todas as Américas em especial a América do Sul. Microrganismos epifíticos vivem na superfície dos vegetais, sendo amplamente distribuídos na natureza em função do clima úmido. Atualmente as enzimas vem aumentando sua importância na pesquisa científica, são catalisadores biológicos amplamente utilizados na indústria, na produção de detergentes e na indústria têxtil e farmacêutica, entre outras. Este trabalho teve como objetivo isolar, identificar e avaliar qualitativamente, as atividades lipolíticas, amilolíticas e proteolíticas em três espécies de fungos epifíticos isolados de *B. dracunculifolia*. Foram obtidos três grupos de fungos, que posteriormente, foram identificados como sendo os fungos *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. Em relação à avaliação da capacidade desses fungos em produzir enzimas extracelulares, verificou-se que os três grupos de fungos identificados são produtores de lipases, amilases e proteases, entretanto a produção de proteases é menor às das outras enzimas, pois apresentou Índice Enzimático (I.E) igual a 1, equivalendo a uma Atividade Enzimática (Pz) negativa, em relação à atividade lipolítica e amilolítica esses fungos apresentaram uma Atividade Enzimática (Pz) positiva.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Baccharis dracunculifolia*; Fungos epifíticos; Enzimas.

## EPIPHYTIC MICROORGANISMS OF VASSOURI- NHA - *Baccharis dracunculifolia* D. C. (*Asteraceae*)

---

\* Bolsista PIC da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão – PR. E-mail: mymonne11@hotmail.com

\*\* Docente Titular da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão – PR. E-mail: sideney@unipar.br

**ABSTRACT:** The species *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) has a biological and ecological importance for the removal of epiphytic microorganisms, taking into account their adaptability to different biomes of the Americas in particular South America. Epiphytic living microorganisms on the vegetables surface, is widely distributed in nature according to the humid climate. Currently the enzymes has been increasing its importance in scientific research, biological catalysts are widely used in industry, production of detergents and textile industry and pharmaceuticals, among others. This study aimed to isolate, identify and qualitatively evaluate the lipolytic activities, amylase and protease in three species of epiphytic fungi isolated from *B. dracunculifolia*. It was obtained three groups of fungi, which were later identified as the fungi *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp. In relation to the capacity of these fungi to produce extra cellular enzymes, it was found that the three groups identified fungi are producers of lipases, amylases and proteases, but protease production is less than those of other enzymes, it showed Enzyme Index (IE) equal to 1, equivalent to a negative enzymatic activity (Pz) with respect to lipolytic and amylolytic activity of these fungi showed a positive enzymatic activity (Pz).

**KEYWORDS:** *Baccharis dracunculifolia*; Epiphytic fungi; Enzymes.

## INTRODUÇÃO

Microrganismos epifíticos ocorrem na natureza em função do clima úmido. Existe uma diversidade de microrganismos epifíticos presentes na superfície das plantas saudáveis com grande potencial para serem estudados. A composição das espécies pode variar de acordo com o hospedeiro, distribuição geográfica, idade da planta, condições ecológicas e sazonais, incluindo altitude e precipitação.

Os fungos epifíticos são aqueles que vivem sob outro ser vivo e os endófitos são aqueles que vivem em associação íntima com plantas hospedeiras vivas e sadias, colonizando os tecidos vegetais. Acredita-se que muitas substâncias bioativas que ocorrem nas plantas podem ser produzidas por estes microrganismos associados, porém a exata relação física e bioquímica entre os endófitos e a planta permanece obscura (STROBEL, 2003).

Devido à ampla aplicabilidade a eles relacionada: controle biológico de pragas e doenças, produção de compostos químicos para indústria farmacêutica, possível manipulação genética, além da relação desses organismos com conferência de vantagens adaptativas aos vegetais, têm recebido grande atenção nos últimos anos. Dessa maneira estudos nessa área são de grande importância científica, de-

vido à sua aplicabilidade em estudos ulteriores, além de seu importante aspecto econômico (BAYMAN et al., 1998).

A comprovação do potencial de secreção de metabólitos em uma espécie e a análise das condições de produção pode possibilitar a otimização das condições ambientais que favorecem a exploração de uma habilidade.

