

# Avaliação dos extratos das cepas de fungos Amazônicos (*Trametes lactinea* e *Hexagonia glabra*) e de seus consórcios frente às Bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris*

<sup>1</sup>Wanderson Oliveira de Carvalho

<sup>2</sup>Andrey Azedo Damasceno

<sup>1</sup> Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas -Universidade do Estado do Amazonas, Centro de Estudos Superiores de Tefé, 69470-000 ,Tefé, AM, Brasil- wandolicarv@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Doutorando em Biotecnologia –PPGBIOTEC – Universidade Federal do Amazonas , 69077-000, Manaus –AM, Brasil-agronoufam@yahoo.com.br.

## Resumo

A Região Amazônica abriga numerosas formas de vida com grande potencial biotecnológico, e dentre estes, estão os fungos que são produtores de metabólitos de interesse industrial como antibióticos e enzimas que representam um grande mercado mundial. Muitos dos antibióticos utilizados para o tratamento de doenças foram extraídos a partir de fungos, como exemplo da Penicilina, substância produzida pelo fungo *Penicillium notatum*, Portanto dentre estes cabe conhecer a atividade antimicrobiana do *Trametes lactinea* e *Hexagonia glabra* e sua possível interação sinérgica, possibilitando assim alternativas viáveis na busca de novas substâncias antimicrobianas. A Coleta foi realizada no município de Tefé-AM. Os basidiocarpos foram desidratados á 35<sup>0</sup>C por 24 horas, utilizou-se 0,4 µg do extrato bruto, diluiu-se em 20µl de DMSO, posteriormente acrescido 1,96 ml de água destilada. Os microrganismos foram cultivados meio nutriente (NA), por 24h em estufa á 37<sup>0</sup>C . As cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris* foram semeadas nas placas de Petri contendo meio Mueller Hinton. O experimento foi realizado em triplicata, utilizou-se a técnica de difusão de discos de ± 0,5 cm sendo usado 4 discos por placa. De modo geral todos microrganismos foram sensíveis aos metabólitos produzidos pelos fungos *Trametes lactinea* e *hexagonia glabra*, Cabe ressaltar que houve uma interação sinérgica entre os extratos avaliados, este que foi potencializado em mais de 100% de atividade frente ao microrganismo *Proteus vulgaris*. Apesar dos resultados favoráveis a presente pesquisa mostrou algumas lacunas que devem ser preenchidas futuramente para melhor entendimento da possibilidade de formulação de um produto final.

Palavras-chaves: Fungos, microrganismos, metabólitos , Antimicrobiano.

## Abstract

The Amazon region is home to many life forms with great biotechnological potential, and among these are the fungi that produce metabolites of industrial interest such as antibiotics and enzymes that represent a large global market. Many of antibiotics used to treat diseases were extracted from fungi, such as penicillin, substance produced by the fungus *Penicillium notatum*. , Therefore it is known among these antimicrobial activity of *Trametes lactinea* and *Hexagonia glabra* and its possible synergistic interaction, allowing viable alternatives in the search for new antimicrobial substances. A collection was held in the city of Tefé-AM. The fruiting bodies were dehydrated at 35°C for 24 hours was used 0.4 mg of the crude extract was diluted in 20µl of DMSO subsequently added 1.96 ml of water destilada.Os microorganisms were cultivated nutrient medium (NA), for 24h at 37°C oven will. Strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Proteus vulgaris* were seeded in Petri dishes containing Mueller Hinton. The experiment was performed in triplicate, used the disc diffusion technique of ± 0.5 cm in use 4 discs per plate. Generally all microorganisms were sensitive to metabolites produced by fungi *Trametes lactinea* and *hexagonia glabra*, is worth mentioning that there was a synergistic interaction between the extracts evaluated, that this was potentiated by more than 100% activity against the microorganism *Proteus vulgaris*. Despite the favorable results of this research showed some gaps to be filled in the future to better understand the possible formulation of a final product.

