



## ENZIMAS DE INTERESSE COMERCIAL ISOLADAS DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS DA ERVA-DANINHA *Tridax procumbens* (L.) (ERVA-DE-TOURO)

Ana Karulline Garcia Ungaratti<sup>1</sup>, Raylane Pereira Gomes<sup>2</sup>, José Daniel Gonçalves Vieira<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mestranda em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia-GO, Brasil.

<sup>2</sup> Professora substituta classe A e Doutoranda em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia-GO, Brasil. (Autor correspondente: raylanepgomes@gmail.com)

<sup>3</sup> Professor Doutor Associado IV do Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia-GO, Brasil.

Recebido em: 15/11/2020 – Aprovado em: 15/12/2020 – Publicado em: 30/12/2020  
DOI: 10.18677/EnciBio\_2020D17

### RESUMO

É cada vez mais presente pesquisas com microrganismos endofíticos produtores de diferentes metabolitos, tais como as enzimas hidrolíticas, que apresentam grande aplicabilidade nos processos industriais, devido a sua ampla variedade de estrutura e de aplicações, alta especificidade e estabilidade, baixo impacto ao meio ambiente, possibilidade de produção em grande escala em curto período de tempo e com baixo custo. O presente estudo teve como objetivo isolar bactérias endofíticas de *Tridax procumbens* (L.) e avaliar a produção de enzimas hidrolíticas produzidas por essas bactérias. Um total de oito bactérias endofíticas, de diferentes partes da planta foram selecionadas e analisadas quanto a sua capacidade de síntese das enzimas amilase, -glucosidase, celulase, endoglucanase, esterase, exoglucanase, lipase, pectinase, protease e xilanase, usando meios de cultura sólidos específicos para produção de cada enzima. Das oito bactérias isoladas, todas apresentaram atividade pectinolítica e proteolítica, 87,5% atividade -glucosidase e celulolítica (cana-de-açúcar), 75% atividade endoglucanase e exoglucanase, 62,5% atividade xilanase, 50% atividade amilolítica, 37,5% atividade celulolítica (bambu) e esterásica, nenhuma apresentou atividade lipásica. Em conclusão, os isolados exibem potencial como produtores de enzimas hidrolíticas de interesse industrial.

**PALAVRAS-CHAVE:** Asteraceae; Biotecnologia; Enzimas hidrolíticas.

### ENZYMES OF COMMERCIAL INTEREST ISOLATED FROM ENDOPHYTIC BACTERIA OF WEED *Tridax procumbens* (L.) (BULL HERB)

#### ABSTRACT

Research with endophytic microorganisms producing different metabolites, such as hydrolytic enzymes, is increasingly present, which has great applicability in industrial processes, due to its wide variety of structure and applications, high specificity, stability, low impact on the environment, possibility large-scale production in a short period of time and at low cost. The present study aimed to isolate endophytic

bacteria from *Tridax procumbens* (L.) and to evaluate the production of hydrolytic enzymes produced by these bacteria. A total of eight endophytic bacteria, from different parts of the plant, were selected and analyzed for their ability to synthesize the enzymes amylase,  $\alpha$ -glucosidase, cellulase, endoglucanase, esterase, exoglucanase, lipase, pectinase, protease and xylanase, using culture specific solids for the production of each enzyme. Of the eight isolated bacteria, all showed pectinolytic and proteolytic activity, 87.5%  $\alpha$ -glucosidase and cellulolytic activity (sugar cane), 75% endoglucanase and exoglucanase activity, 62.5% xylanase activity, 50% amylolytic activity, 37.5% cellulolytic (bamboo) and sterasic activity, none showed lipase activity. In conclusion, the isolates show potential as producers of hydrolytic enzymes of industrial interest.