As enzimas vêm sendo usadas pela espécie humana, apresentando grande importância na pesquisa científica, nos diagnósticos clínicos e na indústria. Na última década, as reações catalisadas por enzimas aumentaram dentro da área de síntese de química orgânica. Estima-se que das 25.000 enzimas presentes na natureza, cerca de 2.800 foram classificadas e perto de 400 são comercializadas de uma forma pura. O interesse em utilizar enzimas como catalisadores têm aumentado devido à sua alta versatilidade e às condições suaves de temperatura e pH em que se realizam as reações (SOLEWICZ, 1987).

A capacidade microbiana de catabolizar diferentes compostos orgânicos, naturais ou sintéticos, e inorgânicos, extraíndo desses compostos fontes nutricionais e energéticas, veio possibilitar o emprego desses agentes biológicos, pela engenharia sanitária, como solução aos problemas gerados pelos rejeitos lançados no meio ambiente. A habilidade notável de degradação de compostos por microrganismos é consequência da evolução dos sistemas enzimáticos de células procariotas e eucariotas, as quais vêm coexistindo com uma enorme variedade de substâncias naturais de diferentes origens. Esta diversidade de substratos potenciais ao crescimento microbiano resultou, então, no aparecimento de enzimas aptas a transformar moléculas orgânicas com estruturas bastante distintas. Esta resposta do metabolismo de certos microrganismos, sem dúvida, confere algumas vantagens adicionais às células microbianas, tais como a exploração de novos nichos ecológicos e fontes energéticas (BOUWER; ZEHNDER, 1993).

Enzimas como amilases, lipases e proteases além de atuarem na quebra de moléculas para a nutrição do organismo, estão associadas, segundo a literatura, a processos de patogênese e penetração nos hospedeiros e a atividades desenvolvidas pela indústria (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

A utilização de enzimas na indústria biotecnológica como produtos microbianos, tem sido muito explorada por apresentarem uma série de vantagens tais como: custos de produção relativamente baixos, susceptibilidade de produção em larga escala em fermentadores industriais, espectro amplo de características físico-químicas de diferentes enzimas, geralmente relacionadas ao habitat e fisiologia do microrganismo produtor, susceptibilidade de manipulação genética e por representarem um recurso renovável. A utilização ampla destas enzimas é reflexo da elevada especificidade de sua ação como biocatalisadoras, porém, enzimas com o mesmo perfil de atuação sob o substrato, podem apresentar fun-

cionamento ótimo em pH, temperatura e concentração iônica diferentes, o que requer o screening de enzimas adequadas às condições nas quais serão utilizadas. Atualmente, enzimas microbianas são amplamente utilizadas no processamento de alimentos, produção de detergentes (biológicos), indústrias têxtil e farmacêutica, na química bio-orgânica, biologia molecular e aplicações médicas (SAID; PIETRO, 2002).

A identificação da atividade de enzimas em microrganismos e os estudos relacionados à otimização da produção representam grande interesse industrial. Com certeza, o isolamento de amostras com diferentes potenciais produtores pode representar alternativas para a indústria e para a medicina no controle do crescimento desses organismos. Consecutivamente, o isolamento de fungos em ambientes naturais pode contribuir com a obtenção de amostras com melhor potencial e permite a constatação do grau de diversidade biológica em relação à microbiota.

A espécie *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae) possui uma importância biológica e ecológica para o levantamento de microrganismos epifíticos, levando em consideração a sua capacidade de adaptação aos diversos biomas de todas as Américas em especial a América do Sul. Pertencente à família Asteraceae que é o grupo sistemático mais numeroso dentro das Angiospermas, compreendendo cerca de 1.100 gêneros e 25.000 espécies. São plantas de aspecto extremamente variado, incluindo principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores (QUEIROGA; FUKAI; MARSAIOLI, 1990). Cerca de 98% dos gêneros são constituídos por plantas de pequeno porte, e são encontradas em todos os tipos de habitats, mas principalmente nas regiões tropicais montanhosas na América do Sul (WILLIANS; KUBLELIK; LIVAK, 1998).

