

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Câmpus Central de Ciências Exatas e Tecnológicas
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais do Cerrado

**Atividade biológica em fungos endofíticos -
Análise cienciométrica da produção científica global e
bioprospecção em espécies associadas a *Palicourea rigida* Kunth,
uma planta medicinal do Cerrado**

IGOR ROMEIRO DOS SANTOS

**Atividade biológica em fungos endofíticos -
Análise cienciométrica da produção científica global e
bioprospecção em espécies associadas a *Palicourea rigida* Kunth,
uma planta medicinal do Cerrado**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação
Stricto Sensu em Recursos Naturais do Cerrado da
Universidade Estadual de Goiás para obtenção do título de
Mestre em Recursos Naturais do Cerrado.

Área de Pesquisa: Processos e Produtos Ambientais

Orientadora: Profa. Dra. Solange Xavier dos Santos

Anápolis

2021



TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL (BDTD)

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Estadual de Goiás a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UEG), regulamentada pela Resolução, CsA n.1087/2019 sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

Dados do autor (a)

Nome Completo: Igor Romeiro dos Santos

E-mail: igor.romeiro70@gmail.com

Dados do trabalho

Título: Atividade biológica em fungos endofíticos – Análise cienciométrica da produção científica global e bioprospecção em espécies associadas a *Palicourea rigida* Kunth, uma planta medicinal do Cerrado

Tipo

() Tese (X) Dissertação

Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Cerrado

Concorda com a liberação documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Anápolis-GO, 19/10/2021

Local Data



Assinatura do autor (a)



Assinatura do orientador (a)

- ¹ **Casos de impedimento:**
- Período de embargo é de um ano a partir da data de defesa
 - Solicitação de registro de patente;
 - Submissão de artigo em revista científica;
 - Publicação como capítulo de livro;
 - Publicação da dissertação/tese em livro.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RR763 Romeiro dos Santos, Igor
a Atividade biológica em fungos endofíticos - Análise
cienciométrica da produção científica global e
bioprospecção em espécies associadas a *Palicourea*
rigida Kunth, uma planta medicinal do Cerrado / Igor
Romeiro dos Santos; orientador Solange Xavier dos
Santos. -- Anápolis, 2021.
136 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais do Cerrado
(RENAC)) -- Câmpus Central - Sede: Anápolis - CET,
Universidade Estadual de Goiás, 2021.

1. produtos naturais. 2. indicadores
cienciométricos. 3. savana brasileira. 4. "bate-caixa".
5. biotecnologia. I. Xavier dos Santos, Solange ,
orient. II. Título.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM RECURSOS NATURAIS DO CERRADO

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO/TESE Nº 99/2021

Aos 30 dias do mês de março do ano de 2021, às 17h, reuniu-se através da plataforma Google Meet, a banca Examinadora composta pelos doutores: Solange Xavier dos Santos (Universidade Estadual de Goiás), Leonardo Luiz Borges Santos (Universidade Estadual de Goiás), Jadson Diogo Pereira Bezerra (Universidade Federal de Goiás) para, sob a presidência da primeira, procederem à defesa da dissertação de Mestrado intitulada: **Atividade biológica em fungos endofíticos – Análise cienciométrica da produção científica global e bioprospecção em espécies associadas a *Palicourea rigida* Kunth, uma planta medicinal do Cerrado**, de Igor Romeiro do Santos, discente do PPG Recursos Naturais do Cerrado, nível mestrado. Foi realizada a avaliação oral no sistema de apresentação e defesa de dissertação de autoria do discente. Terminada a avaliação oral, a banca examinadora reuniu-se emitindo os seguintes pareceres mediante as justificativas e sugestões abaixo:

Membro da Banca	Parecer (Aprovado/Reprovado)	Assinatura
Dra. SOLANGE XAVIER SANTOS	X	
Dr. JADSON DIOGO PEREIRA BEZERRA	X	
Dr. LEONARDO LUIZ BORGES	X	

Justificativas e sugestões: o trabalho apresentado atende aos requisitos para a conclusão do mestrado.

Após avaliação foi APROVADO na defesa. Às 19:05 horas, a Prof. Dra. Solange Xavier dos Santos, presidente da Banca Examinadora deu por encerrada a sessão e, para constar, lavrou a presente Ata:

Prof. Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra

Prof. Dr. Leonardo Luiz Borges

Profa. Dra. Solange Xavier dos Santos

Ao meu irmão Henrique Romeiro (*in memoriam*) por acreditar na minha evolução.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação retrata a minha evolução profissional como pesquisador em microbiologia ambiental. Sempre fui fascinado por microrganismos e pelo isolamento destes pequenos seres em laboratório, assim, o mestrado veio como uma oportunidade de continuar aprendendo e aprimorando técnicas. A Universidade Estadual de Goiás, uma instituição pública, gratuita e de qualidade, proporciona novas descobertas e parcerias, para que de fato a ciência possa ser divulgada, então, meu eterno agradecimento. Minha mãe, Marlene Romeiro, que sempre acreditou que os estudos me abririam portas para o sucesso, é peça fundamental nesta jornada, pela confiança, pelo amor e pelo zelo, minha gratidão. Agradeço ainda ao meu companheiro de vida, Turricele Turrioni, pelo carinho e por todos os incentivos necessários, que soube me tranquilizar em todos os momentos, para que esta etapa fosse concluída. Minhas irmãs Luana Romeiro e Bruna Santos, meus sobrinhos Giulia Sophie Romeiro e Heitor Romeiro, minhas primas Cindy Noronha e Jéssica Romeiro e meu grande amigo Ikaro Alves, saibam que vocês são incríveis e obrigado pelos conselhos.

