

# Atividade enzimática de fungos endofíticos de bacaba (Oenocarpus bacaba Mart.)

Fernanda Viana Diniz<sup>1</sup>, Yara de Moura Magalhães Lima<sup>2</sup>, Franciarli Silva da Paz<sup>3</sup>, André Lucas Domingos da Silva<sup>4</sup>, Laura Cordeiro Gomes<sup>5</sup>, Geyse Souza Santos<sup>6</sup>, Clarice Maia Carvalho<sup>7</sup>

 $1. \, Engenheira\, Florestal\, e\, Doutoranda\, em\, Produção\, Vegetal\, (Universidade\, Federal\, do\, Acre, Brasil).$ http://lattes.cnpq.br/8458325874273701 🖻 fvianadiniz@amail.com http://orcid.org/0000-0003-0441-4174 2. Nutricionista e Doutoranda em Saúde Coletiva (Universidade Federal do Acre, Brasil). http://lattes.cnpq.br/3049892650659963 http://orcid.org/0000-0002-5615-0839 📴 ymagalhaes9@gmail.com 3. Biomédico (Faculdade Barão do Rio Branco, Brasil). Doutorando em Ciências (Universidade de São Paulo, Brasil). http://orcid.org/0000-0001-5077-6040 iga franciarlipaz@hotmail.com http://lattes.cnpq.br/0756698271373224 4. Biólogo (Instituto Federal do Acre, Brasil). Mestrando em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazôn andre.killzone@gmail.com

http://lattes.cnpq.br/4164093987344217

5. Enfermeira e Mestranda em Ciências da Saúde (Universidade Federal do Acre, Brasil). http://orcid.org/0000-0002-1553-2005 lauracg.gomes@gmail.com http://lattes.cnpq.br/5332622885222332 http://orcid.org/0000-0002-7161-0098 rsidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Brasil). http://orcid.org/0000-0003-2886-2959 7. Farmacêutica e Doutora em Biotecnologia (Universidade Federal do Amazonas, Brasil). 🗐 claricemaiacarvalho@gmail.com http://lattes.cnpq.br/4846948419739260 http://orcid.org/0000-0003-1092-738X

ESUMO

Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.), pertence à família *Arecaceae*, sendo uma palmeira nativa encontrada em dois biomas brasileiros, Amazônia e Cerrado e tem sua microbiota endofítica desconhecida, apesar de sua importância econômica. Microrganismos endofíticos habitam o interior da planta sendo encontrados em órgãos e tecidos vegetais, como folhas, ramos e raízes, podendo ocupar espaços inter e intracelulares e através dessa interação de planta com microrganismo ocorre a produção de enzimas como a celulase, lipase, entre outras, as quais facilitam a colonização dos tecidos das plantas e ajudam no controle de pragas. Assim, este estudo teve como objetivo isolar fungos endofíticos de bacaba (*O. bacaba*) a fim de detectar a produção de enzimas extracelulares. Foram coletadas amostras de folha e caule de três locais de bacaba na cidade de Rio Branco, Acre em setembro de 2018. As amostras foram desinfectadas e inoculadas em meio Batata-Dextrose-Ágar e incubado a 28 °C. Os fungos isolados foram identificados pela análise macro e micromorfológica e avaliados quanto a atividade enzimática. Foram isolados 37 fungos, sendo *Aspergillus* o mais frequente. Dentre os isolados analisados, o fungo com maior índice enzimático foi *Phomopsis* 2.5932, com IE = 6,5 para atividade amilolítica e IE=6,0 para atividade celulolítica. Este é o primeiro relato sobre descrição fungos endofíticos de bacaba (*Oenocarpus bacaba*), e sobre sua produção enzimática.

Palavras-chave: Celulase, Amilase, Phomopsis, Aspergillus.