O gênero *Baccharis* (Asteraceae) está representado por mais de 500 espécies distribuídas principalmente no Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México, ocupando as regiões mais elevadas (QUEIROGA; FUKAI; MARSAIOLI, 1990). A alta concentração de espécies no Brasil e nos Andes indica que uma dessas áreas é o provável centro de origem desse gênero. No Brasil estão descritas 120 espécies de *Baccharis*, com a maior parte delas localizadas na região sudeste do país. Estimam-se em 100 o número de espécies na Argentina, 28 no México e aproximadamente 40 na Colômbia, constituindo um dos mais importantes grupos de plantas neste país das quais 38% são endêmicas (LOAYZA et al., 1993; 1995; FERRACINI et al., 1995).

As espécies do gênero *Baccharis* são no geral arbustos como a carqueja, a vassoura ou vassourinha e medem em média de 0,5 a 4,0 m de altura. Apresentam elevado valor sócio-econômico, com ampla dispersão nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio Grande do Sul, entre outras regiões do país,

onde grande número delas são utilizadas na medicina popular para controle ou tratamento de várias doenças. São consumidas principalmente na forma de chás com indicações para males do estômago, fígado, anemias, inflamações, diabetes, doenças na próstata, sendo também descritas como remédio para o processo de desintoxicação do organismo (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

Tais propriedades, aliadas à crescente necessidade do uso racional dos recursos naturais do planeta, da biotecnologia e a necessidade de se conhecer as relações que ocorrem na *B. dracunculifolia*, fundamentam a abordagem desse trabalho, com o objetivo de isolar, identificar e avaliar qualitativamente, em meio de cultura, as atividades lipolíticas, amilolíticas, e proteolíticas em três espécies de fungos epifíticos isolados de *B. dracunculifolia* D. C. (Asteraceae).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 ISOLAMENTO

Amostras de 15 plantas sadias de *B. dracunculifolia* foram coletadas na região Sudoeste do Paraná. As amostras coletadas no período de fevereiro de 2008 a junho de 2009 foram acondicionadas e transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus de Francisco Beltrão. Todo o material passou por um processo de triagem e os ramos foram cortados em pedaços pequenos de aproximadamente 0,5 cm (explantes) e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Este trabalho enfatizou somente o isolamento de fungos filamentosos a partir dos ramos da planta.

### 2.2 MEIO DE CULTURA PARA ISOLAMENTO

Para o isolamento dos fungos foi utilizado o meio de cultura BDA, cuja composição é: (Batata 20 %, Dextrose 2 % e Agar 1,5 %). O tempo de incubação para fungos em geral foi de 3 a 8 semanas em temperatura de 28° C.

### 2.3 PURIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

As colônias fúngicas foram transferidas uma a uma para o meio de cultura de isolamento, contidos em tubos inclinados. A seleção dessas colônias foi realizada com base nas suas características fenotípicas (pigmentação, superfície, borda e textura). Os tubos foram incubados a mesma temperatura de isolamento e armazenados em baixa temperatura para posterior identificação, manutenção e testes.

## 2.4 MONTAGEM DA MICOTECA

Cada um dos microrganismos isolados e purificados foi levando em consideração suas estruturas morfológicas, por meio da técnica de micro-cultivo e com o auxílio de literaturas especializadas, sendo posteriormente identificado com um número específico e armazenado em meio de cultura BDA em tubos de ensaio inclinados. Esses tubos e frascos contendo os fungos foram mantidos a uma temperatura de 4° C, para posterior avaliação das características biológicas.

## 2.5 PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES

A partir dos isolados obtidos, esses foram agrupados levando em consideração as suas características morfológicas e o seu comportamento de crescimento micelial, além da produção ou não de pigmentos no meio de cultura.

Para esse trabalho foram utilizados três grupos de fungos considerados mais frequentes. Esses três grupos de fungos foram cultivados pela técnica de micro-cultivo em lâmina, sendo posteriormente identificados com o auxílio da técnica de microscopia e de literatura especializada. Esses fungos foram então avaliados visando à obtenção de linhagens produtoras de enzimas extracelulares, destacando as lipases, as amilases e as proteases. Para isso seguiu-se a metodologia descrita por Hankin e Anagnostakis (1975).