Key - words: Fungi, extract, microorganisms, metabolites, Antimicrobial.

## INTRODUÇÃO

A Região Amazônica abriga numerosas formas de vida com grande potencial biotecnológico, em grande parte ainda desconhecido pela ciência. Tal fato mostra a extrema relevância do estudo da aplicabilidade das espécies encontradas na região a fim de desenvolver produtos com a finalidade de satisfazer as necessidades presente, sem comprometer a capacidade das gerações futuras. PETRINI (1991).

Dentre essas formas de vida encontram-se os fungos que tem um papel essencial nos ecossistemas terrestres na decomposição de matérias orgânicas, na liberação de nutrientes, e dando suporte à vida da planta através da associação mutualística simbiótica com as raízes de aproximadamente 80% de todas as espécies de plantas terrestres, VANDER HEIJDEN *et al.*, (1998). Muitos fungos secretam enzimas no substrato onde se encontram e absorvem as moléculas resultantes da ação dessas enzimas, PUTZKE (2002). Devido a esta grande versatilidade, os fungos vêm sendo estudados recentemente, principalmente quanto a sua aplicabilidade biotecnológica AZEVEDO *et al.* (2009) ; ESPOSITO & AZEVEDO (2004).

Muitos dos antibióticos utilizados para o tratamento de doenças foram extraídos a partir de fungos, como exemplo da Penicilina, substância produzida pelo fungo *Penicilium notatum*, descoberta por Alexander Fleming em 1928, ALEXOPOULOS (1996). Já a primeira investigação do potencial de Basidiomycota como agentes produtores de antibióticos foi realizada por Anchel, Hervey, Wilkins em 1941, observando extratos de basidiomas e cultura de micélios de inúmeras espécies. Dentre estes cabe conhecer a atividade antimicrobiana do *Trametes lactinea* e *Hexagonia glabra* e sua possível interação sinérgica, possibilitando assim alternativas viáveis na busca de novas substâncias antimicrobianas.

A descoberta dos antibióticos revolucionou a medicina, permitindo o tratamento de infecções que até então eram fatais. A sua disponibilidade tem criado segurança para população em relação a doenças infecciosas adquiridas na comunidade. Porém esta segurança irá dissipar se o desenvolvimento de microrganismos resistentes continuar a frente do desenvolvimento de novas drogas PEREIRA (2004). Segundo a Organização Mundial de Saúde, WHO (2012), as bactérias estão entre os patógenos que mais afetam de forma significativa a saúde da população mundial.

Apesar do sucesso obtido no passado com a descoberta dos antibióticos, as doenças infecciosas causam 17 milhões de mortes globalmente, particularmente de crianças e idosos

BUTLER & BUSS (2006). Muitos estudos têm mostrado que a frequência de isolados multi-resistentes está aumentando no mundo todo, com a resistência desenvolvendo-se para quase todas as classes de antibióticos, tanto naturais como sintéticos, WALSH (2003); PROJAN & SHLAES (2004). Para muitos destes patógenos, as opções para a terapia são extremamente limitadas POWERS (2004); PROJAN & SHLAES (2004); SHLAES *et al.*, (2004).

A *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa sendo a principal representante dos coliformes termotolerantes, sendo isolado do sistema gastrointestinal dos seres humanos e animais. A bactéria *E. coli* pode causar diarreias, infecções urinárias, septicemias e meningites Analytica (2012). A *Staphylococcus aureus* são cocos Gram-positivos que aparecem em cachos sendo isolada principalmente nas narinas, pele de pelo menos 15% dos seres humanos e de animais e está envolvido em lesões de pele, formação de abscessos e septicemias. A maioria das cepas produz a enterotoxina termorresistente que pode levar a toxi-infecção alimentar, provocando vômitos, diarreias e dores abdominais, Analytica (2012).

A *Proteus vulgaris* é uma bactéria Gram negativa sendo um dos agentes envolvidos em infecções urinárias A infecção sintomática do trato urinário (ITU) situa-se entre as mais frequentes infecções bacterianas do ser humano figurando como a segunda infecção mais comum na população em geral Avilla (2005).