À professora Solange Xavier dos Santos, minha orientadora, sou grato. Desde quando nos conhecemos no Laboratório de Biodiversidade do Cerrado, percebi a doçura, a vontade em ensinar e a força feminina que traz consigo. Saiba que é uma mulher excepcional e um exemplo de pesquisadora. Suas contribuições trouxeram a este trabalho um valor imensurável. Aos professores Leonardo Luiz Borges e Jadson Diogo Pereira Bezerra, vocês também foram fundamentais na estruturação e revisão deste trabalho. Aos meus amigos de pós-graduação, e agora de vida, Camila Castro, Osvaldo Pinto e Lucas Leonardo da Silva, obrigado pelas longas horas de experimentos nos Laboratórios de Microbiologia e Biotecnologia, pelas trocas de informações, pelas alegrias e tristezas diárias, saibam que podem contar comigo sempre! Agradeço ao Carlos Filipe Cotrim, Elias Botelho e Izabel Cristina Moreira pelos auxílios em manuseios de equipamentos e coleta dos espécimes da planta hospedeira. Agradeço também ao Matheus Gabriel de Oliveira do Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, pelo auxílio em experimentos.

Minha gratidão aos professores do programa Héli da Ferreira da Cunha, Samantha Salomão Caramori, João Carlos Nabout, Rogério Pereira Bastos, Joelma Abadia Marciano de Paula, Fabrício Barreto Tereza e Geiziane Tassarolo, as disciplinas ampliaram os horizontes. Obrigado aos colegas de turma Gabriel de Ávila, Igor Cobelo e Victor Olinto pelas dicas e trocas de energias. Sou grato aos funcionários da Universidade Estadual de Goiás, sejam técnicos administrativos ou de laboratórios, pela prontidão. Finalizo agradecendo à Universidade Estadual de Goiás, pela concessão de Bolsa de Desenvolvimento Institucional III, tão essencial para que os experimentos fossem concluídos. Tenho a sensação de que o Cerrado abriga grandes potencialidades, por isso, as pesquisas devem e precisam continuar!

“A alma, o espírito, tem sempre muitas oportunidades e pode, pelo seu livre-arbítrio, refletir o belo e o bem, ou o feio e o mal. O belo e o bem apresentam-se em harmonia e com equilíbrio, e dessa união surge o amor que os leva a progredir espiritualmente. O feio apresenta-se na turbulência da ignorância, gerando o ódio, a inveja, os desejos insaciáveis, o egoísmo, que é a maior chaga perturbadora, o luxo e a luxúria, tornando o homem um verdadeiro vulcão de conflitos interiores, tornando a vida humana um inferno, seja encarnada ou desencarnada. Devemos compreender sem ilusão o que realmente somos, e não o que pensamos ser, e, com coragem, realizar nossa transformação. Ser agora, no presente. O futuro é uma consequência vivida do presente e não fruto de aspirações de uma mente ociosa, que deixa sempre essa transformação para depois. É nossa obrigação passar de necessitado a útil.”

*Médium Vera Lúcia Marinzeck de Carvalho
ditado pelo espírito Patrícia,
Violetas na Janela*

SUMÁRIO

RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xvii
INTRODUÇÃO GERAL.....	18
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
1.1 O Cerrado brasileiro e suas plantas medicinais.....	19
1.2 <i>Palicourea rigida</i> Kunth.....	21
1.3 Fungos endofíticos.....	23
1.4 Metabólitos secundários ou especiais e atividade biológica em fungos endofíticos.....	27
1.4.1 Compostos terpenoides.....	30
1.4.2 Compostos nitrogenados.....	32
1.4.3 Compostos fenólicos.....	33
1.5 Atividade de enzimas hidrolíticas.....	34
1.6 Atividade antioxidante.....	37
1.7 Atividade antimicrobiana.....	38
1.8 Atividade antitumoral.....	39
1.9 Atividade biorremediativa.....	40
1.10 Toxicidade.....	41
1.11 Atividade antagonística contra fungos fitopatogênicos.....	41
2 Objetivos.....	
2.1 Objetivo geral.....	43
2.2 Objetivos específicos.....	43
3 Literatura citada.....	44
ARTIGO 1 – TENDÊNCIA GLOBAL NAS PESQUISAS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA EM FUNGOS ENDOFÍTICOS: UMA ANÁLISE CIENCIOMÉTRICA.....	60
RESUMO.....	60
INTRODUÇÃO.....	61
METODOLOGIA.....	62
RESULTADOS.....	63
DISCUSSÃO.....	72
CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS.....	75
ARTIGO 2 – ATIVIDADE BIOLÓGICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE <i>Palicourea rigida</i> KUNTH (RUBIACEAE), UMA PLANTA MEDICINAL DO CERRADO BRASILEIRO.....	80
RESUMO.....	80
INTRODUÇÃO.....	81

MATERIAL E MÉTODOS.....	82
Área de coleta e obtenção dos fungos endofíticos.....	82
Cultivo para prospecção de compostos bioativos e atividade biológica.....	83
Rastreio qualiquantitativo dos metabólitos secundários ou especiais.....	83
Determinação do teor de sólidos.....	84
Rastreio da produção de enzimas.....	84
Avaliação da atividade bioativa	
Atividade antioxidante.....	85
Atividade antimicrobiana.....	86
Atividade antitumoral.....	86
Atividade biorremediativa.....	87
Atividade antagonística.....	87
Toxicidade.....	88
Análises estatísticas.....	88
RESULTADOS.....	89
DISCUSSÃO.....	97
CONCLUSÃO.....	98
REFERÊNCIAS.....	99
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107
ANEXOS.....	109

