

Artigos Originais

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE METABÓLITOS PRODUZIDOS PELO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* (Linnaeus: Fries) MURRILL

Daniela Godinho Vanderlinde

Bióloga graduada na Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR. E-mail: dhanigv@hotmail.com

Sidney Becker Onofre

Biólogo, Professor Titular da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR. E-mail: sidney@unipar.br

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo obter, avaliar e determinar as concentrações inibitórias mínimas de dois extratos obtidos de *Pycnoporus sanguineus*. Para a obtenção dos extratos, amostras do fungo foram coletadas e posteriormente maceradas em dois sistemas de solventes, seguindo o seguinte fluxograma: (1) água e (2) acetato de etila, obtendo-se, assim, dois extratos fração, sendo uma fração polar e outra apolar. Esses extratos foram avaliados utilizando a técnica de difusão em ágar, sobre as bactérias *Escherichia coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, além da levedura *Cândida albicans*. Com os resultados obtidos, foi possível concluir que a fração polar se mostrou mais eficiente, pois inibiu o crescimento de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, se mostrando mais eficiente para *S. aureus*. Os dois extratos testados não inibiram o crescimento de *E. coli* e *C. albicans*. Na determinação das CIM - Concentração Inibitória Mínima - com a fração polar verificou-se um valor de 50% para *P. aeruginosa* e 12,50% para *S. aureus*; já, com a fração apolar, os valores de CIM foram de 50% para *P. aeruginosa*, 25% para *S. epidermidis* e 6,25% para *S. aureus*.

PALAVRAS-CHAVE: *Pycnoporus sanguineus*. Metabólitos Secundários. Atividade Antimicrobiana.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF METABOLITES PRODUCED BY THE FUNGUS *Pycnoporus sanguineus* (Linnaeus: Fries) MURRILL

ABSTRACT. Current research evaluates and determines minimum inhibitory concentrations of two extracts from the fungus *Pycnoporus sanguineus*. Fungus samples were collected and ground in two solvent systems to obtain extracts according to the following schedule: (1) water and (2) ethyl acetate. Two fraction extracts, polar and apolar, were obtained. Extracts were evaluated by agar diffusion technique on bacteria *Escherichia coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* and the yeast *Candida albicans*. Results show that polar fraction was more efficacious against *S. aureus*. The two tested extracts did not inhibit the growth of *E. coli* and *C. albicans*. When Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined by the polar fraction, the rates of 50% and 12.5% respectively for *P. aeruginosa* and *S. aureus* were verified. In the case of apolar fraction, MIC rates were 50%, 25% and 6.25% respectively for *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*

and *S. aureus*.

KEYWORDS: *Pycnoporus sanguineus*; Secondary Metabolites; Antimicrobial Activity.

INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos heterotróficos que estão em constante evolução biológica. São encontrados em toda parte do globo terrestre em diversos habitats como: solo, plantas, animais vivos e mortos, podendo ser também encontrados nos produtos enlatados, tecidos, tintas, papéis, papelão, couro, ceras, filmes fotográficos e em tantos outros (MEYERS; KAPLAN; WEINSTEIN, 1989; SILVEIRA, 1999). Podem ser benéficos para nós, seres humano, sendo utilizado na indústria farmacêutica, ou nocivos para nossa saúde como doenças, ou na agricultura como parasitas ou controle de pragas (LACAZ et al., 2002).

A diversidade fúngica pode ser avaliada quando o número de espécie mundial, segundo Smânia (2003, p. 52) “é estimado em aproximadamente 1,5 milhões; entretanto somente 69.000 foram descritas”. Colocam os fungos como o segundo maior reino, suplantado apenas pelos insetos (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001; MANCILHA, 2006).

Dentre os fungos destacamos os Basidiomycetes, que incluem aproximadamente 1.200 espécies identificadas (BONONI; GRANDI, 1999). Certos fungos, como os Basidiomycetes, representam um conjunto de organismos bastante explorado pela medicina popular.