**KEYWORDS:** Asteraceae; Biotechnology; Hydrolytic enzymes.

## INTRODUÇÃO

A *Tridax procumbens* (L.) é uma erva daninha pertencente à família *Asteraceae*, muito comum em regiões tropicais, com temperatura elevada e boa umidade (VIJAY et al., 2019). É bem conhecida como infestante (AKINOLA; ADELOWO, 2020), com rápida taxa de crescimento, e possuindo atividade metabólica durante quase todo o ano (GOVARTHANAN et al., 2016). Sabe-se, que relações simbióticas entre plantas e microrganismos pode aumentar a resistência do vegetal frente às condições ambientais adversas, havendo, então, a coexistência benéfica entre a planta e seu hospedeiro, podendo este ser um endófito (TÉTARD-JONES; EDWARDS, 2016; MATOS et al., 2019).

A interação planta-endófito ainda não é totalmente compreendida (SANTOYO et al., 2016), entretanto, essa coexistência é relatada desde o início do século XIX nos experimentos de Heinrich Friedrich Link (HARDOIM et al., 2015). Ao longo dos anos, e das descobertas feitas, o termo endofítico agregou conceituações em sua definição, sendo a mais recente proposta por Hardoim et al., (2015) se referindo ao endófito como “todos os microrganismos que colonizam, durante toda ou parte de sua vida, tecidos internos de uma planta” (HARDOIM et al., 2015).

Esses microrganismos podem adentrar nos tecidos da planta pela via horizontal, fazendo penetração passiva através dos estômatos, lenticelas e fissuras nas raízes, ou de forma ativa pela secreção de enzimas hidrolíticas, pela via vertical por meio de sementes, ou por uma via mista (FERNANDES et al., 2015; TROGNITZ et al., 2016; FRANK et al., 2017), podendo ser localizados dentro da planta nos espaços intercelulares e intracelulares (PAPIK et al., 2020).

A simbiose planta-endófito pode gerar metabólitos de interesse comercial e biotecnológico, como as enzimas (SINGH et al., 2019). Esses biocatalizadores de origem microbiana podem possuir ampla variedade de estrutura e de aplicações, sendo altamente específicos, estáveis, benéficos ao meio ambiente, passíveis a grande escala de produção em curto período de tempo e com baixo custo (SINGH, et al., 2016; ANBU et al., 2017; COELHO et al., 2017; LIU; KOKARE, 2017).

As enzimas possuem seis classes, se dividindo em subclasses de acordo com suas funções (MANISHA; YADAV, 2017), 75% das enzimas utilizadas em indústrias são da classe das hidrolíticas (proteases, celulasas, pectinases, esterases, lipases, amilases e xilanases) (LI et al., 2012; SINGH, et al., 2016), sendo muito utilizadas em produtos de limpeza, cosméticos, indústria alimentícia, têxtil, celulose e papel, processamento de couro e farmacêutica (LI et al., 2012; PRAYAGO et al., 2020). Visando a busca por novas fontes de isolamento de endofíticos produtores de

enzimas hidrolíticas de interesse comercial, este estudo teve como objetivo avaliar a produção dessas enzimas em bactérias endofíticas isoladas da *T. procumbens* (L.)

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Isolamento dos microrganismos endofíticos

As amostras de *T. procumbens* (L.) foram coletadas, em outubro de 2017, no jardim da Faculdade de Odontologia (16°40'32"S 49°14'41"W) da Universidade Federal de Goiás (UFG) em Goiânia-GO, posteriormente levadas ao laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia (LAMAB- UFG) onde se seguiu a metodologia de Araújo et al. (2002) para desinfecção da amostra.

As amostras foram desinfetadas seguindo a metodologia de Araújo et al. (2002). Logo após a coleta, as amostras foram lavadas em água corrente para a remoção da sujidade, e, posteriormente, ao processo de secagem sobre papel absorvente em temperatura ambiente, foram submetidas ao processo de desinfecção superficial com etanol a 70% (v/v), por um minuto; hipoclorito de sódio a 2,0% (v/v), por quatro minutos; três lavagens em água destilada esterilizada; banho de ultrassom (40 kHz), por 10 minutos; três lavagens com água destilada esterilizada; etanol 70% por 30 segundos, seguidos de uma lavagem final com água destilada esterilizada, por duas vezes.