RESUMO

Fungos endofíticos habitam o interior de vegetais, de forma assintomática, estabelecendo uma relação mutualística com o hospedeiro. Têm-se verificado que este grupo de microrganismos produz metabólitos com atividade biológica de grande relevância para a biotecnologia. O objetivo deste estudo foi promover uma revisão cienciométrica da produção científica global sobre atividade biológica em fungos endofíticos e prospectar essas propriedades em fungos endofíticos associados a folhas de *Palicourea rigida* Kunth. Conhecida popularmente como “bate-caixa”, “gritadeira” ou “douradão”, essa planta nativa do Cerrado é considerada medicinal, por ser utilizada popularmente no tratamento de desordens urinárias, do sistema reprodutor feminino e inflamações. A partir de uma busca na plataforma Web of Science, considerando-se os termos (Fung* AND Endophytic) AND (Bioprospecting OR Bio-prospecting OR Prospecting OR Bioactivit* OR “Biological Activit*”) no título, resumo ou palavras-chave, no intervalo temporal de 1997 a 2019, foram encontrados 458 trabalhos científicos que atenderam aos critérios de busca. A maior produção ocorreu em 2018 (70 artigos) e a maior média de citações por ano ocorreu em 2006 (156 citações/artigo). O periódico mais frequente foi Marine Drugs (16 publicações) e o de maior índice H (13) foi encontrado no European Journal of Organic Chemistry. A maior quantidade de publicação está na área de Microbiologia (52 artigos). A palavra-chave mais frequente foi “natural-products” (citada 95 vezes). Os autores mais frequentes foram Barbara Schulz e Siergfried Draeger (16 artigos cada), ambos da Universidade de Tecnologia de Braunschweig na Alemanha. Considerando-se a filiação de autores e coautores, a China foi o país mais frequente a sediar pesquisas, citada em 412 artigos, seguida do Brasil (189 artigos) e da Índia (160 artigos). A maioria dos bioensaios ocorreu a partir de 2014, sendo 2018 o ano com o maior número de registros (81 ensaios). Quase metade dos artigos (43%) comprovaram propriedades antimicrobianas, 29% comprovaram propriedades antitumorais, 9% comprovaram propriedades enzimáticas, 8% comprovaram propriedades antioxidantes, e 11% outras atividades. A distribuição temporal dos artigos apresentou aumento a partir da década de 2000. No que diz respeito ao componente experimental da dissertação, foram isolados quatro fungos endofíticos (*Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, *Botryosphaeriales* SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652) das folhas de três espécimes de *P. rigida*, selecionados na Reserva Ecológica da Universidade Estadual de Goiás (REC-UEG), para ensaios de bioprospecção da atividade biológica. Dentre os metabólitos secundários, verificou-se a presença de fenóis e flavonoides em todos os cultivos, além da produção das enzimas amilases, celulasas, proteases e tanases. Assim, foi detectado teores menores e moderados de atividade antioxidante nos isolados *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Botryosphaeriales* e *Diaporthe* sp., o correspondente a 5,6804; 22,4748; 11,8528; 27,4803 mg.mL⁻¹, respectivamente, quando se avaliou o sequestro de radicais livres (DPPH) e 8,0917; 47,0602; 0; 32,2691 mol Fe²⁺.mg⁻¹, respectivamente, quando se considerou a redução de sulfato ferroso (FRAP). O isolado *Botryosphaeriales* apresentou uma concentração mínima inibitória (CMI) de 23,20 mg.mL⁻¹ contra *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*; *Diaporthe* sp. apresentou CMI de 27,00 mg.mL⁻¹ contra *Escherichia coli*. Na avaliação antitumoral, *Colletotrichum* sp. apresentou inibição de tumores em discos de batata em 69% na concentração 9,70 mg.mL⁻¹. Na verificação da biorremediação em solo contaminado com óleo de soja, todos os isolados se mostraram eficientes no tratamento ao induzir redução da fitotoxicidade acima de 20% de *Lactuca sativa*. Na avaliação da toxicidade preliminar, todos os isolados apresentaram alta toxicidade (CL₅₀ <100 mg.mL⁻¹) ao microcrustáceo *Artemia salina*. No antagonismo em placa, todos os isolados inibiram os fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger*, *Inonotus rickii*, *Pestalotiopsis mangiferae* e *Coniophora puteana*, com porcentagens entre 34,17 e 76,93%. Os resultados obtidos revelam que os fungos endofíticos estudados são promissores candidatos para serem empregados em processos biotecnológicos, como agentes terapêuticos; em processos de

biorremediação de solos; e na agricultura para o controle biológico de fungos fitopatogênicos. No entanto, são necessários novos ensaios verificando a toxicidade.

Palavras-chave: simbiose; produtos naturais; indicadores cienciométricos; savana brasileira; “bate-caixa”; biotecnologia.