As propriedades terapêuticas dos Basidiomycetes vêm sendo reconhecidas por milênios pelos povos orientais, sendo que os primeiros livros chineses sobre produtos naturais, medicinais, datam 200 anos atrás (KAIJIANG; ROBERTS, 1986). Assim, muitos estudos científicos foram conduzidos com basidiomas destes fungos, com a finalidade de isolar e identificar quimicamente as diversas substâncias ativas, e também determinar suas potencialidades terapêuticas (ONOFRE et al., 1999; SMÂNIA et al., 1997; LOMAS-COLO et al., 2003).

A maioria dos processos biotecnológicos que utilizam fungos basidiomicetos baseia-se nos seus metabólicos, como enzimas e polissacarídeos. O estudo de Bononi e Grandi (1999), com basidiomicetos produtores de polissacarídeos que apresentam atividades imunofarmacológicas, tem mostrado a sua importância e a sua aplicabilidade nessa área.

Dentre os metabólitos produzidos por esses fungos vemos destacar cinabarina, um derivado fenoxazínico com atividade antibacteriana e antiviral, encontrado em *Pycnoporus sanguineus* (SMÂNIA; SMÂNIA JR.; LOGUEIRO-LEITE, 1998; SMÂNIA et al., 1997). O *P. sanguineus* é conhecido popularmente como “orelha-de-pau”, devido ao hábito do basidioma (LACAZ et al., 2002; VIEIRA, 2005).

Distinguem-se das demais ordens de basidiomicetos por formarem basidiomas normalmente coriáceos e lenhosos, gimnocárpicos (himênio sempre exposto, desde a fase inicial até a maturação dos basidiósporos) e holobasídios (SINGER, 1986).

O fungo *P. sanguineus*, basidiomiceto da ordem Aphyllophorales, da família Polyporaceae, é um eficiente produtor da enzima lacase (um polifenol oxidase que atua sobre uma variedade de doadores de hidrogênio aromáticos), que está sendo utilizado com sucesso na fermentação de resíduos agroindustriais e na descoloração de efluente Kraft, além de diferentes corantes (POINTING; JONES; VRIJMOED, 2000; VALERIANO et al., 2007).

A ordem aphyllophorales é muito grande, reunindo cerca de 400 gêneros e 1200 espécies principalmente saprófitas (HAWKSWORTH, 1983; PUTZKE; PUTZKE, 1998).

O percussor na utilização de fungos na produção de antibióticos foi a obtenção da penicilina e a griseofulvina. Outro exemplo muito importante é a produção das cefalosporina, metabólitos com efeito imunossupressor, utilizado em pacientes submetidos a transplantes. Entre os produtos originados por bioconservação e mediados por fungos, destacam-se a cortisona, a hidrocortisona e os hormônios masculino e feminino (SINGER, 1986, MARGALITH, 1993).

Dessa forma, é imprescindível que sejam incrementadas pesquisas que visem à obtenção de novas substâncias com atividade antimicrobiana, podendo ser com atividade dirigida contra fungos ou antibacterianos. Outras razões ainda são de grande relevância no incentivo a este tipo de pesquisa, como, por exemplo, o aumento da resistência dos microorganismos aos antimicrobianos tradicionais e a maior sensibilidade de pacientes tratados com drogas imunossupressoras, as infecções fúngicas e bacterianas (SINGER, 1986; STONE; WILLIAMS, 1992; ONOFRE et al., 1999; LACAZ et al., 2002).

A partir dessas informações, o presente estudo tem como objetivo determinar a ação antimicrobiana de metabólitos produzidos pelo fungo pertencente ao filo basidiomiceto, da ordem Aphyllophorales, da família *Polyporaceae* identificado como *Pycnoporus sanguineus*, sobre as bactérias patogênicas *Escherichia coli* (ATCC-25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC-25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-9027), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC-12228) e o fungo leveduriforme *Cândida albicans* (ATCC-10231).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense – Campus de Francisco Beltrão, no período de abril a julho de 2008. Para o desenvolvimento deste trabalho, foi utilizada uma linhagem de *Pycnoporus sanguineus*, cultivado e coletado no Bairro Miniguauçu, cidade Francisco Beltrão - Paraná. Essas coletas foram amparadas pela autorização do IBAMA nº: 13234-2, de 01/08/2007.