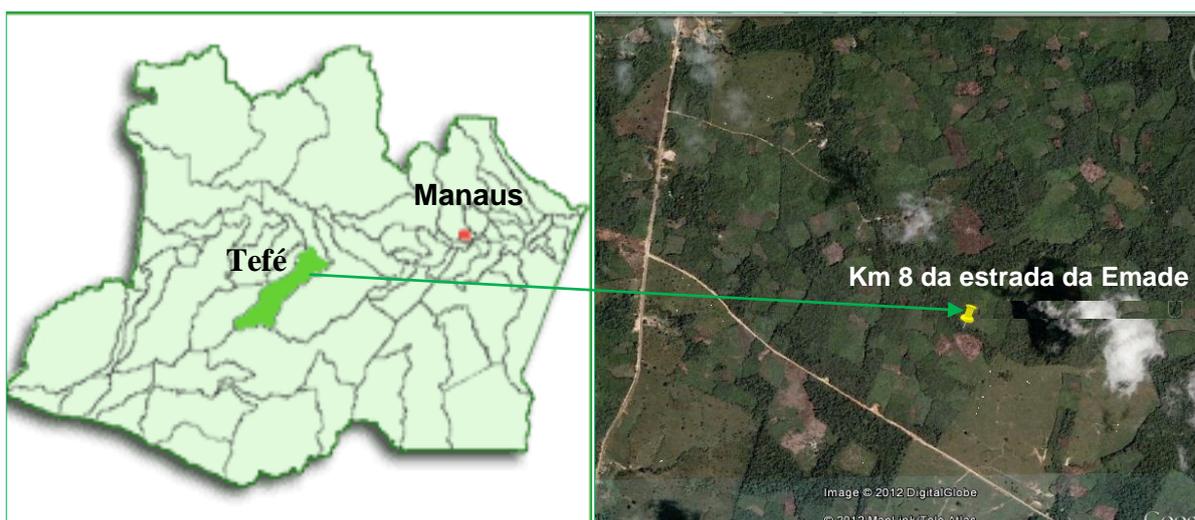
Além disso, a prevalência de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina permanece extremamente elevada em muitos Países BAX *et al.* (2000); BUSH (2004); BUTLER & BUSS (2006). Embora as infecções causadas por microrganismos resistentes ocorram essencialmente em hospitais, às bactérias que possuem genes que conferem resistência têm uma vantagem adaptativa que facilita a sua disseminação. Entretanto, um fato que têm recebido pouca atenção, porém não é menos importante, é o aumento destas bactérias na comunidade, que acaba tornando-se um importante reservatório para a resistência a antimicrobianos FURUYA & LOWY (2006).

Portanto, dada a relevância e a busca por antimicrobianos novos é que avaliou, atividade antimicrobiana dos extratos oriundos das cepas Amazônica dos fungos *Trametes lactinea* e *Hexagonia glabra* e seu possível efeito sinérgico entre frações 1:1 dos extratos e quantificados frente a microrganismo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris*. Por serem estes microrganismos, dentre vários outros, frequentemente isolados em infecções que apresentam elevada resistência aos antimicrobianos.

## MATERIAL E MÉTODO

### Área de estudo

A presente pesquisa foi desenvolvida no Município de Tefé no estado do Amazonas no perímetro rural do município de Tefé-AM, na estrada da EMADE Km 8 (Figura 01).



**Figura 01.** Mapa do Município de Tefé com indicação do Local de Coleta

**Fonte:** [www.ibge.gov.br/ibgeteen/mapas/am\\_mapa.htm](http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/mapas/am_mapa.htm) e  
[www.bv.am.gov.br/portal/conteudo/municipios/tefe.php](http://www.bv.am.gov.br/portal/conteudo/municipios/tefe.php)

O município de Tefé possui uma área territorial de 23.473,488 Km<sup>2</sup>, fazendo limites com os municípios Coari, Tapauá, Carauari e Maraã e está situada 47 m de altitude acima do nível do mar, dista em linha reta 516 Km e por via fluvial 672 Km da Capital do Estado. Durante o período da pesquisa, o município de Tefé segundo os dados do IBGE de 2010 contava com 61.453 habitantes.