## Enzymatic activity of endophytic fungi of bacaba (Oenocarpus bacaba Mart.)

BSTRACT

Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Belongs to the Arecaceae family, being a native palm tree found in two Brazilian biomes, Amazonia and Cerrado and has its unknown endophytic microbiota, despite its economic importance. Endophytic microorganisms inhabit the interior of the plant being found in plant organs and tissues, such as leaves, branches and roots, and may occupy inter and intracellular spaces and through this interaction of plant and microorganism occurs the production of enzymes such as cellulase, lipase, among others, which by facilitating colonization of plant tissues and help in pest control. Thus, this study aimed to isolate endophytic fungi from bacaba (*O. bacaba*) in order to detect extracellular enzyme production. Leaf and stem samples were collected from three bacaba individuals in the city of Rio Branco, Acre in September 2018. The samples were disinfected and inoculated in Potato-Dextrose-Agar medium and incubated at 28 °C. The isolated fungi were identified by macro and micromorphological analysis and evaluated for enzymatic activity. Thirty-seven fungi were isolated, with *Aspergillus* being the most frequent. Among the isolates analyzed, the fungus with the highest enzymatic index was *Phomopsis* 2.5932, with IE = 6.5 for amylolytic activity and IE = 6.0 for cellulolytic activity. This is the first report on endophytic fungi description of bacaba (*Oenocarpus bacaba*), and on its enzymatic production.

Keywords: Cellulase; Amylase; Phomopsis; Aspergillus.

#### Introducão

As enzimas são proteínas com importante atividade catalítica nas reações químicas, sendo essenciais para todos os seres vivos, pois contribuem para que as reações ocorram em um ambiente compatível com a manutenção da vida (PRAXEDES et al., 2018). As enzimas podem ser aplicadas em diversos setores, como: indústria farmacêutica, alimentícia, têxtil, agricultura, produtos químicos e energia, a qual promovem modificações das características físico-químicas de matérias-primas e produtos (STROBEL et al., 2010; ORLANDELLI et al., 2012; STROBEL, 2014).

A diversidade de aplicações se dá pelo fato de enzimas

reduzirem o tempo de processamento de produtos, ingestão de insumos de baixa energia e principalmente por suas características ecológicas sustentáveis (LI et al., 2012; CHOI et al., 2015). As enzimas de origem microbiana têm sido amplamente aplicadas nos últimos anos, por serem facilmente produzidas em larga escala. Com a tecnologia do DNA recombinante, as cepas podem ser modificadas geneticamente, aumentando assim seu potencial enzimático (LIU et al., 2013).

Potenciais produtores de enzimas são fungos endofíticos, microrganismos que colonizam o interior dos tecidos vegetais sem causar danos aos seus hospedeiros (FERREI-RA et al., 2018). Dentro da comunidade endofítica, os fungos apresentam uma importante interação com as plantas hospedeiras, combatendo a infestação por patógenos, ação de predadores e apresentando possíveis propriedades terapêuticas (SOARES et al., 2015). Além disso as enzimas extracelulares desempenham funções na obtenção de nutrientes compondo importante papel funcional na sua relação com as plantas e ambiente (ATALAY et al., 2015).

A produção enzimática é específica entre a planta hospedeira e o fungo endofítico. Durante o processo parasitário, os fungos endofíticos agem sobre fitopatógenos pela ação de enzimas degradativas da parede celular, como proteases, quitinases e lipases (TAN et al., 2001). Além dessas enzimas, celulases, lipases e pectinases facilitam a colonização do endófito no tecido vegetal (ATALAY et al., 2015). Tais enzimas podem ser de grande valia para o controle de pragas na agricultura e na biorremediação pela decomposição de compostos xenobióticos (STEPNIEWSKA; KUŹNIAR, 2013).

As enzimas também podem ter outras aplicações industriais. Celulases são utilizadas na indústria de papel e celulose para o branqueamento das pastas, em substituição ao cloro (PAIVA; SÁ-PEREIRA, 2008). Proteases podem ser utilizadas na fabricação de detergentes e produtos de limpezas (MAURER et al., 2004), e na indústria alimentícia, por fazer parte da produção de pães, assim como as amilases (SOUZA et al, 2019). Lipases são utilizadas na produção de leite e derivados por desenvolver sabores característicos aos produtos (JAVED, S. et al 2018).