2.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O método utilizado foi baseado na técnica de difusão em disco. O princípio deste método baseia-se na inoculação em

superfície de um ágar de solução padronizada de microrganismo específico. Sobre este são colocados discos de papéis saturados previamente com soluções das amostras com que se deseja investigar a atividade antimicrobiana. As substâncias impregnadas nos discos de papel difundem-se no meio de cultura e, se a amostra em questão apresentar atividade inibitória sobre o microrganismo testado, forma-se um halo de não crescimento ao redor do disco impregnado. Após o período de incubações, respeitadas as condições específicas para o microrganismo, as zonas de inibição são medidas em volta de cada disco (ISENBERG, 1992; VANDEPITTE et al., 1994; KONEMAN et al., 2001).

2.3 OBTENÇÃO DOS METABÓLITOS FÚNGICOS

O fungo coletado foi macerado na presença de dois sistemas de solventes, que são: 1) água na proporção de 10 gramas de fungo para 100 mL de água (1:10 p:v) e; 2) acetato de etila adicionado aos mesmos valores do sistema 1, isto é, 10 gramas de fungo para 100 mL do solvente acetato de etila. Esses extratos foram concentrados em fluxo forçados em capela de exaustão em temperatura ambiente, até se obter um concentrado com 20% dos volumes iniciais. Essa metodologia foi descrita pela primeira vez por Smânia (2003).

2.4 PREPARO DAS AMOSTRAS - DILUIÇÃO

Com os extratos fúngicos concentrados, extraídos pelos dois sistemas de solventes, foram preparados escalas de diluições de 1 a 10 conforme as diferentes concentrações. Para isso foi utilizado DMSO (Dimetilsulfóxido) como solvente para o extrato apolar e a água para o extrato polar. As concentrações preparadas foram: 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78, 0,39 e 0,19%.

2.5 PREPARO DOS DISCOS DE PAPEL

Discos de papel filtro com 6 mm de diâmetro foram saturados com os extratos, nas suas respectivas diluições de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78, 0,39 e 0,19% do extrato concentrado final. Posteriormente, esses discos foram mantidos em câmara de fluxo laminar por um período de uma hora, para que o excesso de solvente fosse eliminado por evaporação.

2.6 PREPARO DO INOCULO

Foram utilizados os seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus* - ATCC 25923 (suscetível à oxacilina e penicilina); *Escherichia coli* - ATCC 25922 (beta-lactamase negativa); *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 9027; *Staphylococcus epidermidis* - ATCC12228 e a levedura *Candida albicans* - ATCC 10231. As culturas microbianas foram padronizadas em 10^8 células/mL, estimadas por comparação ao tubo 0,5 da escala de MacFarland.

2.7 ENSAIO DE DIFUSÃO EM DISCO

As suspensões bacterianas foram inoculadas em placas contendo ágar Mueller-Hinton com o auxílio de um swab. Após este procedimento, os discos previamente preparados foram transferidos para meios contendo os inóculos. As placas foram incubadas a $35 \pm 1^\circ$ C durante 24 horas. Após este período, as placas foram avaliadas quanto à presença de halos de inibição (medidos em mm).

Os diâmetros dos halos de inibição foram interpretados de acordo com os critérios de interpretação preconizados pelo Clinical Laboratory Standards International - CLSI (2000). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi considerada como a menor concentração do extrato testado capaz de inibir o desenvolvimento bacteriano/fúngico.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e tiveram como controle positivo os antibióticos Amoxicilina (AMO) 10 mg /disco e cloranfenicol (CLO) 30 mg/disco. Os dados obtidos passaram por análises de variância realizadas segundo normas da ANOVA. As diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização das atividades deste trabalho, foi possível verificar que os dois extratos, tanto o obtido com o sistema água (aqui denominado de sistema 1), como o obtido com acetato de etila (aqui denominado de sistema 2), apresentaram atividade antimicrobiana. Esses resultados podem ser observados nas Tabelas 1 e 2 e na Figura 1.



Figura 1 Placa *S. aureus* evidenciando os halos de inibição pela ação dos metabólitos produzidos por *Picnoporus sanguineus*.