### Coleta de dados

As coletas dos basidiocarpos foram realizadas durante o período de verão entre os meses julho e agosto 2012, tendo duração de 7 dias sendo levados para o laboratório de Biologia no Cento de Estudos Superiores de Tefé (CEST/UEA) onde foram preparados os extratos e o bioensaio para verificar seu efeito frente aos microrganismos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris*).

## **Preparo Dos Extratos**

Foi utilizado como solvente álcool 70% para retirada dos componentes bioativos presente nos basidiocarpos . Após a coleta do material estes foram selecionados e desidratados á temperatura de 35<sup>0</sup> C na estufa por 24 horas, posteriormente foram triturados em liquidificador industrial e passados em peneira de 60 mesh.

Para cada 30 gramas do material biológico triturado foi acrescido 250 ml do solvente e deixado em repouso por um período de 72 h em um recipiente âmbar, para evitar possíveis reações com a luz. Os extratos obtidos foram concentrados em fluxo forçados em capela de exaustão em temperatura de 28 – 30° C, até se obter um concentrado .Essa metodologia foi descrita pela primeira vez por Smânia (2003).

Para avaliar o possível efeito sinérgico entre os extratos foi associado uma fração de 1:1 , ou seja, 1 ml do extrato obtido a partir dos basidiocarpos das cepas Amazônica *Trametes lactineae* 1 ml do extrato cepa também Amazônica *Hexagonia glabra*, ambos obtidos a partir da técnica de extração a frio .

## **Bioensaio**

As diluições dos extratos utilizados foram de 0,4µg para ambos e diluídas em 20 µl de Dimetil Sulfoxido (DMSO), posteriormente acrescido 1,96 ml de água destilada.

As cepas bacteriológicas foram cedidas pelo laboratório de microbiologia da UEA-MBT (Universidade do Estado do Amazonas – MBT- Mestrado em Biotecnologia) e pelo LACEA Laboratório de Análises Clínica Especialista do Amazonas . Os microrganismos foram semeados em tubos de ensaios contendo meio nutriente (NA) (glicose, peptona e caldo de carne), para o crescimento e mantidas em estufa á 37<sup>0</sup>C por 24h. Após o crescimento das bactérias o inóculo foi ajustado a partir da escala de Mac Farland, utilizando-se o tubo 0,5 da mesma concentração padrão, o que equivale a 1,5x10<sup>8</sup> bactérias/ml. As cepas de *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris*, foram semeadas nas placas de Petri 90x15mm contendo meio nutriente Mueller Hinton. Para preparar o meio utilizou-se 38 g de meio de cultura para 1000ml de água destilada, posteriormente foi alto-clavado a 1atm por 20 min. a 121<sup>0</sup> C, após a esterilização e resfriamento, o mesmo foi vertido em placas de Petri 90x15mm previamente esterilizadas.

O experimento foi realizado todo em triplicata, posteriormente inoculou-se em 80 µl dos microrganismos a serem avaliados nas placas de Petri e com a utilização de uma alça de Drigalsk onde os mesmos foram plaqueados separadamente. Após esterilizar discos de difusão de ± 0,5 cm utilizou-se 4 discos por placa, onde em três adicionou-se 60 µl do extrato a ser avaliada e no quarto o grupo controle adicionou-se 60 µl de DMSO como controle negativo, em seguida as placas foram levadas a Estufa de Baixa Demanda de Oxigênio (B.O.D) á temperatura de 37 °C por 24h para a observação de atividade do extrato nos microrganismos.