O controle do processo de desinfecção da superfície vegetal foi realizado inoculando três alíquotas de 1,0 mL da última água de lavagem das amostras em tubos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e incubado a 30 °C por 72 horas. A ausência de turvação nesses meios foi considerada uma resposta positiva quanto à eficiência do processo de desinfecção.

Para o isolamento dos microrganismos endofíticos, foi utilizada a técnica de fragmentação, onde as amostras previamente desinfetadas foram cortadas, com o auxílio de um bisturi esterilizado, em fragmentos de 1 cm<sup>2</sup>. Posteriormente, as amostras foram inoculadas individualmente em placas de Petri contendo os meios de cultura: *Nutrient Agar* (NA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), meio *King*, meio Amido Caseína- KNO<sub>3</sub>, e meio extrato de malte e levedura (ISP2) + Amido a 1%.

As placas, com os fragmentos vegetais previamente desinfetados, foram incubadas a 30 °C por 15 dias. Após o crescimento múltiplo de microrganismos por placa, selecionou-se as colônias de bactérias isoladas e com diferenças macroscópicas, visando a possível seleção de diferentes espécimes bacterianas. Os microrganismos crescidos foram purificados, por técnica de esgotamento de alça, nos respectivos meios sólidos onde tiveram o crescimento observado pela primeira vez, este procedimento foi repetido cinco vezes.

### Caracterização morfotintorial e morfocolonial

Para caracterização morfotintorial e morfocolonial foram preparadas lâminas a fresco aliadas à técnica de coloração Gram, identificando as bactérias mediante suas características morfológicas.

### Avaliação da atividade enzimática

Foi analisada a capacidade de síntese das enzimas amilase, -glucosidase, celulase, endoglucanase, esterase, exoglucanase, lipase, pectinase, protease e xilanase. Após o crescimento dos isolados em caldo BHI a 30 °C por 24 horas, com a finalidade de se fazer uma pré-seleção da atividade enzimática, foram pipetados 70 µL das amostras, crescidas em caldo BHI, em um multi-inoculador tipo *Steer* em meios de cultura sólidos específicos para produção de cada enzima.

Os isolados que se mostraram positivos, foram selecionados para a determinação da atividade enzimática, sendo previamente crescidos em caldo BHI e posteriormente pipetados 20 µL das amostras crescidas em BHI no centro de cada placa contendo os meios e suplementações para as atividades enzimáticas específicas.

Para a produção de amilases, seguiu-se a metodologia descrita por Hankin; Anagnostakis (1975), com meio contendo ágar Nutriente, suplementado por 0,2% de amido solúvel (pH 6,0), sendo mantidas em estufa a 30 °C, por três dias, a positividade para a produção dessa enzima foi visualizada pela presença de halo claro ao redor da colônia.

Para a determinação da produção de celulase total, endoglucanase, exoglucanase e da -glucosidade, utilizou-se a metodologia de Kasana et al. (2008). Utilizando o meio Kasana com 1% de bagaço de cana-de-açúcar ou serragem de bambu, ambos triturados e moídos em peneira de 1mm para celulase total, 1 % de carboximetilcelulose para a endoglucanase, 1% de celulose microcristalina para exoglucanase e para -glucosidade contendo meio ágar *Bushnell-Haas* (BH) adicionado de 0,1% de Extrato de levedura e 0,2 % de esculina e 0,05% de citrato férrico de amônio seguindo de acordo com Bushnell e Hass (1941).

Para a produção de esterase e lipase, seguiu-se a metodologia descrita por Sierra (1957). Usando meio de sierra adicionado de 1% de Tween 20, para atividade esterásica (pH 7,4) e 1% de Tween 80 para atividade lipásica (pH 7,4). O método proposto por Hankin et al. (1971), foi utilizado para avaliar a produção de pectinase, utilizando meio de Hankin.

Para a determinação de produção das proteases, foi usada a metodologia de Vieira (1999) com meio de cultura contendo ágar Nutriente, suplementado com leite comercial desnatado 1%. A presença de halo claro ao redor da colônia foi indicativa de positividade. Para a avaliação da produção de xilanase, seguiu o método de Kasana et al. (2008), usando meio de Kasana, adicionado de 1 % de sabugo de milho triturado e moído em peneira de 1 mm.