Analisando os resultados contidos na Tabela 1, obtidos com o extrato 1, pode-se verificar que esta fração foi capaz de inibir o crescimento somente das cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa*, já as cepa de *E. coli*, *S. epidermidis* e *C. albicans* foram

resistentes à ação dos metabólitos extraídos por esse sistema de solvente. Em análise com o sistema 2, verificou-se que ele foi eficiente para inibir o crescimento das cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*. A cepa de *E. coli* e *C. albicans* mostraram-se resistentes à ação dos metabólitos presentes no extrato obtido com Acetato de Etila.

Na determinação das CIM (Concentração Inibitória Mínima) dos extratos obtidos (1 e 2) para as cepas avaliadas, verificou-se que para o *S. epidermidis*, que se mostrou resistente ao sistema 1 e sensível aos sistema 2, apresentou halos de inibição para o sistema 2 que variaram entre 10,16±0,33 a 13,35±0,58 nas concentrações de 25 a 100% respectivamente. Com esses resultados foi possível obter a CIM para o sistema 2 na concentração de 25%.

Em relação ao comportamento da cepa de *S. aureus*, observou-se que se trata de uma cepa sensível aos metabólitos produzidos pelo fungo *P. sanguineus*, pois apresentou halos de inibição na presença dos dois sistemas de solvente. Esse mesmo comportamento foi observado na cepa de *P. aeruginosa*.

Em análise dos valores dos halos de inibição formados pela inibição do crescimento microbiano em *S. aureus*, verifica-se que os halos foram de 7,03±0,32 a 13,33±0,38 para as concentrações de 12,50 a 100 %, respectivamente, na presença do sistema 1. Na presença de metabólitos obtidos

pelo sistema 2, verificaram-se halos de inibição que variaram de 10,30±0,05 a 19,92±0,17 nas concentrações de 6,25 a 100 %, respectivamente. Com isso percebe-se que a cepa de *S. aureus* foi mais sensível à ação dos metabólitos extraídos com o sistema de solvente 2. Com isso, as CIM foram de 12,50 e 6,25 % para os sistemas 1 e 2, respectivamente.

Com relação aos resultados obtidos com a cepa de *P. aeruginosa*, observou-se que se trata de uma cepa sensível aos metabólitos produzidos pelo fungo *P. sanguineus*, pois também apresentou halos de inibição na presença dos dois sistemas de solventes.

Em análise desses dados contidos na Tabela 1 e 2, verificou-se que os valores dos halos de inibição, foram de 10,03±0,22 a 8,32±0,86 a para as concentrações de 100 a 50 %, respectivamente, na presença do extrato obtido pelo sistema 1; já na presença do sistema 2, perceberam-se halos de inibição que variaram de 7,66±0,17 a 9,33±0,58 nas concentrações de 50 e 100 %, respectivamente. Com esses resultados as CIM para *P. aeruginosa* foi de 50 % para ambos os sistemas, verificando-se que a ação dos metabólitos foi equivalente.

Avaliando os resultados obtidos neste trabalho, utilizando dois sistemas de solventes, com os resultados obtidos por Achenbach, Blumm e Waibel (1991), fazendo uso dos extratos obtidos de micélio de *P. sanguineus*, verifica-se que

Tabela 1 Diâmetros dos halos de inibição em mm do extrato polar (1) obtido com água.

Cepa	Concentrações (fração polar)					Controle		
	100	50	25	12,50	6,25	3,12	CLO	AMO
<i>S. aureus</i>	13,33±0,38a	10,03±0,58b	9,37±0,23b	7,03±0,32b	R	R	34,17	25,65
<i>P. aeruginosa</i>	10,03±0,22a	8,32±0,86b	R	R	R	R	16,56	14,64
<i>S. epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	25,46	20,43
<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	18,36	15,32
<i>C. albicans</i>	R	R	R	R	R	R	~	~

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

CLO - Discos de cloranfenicol na concentração de 30mg.

AMO - Discos de amoxicilina na concentração de 10mg.

(R) Não apresentou halo de inibição de crescimento.

Tabela 2 Diâmetros dos halos de inibição em mm do extrato apolar (2) obtido com Acetato de Etila.