Os dados obtidos foram transferidos para planilha eletrônica do Excel onde se calculou a média das triplicatas para serem analisadas.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

De modo geral, as bactérias foram sensíveis ao extrato de *Trametes lactinea* na concentração testada. Para as cepas de *Proteus vulgaris* (Tabela 01), foi evidenciado uma média de aproximadamente 3,3 mm de halo de inibição, resultado este corroborado por valores semelhante obtido por Felício (2011) .

Da mesma maneira, no bioensaio com as bactérias *S.aureus* (Tabela 01), observou-se a média do halo de 7,2 m. Valor semelhante foi também obtido por Felício (2011) para o mesmo microrganismo *S.aureus* que visualizou um halo de 14 mm. A maior sensibilidade dos microrganismos Gram-negativos ocorreu para *Escherichia coli*, onde o halo de inibição atingiu média de 13,5 mm. Felício (2011) obteve resultado semelhante para uma cepa de *E.colli* onde observou- um halo de 16mm de inibição.

**TABELA 01.** Média da atividade antimicrobiana do extrato a frio da cepa do fungo Amazônico *Trametes lactinea*, frente aos microrganismos *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris*.

| <b>Atividade Antimicrobiana</b> | <b>Bactéria</b>          | <b>Halo( mm)</b> |
|---------------------------------|--------------------------|------------------|
| <b>Ex t r a t o a F r i o</b>   | <i>Trametes lactinea</i> |                  |
|                                 | <i>S.aureus</i>          | 7,2              |
|                                 | <i>E.coli</i>            | 13,5             |
|                                 | <i>P.vulgaris</i>        | 3,3              |

Para o bioensaio que mensura a sensibilidade dos microorganismos aos extratos da cepa Amazônica *hexagonia glabra* (Tabela 02), observou-se resultados distintos daquele obtido para *T. lactinea*, o bioensaio para *Staphylococcus aureus* mostrou halo de inibição em torno de 3,8 mm, resultado inferior aos extratos de *Trametes lactinea* contra essa mesma bactéria que foi de 7,2 mm .

O mesmo bioensaio da cepa Amazônica *hexagonia glabra* (Tabela 02) obtiveram resultados inferiores para os microrganismos *Escherichia coli* e *Proteus vulgaris* frente aos extrato de de *Trametes lactinea*, que apresentaram halos de inibição respectivamente de 13,5mm e 3,3mm.

**TABELA 02.** Média da atividade antimicrobiana do extrato a frio da cepa do fungo Amazônico *Hexagonia glabra* frente aos microrganismos *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris*.

| <b>Atividade Antimicrobiana</b> | <b>Bactéria</b>   | <b>Halo(mm)</b> |
|---------------------------------|-------------------|-----------------|
| <b><i>Hexagonia glabra</i></b>  |                   |                 |
| <b>E x t r a t o a F r i o</b>  | <i>S.aureus</i>   | 3,8             |
|                                 | <i>E.coli</i>     | 4,5             |
|                                 | <i>P.vulgaris</i> | 2,8             |

Esta atividade provavelmente se deve à presença de substâncias fenólicas que possuem capacidade de complexar-se a proteínas extracelulares da membrana bacteriana, provocando sua morte (Cowan, 1999). Estudos anteriores demonstraram que várias bactérias são sensíveis a taninos, dentre elas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Bacillus anthracise* *Shigell adysenteriae* (Monteiro et al., 2005).

O consórcio das cepas *Trametes lactinea* e *hexagonia glabra* não foi tão eficiente para *Escherichia coli* (Tabela 3). Essa resistência pode ter ocorrido devido microrganismos Gram-negativos como a *Escherichia coli* possuírem duas membranas, uma na face externa da parede celular e outra na face interna. Assim drogas com baixa lipossolubilidade têm maior dificuldade em agir sobre as bactérias Gram-negativas por causa da membrana externa (Hashimoto *et al.*, 1997) e Ferreira (2010) onde afirma que certas bactérias determinam a sua

patogenicidade a partir do desenvolvimento de mecanismos que contribuem para aumentar a capacidade de infecção e que ajudam a burlar o sistema imunológico do hospedeiro.