ABSTRACT

Endophytic fungi inhabit the interior of vegetables, asymptotically, establishing a mutualistic relationship with the host. It has been verified that this group of microorganisms produces metabolites and enzymes with great biological activity produced for biotechnology. The objective of this work was to promote a review of this global scientific on the biological activity in endophytic fungi and to prospect these properties in endophytic fungi associated with *Palicourea rigida* Kunth leaves. Popularly known as “bate-caixa”, “gritadeira” or “douradão”, this native plant from the Cerrado is considered medicinal, as it is popularly used to treat urinary disorders, female reproductive system and inflammation. From a search on the Web of Science platform, considering the terms (Fung* AND Endophytic) AND (Bioprospection OR Bio-prospection OR Prospecting OR Bioactivit* OR “Biological Activit*”) in the title, abstract or keywords, in the interval from 1997 to 2019, 458 scientific papers were found that meet the search criteria. The highest production occurred in 2018 (70 articles) and the highest average of citations per year occurred in 2006 (156 citations/article). The most frequent journal for Marine Drugs (16 publications) and the one with the highest H index (13) was found in the European Journal of Organic Chemistry. The largest amount of publication is in the area of Microbiology (52 articles). The most frequent keyword for natural products (cited 95 times). The most frequent authors were Barbara Schulz and Siergfried Draeger (16 articles each), both from the Braunschweig University of Technology in Germany. The affiliation of authors and co-authors is thought, China was the most frequent country to host research, cited in 412 articles, followed by Brazil (189 articles) and India (160 articles). Most of the bioassays took place in 2014, with 2018 being the year with the highest number of records (81 trials). Almost half of the articles (43%) proved antimicrobial properties, 29% proved anti-tumor properties, 9% proved enzymatic properties, 8% proved antioxidant properties, and 11% other activities. The temporal distribution of articles increased since the 2000s. With regard to the experimental component of the dissertation, there were four endophytic fungi, *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 and *Diaporthe* sp. SXS652, from the leaves of three specimens of *P. rigida*, selected at the Ecological Reserve of the State University of Goiás (REC-UEG), for bioprospecting assays of biological activity. Among the secondary metabolites, the presence of phenols and flavonoids was found in all crops, in addition to the production of the enzymes amylases, cellulases, proteases and tanases. Thus, lower and moderate levels of antioxidant were detected by asking *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp., Botryosphaeriales and *Diaporthe* sp., corresponding to 5.6804; 22.4748; 11.8528; 27.4803 mg.mL⁻¹, respectively, when free radical scavenging (DPPH) and 8.0917; 47.0602; 0; 32.2691 mol Fe²⁺.mg⁻¹, respectively, when a reduction of ferrous sulfate (FRAP) is considered. The Botryosphaeriales isolate has a minimum inhibitory concentration (IMC) of 23.20 mg.mL⁻¹ against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*; *Diaporthe* sp. 27.00 mg.mL⁻¹ IMC against *Escherichia coli*. In the antitumor evaluation, *Colletotrichum* sp. presents 69% inhibition of tumors in potato discs at the concentration of 9.70 mg.mL⁻¹. In the verification of bioremediation in soil contaminated with soybean oil, all isolates proved to be efficient in the treatment by inducing a reduction in phytotoxicity above 20% of *Lactuca sativa*. In the preliminary toxicity evaluation, all aggregates with high toxicity (LC₅₀ <100 mg.mL⁻¹) to the microcrustacean *Artemia salina*. Without plaque antagonism, all those present inhibited phytopathogenic fungi *Aspergillus niger*, *Inonotus rickii*, *Pestalotiopsis mangiferae* and *Coniophora puteana*, with percentages between 34.17 to 76.93%. The results obtained reveal that the studied endophytic fungi are promising candidates to be used in biotechnological processes, as therapeutic agents; in soil bioremediation processes; and in agriculture for the biological control of phytopathogenic fungi. However, further tests are needed to verify toxicity.

Keywords: symbiosis; natural products; scientometric indicators; brazilian savanna; “bate-caixa”, biotechnology.

LISTA DE FIGURAS

Fundamentação teórica

Figura 1. Espécime vegetal de *Palicourea rigida* empregado neste estudo. A: Hábito arbustivo e folhas coriáceas de *P. rigida* (barra=30,0 cm), B: Inflorescência com flores amarelo-alaranjadas (barra=10,0 cm).....22

Figura 2. Estruturas químicas de sesquiterpenoides isolados dos fungos endofíticos *Aspergillus* sp. de *Xylocarpus moluccensis* (1 a 7) e *Phomopsis* sp. de *Phyllanthus glaucus* (8-21).....31

Figura 3. Estrutura química de citocalasina isolada do fungo endofítico *Xylaria* sp. de *Piper aduncum* (1).....33

Figura 4. Estrutura química de altenusina isolada do fungo endofítico *Alternaria* sp. de *Trixis vouthieri* (1).....34

Artigo 1

Figura 1. Distribuição temporal (a) da produção científica e (b) da média de citações de artigos por ano. A curva exponencial crescente (a) denota a tendência geral (valor-p: 2.85⁻¹³).....64

Figura 2. Distribuição dos (a) artigos quanto ao periódico, (b) dos periódicos quanto ao índice H, (c) dos artigos quanto à área de concentração.....66

Figura 3. Palavras-chave encontradas nos artigos, (a) dinâmica das mais frequentes, (b) rede de coocorrência das mais frequentes.....67

Figura 4. Distribuição (a) dos autores segundo o total de publicações, (b) dos artigos segundo o total de citações.....68

Figura 5. Principais países (a) a sediar pesquisas sobre atividade biológica em fungos endofíticos, (b) instituições e periódicos no fluxo de colaboração das pesquisas.....70

Figura 6. Distribuição dos bioensaios descritos na literatura científica catalogada na base Web of Science, entre 1997 a 2019.....71