Cepa	Concentrações (fração polar)					Controle		
	100	50	25	12,5	6,25	3,12	CLO	AMO
<i>S. aureus</i>	19,92±0,17a	13,33±0,04b	13,3±0,03b	13,56±0,04b	10,30±0,05c	R	34,17	25,65
<i>P. aeruginosa</i>	9,33±0,58a	7,66±0,17a	R	R	R	R	16,56	14,64
<i>S. epidermidis</i>	13,35±0,58a	11,62±0,17b	10,16±0,33b	R	R	R	25,46	20,43
<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	18,36	15,32
<i>C. albicans</i>	R	R	R	R	R	R	~	~

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

CLO - Discos de cloranfenicol na concentração de 30mg.

AMO - Discos de amoxicilina na concentração de 10mg.

(R) Não apresentou halo de inibição de crescimento.

os dados aqui obtidos coincidem com os dados obtidos por esses pesquisadores.

Também trabalhos realizados por Smânia Jr. e colaboradores (1995a; 1995b), Smânia e colaboradores (1997), Smânia, Smânia Jr. e Loguercio-Leite (1998) e Smânia (2003) destacam que a atividade antimicrobiana de extratos obtidos de *P. sanguineus* foi mais eficiente para bactérias gram positivas que para bactérias gram negativas, coincidindo mais uma vez com nossos resultados, pois nesse trabalho as cepas gram positivas foram mais sensíveis que as bactérias gram negativas.

Com a atividade antimicrobiana apresentada pelos metabólitos obtidos do fungo *P. sanguineus*, podem-se relacionar os metabólitos presentes nesses extratos. Dentre os metabólitos produzidos por esse fungo, destaca-se o cinabarina. Dentre as atividades biológicas descritas para esse metabólito, destacamos a atividade antiviral (SMÂNIA JR.; DELLE-MONACHE; SMÂNIA, 1995) e antimicrobiana (SMÂNIA JR.; DELLE-MONACHE; SMÂNIA, 1995; SMÂNIA et al., 1997; SMÂNIA; SMÂNIA; LOGUERCIO-LEITE, 1998; SMÂNIA, 2003). Devemos destacar que a produção desse metabólito por *P. sanguineus* ocorre entre 18 e 22 dias de crescimento fúngico (SMÂNIA JR.; DELLE-MONACHE; SMÂNIA, 1995).

Os resultados obtidos neste trabalho devem ser incrementados em trabalhos futuros, no sentido de detectar e purificar esses metabólitos que apresentam atividades antibacterianas, pois a metodologia adotada neste trabalho foi utilizando extratos brutos. É importante lembrar que outras metodologias podem ser utilizadas, com o intuito de corroborar e assegurar estes resultados. Lembramos ainda que a utilização correta dos antimicrobianos existentes e a busca contínua de novas substâncias, com o emprego da biotecnologia são vitais para proteger a saúde humana contra as bactérias patogênicas e também na justificativa da manutenção da biodiversidade.

4 CONCLUSÃO

Após a realização de todas as atividades propostas neste trabalho, foi possível concluir que os dois extratos obtidos por dois sistemas de solventes não inibiram o crescimento de *Escherichia coli* e *C. albicans*. Mostrando-se mais eficiente o extrato 2, obtido com o solvente acetato de etila, que inibiu o crescimento de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, sendo mais eficiente para *S. aureus*.

Na determinação das CIM - Concentração Inibitória Mínima - com o extrato obtido com o sistema 1 verificou-se um valor de 50% para *P. aeruginosa* e 12,50% para *S. aureus*. Como o extrato obtido com o sistema 2, os valores de CIM foram de 50% para *P. aeruginosa*, 25% para *S. epidermidis* e de 6,25% para *S. aureus*.

REFERÊNCIAS

ACHENBACH, H.; BLUMM, E.; WAIBEL, R.; Investiga-

tion of the pigments of *pycnoporus sanguineus* - pycnosanguin and new phenoxazin-3-ones. **Tetrahedron Lett.**, v. 30, p. 3059. 1991.

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

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INTERNATIONAL - CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically**. Approved Standard M7-A5: 2000. Fifth edition. Wayne, PA: CLSI, 2000.