O mesmo bioensaio que avaliou o extrato obtido do consorcio dos dois fungos testados observou-se sensibilidade das bactérias testadas para *Staphylococcus aureus*, por exemplo, esta média foi otimizada discretamente (Tabela 03).

Este discreto aumento no halo de inibição pode estar relacionado com uma possível interação dos metabólitos produzidos pelos fungos *Trametes lactinea* e *Hexagonia glabra* e até mesmo pela *Staphylococcus aureus* ser uma bactéria Gram-positiva, o que dificulta menos a ação do bioensaio testado frente a membrana celular (Tabela 03). Da mesma maneira, pode ter ocorrido uma interação entre alguns dos metabólitos dos fungos o que proporcionou uma sensibilidade maior da cepa de *Proteus vulgaris* (Tabela 03) observada pelo aumento do halo de inibição em 100% em relação ao extrato individual dos fungos *Trametes lactinea* e *Hexagonia glabra*.

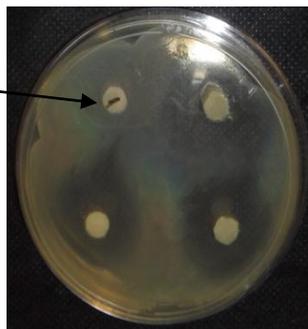
Efeito sinérgico também foi observado por Coutinho *et al.* (2010) entre o extrato alcoólico de *Eugenia uniflorae* o antibiótico gentamicina contra duas linhagens de *Escherichia coli* (EC 27 e ATCC 8539) numa concentração inibitória  $\geq 1.02\mu\text{g/ml}$ .

**TABELA 03.** Média do Efeito Sinérgico entre os extratos das cepas de fungos amazônicos *Trametes lactinea* e *hexagonia glabra* frente aos microrganismos *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris*.

| <b>Atividade Antimicrobiana EFEITO<br/>SINERGÉTICO</b> | <b>Bactéria</b>   | <b>Halo( mm)</b> |
|--|-------------------|------------------|
| <b>E x t r a t o a F r i o</b>                         | <i>S.aureus</i>   | 7,8              |
|  | <i>E.coli</i>     | 11,8             |
|  | <i>P.vulgaris</i> | 9,2              |

Para o grupo controle dos extratos analisados individualmente e de seus consórcios, as cepas de microrganismos cresceram normalmente não ocorrendo formação de halo de inibição evidenciando o potencial antimicrobiano dos extratos de ambos os fungos no crescimento das bactérias testadas (Figura 02).

Grupo controle



**Figura 02.** Atividade antimicrobiana do extrato a frio do consorcio das cepas de fungos amazônicos *Trametes lactinea* e *hexagonia glabra* frente a bactérias *Proteus vulgaris*

**Fonte:** Wanderson Carvalho 2012

Apesar dos resultados favoráveis a presente pesquisa mostrou algumas lacunas que devem ser contempladas para o entendimento melhor do processo de consórcios, como por exemplo o fracionamento dos extratos, para determinar quais metabólitos estão sendo eficientes na sensibilidade dos microrganismos e a determinação da concentração mínima inibitória (CIM), cabe ainda avaliar sua possível ação sinérgica entre os consórcios para então otimizar de maneira mais eficiente sua ação, outro ponto a ser contemplado e o uso de solventes de diferentes gradientes de polaridades e diferentes técnicas de extração destes metabólitos. Isso na possibilidade de futuramente a formulação de um produto final.