## 2.6 ATIVIDADE LÍPASE

As linhagens foram inoculadas em Meio Mínimo (MM), cuja composição é: NaNO<sub>3</sub> - 0,38g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 1,19 g/L, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 0,50 g/L, KCl - 0,50 g/L, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 0,01 g/L, Glicose - 10 g/L, Agar - 20 g/L, suplementado com 2 % de Tween 80 (sorbitano monolaurato).

Cada fungo foi inoculado no centro das placas e posteriormente mantido em estufa de crescimento a 28° C por sete dias, posteriormente essas placas foram transferidas para um refrigerador e mantidas por mais sete dias em temperatura de 4° C, quando se procederam as avaliações. A atividade lipolítica foi evidenciada pela presença de cristais de sais de cálcio do ácido láurico, liberados ao redor das colônias formando um halo.

## 2.7 ATIVIDADE PROTEASE

As amostras foram inoculadas no centro das placas em Meio Mínimo (MM), acrescido de 2 % de albumina e incubadas a temperatura de 28° C. As culturas

foram mantidas nesta temperatura por um período de sete dias, sendo posteriormente transferidas para geladeira para determinação dos halos da Atividade Enzimática (Pz) e os halos das colônias.

## 2.8 ATIVIDADE AMILASE

Os fungos foram inoculados no centro das placas contendo Meio Mínimo (MM), suplementado com amido solúvel a 2 % e pH 6.0. As placas foram incubadas a 28° C por sete dias. Após o crescimento das colônias, as placas foram saturadas com uma solução de iodo a 0,1 N, onde destaca a atividade enzimática.

## 2.9 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A Atividade Enzimática (Pz) de cada fungo decorreu da razão entre o diâmetro da colônia (dc) e o diâmetro da colônia acrescido da zona de precipitação (dcp) da enzima. Os resultados foram classificados em negativos (Pz = 1), positivos ( $>0,64$  e  $<1$  = Pz 2) e fortemente positivos ( $<0,64$  = Pz 3).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 20 isolados de fungos epifíticos, a partir das 15 amostras de plantas de *B. dracunculifolia*, coletadas na região Sudoeste do Paraná. Esses 20 isolados foram reunidos em três grupos e identificados.

Após a identificação, verificou-se que esses três grupos de fungos eram as espécies *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp.

Analisando os resultados obtidos em relação aos fungos identificados, percebe-se que são três espécies de epifíticos muito comuns em plantas. Esses fungos são encontrados causando doenças fúngicas nas partes aéreas dos vegetais ou atuando como decompositores da matéria orgânica no meio ambiente.

*Colletotrichum* é um gênero de fungo ascomiceto que engloba muitas espécies causadoras de doenças em uma gama extensiva de hospedeiros (BAILEY; JEGER, 1992). Dentre essas doenças destaca-se a antracnose que causa danos severos na produção de soja e feijão, principalmente em regiões quentes e úmidas. Este fungo durante o seu desenvolvimento possui a capacidade de produzir melanina e que a expressão dos genes envolvidos na produção desse pigmento, induz a um aumento de sua patogenicidade, indicando com isso a um dos principais fatores de virulência de fungos do gênero *Colletotrichum* (PEREIRA et al., 1998).

Assim, as espécies de *Colletotrichum* também são conhecidas como fitopatógenas e atacam principalmente espécies arbóreas, como mangueiras, bananeiras e guaranazeiros, entre outras. Estes fungos interagem de maneira diferenciada de acordo com cada hospedeiro, podendo atacar diferentes partes da planta, como caules, folhas, flores e frutos. O *C. acucatum*, por exemplo, tem sido descrito como patógeno de árvores cítricas, contaminando especialmente flores de limoeiros (CHUNG et al., 2002), enquanto que espécies de *C. coffeanum* têm sido severamente combatidas por prejudicarem as lavouras de café, destruindo os frutos (KING'ORI; MASABA, 1991).