A Amazônia brasileira é rica em espécies, porém pouco estudada quanto a sua microbiota endofítica. Uma planta

muito encontrada é a bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.), palmeira nativa encontrada em dois biomas brasileiros, Amazônia e Cerrado. Essa espécie produz frutos comestíveis entre os meses de dezembro e abril (PUERARI, 2015). A planta pertence à família *Arecaceae*, considerada a terceira família botânica economicamente mais importante, depois das famílias *Poaceae* e *Fabaceae*. É constituída por mais de 2.500 espécies sendo distribuídas em 200 gêneros ocorrendo principalmente nos trópicos (JOSÉ; ERASMO; COUTINHO, 2012). O gênero *Oenocarpus*, que integra essa família é encontrado da Costa Rica até a Bolívia, sendo composta por nove espécies, entre elas, *O. bacaba* (BALICK, 1986; QUEIROZ; BIANCO, 2009).

Ainda não há estudos à cerca da comunidade endofítica dessa espécie, muito menos relacionado a produção de enzimas. Assim, este estudo teve como objetivo isolar fungos endofíticos de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) a fim de detectar a produção de enzimas extracelulares.

#### Material e Métodos

Coletas do material vegetal

Foram coletadas folhas e caule da Bacada (*Oenocarpus bacaba* Mart.) em Setembro de 2018 de três locais: (1) Parque Zoobotânico – Campus Universidade Federal do Acre (S-9,953265; W-67,874598), (2) Embrapa/Acre (S-0,026277; W-67,705762), e (3) Bairro Conquista (S-9,951908; W-67,833033), todos no município de Rio Branco, estado do Acre (Figura 1).

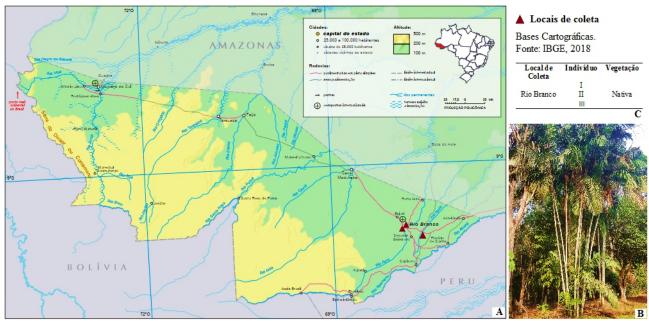


Figura 1. Locais de coleta. (A) Localização dos locais coletados; (B) Imagem da palmeira da Bacaba (O. bacaba); (C) Todos locais eram nativos. / Figure 1. Collection locations. (A) Location of the collected sites; (B) Image of Bacaba palm (O. bacaba); (C) All individuals were native.

Isolamentos dos fungos endofíticos

O isolamento dos fungos endofíticos foi realizado a partir de folha e caule de *O. bacaba*, após lavagem em água corrente, sabão neutro e desinfecção superficial. Para desinfecção, o material vegetal foi imerso em solução de álcool 70% por 1 min, hipoclorito de sódio 2% por 3 min para folha e 5 min para caule e duas lavagens em água destilada esterilizada por 1 min cada. O material desinfetado foi cortado em segmentos de 5 mm² (ARAÚJO et al., 2010).

Após a desinfecção foram transferidos cinco fragmentos de cada tecido vegetal para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) suplementado com antibiótico cloranfenicol 100 mg L¹ (ARAÚJO et al., 2010). Foram realizadas duas repetições para cada tecido vegetal. As placas de Petri foram mantidas por sete dias a 28 °C. A eficácia do processo de desinfecção superficial foi avaliada por meio da inoculação de 200  $\mu$ L da última água de lavagem em meio BDA (ARAÚJO et al., 2010).

Colônias fúngicas com características distintas de acordo com observações macroscópicas (coloração e características de crescimento em meio de cultura) foram purificadas utilizando a técnica de estrias por esgotamento em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA, e incubadas a temperatura ambiente por 48 h. Colônias fúngicas isoladas foram transferidas para tubos contendo meio BDA inclinado (ARAÚJO et al., 2010). Os fungos com características macromorfológicas semelhantes foram agrupados em morfoespécies para realização de identificação e bioensaios de produção enzimática.