## CONCLUSÃO

Em função dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- As bactérias testadas foram sensíveis aos metabólitos produzidos pelos fungos *Trametes lactinea* e *Hexagonia glabra*;
- O extrato obtido da cepa Amazônica *Trametes lactinea*, apresentou melhor resultado de inibição para *Escherichia coli*.
- O extrato do consorcio dos fungos potencializou o efeito antimicrobiano frente a *Proteus vulgaris*

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade do Estado do Amazonas/ Centro de Estudos Superiores de Tefé e - UEA/CEST pelo apoio; ao Mestrado em Biotecnologia UEA/ MBT- e

ao Laboratório de Análises Clínica Especializadas do Amazonas – LACEA por cederem as bactérias utilizadas no presente estudo.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W., BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4.ed. Nova York:John Wiley & Sons, p.509–681. 1996.

ANALYTICA. A revista da instrumentação e controle da qualidade, ISSN 1677-3055. Ano 10, Nº 57, Fevereiro/ Março de 2012.

AVILLA. S. G.AN. **Diagnóstico Das Infecções Do Trato Urinário**. Rev Assoc. Med. Bras,2005; 51(6): 301-12

AZEVEDO, J.; RAMOS, I.; OLIVEIRA, C.; HENRIQUES, I.; CORREIA, A. **Unraveling differences between bacterioplankton and bacterioneuston: universal or specific primers** 10<sup>th</sup> Symposium on Bacterial Genewtics and Ecology, Uppsala, Sweden, 2009.

BAX, R.; MALLAN; N; VERHOEF, J. **The milleniun bugs – the need for and development of new antibacterials**. InternationalJournalofAntimicrobialAgents. V. 16, dp. 51-59, 2000.

BUSH, K. **Antibacterial drug discovery in the 21st century**. Clinical Microbiology Infection, v. 10 (Suppl. 4), p. 10-17, 2004.

BUTLER, M.S & BUSS, A. D. **Natural products- The future scaffolds for novel antibiotics?**Biochemical Pharmacology, v. 71, p. 919- 929, 2006.

COWAN M.M 1999. Plant products as antimicrobial agents.*ClinMicrobiol* 12: 564-582.

ESPOSITO, E. AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EducS, 2004.

FELÍCIO, O.S.. 2011. **Potencial antimicrobiano da cepa Amazônica *Trametes Lactinea* frente aos Microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus***.pp 15.

FERREIRA, B. L. A. **Compostos sintéticos: identificação da atividade antibacteriana na perspectiva de formação de nanopartículas**. Trabalho desenvolvido no Laboratório de

Antibióticos, Bioquímica e Modelagem Molecular (LABioMol) do Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia – UFF- NITERÓI, 2010.

FURUYA, E. Y. & LOWY, F.D. **Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting**. *Nature reviews in microbiology*. V. 4, p. 36-45, 2006.

HASHIMOTO H. (1997) Acquisition of antibiotic resistance in bacteria by alteration of molecular target, or by the decreased permeability. *Nippon Rinsho*;55: 1167-72.

MONTEIRO, JM, Albuquerque UP, Araujo EL, Cavalcanti de Amorim EL 2005. Taninos: uma abordagem de química à ecologia. *Quim Nova* 28: 892-896.

PETRINI, O. **Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues**. In Fokkema N.J. and Heuvel J. van den (eds) *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 175-187, 1991.

PEREIRA JO, **Endophytic fungi of *Stylosanthes*: a preliminary study**. *Mycologia* 85:362-364, 2004.

PROJAN, S.J & SHLAES, D.M. **Antibacterial drug discovery: is it all downhill from here?** *Clinical Microbiology Infection*. V. 10(Suppl. 4), p.18-22, 2004.

PUTZKE, Jair. **Os reinos dos fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, v.1 e v.2. 2002.

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.

VANDER, P.H. & ERIKSSON, K.E . **Selective degradation of wood components by white-rot fungi**. *Physiol. Plant*. 4:239-248. (van der HEIJDEN *et al.*, 1998).

WALSH, C. **Where will new antibiotics come from?** *Nature Reviews in Microbiology*. V. 1, p. 65-70, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2000) *Overcoming Antimicrobial resistance*. WHO Health Report 2000, Geneve: <http://www.who.int/en/> acessado no dia 02 de novembro de 2012.