### **Cálculo para determinação da atividade enzimática**

Para se determinar a atividade enzimática (Pz) e classificá-la, calculou-se o índice enzimático (IE), determinado pela razão entre o diâmetro dos halos de degradação enzimática (dcp) pelo diâmetro das colônias (dc) formadas, de acordo com a equação 1, utilizando-se da metodologia de Hankin e Anagnostakis (1975).

$$IE = \frac{dcp}{dc} \quad (1)$$

Os resultados foram classificados de acordo com Cuzzi et al. (2011) em negativos, quando os valores de pZ = 1 (classe 1), positivos, quando 0,64 = pZ < 1 (classe 2) e fortemente positivos quando os valores se apresentaram menores que 0,64 (classe 3). Todas as atividades foram avaliadas em duplicata.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Um total de oito colônias bacterianas apresentaram-se viáveis, denominadas de acordo com a sequência de inoculação e o local de isolamento da planta, por exemplo, B (bactéria) 1 (primeira a ser inoculada) e F (isolada da folha), resultando em B1F.

### Caracterização morfológica e morfocolonial das bactérias isoladas

Foram isoladas oito bactérias endofíticas de diferentes partes da *T. procumbens* (L.) (denominadas, B2F, B3R, B4F, B5F, B8F, B10R, B14P e B15R). Destas oito amostras isoladas, 50% se apresentaram como gram-positivas e 50% como gram-negativas, ambas apresentando diversas morfologias, como mostrado no quadro 1. A variabilidade demonstra a diversidade de espécimes endofíticas que podem residir em amostras vegetais, sendo essa variabilidade determinada por fatores ambientais adversos sofridos pela planta, tipo de solo, espécie da planta e local de isolamento do endófito (WO NIAK et al., 2018).

**QUADRO 1.** Resultados da coloração de Gram em bactérias endofíticas isoladas da *T. procumbens* (L.).

Bactérias endofíticas	Coloração de Gram	Morfologia
B2F	+	Bacilos
B3R	-	Cocos
B4F	+	Cocos
B5F	-	Cocobacilos
B8F	-	Cocobacilos
B10R	+	Bacilos
B14P	-	Cocobacilos
B15R	+	Cocos

(+) gram-positiva, (-) gram-negativas

### Avaliação enzimática

Visando uma pré-seleção da atividade enzimática, utilizou-se o multi-inoculador tipo *Steer*, para a inoculação dos isolados nas placas previamente confeccionadas com os meios específicos para a ação enzimática desejada. A zona mais clara ao redor das colônias correspondente dcp, indicando positividade para a reação enzimática. Os resultados obtidos podem ser observados no quadro 2.

**QUADRO 2.** Pré-seleção da atividade enzimática presente em bactérias endofíticas isoladas da *T. procumbens* (L.) com o auxílio do inoculador *Steer*

Enzimas	Isolados bacterianos							
	B2F	B3R	B4F	B5F	B8F	B10R	B14P	B15R
Amilolítica	-	-	+	-	+	+	-	+
Glucosidase	-	+	+	+	+	+	+	+
Celulase Total (Bambu)	-	+	-	+	-	-	+	-
Celulase Total (cana-de-açúcar)	+	-	+	+	+	+	+	+
Endoglucanase	-	+	+	-	+	+	+	+
Exoglucanase	+	-	-	+	+	+	+	+
Esterásica	-	-	-	-	+	+	-	+
Lipásica	-	-	-	-	-	-	-	-
Pectinolítica	+	+	+	+	+	+	+	+
Proteolítica	+	+	+	+	+	+	+	+
Xilanase	-	+	+	+	-	+	-	+

(+) resultado positivo: presença de halo de hidrólise, (-) resultado negativo: ausência de halo.

De um total de oito isolados testados, 50% revelaram atividade amilolítica, 87,5% para -glucosidase, 37,5% para celulase total (bambu), 87,5% para celulase

total (cana-de-açúcar), 75% para endoglucanase e exoglucanase, 37,5% para esterásica, 100% para pectinolítica e proteolítica e 62,5% para xilanase. Porém, não se observou a produção de lipases em nenhum dos isolados de *T. procumbens* (L.).