# Identificações dos fungos endofíticos

Foi realizado o microcultivo dos fungos isolados para a identificação micromorfológica. Os microrganismos foram crescidos em cubos de 1 cm² de BDA cobertos com lamínula, dentro de placas de Petri. As placas foram incubadas à temperatura ambiente por 7 dias para o crescimento micelial e posteriormente as lâminas foram coradas com azul de lactofenol para observação das estruturas reprodutivas em microscópio óptico (SHIRLING; GOOTTLIEB, 1966). Para identificação foi utilizada bibliografia específica (BARNETT; HUNTER, 1998).

#### Ensaios enzimáticos

Para os testes de produção enzimática, os fungos foram cultivados em meio BDA e posteriormente foram retirados plugs de 30 mm que foram inoculados em meios específicos para cada enzima e incubadas a 28 °C por sete dias.

#### Atividade celulolítica

Para o teste de degradação de celulose, cada plugs de 30 mm foi inoculado em meio sólido contendo ágar carboximetilcelulose (CMC) (carboximetilcelulose 10 g; ágar 15 g para 1L), e incubadas a 28 °C por sete dias. Após incubação, as placas foram coradas com 10 mL do corante iodo de gram por 10 min para a revelação e mensuração do halo de degradação de CMC (MEDDEB-MOUELHI et al., 2014).

## Atividade amilolítica

Para o teste de degradação de amido, cada plugs de 30 mm foram inoculados em meio sólido composto de 15g ágar, 2,7g extrato de carne, 4,5g peptona com 1% amido para 1 L. Após a incubação utilizou-se solução reveladora de iodo 0,1N. Os resultados das reações enzimáticas positivas foram identificados pela formação de um halo de degradação translúcido ao redor da colônia (DINGLE et al., 1953).

# Atividade lipolítica

Para o teste de degradação de lipídeos, cada plug de 30 mm foi inoculado em meio mínimo (0,19g NaNO<sub>3</sub>, 0,59g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,25g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,25g KCl, 0,005g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 5g glicose e 15g ágar para 1L), e suplementado com 2% de Tween 80, com pH 6,5 não sendo necessária à adição de solução reveladora (SIERRA, 1957). A reação enzimática positiva para lipase foi à formação de zonas claras em volta da colônia em razão da completa degradação do ácido gorduroso (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1975).

## Atividade proteolítica

Para o teste de degradação de proteína, cada plugs de 30 mm foi inoculado em meio mínimo (0,19g NaNO<sub>3</sub>, 0,59g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,25g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,25g KCl, 0,005g FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 5g glicose e 15g ágar para 1L), suplementado com 2% de leite desnatado, com pH 6,5 não sendo necessária a adição de solução reveladora. Os resultados das reações enzimáticas positivas foram identificados pela formação de um halo

de degradação translúcido ao redor da colônia (DINGLE et al., 1953).

# Determinação enzimática

A determinação enzimática foi expressa como índice enzimático (IE), mediante a relação do diâmetro médio do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1975). Dessa forma, os isolados que exibiram os maiores IE nos meios de crescimento, são os que possuem maior atividade enzimática extracelular (OLIVEIRA et al., 2006).

#### Programa estatístico

Para a análise dos dados coletados e produção das tabelas, foi utilizado o programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).

## Resultados

## Isolamento de fungos endofíticos

Foram isolados 37 fungos dos três locais amostrados (Tabela 1). O tecido vegetal com maior ocorrência de fungos endofíticos foi caule, com 32 (86,5%) fungos para todos os locais (Tabela 1).

**Tabela 1.** Quantidade de fungos endofíticos isolados de *Oenocarpus bacaba* de acordo com indivíduo, local de coleta e tecido vegetal. / **Table 1.** Number of endophytic fungi isolated from Oenocarpus bacaba according to individual, place of collection and plant tissue.