Figura 7. Distribuição dos artigos segundo o tipo de atividade biológica.....72

Artigo 2

Figura 1. Localização geográfica da Reserva Ecológica da UEG (REC-UEG), Anápolis, Goiás, Brasil e espécimes de *Palicourea rigida* amostrados.....82

Figura 2. Cromatogramas de HPLC dos extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth.....90

Figura 3. Perfil enzimático dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth. (a) Índice enzimático (IE) e (b) culturas em meios específicos mostrando o halos de degradação do substrato como indicativo da atividade enzimática.....92

Figura 4. Atividade antitumoral, em discos de batata, de extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth. (a) Taxa de inibição frente à concentração dos extratos fúngicos e (b) tumores em discos de batata no tratamento com extrato de *Colletotrichum* sp. SXS649.....93

Figura 5. Desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* tratadas com extratos (32 mL) dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth. (a) Controle 1 (100 g de solo + 32 mL de água), (b) Controle 2 (100 g de solo + 10% de óleo de soja) e (c) Tratamentos com os extratos fúngicos (100 g de solo + 10% de óleo de soja + 32 mL de extrato fúngico SXS649, SXS650, SXS651 e SXS652).....95

Figura 6. Teste de cultura pareada de fungos endofíticos isolados de *Palicourea rigida* Kunth contra fungos fitopatogênicos aos 14 dias de incubação. As placas dispostas na linha superior correspondem ao controle e na inferior ao teste. A: acima *Coniophora puteana* SXS623 e abaixo o mesmo fungo x *Diaporthe* sp. SXS652 (PI 76,93%). B: acima *Aspergillus niger* SXS635 e abaixo o mesmo fungo x *Pestalotiopsis* sp. SXS650 (PI 59,25%). C: acima *Inonotus rickii* SXS37 e abaixo o mesmo fungo x *Pestalotiopsis* sp. SXS650 (PI 57,14%).....96

LISTA DE TABELAS

Fundamentação teórica

Tabela 1. Fungos endofíticos isolados de espécies medicinais presentes no Cerrado.....25

Tabela 2. Metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos isolados de espécies medicinais presentes no Cerrado e suas atividades biológicas.....29

Artigo 1

Tabela 1. Distribuição dos 10 autores que mais publicaram, quanto à instituição de filiação, país e índice H.....69

Artigo 2

Tabela 1. Concentração total do teor de sólidos dos extratos fúngicos e padronização das concentrações para avaliação da atividade antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e toxicidade.....84

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em 1 mL de extrato dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth.....89

Tabela 3. Valores de IC₅₀ (mg.mL⁻¹) dos extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth que inibem radicais livres DPPH e redução do ferro FRAP.....92

Tabela 4. Viabilidade de sementes de *Lactuca sativa* em solo contaminado com 10% de óleo de soja e tratado com extratos (32 mL) dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth.....94

Tabela 5. Ação antagonística dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth contra os fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger* SXS635, *Inonotus rickii* SXS37, *Pestalotiopsis mangiferae* SXS647 e *Coniophora puteana* SXS623 detectada pelo método de pareamento em placa e tipo de interação competitiva, segundo escala de Badalyan, Innocenti & Garibyan (2002).....95

Tabela 6. Toxicidade dos extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth contra *Artemia salina* utilizando a metodologia de dose-resposta Probit por meio do programa Statplus®.....96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA batata-dextrose-ágar
BHT butilhidroxitolueno
CLSI *Clinical and Laboratory Standard Institute*
CMI Concentração mínima inibitória
DNA ácido desoxirribonucleico
DPPH eliminação do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
e.g. por exemplo
ex situ fora do local
FeSO₄ sulfato ferroso
FRAP capacidade de redução do ferro
HPLC cromatografia líquida de alta eficiência
I₂ iodo
IC₅₀ 50% de inibição
IE índice enzimático
in situ no local
in vitro processos biológicos fora dos sistemas vivos
K₂HPO₃ fosfato de potássio dibásico
KCl cloreto de potássio
KH₂PO₄ fosfato monopotássico
kHz quilohertz
KI iodeto de potássio
MgSO₄.7H₂O sulfato de magnésio
MH Mueller Hinton
NaCl cloreto de sódio
NaClO hipoclorito de sódio
NADPH nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NaNO₃ nitrato de sódio
nm nanómetro
p/v peso/volume
pH potencial hidrogeniônico
REC-UEG Reserva Ecológica da Universidade Estadual de Goiás
rpm rotação por minuto
UFC unidade de formação de colônia
USC ultrassônica
ZnSO₄ sulfato de zinco

INTRODUÇÃO GERAL

Fungos endofíticos existem diversamente em tecidos saudáveis de plantas, incluindo raízes, caule e folhas, sendo fundamentais nos microecossistemas vegetais (Faeth & Fagan, 2002). A existência de endófitos ao longo da evolução de suas hospedeiras aponta uma relação intrincada, e especial também, pois esta simbiose influencia a produção de produtos metabólicos, afetando a qualidade e quantidade de drogas derivadas de plantas medicinais (Jia *et al.*, 2016). Além da troca metabólica, os fungos endofíticos conferem em suas plantas hospedeiras crescimento, fortalecimento a estresses bióticos e abióticos, aumentando aptidão no ambiente (Kumar & Kaushik, 2012). Compreender e explorar essas relações proporciona a produção de moléculas de interesse farmacológico mais eficientes (Rodriguez *et al.*, 2009).