Procurando avaliar enzimaticamente as morfoespécies bacterianas, foi estabelecido o Pz. O processo de mensuração da atividade enzimática dos microrganismos decorreu da observação dos halos de degradação formados, sendo calculada pelo IE. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 1.

**TABELA 1.** Produção de enzimas hidrolíticas por isolados bacterianos endofíticos de *T. procumbens* (L.)

Isolados bacterianos	Atividade enzimática	Amilolítica	Beta Glucosidase	Celulase Total (Bambu)	Celulase Total (cana-de-açúcar)	Endoglucanase	Exoglucanase	Esterásica	Lipásica	Pectinolítica	Proteolítica	Xilanase
B2F	IE	-	-	-	0,62	-	0,55	-	-	0,45	0,53	-
	Pz	-	-	-	3	-	3	-	-	3	3	-
B3R	IE	-	0,27	0,79	-	0,79	-	-	-	0,68	0,83	0,31
	Pz	-	3	2	-	2	-	-	-	2	2	3
B4F	IE	0,88	0,61	-	0,39	0,57	-	-	-	0,57	0,82	0,44
	Pz	2	3	-	3	3	-	-	-	3	2	3
B5F	IE	-	0,40	0,78	0,92	-	0,91	-	-	0,86	0,92	0,92
	Pz	-	3	2	2	-	2	-	-	2	2	2
B8F	IE	0,85	0,70	-	0,71	0,67	0,40	0,63	-	0,45	0,88	-
	Pz	2	2	-	2	2	3	3	-	3	2	-
B10R	IE	0,75	0,73	-	0,60	0,52	0,58	0,76	-	0,57	0,9	0,41
	Pz	2	2	-	3	3	3	2	-	3	2	3
B14P	IE	-	1,0	0,75	0,65	0,64	0,82	-	-	0,80	0,93	-
	Pz	-	1	2	2	2	2	-	-	2	2	-
B15R	IE	0,87	0,68	-	0,46	0,35	0,46	0,61	-	0,45	0,70	0,40
	Pz	2	2	-	3	3	3	3	-	3	2	3

IE= razão entre o diâmetro da colônia em milímetro (dc) e o diâmetro do halo de degradação do precipitado em milímetro (dcp). Resultados em mm. De acordo com Cuzzi et al. (2011) negativos (PZ = 1, classe 1), positivos (0,64 = PZ < 1, classe 2) e fortemente positivos (PZ < 0,64, classe 3). (-) indica que os isolados apresentaram resultados negativos nos testes de atividade enzimática.

De acordo com os dados da tabela 1, todas as amostras testadas para atividade amilolítica se enquadram na classe 2, positivos. Em que, o melhor Pz é exposto pela B10R, com IE 0,75. Tal resultado coincide com os encontrados por Cuzzi et al. (2011) em fungos endofíticos isolados da *Baccharis dracunculifolia*.

Já para a atividade do complexo das celulases ( -glucosidase, celulase total, endoglucanase e exoglucanase), 51,7% das amostras testadas se apresentaram como

Pz de classe 3, fortemente positivos, no qual o B3R para o teste de celulase ( - glucosidase) apresentou o melhor IE do estudo, se assemelhando aos resultados encontrados por Marques et al. (2018), que encontraram uma ótima produção de - glucosidase por fungos endofíticos em seu estudo. Neste estudo, 44,8% das amostras se apresentaram como positivos (classe 2).

Os resultados obtidos para a produção de celulase total, demonstraram que todos os isolados foram capazes de produzir essa enzima sob a influência de, pelo menos, uma das suplementações adicionadas, ou na presença do triturado de bambu, ou do triturado de cana-de-açúcar, se assemelhando aos resultados encontrados por Yopi et al. (2017), e se diferenciando dos resultados obtidos por Barbosa et al. (2015), que não encontraram atividade celulolítica nos endófitos isolados de *Hyptis suaveolens* (L.). Seis dos oito isolados (75%) foram capazes de produzir endoglucanase e exoglucanase, fato semelhante ao encontrado por WU et al. (2017).