Fungos do gênero *Fusarium* têm a capacidade de produzir uma variedade de micotoxinas, dentre elas o ácido fusárico. Entre as doenças mais frequentes nas culturas de hortaliças e plantas frutíferas estão a murcha de fusário e a fusariose responsáveis por grandes perdas de produção nas áreas de cultivo. Este fungo sobrevive no solo, sendo transmitido por várias vias de disseminação, sobrevivendo em seu interior, em impurezas associadas às sementes, estruturas de plantas e em restos de cultura. Dessa forma, este fungo se desenvolve nessas estruturas causando doenças e o seu controle torna-se extremamente difícil e, muitas vezes, impossibilitado, devido a sua agressividade na produção de enzimas hidrolíticas como celulasas, xilanases, pectinase, amilases e lipases (MACHADO, 2002).

O gênero *Penicillium* é um dos mais importantes e estudados na atualidade. Este fungo produz uma variedade de metabólitos secundários bioativos, como os alcalóides e terpenóides. Estas substâncias possuem atividades anticancerígena, antibacteriana, antiinflamatória e antifúngica entre outras, tornando estes microrganismos economicamente importantes, podendo ser aplicados no campo da medicina para a produção de fármacos, como a penicilina. São considerados grandes produtores de micotoxinas, substâncias altamente tóxicas, além de serem decompositores ecológicos.

Em relação ao gênero *Penicillium*, vários trabalhos foram encontrados envolvendo produção, caracterização e purificação de enzimas extracelulares de diferentes espécies, como *P. citrinum*, *P. cyclospium*, *P. simplicissimum*, *P. caseicolum*, *P. restrictum*, *P. expansum*, *P. chrysogenum*, *P. roquefort*, *P. camemberti*, *P. abeanum*, entre outras espécies (FERREIRA, 1998).

Em relação à avaliação da capacidade de produção das enzimas extracelulares lipases, proteases e amilases, pelas três espécies de fungos isolados de *B. dracunculifolia*, verifica-se que esses três fungos são produtores de lipases, amilases e proteases, porém a produção de proteases é inferior as outras duas enzimas, pois apresentou atividade proteolítica negativa, o que equivale a um Índice Enzimático (I.E) igual a 1 e uma Atividade Enzimática (Pz) negativa. Esses dados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 Atividade Enzimática de três linhagens de fungos epifíticos isolados de *B. dracunculifolia* D.C. (Asteraceae)

Linhagens	Lipolítica		Amiolítica		Proteolítica	
	I.E.	Pz	I.E.	Pz	I.E.	Pz
<i>Colletotrichum sp.</i>	0,73	Positivo	0,93	Positivo	1,00	Negativo
<i>Fusarium sp.</i>	0,70	Positivo	0,97	Positivo	1,00	Negativo
<i>Penicillium sp.</i>	0,76	Positivo	0,98	Positivo	1,00	Negativo

Analisando os dados contidos na Tabela 1, percebe-se que o fungo *Colletotrichum sp.*, apresentou um Índice Enzimático (I.E) de 0,73 e uma Atividade Enzimática (Pz) positiva em relação a atividade lipolítica, enquanto na atividade amilolítica esse mesmo fungo apresentou um I.E de 0,93 e um Pz positivo.

O fungo *Fusarium sp.*, mostrou um I.E de 0,70 e um Pz positivo para a atividade lipolítica, já na atividade amilolítica esse fungo apresentou um I.E de 0,97 com um Pz positivo. E o fungo *Penicillium sp.*, exibiu um I.E de 0,76 e um Pz positivo para a atividade lipolítica, já na atividade amilolítica apresentou um I.E de 0,98 e um Pz também positivo.

Deve-se destacar que as lipases microbianas demonstram um enorme potencial biotecnológico, por apresentarem fatores peculiares como estabilidade em solventes orgânicos, não requerem cofatores, possuem especificidade de substratos, que dependerá do tipo de reação e de substrato, e exibem uma alta enâncio-seletividade e enâncioespecificidade (ELIBOL; OZER, 2000).

As amilases são responsáveis pela degradação da molécula de amido e são amplamente distribuídas na natureza, sendo o mais importante polissacarídeo de reserva do reino vegetal. Apesar de poderem ser derivadas de diversas fontes, incluindo plantas, animais e microrganismos, enzimas microbianas geralmente encontram grande demanda industrial. Atualmente, grandes quantidades de amilases microbianas estão disponíveis comercialmente e têm aplicação quase completa na hidrólise do amido em indústrias de processamento do amido (GUPTA et al., 2003; PANDEY et al., 2005).