O Cerrado brasileiro apresenta uma infinidade de plantas medicinais, no entanto, existem poucos estudos evidenciando produtos naturais de seus fungos endofíticos. Isso mostra que existem compostos desconhecidos que são fontes de bioatividade e outros já relatados na literatura (Noriler *et al.*, 2018). A colonização dos endófitos, principalmente em ambientes tropicais, não ocorre de forma acidental, mas pela quimiotaxia, sendo produtos químicos específicos da planta hospedeira. Essas hospedeiras produzem metabólitos secundários como mecanismos de resistência a patógenos, e para quebrar essas barreiras, os fungos endofíticos secretam enzimas de desintoxicação, como por exemplo celulase, protease, xilanase, para decompor esses metabólitos antes que penetrem nos sistemas de defesa das plantas. Se não houver esse mecanismo, os metabólitos secundários se tornam obstáculos para a colonização endofítica (Sieber, 2007).

Desde 2000, ficou evidente que todas as plantas são habitadas por microrganismos endofíticos, e que eles são capazes de produzir metabólitos iguais ou semelhantes aos de suas plantas hospedeiras, incentivando pesquisas por endófitos com potencial aplicação nas indústrias farmacêuticas, agrônômica, química e alimentícia (Nicoletti & Fiorentino, 2015). Verificamos que não há na literatura isolamento e bioprospecção da microbiota endofítica da espécie medicinal do Cerrado *Palicourea rigida* Kunth. As principais substâncias bioativas em *P. rigida* encontradas em suas folhas são fenóis (Lima Neto *et al.*, 2015), flavonoides, triterpenos, alcaloides e peptídeos apontando as atividades antioxidante e citotóxicas (Rosa *et al.*, 2010), assim, investigamos a interação metabólica e bioatividade em seus fungos endofíticos.

A exploração de substratos naturais de microrganismos é uma estratégia das indústrias biotecnológicas para a descoberta de novas moléculas úteis para a composição de seus

processos (Rana *et al.*, 2019). Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo promover uma revisão cienciométrica da produção científica global sobre a atividade biológica em fungos endofíticos, visto que não existem métricas que avaliam essas tendências de publicações, além de verificar atividades biológicas em fungos endofíticos de folhas de *P. rigida*, rastreando seus compostos com potencial enzimático, antioxidante, antimicrobiano, antitumoral, biorremediativo, antagonístico e toxicidade preliminar.

PRIMEIRA PARTE

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 O Cerrado brasileiro e suas plantas medicinais

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil em extensão, sendo superado apenas pela Floresta Amazônica. Está dominante no Brasil central, e ocupava aproximadamente 2 milhões de km², representando cerca de 25% do território do país, em 2006 (Maroni, Di Stasi & Machado, 2006). No entanto, estudos do Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia (Ipam) apontou que de 2000 a 2015, o Cerrado perdeu 236 mil km², sendo reduzido a 20% (Agência Brasil, 2018). Já em 2019, foram desmatados 6.483 km² do Cerrado, com uma redução de 2% frente ao desmatamento de 2018, com 6.634 km² (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, 2020). Possui clima tropical sazonal, cujo período seco compreende os meses de abril a setembro, e o chuvoso de outubro a março (Barbosa, 2017). Este bioma é composto por uma cobertura vegetal não uniforme, formando um mosaico vegetacional, onde estão presentes fitofisionomias com formações do tipo savana, que se subclassificam em cerradão, cerrado *stricto sensu*, campo sujo e campo limpo, intercalados por matas de galeria, florestas estacionais, campos rupestres e veredas de buritis (Ribeiro & Walter, 2008).

A flora é muito rica, com inúmeras espécies sendo utilizadas pelo homem, para fins alimentício, condimentar, corticeiro, apícola, têxtil, medicinal, dentre outros (Maroni, Di Stasi & Machado, 2006). Existem mais de 12 mil espécies de plantas, em que mais de 11 mil engloba a flora vascular nativa, entretanto, pela grande diversidade e ocupação humana exacerbada, mais de 50% da vegetação natural foi transformada em paisagens antropizadas (Resende & Guimarães, 2007). Atualmente, apenas 8,21% da sua área total está sob proteção (Santos *et al.*, 2020a).

Boa parte dessa biodiversidade vegetal é composta por flora medicinal e, portanto, muitos estudos defendem a preservação das espécies e recuperação das áreas. Podem ser

utilizadas cascas, raízes, frutos e folhas dessas espécies (Aquino & Oliveira, 2006). A identificação de espécies medicinais, nesse bioma, para estudos farmacológicos e químicos, agrega metabólitos especiais que proporcionam a sobrevivência das espécies em condições precárias e com alta competição e garantem princípios ativos úteis para tratamento de doenças humanas (Carvalho *et al.*, 2019).