Para atividade esterásica, das três amostras testadas, duas se enquadraram como fortemente positivas (classe 3) (B8F e B15R) e uma em positivo (classe 2) (B10R). A positividade para esterases presente em 37,5%, dos microrganismos das amostras, se assemelha com a porcentagem de 33,3% dos isolados endofíticos de *Hyptis suaveolens* com atividades esterases, apresentado na pesquisa de Barbosa et al. (2015).

Observando as atividades pectinolíticas, 62,5% dos isolados são pertencentes à classe 3, fortemente positivos para a excreção dessa enzima, e 37,5% são de classe 2, positivos. A alta taxa nos isolados de excreção desta enzima hidrolítica se assemelha aos resultados encontrados por Manisha e Yadav (2017), em que isolados de *Ocimum sanctum* e *Aloe vera*, apresentaram produção desta enzima.

Para a atividade proteolítica, apenas a amostra B2F se apresentou como classe 3, Pz fortemente positiva, enquanto, 87,5% apresentaram como Pz positivo (classe 2). Fato semelhante aos resultados encontrados por Cuzzi et al. (2011) em fungos endofíticos isolados da *Baccharis dracunculifolia*.

A atividade xilanolítica do estudo se expõe como classe 3, fortemente positiva, em 80% dos isolados positivos para essa atividade, e classe 2, positivos, em 20% destas. Resultado que indica uma boa excreção desta enzima.

Considerando-se os resultados obtidos, é correto afirmar que 100% das bactérias isoladas da *Tridax procumbens* (L.) apresentaram produção de, pelo menos, quatro atividades enzimáticas testadas, resultado semelhante ao encontrado por Bodhankar et al. (2017), em endofíticos isolados de sementes de milho, podendo-se reafirmar que endofíticos para a produção de enzimas de interesse comercial é um campo que deve ser mais explorado.

## CONCLUSÃO

Até onde se sabe, esse estudo é o primeiro relatando a análise de enzimas hidrolíticas dos microrganismos endofíticos presentes na *T. procumbens* (L.). Os resultados obtidos mostram que todos os isolados apresentaram excreção de, pelo menos, quatro atividades enzimáticas testadas, podendo indicar potencial para a aplicação industrial de produtos de limpeza, cosméticos, indústria alimentícia, têxtil, celulose e papel, processamento de couro e farmacêutica.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas de mestrado e doutorado.