Indivíduo	Local de Coleta	Data da Coleta	Quantidade de isolados fúngicos		
			Folha	Caule	Total
I	PZ*	09/2018	3	8	11
II	Embrapa/Ac	09/2018	1	11	12
III	Conquista	09/2018	0	13	13
	Total		4	32	37

\*PZ: Parque Zoobotânico. PZ: Zoobotanical Park.

Pela análise das características macromorfológicas os fungos isolados foram agrupados em oito morfoespécies, sendo identificados os gêneros *Aspergillus* (51,6%), *Paecilomyces* (9,7%), *Penicillium* sp. 1 (6,5%), *Penicillium* sp. 2 (3,2%), *Phomopsis* sp. (3,2%) e *Guignardia* sp. (3,2%), e duas morfoespécies não apresentaram estruturas reprodutivas, classificados como micélio estéril (22,6%) (Figura 2). O indivíduo II apresentou maior número de isolados fúngicos em relação aos outros locais (Figura 3).



Figura 2. Frequência de fungos endofíticos isolados de *Oenocarpus bacaba.* / Figure 2. Frequency of endophytic fungi isolated from *Oenocarpus bacaba*.

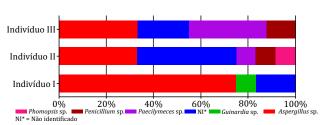


Figura 3. Distribuição de fungos isolados em cada indivíduo de *Oenocarpus bacaba*. Indivíduo I: Parque Zoobotânico/ Campus Universidade Federal do Acre; Indivíduo II: Embrapa/ Rio Branco - Acre; Indivíduo III: Bairro Conquista/ Rio Branco - Acre. / Figure 3. Distribution of isolated fungi in each individual of Oenocarpus bacaba. Individual I: Zoobotanical Park / Campus Federal University of Acre; Individual II: Embrapa / Rio Branco - Acre; Individual III: Embrapa / Rio Branco - Acre.

Foi utilizado um representante de cada morfoespécie para a realização do ensaio enzimático em meio sólido. Os resultados mostraram que os fungos endolíticos de *O. bacaba* produzem enzimas extracelulares de interesse industrial

como lipase, protease, amilase e celulase (Tabela 2). 62,5% dos fungos apresentaram atividade celulolítica, seguido pela atividade amilolítica com 37,5%. Para as enzimas proteolíticas e lipolíticas, apenas uma morfoespécie apresentou halo de degradação.

Tabela 2. Produção de enzimas por fungos endofíticos de Oenocarpus bacaba. / Table 2. Enzyme production by endophytic fungi of Oenocarpus bacaba.

Cádino do includo	Identificação	Índice enzimático				
Código do isolado		Protease	Lipase	Celulase	Amilase	
2.5919	Aspergillus sp.	-	-	5,5 ± 1,1	-	
2.5949	Guignardia sp.	-	-	-	-	
2.5946	Micélio estéril sp. 1	$2,7 \pm 0,2$	-	$4,3 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$	
2.5724	Micélio estéril sp. 2	-	-	$1,9 \pm 0,1$	-	
2.5939	Paecilomyces sp.	-	-	-	-	
2.5947	Penicillium sp. 1	-	-	$1,5\pm0,1$	$5,8 \pm 0,3$	
2.5912	Penicillium sp. 2	-	-	-	-	
2.5932	Phomopsis sp.	-	$4,2 \pm 0,3$	$6 \pm 0.3$	$6,5 \pm 0,2$	
%	• •	12,5	12,5	62,5	37,5	

Os fungos *Phomopsis* 2.5932 e Micélio estéril 2.5946 apresentaram atividade para três das quatro enzimas analisadas. Os fungos *Paecilomyces* 2.5939, *Guignardia* 2.5949 e *Penicillium* 2.5912 não apresentaram atividade para nenhuma das enzimas analisadas.