Dentre a gama de plantas medicinais do Cerrado com estudos recentes, Baldívia *et al.* (2018) e Carvalho *et al.* (2019) apontam *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, conhecida popularmente por “barbatimão”, com propriedades anti-inflamatórias, antidiabéticas, antimicrobiana e cicatrizante em suas raízes e cascas do caule. Campos *et al.* (2017) e Carvalho *et al.* (2019) apontam *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, conhecida popularmente por “guabiroba” ou “guariroba”, com propriedades antiplaquetárias, anti-inflamatórias e antidiarreica nas cascas, antinociceptivo nas sementes e efeitos hipolipidêmicos nas folhas. Casagrande *et al.* (2014) e Carvalho *et al.* (2019) apontam *Jacaranda decurrens* Cham., conhecida popularmente por “carobinha”, com propriedades antiobesidade, hipocolesterolêmica e hipolipidêmica em suas folhas e anti-inflamatória nas raízes. Santos *et al.* (2016) e Carvalho *et al.* (2019) apontam *Hancornia speciosa* Gomes, conhecida popularmente por “mangabeira”, com propriedades antidiabéticas, antimicrobiana, antiobesidade e gastroprotetora nas cascas, e anti-hipertensiva, vasodilatadora e antidiabética nas folhas. Rocha *et al.* (2018) e Carvalho *et al.* (2019) apontam *Schinus terebinthifolius* Raddi, conhecida popularmente por “aroeira-vermelha”, com propriedades antidiabética, anti-hipertensiva, antiartrite, antimicrobiana, anti-inflamatória e cicatrizante em suas folhas, e atividade antimicrobiana e contra o vírus herpes simplex tipo 1 nas cascas do caule. Santos *et al.* (2018) e Carvalho *et al.* (2019) apontam *Guazuma ulmifolia* Lam., conhecida popularmente por “mutamba”, com propriedades vasorelaxante, hipotensiva e gastroprotetora nas cascas do caule, e potencial antidiabético nas folhas.

A literatura também cita propriedades antirreumáticas nas sementes de *Dipteryx alata* Vog., conhecida popularmente por “baru”, e propriedades para tratamento de afecções pulmonares em folhas de *Vernonia ferruginea* Less., conhecida popularmente por “assa-peixe” (Vila Verde, Paula & Caneiro, 2003; Souza & Felfili, 2006). *Anacardium humile* St. Hil., conhecida popularmente por “cajuzinho-do-cerrado”, possui propriedades antidiabética e antidiarreica em suas folhas, e *Caryocar brasiliense* Cambess., conhecida por “pequiizeiro”, possui em seus caroços propriedades contra asma, bronquite e resfriados (Rodrigues & Carvalho, 2001). Assim, a flora medicinal tem sido bastante explorada pelo conhecimento popular e pelas indústrias química e farmacêutica (Oliveira & Viveiro, 2012).

1.2 *Palicourea rigida* Kunth

Outra planta com propriedades medicinais nativa do Cerrado é *Palicourea rigida* Kunth, sendo utilizada na medicina popular como diurética, hipotensora, cicatrizante, anti-inflamatória e para o tratamento de dores estomacais, tosses e dores renais (Pinheiro *et al.*, 2018). A decocção das folhas e cascas do caule são usadas em doenças do sistema urinário, como cistite (Balbach, 1980; Pio-Corrêa, 1984) e inflamações da pele e ovário (Grandi *et al.*, 1989; Vencato *et al.*, 2006).

Pesquisas apontam para a presença de metabólitos, como flavonoides, iridoides, triterpenos, alcaloides e peptídeos em suas folhas, justificando, assim, as atividades antioxidante, citotóxicas (Rosa *et al.*, 2010) e antiproliferativa em seus extratos brutos etanólicos (Moraes *et al.*, 2017). As propriedades biológicas também foram evidenciadas por Vencato *et al.* (2006), com alta atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* e *Bacillus subtilis*.

Palicourea rigida é uma angiosperma, da classe Dicotiledônea, ordem Gentianales, família Rubiaceae, subfamília Rubioideae, tribo Psychotrieae (Moraes *et al.*, 2017), conhecida popularmente por “bate-caixa”, “gritadeira”, “douradão”, “douradinha-do-campo” e “chapéu-de-couro” (Rosa *et al.*, 2010; Morel *et al.*, 2011), predominante na América do Sul (Oliveira *et al.*, 2014).

A família Rubiaceae é a quarta maior família das angiospermas, com 130 gêneros e 1500 espécies. No bioma Cerrado, nas savanas neotropicais do Brasil Central, é considerada a sétima família mais rica em espécies, sendo pelo menos 376 espécies. O gênero *Palicourea* tem cerca de 200 espécies, com flores inodoras, de cor brilhante, sendo polinizadas principalmente por beija-flores e grandes abelhas (Machado *et al.*, 2010). A espécie *Palicourea rigida* possui ampla distribuição, ocorrendo em mais de 37% das áreas de cerrado, e sendo considerada a espécie de *Palicourea* mais comum dos cerrados brasileiros (Ribeiro & Walter, 2008).

Palicourea rigida é um arbusto ou arvoreta de até 3 metros de altura, com casca grossa caracterizando uma fenda profunda em blocos retangulares (Machado *et al.*, 2010), ramos cilíndricos e basais fortemente suberificados, folhas opostas e falsamente verticiladas, sendo coriáceas, amareladas e vivas, podendo atingir até 30 centímetros de comprimento e 15 centímetros de largura. Apresenta inflorescências terminais com flores zigomórficas amarelo-alaranjadas (Figura 1) produtoras de néctar, que é acumulado na base gibosa da corola, em que floresce de setembro a março e frutifica entre novembro e abril (estação chuvosa) (Silva-Júnior,

2005; Gavilanes *et al.*, 2016), com antese diurna com duração de 24 horas, e no fruto contém sementes sulcadas (Vieira, Andrade & Price, 1996).

Figura 1. Espécime vegetal de *Palicourea rigida* empregado neste estudo. A: Hábito arbustivo e folhas coriáceas de *P. rigida* (barra=30,0 cm), B: Inflorescência com flores amarelo-alaranjadas (barra=10,0 cm). Fonte: Gavilanes *et al.*, 2016.