## REFERÊNCIAS

- AKINOLA, A. O.; ADELOWO, F. E. Chromatographic and Spectrophotometric Determination of Some Phenolic Compounds in *Tridax procumbens* Linn Stem. **Chemistry Africa**, [s. l.], n. 0123456789, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s42250-020-00195-8>>. doi: 10.1007/s42250-020-00195-8
- ANBU, P.; GOPINATH, S.; CHAULAGAIN, B. P.; LAKSHMIPRIVA, T. Microbial Enzymes and Their Applications in Industries and Medicine 2016. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2017/2195808>>. doi: 10.1155/2017/2195808
- ARAÚJO, L. W.; LIMA, A. O. S.; AZEVEDO, J. L.; MARCON, J.; SOBRAL, J. K.; LACAVA, P. T. **Manual: isolamento de microrganismos endofíticos**. 1 ed. Piracicaba: CALQ, 2002. 86 p. Disponível em: <<https://repositorio.usp.br/item/001233016>>.
- BARBOSA, E.C.; CARRIM, A.J.I.; OLIVEIRA, B.F.R.; RIBEIRO, I.D.A.; VIEIRA, J.D.G. 2015. Isolamento, identificação e avaliação das atividades enzimáticas e antibacteriana de micro-organismos endofíticos de *Hyptis suaveolens* (L). **Enciclopédia Biosfera**. Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p. 2015 3037,2015. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia\\_Biosfera\\_2015\\_021](http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_021)>. doi: 10.18677/Enciclopedia\_Biosfera\_2015\_021
- BODHANKAR, S.; GROVER, M.; HEMANTH, S.; REDDY, G.; RASUL, S.; *et al.* Maize seed endophytic bacteria: dominance of antagonistic, lytic enzyme-producing *Bacillus* spp. **3 Biotech**. Aug;7(4):232, 2017.. Epub 2017 Jul 7. PMID: 28688037; PMCID: PMC5500752. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13205-017-0860-0>>. doi: 10.1007/s13205-017-0860-0
- BUSHNELL, L.D.; HAAS, H.F. The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms. **Journal Bacteriology**. v. 41, n. 5, p. 653, 1941. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/JB.41.5.653-673.1941>>. doi: 10.1128/JB.41.5.653-673.1941
- COELHO, L.; BORBA, C.; MELO, E.; SILVA, L. O potencial do *Streptomyces* isolados na região de maués na produção de enzimas hidrolíticas. **Ciência e Natura**. 39. 202, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.5902/2179460X24345>>. doi: 10.5902/2179460X24345
- CUZZI, C.; LINK, S.; VILANI, A.; ONOFRE, S. B. Enzimas extracelulares produzidas por fungos endofíticos isolados de *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae). **Global Science and Technology**. v. 04, n. 02, p.47-57, mai/ago, 2011. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/277875353\\_ENZIMAS\\_EXTRACELULARES\\_PRODUZIDAS\\_POR\\_FUNGOS\\_ENDOFITICOS\\_ISOLADOS\\_DE\\_Baccharis\\_dracunculifolia\\_DC\\_Asteraceae](https://www.researchgate.net/publication/277875353_ENZIMAS_EXTRACELULARES_PRODUZIDAS_POR_FUNGOS_ENDOFITICOS_ISOLADOS_DE_Baccharis_dracunculifolia_DC_Asteraceae)>.
- FERNANDES, E. G.; PEREIRA, O. L.; SILVA, C.C.; BENTO, C. B. P.; QUEIROZ, M. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer – Jandaia-GO, v.17 n.34; p. 230 2020

V. Diversity of endophytic fungi in Glycine max. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 181, p. 84–92, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.010>>. doi: 10.1016/j.micres.2015.05.010

FRANK, A.; SALDIERNA GUZMÁN, J.; SHAY, J. Transmission of Bacterial Endophytes. **Microorganisms**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 70, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms5040070>>. doi: 10.3390/microorganisms5040070.

GOVARTHANAN, M.; MYTHILI, R.; SELVANKUMAR, T.; KAMALA-KANNAN, S.; RAJASEKAR, A.; YOUNG-CHEOL CHANG. Bioremediation of heavy metals using an endophytic bacterium Paenibacillus sp. RM isolated from the roots of Tridax procumbens. **3 Biotech**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 1–7, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13205-016-0560-1>>. doi: 10.1007/s13205-016-0560-1

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**, v. 67, n. 3, p. 597-607, 1975. Disponível em: <<https://doi.org/10.2307/3758395>>. doi: 10.2307/3758395

HANKIN, L.; ZUCKER, M.; SANDS, D. C. Improved solid medium for the detection and enumeration of pectolytic bacteria. **Applied Microbiology**, v. 22, n. 2, p. 205-209, 1971. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC377414/>>.

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; BERG, G.; PIRTTILÄ, A. M.; COMPANT, S.; *et al.* The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [s. l.], v. 79, n. 3, p. 293–320, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/mnbr.00050-14>>. doi: 10.1128/mnbr.00050-14

KASANA, R.C.; SALWAN, R.; DHAR, H.; DUTT, S.; GULATI, S. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using grams iodine. **Current Microbiology**, 57, 503-507, 2008. doi: 10.1007/s00284-008-9276-8

LI, S.; YANG, X.; YANG, S.; ZHU, M.; WANG, X. Technology prospecting on enzymes: Application, marketing and engineering. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. e201209017, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.5936/csbj.201209017>>. doi: 10.5936/csbj.201209017

LIU, X.; KOKARE, C. **Microbial Enzymes of Use in Industry**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803725-6.00011-X>>. doi: 10.1016/B978-0-12-803725-6.00011-X