#### Discussão

Microrganismos endofíticos estão presentes no interior de órgãos e tecidos vegetais como folhas, caules e raízes de plantas, podendo apresentar uma quantidade variável conforme localização (RIBEIRO; PAMPHILE, 2018). Neste trabalho, o tecido vegetal que apresentou maior quantidade de isolados endofíticos foi caule com 32 (86,5%) fungos endofíticos, seguido da folha com 5 (13,5%). Em caules se encontra a maior quantidade de metabólitos secundários, destacando-se entre eles alguns óleos essenciais, como obisabolol, o que leva a crer que a comunidade que se abriga no caule seja favorecida pela ação protetora de tais metabólitos (SIEBER; DOWORTH, 1994; OTERO et al., 2002).

Alguns fungos não apresentaram estruturas reprodutivas, impossibilitando a identificação em nível de gênero. Assim, este é um fator limitante podendo subestimar o número de espécies. Logo, técnicas moleculares devem ser aplicadas a fim auxiliar no processo de identificação e descrição de novas espécies (ARNOLD et al., 2002; HAWKSWORTH, 2005).

Os isolados de fungos endofíticos de *O. bacaba*, foram *Aspergillus*, com maior frequência (51,6%), seguido por *Paecilomyces* (9,7%), *Penicillium* sp. 1 (6,5%), *Penicillium* sp. 2 (3,2%), *Phomopsis* (3,2%) e *Guignardia* (3,2%), e 22,6% dos fungos isolados não puderam ser identificados por não produzirem estruturas reprodutivas. A composição microbiana endofítica pode variar em função da espécie vegetal, distribuição geográfica, idade da planta, precipitação anual, entre outros fatores (HOFFMAN; ARNOLD, 2008; DUIN et al., 2018).

Em relação a atividade enzimática, 62,5% dos fungos endofíticos analisados apresentaram atividade para celulase, 37,5% para amilase e 12,5% para protease e lipase. Muitos fungos produzem enzimas extracelulares de importância na degradação e transporte de nutrientes para a célula, dessa forma, a fim de verificar o papel funcional dos fungos endofíticos se faz necessário, dentre outros fatores, a detecção de enzimas extracelulares (PRAXEDES et al., 2018; DABAJA et al., 2019).

Os fungos que apresentaram produção de celulase tiveram uma variação quanto ao potencial desta enzima, se destacando os fungos *Phomopsis* 2.5932 (IE = 6,0); *Aspergillus* 2.5919 (IE = 5,5); e Micélio estéril 2.5946 (IE = 4,3). *Penicillium* 2.5947 e Micélio estéril 2.5724 apresentaram um potencial enzimático de 1,5 e 1,9 respectivamente, não atingindo o índice enzimático para serem considerados, porém apresentaram níveis próximos a 2,0 (TERRA, 2008). Já os fungos *Paecilomyces* 2.5939, *Penicillium* 2.5912 e *Guignardia* 2.5949, cresceram no meio de celulose, mas não produziram halo de degradação, com quantidade enzimática necessária apenas para o seu crescimento (FERNANDES, 2009).

Os endofíticos isolados que apresentaram potenciais na produção de amilases, foram *Phomopsis* 2.5932 (IE = 6,5); *Penicillium* 2.5947 (IE = 5,8); Micélio estéril 2.5946 (IE = 3,9), correpondendo a 37,5% dos isolados testados. Os fungos *Paecilomyces* 2.5939; Micélio estéril 2.5724; *Aspergillus* 2.5919; *Penicillium* 2.5912 e *Guignardia* 2.5949 não apresentaram atividade amilolítica, sugerindo que a produção de amilase por fungos filamentosos varia de acordo com o gênero e a espécie (ORLANDELLI et al., 2012; RIBEIRO; PAMPHILE, 2017).

Dos isolados produtores de lipases, destacou-se o endofítico *Phomopsis* 2.5932 (IE = 4,2). Todavia, apesar de apenas um isolado apresentar resposta enzimática, seu resultado foi superior ao mínimo recomendado >2,0 IE, sendo portanto uma produção ótima (FERNANDES, 2009). As espécies *Paecilomyces* 2.5939; Micélio estéril 2.5946 e 2.5724; *Aspergillus* 2.5919; *Penicillium* 2.5947 e 2.5912; *Guignardia* 2.5949 cresceram no meio de cultura específico para lipases, porém não produziram halo de degradação, com quantidade enzimática suficiente apenas para o seu desenvolvimento no meio de cultura (TERRA, 2008; FERNANDES, 2009).