HAWKSWORTH, D. L. **Dictionary of the Fungi**. 7. ed. Kew: Commonwealth Mycological Institut, 1983.

ISENBERG, H. D. **Clinical microbiology - Procedures Handbook**. Washington, D.C: American Society for Microbiology, 1992. v. 1.

KAIJIANG, L.; ROBERTS, D. W. The production of destruxins by the entomogenous fungus, *Metarrhizium anisopliae* var. major. **J. Invert. Pathol.**, v. 47, n. 3, p. 120-122, 1986.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Medsi, 2001.

LACAZ, C. S. et al. **Tratado de micologia médica**. 9. ed. São Paulo, SP: Sarvier, 2002

LOMASCOLO, A. et al. Overproduction of laccase by a monokaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using ethanol as inducer. **J. Applied Microbiol.**, v. 94, p. 618-624, 2003.

MANCILHA, E. **Seleção de basidiomycetes coletados e isolados em área de mata atlântica - PE, com atividade fenoloxidação e sua aplicação na descoloração de corantes sintéticos**. 2006. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

MARGALITH, P. Enhancement of carotenoid synthesis by fungal metabolites. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 38, p. 664-666, 1993.

MEYERS, B. R.; KAPLAN, K.; WEINSTEIN, L. Microbiological and pharmacological behavior of 7-Chlorolincomycin. **Appl. Microbiol.**, v. 17, p. 653-657, 1989.

ONOFRE, S. B. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de metabólitos produzidos pelos fungos *Nomurarea rileyi* (Farlow) Sanson. **Arq. Cien. Saúde Unipar**, v. 3, n. 1, p. 29-33, 1999.

POINTING, S. B.; JONES, E. B. G.; VRIJMOED, L. L. P. Optimization of laccase production by *Pycnoporus sanguineus* in submerged liquid culture. **Mycologia**, v. 92, n. 1, p. 139-144, 2000.

- PUTZKE, J.; PUTZKE, M. **Os Reinos dos Fungos**. Santa Cruz do Sul, SC: Edunisc, 1998.
- RAVEN, P.; EVERT, R.; EICHHORN, S. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2001.
- SILVEIRA, V. D. **Micologia**. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Âmbito Cultural, 1999.
- SINGER, R. **The Agaricales in Modern Taxonomy**. 4. ed. Germany: Koeltz Cientific Books, 1986.
- SMÂNIA JR., A.; DELLE-MONACHE, F.; SAMANIA E. F. A. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (FR.) MURR, J. **Ethnopharmacol**, n. 45, p. 177-181, 1995.
- SMÂNIA JR., A. et al. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. **J. Ethnopharmacol.**, v. 45, p. 177-181, 1995a.
- SMÂNIA JR., A. et al. Growth and production phases of *Pycnoporus sanguineus*. **Rev. Microbiol.**, v. 26, p. 302-306, 1995b.
- SMÂNIA, E. F. A. et al. Optimal parameters for cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus*, J. **Chem Tech Biotechnol.**, v. 70, p. 57-59, 1997.
- SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JR., A.; LOGUERCIO-LEITE, C. Cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus* strains and antimicrobial activity against bacteria from food products. **Rev. Microbiol.**, v. 29, p. 317-320, 1998.
- SMÂNIA, E. **Esteróis e Triterpenos Isolados da Espécie de *Ganoderma karsten* e sua Atividade Antimicrobiana**. 112p. 2003. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- STONE M. J.; WILLIAMS, D. H. On the evolution of functional secondary metabolites. **Mol. Microbiol.**, v. 6, p. 29-34, 1992.
- VALERIANO, V. et al. Estudos de Indutores para a Produção de Lacase por *Pycnoporus sanguineus*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 112-116, 2007.
- VANDEPITTE, J. et al. **Procedimentos laboratoriais em bacteriologia clínica**. São Paulo, SP: Santos, 1994.
- VIEIRA, G. R. T. **Otimização das condições de cultivo de *Polyporus tricholoma* Mont. visando a produção de substâncias antibacteriana**: 86p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

Recebido em 15 dezembro 2009

Aceito em 24 abril 2010