As proteases executam uma grande variedade de funções fisiológicas complexas. Sua importância em conduzir o metabolismo essencial e as funções regulatórias se torna evidente a partir da sua ocorrência em todos os organismos vivos existentes. As proteases extracelulares catalisam a hidrólise de proteínas em moléculas menores para conseqüente absorção pela célula, enquanto as intracelulares possuem um papel vital na regulação do metabolismo (RAO et al., 1998).

A produção de exoenzimas é comum em muitas espécies de fungos filamentosos como resposta a determinados estímulos ambientais, pela expressão de genes e posterior secreção das enzimas formadas. Os fungos secretam uma grande variedade de enzimas extracelulares como proteases, amilases, pectinases, celulases, ligninases, xilanases, lipases e outras. A síntese destas enzimas está sujeita aos vários mecanismos regulatórios passíveis de indução e repressão, sendo a secreção direcionada por peptídeos sinal, que fazem parte da proteína a ser exportada, e que ao serem reconhecidos pela célula garantem a passagem através do canal exportador (ARCHER; WOOD, 1995).

A produção de enzimas por espécies de *Colletotrichum* tem sido pouco descrita na literatura. Dentre as enzimas mais estudadas podem ser citadas as pectinases e poligalacturonases, responsáveis pelo ataque à pectina presente em folhas e frutos das plantas (HERBERT et al., 2004) e as quitinases, as quais atuam na degradação da quitina presente na parede celular de fungos e também em insetos (SOUZA et al., 2003). Anderson e Nicholson (1996) demonstraram pela primeira vez, a atividade de lacase na mucilagem extracelular de *C. graminicola*. Recentemente, Levin e colaboradores (2007), selecionaram o *C. truncatum* como o melhor produtor de lacases entre 10 cepas de *Colletotrichum* estudadas.

Os resultados obtidos com o fungo do gênero *Penicillium*, vão de encontro com resultados obtidos por Lima e colaboradores (2003), onde indicam que muitas espécies do gênero *Penicillium* são notáveis produtoras de lipases e amilases com grande potencial de aplicação em várias áreas diferentes.

A área da biotecnologia tem mostrado grande interesse pelas enzimas de origem microbiana. Este interesse é devido às características próprias das enzimas, como estabilidade e a ampla perspectiva de aplicação industrial, principalmente na indústria alimentícia, uma vez que permite maior controle dos parâmetros (pH e temperatura) e maior eficiência (REED, 1975). Atualmente ainda são utilizadas na produção de detergentes, nas indústrias farmacêuticas, na biologia molecular e em aplicações médicas.

## **4 CONCLUSÃO**

Com os resultados obtidos pode-se concluir que a espécie *Baccharis dracunculifolia* D.C. (*Asteraceae*) possui microrganismos epifíticos. Os três grupos de fungos estudados foram identificados como sendo *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp., e estes apresentaram uma Atividade Enzimática (Pz) positiva em relação a atividade lipolítica e amilolítica, mas apresentaram uma Atividade Enzimática (Pz) negativa para a atividade proteolítica.

**REFERÊNCIAS**

- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. [S. l.]: John Wiley & Sons Pub., 1996.
- ANDERSON, D. W.; NICHOLSON, R. L. Characterization of laccase in the conidial mucilage of *Colletotrichum graminicola*. **Mycologia**, v. 88, p. 996-1002, 1996.
- ARCHER, D. B.; WOOD, D. A. Fungal exoenzymes. In: GROW, N. A. R.; GADD, G. M. (Eds.). **The growing fungus**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 137-162.
- BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. **Colletotrichum: biology, pathology and control**. [S. l.]: Kew. CAB International, 1992.
- BAYMAN, P. et al. Distribution and dispersal of *Xylaria* endophytes in two tree species in Puerto Rico. **Mycol. Res.**, v. 102, n. 8, p. 944-948, 1998.
- BOUWER, E. J.; ZEHNDER, A. J. B. Bioremediation of organic compounds - putting microbial metabolism to work. **TIBTECH**, v. 11, p. 360-367, 1993.
- CHUNG, K. R. et al. Engineering a genetic transformation system for *Colletotrichum acutatum*, the causal fungus of lime anthracnose and postbloom fruit drop of citrus. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 213, n. 1, p. 33-39, 2002.
- ELIBOL, M.; OZER, D. Influence of oxygen transfer on lipase production by *Rhizopus arrhizus*. **Process Biochem**, v. 36, p. 325-329, 2000.
- FERRACINI, V. L. et al. Essential oil of seven brazilian *Baccharis* species. **J Es-sent Oil Res.**, n. 7, p. 355-367, 1995.
- FERREIRA, M. H. **Produção de enzimas extracelulares por *Penicillium griseoroseum* cultivado em resíduo lignocelulósico**. Viçosa, 1998. 52p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- GUPTA, R. et al. Microbial  $\alpha$ -Amylases: Biotechnological Perspective. [Process Biochemistry](#), v. 38, n. 11, 30 June 2003, p. 1599-1616.