O fungo com melhor potencial na produção de protease foi Micélio estéril 2.5946 I (IE = 2,7). As espécies *Phomopsis* 2.5932; *Paecilomyces* 2.5939; Micélio estéril 2.5724; *Aspergillus* 2.5919; *Penicillium* 2.5947 e 2.5912; e *Guignardia* 2.5949; não apresentaram atividade proteolítica. Embora não tenha tido produção de protease, algumas destas espécies produziram mais de uma enzima, tal fato está diretamente relacionado com a variabilidade genética de cada estipe (FIEDLER; SOSNOWSKA, 2007).

#### Conclusão

Este é o primeiro relato sobre descrição de fungos endofiticos da planta bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.), com maior frequência das espécies *Aspergillus, Paecilomyces, Penicillium.* Os fungos endofíticos desta espécie apresentaram produção enzimática mais frequente de celulase e amilase.

## Agradecimentos

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa.

## Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, W. L. et al Guia prático: isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos. CALO, [S.l: s.n.], 2010.
- ARNOLD, A et al. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? **Ecology letters**, v. 3, n. 4, p. 267-274, 2002.
- ATALAY, M. A. et al. Investigation of possible virulence factors in *Candida* strains isolated from blood cultures. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, v. 18, n. 1, p. 52-55, 2015.
- BALICK, M. J. Systematics and economic botany of the *Oenocarpusjessenia* (Palmae) complex. **Advances in Economic Botany**, v.3, n. 1, p. 1-140, 1986.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. **4th Edition**, p 1-218, 1998.
- BASE cartográfica vetorial contínua do Brasil ao milionésimo BCIM. IBGE, 2019. Disponível em: <a href="https://mapas.ibge.gov.br/escolares/ensino-medio/mapas-estaduais">https://mapas.ibge.gov.br/escolares/ensino-medio/mapas-estaduais</a>. Acesso em: 13 de agosto de 2019.
- CHOI, J. M. et al. Industrial applications of enzyme biocatalysis: current status and future aspects. **Biotechnology Advances**, v. 33, n.7, p. 1443-1454, 2015.
- DABAJA, M. Z. et al. Avaliação da atividade enzimática de fungo endofítico isolado de *Annona crassiflora* (marolo) com interesse biotecnológico. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2019.
- DINGLE, J. et al. The enzymic degradation of pectin and other polysaccharides. II—Application of the 'Cup-plate'assay to the estimation of enzymes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.4, n. 3, p. 149-155, 1953.
- DUIN, I. M. et al. Identificação de fungos endofíticos em miniestacas de acácia-negra. Summa Phytopathologica, v. 44, n. 3, p. 278-280, 2018.
- FERNANDES, A. P. **Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos isolados de diferentes fontes**. 2009. (Tese) Doutorado em Ciência dos Alimentos Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- FERREIRA, E. M. S. et al. Verificação da produção de substâncias antimicrobianas por fungos endofíticos associados à Soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Revista Cereus**, v. 10, n. 3, p. 92-102, 2018.
- FIEDLER, Ż.; SOSNOWSKA, D. Nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson is also a biological agent for control of greenhouse insects and mite pests. **BioControl**, v. 52, n.4, p. 547-558, 2007.
- HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzymes production by fungi. **Mycologia**, v. 67, n.3, p. 597-607, 1975.
- HAWKSWORTH, D. L. Mycological research news. **Mycology Research**, v. 109, n.9, p. 961-963, 2005.
- HOFFMAN, M. T.; ARNOLD, A. E. Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees. **Mycological Research**, v. 112, n.1, p. 331-344, 2008.
- JAVED, S. et al. Bacterial lipases: A review on purification and characterization. Progress in biophysics and molecular biology, v. 132, n. 1, p. 23-34, 2018.
- JOSÉ, A. C.; ERASMO, E. A. L.; COUTINHO, A. B. Germination and storage behaviour of bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 651-657, 2012.
- LI, S. et al. Technology prospecting on enzymes: application, marketing and engineering. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 2, n. 3, p. 1-12, 2012.