MANISHA; YADAV, S. K.. Technological advances and applications of hydrolytic enzymes for valorization of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 245, p. 1727–1739, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.066>>. doi: 10.1016/j.biortech.2017.05.066

MARQUES, N. P.; PEREIRA, J. C.; GOMES, E.; SILVA, R. Cellulases and xylanases production by endophytic fungi by solid state fermentation using lignocellulosic substrates and enzymatic saccharification of pretreated sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 122, n. March 2017, p. 66–75, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.022>>. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.05.022

MATOS, C.C.; COSTA, M.D.; SILVA, I.R.; SILVA, A.A. Competitive Capacity and Rhizosphere Mineralization of Organic Matter During Weed-Soil Microbiota Interactions. **Planta Daninha**, 37, e019182676. Epub February 18, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100007>>. doi: 10.1590/s0100-83582019370100007

PAPIK, J.; FOLKMANOVA, M.; POLIVKOVA-MAJOROVA, M.; SUMAN, J.; UHLIK, O. The invisible life inside plants: Deciphering the riddles of endophytic bacterial diversity. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 44, n. August, p. 107614, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107614>>. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107614

PRAYAGO, F. A.; BUDIHARJO, A.; KUSUMANINGRUM, H.P.; WIJANARKA, W.; SUPRIHADI, A.; NURHAYATI, N. Metagenomic applications in exploration and development of novel enzymes from nature: a review. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology** 18, 39, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s43141-020-00043-9>>. doi: 10.1186/s43141-020-00043-9

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 183, p. 92–99, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>>. doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008

SIERRA, G. A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 23, n. 1, p. 15-22, 1957. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02545855>>. doi: 10.1007/BF02545855

SINGH, R.; KUMAR, M.; MITTAL, A.; MEHTA, P. K.; Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. **3 Biotech**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 1–15, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13205-016-0485-8>>. doi: 10.1007/s13205-016-0485-8

SINGH, R. S.; SINGH, T.; PANDEY, A.. **Microbial enzymes-an overview**. [S. l.]: Elsevier B.V., 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7>>. doi: 10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7

TÉTARD-JONES, C.; EDWARDS, R.. Potential roles for microbial endophytes in herbicide tolerance in plants. **Pest Management Science**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 203–209, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.4147>>. doi: 10.1002/ps.4147

TROGNITZ, F.; HACKL, E.; WIDHALM, S.; SESSITSCH, A. The role of plant–microbiome interactions in weed establishment and control. **FEMS Microbiology Ecology**, Volume 92, Issue 10, October, 2016, fiw138. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/femsec/fiw138>>. doi: 10.1093/femsec/fiw138

VIEIRA, J. D. G. **Purificação e caracterização de uma alfa-amilase de Streptomyces sp. 1999**. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1999.

VIJAY, R.; SINGARAVELU, D. L.; VIHOD, A.; SANJAY, M. R.; SIENGCHIN, S.; *et al.* Characterization of raw and alkali treated new natural cellulosic fibers from *Tridax procumbens*. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 125, p. 99–108, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.056>>. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.056

10.1016/j.ijbiomac.2018.12.056

WO NIAK, M.; GALAZKA, A.; GRZADZIEL, J.; GLODOWSKA, M. The identification and genetic diversity of endophytic bacteria isolated from selected crops. **Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 156, n. 4, p. 547–556, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0021859618000618>>. doi: 10.1017/S0021859618000618

WU, W.; DAVIS, R. W.; TRAN-GYAMFI, M. B.; KUO, A.; LABUTTI, K.; *et al.* Characterization of four endophytic fungi as potential consolidated bioprocessing hosts for conversion of lignocellulose into advanced biofuels. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 101, n. 6, p. 2603–2618, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-017-8091-1>>. doi: 10.1007/s00253-017-8091-1

YOPI; TASIA, W.; MELLIAWATI, R. Cellulase and Xylanase Production from Three Isolates of Indigenous Endophytic Fungi. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, [s. l.], v. 101, n. 1, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1088/1755-1315/101/1/012035>>. doi: 10.1088/1755-1315/101/1/012035