HANKIN, L. ANAGNOSTAKIS, S. G. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycol.**, v. 67, p. 597-607, 1975.

HERBERT, C. et al. Production of a cell wall associated endopolygalacturonase by *Colletotrichum lindemuthianum* and pectin degradation during bean infection. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 41, n. 2, p. 140-147, 2004.

KING'ORI, P. N.; MASABA, D. N. Distribution and persistence of benomyl resistance in populations of *Colletotrichum coffeanum* in coffee. **Kenya Coffee**, Nairobi, v. 56, n. 654, p. 1071-1074, 1991.

LEVIN, L. et al. Screening of *Colletotrichum* (Ascomycota) isolates, causal agents of soybean Anthracnose, for laccase production. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, La Plata, v. 42, n. 1/2, p. 71-77, 2007.

LIMA, V. M. G. et al. Effect of nitrogen and carbon sources on lipase production by *Penicillium aurantiogriseum*. **Food Technol. Biotechnol.**, v. 41, n. 2, p. 105-110, 2003.

LOAYZA, I. et al. Huiles esenciales de *Baccharis latifolia*, *B. salicifolia* de Bolivia et de *B. dracunculifolia* en provenance d'Uruguay. **Rivista Ital Eppos.**, p. 728-735, 1993.

LOAYZA, I. et al. Essential oils of *Baccharis salicifolia*, *Baccharis latifolia* and *Baccharis dracunculifolia*. **Phytochemistry**, n. 38, p. 381-389, 1995.

MACHADO, A. Q. **Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de semente de algodoeiro**. Lavras, 55p. 2002. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2002.

PANDEY, A. et al. **Enzyme Technology**. New Delhi: *Asiatech Publishers Inc.*, 2005.

PEREIRA, J. C. R. et al. Efeito de diferentes meios de cultura sobre a esporulação e o potencial de inóculo de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, v. 24, p. 186-189, 1998.

QUEIROGA, C. L.; FUKAI, A.; MARSAIOLI, A. Composition of the Essential Oil of Vassoura. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 1, n. 4, p. 105-109, 1990.

RAO, M. B. et al. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 62, n. 3, p. 597-635, 1998.

REED, G. **Enzymes in food processing**. 2 ed. Wisconsin: Academic Press, 1975. p. 573.

SAID, S.; PIETRO, R. **Enzimas de Interesse Industrial e Biotecnológico**. Rio de Janeiro, RJ: Eventos Ed., 2002.

SOLEWICZ, E. Biotecnologia: Enzimas na Síntese Orgânica. **INT**, v. 19, n. 40, p. 20-25, 1987.

SOUZA, R. F. et al. Purification and characterization of an endochitinase produced by *Colletotrichum gloeosporioides*. **FEMS Biotechnology Letters**, Holanda, v. 222, n. 1, p. 45-50, 2003.

STROBEL, G. Endophytes as sources of bioactive products. **Microbes and Infection**, v. 5, p. 535-544, 2003.

VERDI, L. G; BRIGHENTE, I. M. C; PIZZOLATTI, M. G. O gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, p. 85-94, 2005.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBLELIK, A. R.; LIVAK, K. J. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acid Research**, v. 18, p. 6531-6535, 1998.

Recebido em: 21 Janeiro 2010

Aceito em: 01 Março 2010