- LIU, L. et al. How to achieve high-level expression of microbial enzymes: strategies and perspectives. **Bioengineered**, v. 4, n. 4, p. 212-223, 2013.
- MAURER, K. H. Detergents proteases. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 15, n. 3, p. 330-334, 2004.
- MEDDEB-MOUELHI, F. et al. A comparison of plate assay methods for detecting extracellular cellulase and xylanase activity. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 66, n. 1, p. 16-19, 2014.
- OLIVEIRA, S. R. L. et al. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). **Acta botanica brasílica**, v. 20, n. 3, p. 649-655, 2006.
- ORLANDELLI, R. C. et al. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 3, p. 97-109, 2012.
- OTERO, J. T. et al. Diversity and host specificity of endophytic Rhizoctonia-like fungi from tropical orchids. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 11, p. 1852-1858, 2002.
- PAIVA, C. L. A.; SÁ-PEREIRA, P. A aplicação da Biologia Molecular no aprimoramento da produção de enzimas. Interciência, v. 1, n. 1, p. 29-53, 2008.
- PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n.7, p. 957-971, 2015.
- PRAXEDES, L. S. et al. A Participação dos Catalisadores Biológicos na Otimização de Processos Industriais. **Revista da META**, v. 1, n. 1, p. 407 413, 2018.
- PUERARI, C. et al. Bacaba beverage produced by Umutina Brazilian Amerindians: Microbiological and chemical characterization. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 4, p. 1207-1216, 2015.
- QUEIROZ, M. S. M; BIANCO, R. Morfologia e desenvolvimento germinativo de *Oenocarpus bacaba* Mart. (*Arecaceae*) da Amazônia Ocidental. **Revista Árvore**, v. 33, n. 6, p. 1037-1042, 2009.
- RIBEIRO, A. S.; PAMPHILE, J. A. Micro-organismos endofíticos e seu potencial biotecnológico. **Revista uningá review**, v. 29, n. 3, p. 88 93, 2017.
- SHIRLING, E.B.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. **International Journal of Systematics Bacteriology**, v. 16, n. 3, p. 313-340, 1966.
- SIEBER, T. N. et al. An ecological study about assemblages of endophytic fungi in Acer macrophyllum in British Columbia: in search of candidate mycoherbicides. **Canadian Journal of Botany**, v. 72, n. 10, p. 1397-1402, 1994.
- SIERRA, S. A. Simple method for detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fattay substrates. **Antonie van leeuwenhoek**, v. 23, n. 1, p.15-22, 1957.
- SOARES, D. A. et al. Volatile compounds detection with antibacterial activity in endophytic fungi associated with *Costus spiralis*. **Journal of Bioenergy And Food Science**, v. 2, n. 4, 156-159, 2015.
- SOUZA, R. S. C. de et al. Evaluation of the antioxidant potential of whey protein concentrated by ultrafiltration and hydrolyzed by different commercial proteases. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, n. 1, p 1-11, 2019.
- STEPNIEWSKA, Z.; KUŹNIAR, A. Endophytic microorganisms-promising applications in bioremediation of greenhouse gases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 22, p. 9589-9596, 2013.
- STROBEL, G. A. et al. The production of myco-diesel hydrocarbons and their derivatives by the endophytic fungus *Gliocladium roseum* (NRRL 50072). **Microbiology**, v. 156, n.2, p. 3830-3833, 2010.
- STROBEL, G. The story of mycodiesel. **Current Opinion in Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 52-58, 2014.
- TAN, R. X.; ZOU, W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural Products Reports**, v. 18, n. 1, p. 448-459, 2001.
- TERRA, M. F. Atividade enzimática de fungos filamentosos isolados de cavernas da caatinga brasileira. (Dissertação) Mestrado em Ciências Biológicas Universidade Federal de Lavras, 2008.