O ovário ínfero é bilocular contendo um óvulo em cada lóculo e o estigma é do tipo seco papilado e bifido. O néctar é produzido de forma contínua no disco nectarífero, onde se encontra na base da corola. Os frutos são drupáceos, de globosos a elipsoides, e quando maduros apresentam cor preto-arroxeadas com um centímetro de comprimento, contendo duas sementes (Wütherich *et al.*, 2001; Silva-Júnior, 2005).

É encontrada no cerrado *stricto sensu*, cerradões, campos cerrados, campos de murundus e campos rupestres nos estados de Tocantins, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná e São Paulo (Taylor, 1997; Silva-Júnior, 2005; Pinheiro *et al.*, 2018). A média de densidade descrita na literatura é de 21 a 34 indivíduos/ha baseado em pesquisas realizadas em Brasília-DF por Silva-Júnior (2005).

Infelizmente, *Palicourea rigida* vem apresentando alguma forma de risco de extinção (Silva *et al.*, 2020). Dados ecológicos evidenciam que esta e demais espécies sofrerão com as mudanças da temperatura do planeta, caso aumente em 1,8 a 2°C nos próximos anos (Silva *et al.*, 2013a). Além disso, com a ampla divulgação de suas propriedades medicinais, tem sido

coletada indiscriminadamente pelas populações do bioma, comprometendo sua sobrevivência (Rodrigues & Carvalho, 2001).

1.3 Fungos endofíticos

Os fungos endofíticos vivem de forma assintomática nos tecidos das plantas hospedeiras (Arnold *et al.*, 2000), apresentando uma relação simbiótica, na qual o organismo vive dentro do outro se beneficiando desta relação (Chandra, 2012). Os endófitos fúngicos residem sem causar efeitos negativos evidentes, no entanto, podem se tornar patogênicos durante o crescimento do hospedeiro e dependendo de condições abióticas (Rodriguez & Redman, 2008; Yadav, 2018). Dentro do hospedeiro assume um estado de repouso (latência) por toda a vida útil da planta ou por um período prolongado, ou seja, até que as condições ambientais sejam favoráveis ao fungo (Sieber, 2007).

Evidências crescentes afirmam que endófitos são encontrados em todas as plantas (Stone & Petrini, 1997; Schulthess & Faeth, 1998; Yan *et al.*, 2019) envolvendo competição entre espécies endofíticas no tecido do hospedeiro interposto pela produção de metabólitos secundários. Esses metabólitos produzidos pelos endófitos protegem a planta contra predadores e auxiliam na adaptação em condições estressantes de sobrevivência (Strobel *et al.*, 2004).

Os endófitos são capazes de produzir micotoxinas e modificar a fisiologia e morfologia do hospedeiro, e assim, induzem defesas contra insetos herbívoros (Carroll, 1991; Rustamova *et al.*, 2020). Esta simbiose mutualística apresenta algumas características, segundo Redlin & Carris (1996), como falta de destruição da grande maioria de células e tecidos, nutrientes ou ciclo químico entre o fungo e o hospedeiro, aumento da longevidade e capacidade fotossintética das células e tecidos em situações de infecções e aumento da sobrevivência do fungo.

O termo “endófito” foi descrito pela primeira vez por De Bary, em 1866, ao estabelecer uma provável distinção entre hospedeiros e patógenos; e só no século XIX ganhou-se notoriedade (Chapla, Biasetto & Araujo, 2013). No final da década de 1970 começaram a chamar atenção, pois verificou-se que estes não apenas habitavam o interior de vegetais, mas produziam propriedades de interesse biotecnológico, e hoje já se sabe que os endófitos podem produzir toxinas, antibióticos e possuem diversas outras propriedades biológicas (Azevedo, 1998; Anchezva, Daletos & Proksch, 2020).

O endófito adentra a planta por aberturas naturais ou feridas, sendo as raízes a principal entrada, de modo que as raízes secundárias laterais são sempre acompanhadas por “feridas”, ou pelo próprio crescimento dessas raízes que penetram no solo, gerando abrasões e facilitando a entrada dos germes (Azevedo, 1998; Jia *et al.*, 2020). São transmitidos também por esporos no ar

e via sementes, adentrando para as próximas gerações (Hartley & Gange, 2009). Outras portas de entrada incluem aberturas em estômatos e hidatódios, e até artificiais, causadas por insetos e fungos patogênicos (Aly, Debbab, Proksch, 2011).

Os fungos endofíticos podem ser visualizados no interior dos tecidos vegetais, como raízes, caule, folhas e outros órgãos utilizando microscopia de luz ou eletrônica, como afirma Bernstein & Carroll (1977), e o isolamento necessita de cuidados especiais para que os microrganismos epifíticos, isto é, que vivem na superfície do hospedeiro, sejam excluídos (Rustamova *et al.*, 2020). Um dos exemplos mais utilizados na literatura para isolamento dos endófitos se dá quando tecidos vegetais devem ser desinfestados em etanol 70%, hipoclorito de sódio 3% e água esterilizada e transferidos para placas de Petri contendo meios de cultura, como batata-dextrose-ágar (BDA) e sabouraud-ágar (SAB), além da adição de antibióticos para impedir o crescimento de bactérias (Pereira, Azevedo & Petrini, 1993; Araújo *et al.*, 2001; Turibio *et al.*, 2018).

Foram detectados fungos endofíticos em todas as espécies vegetais amostradas, de briófitas a angiospermas (Turibio *et al.*, 2018), e são representados nos filos, em grande maioria, Ascomycota e Basidiomycota. Os endófitos fúngicos que vivem em associação com plantas medicinais têm recebido maior atenção após a descoberta dos fungos endofíticos *Taxomyces andreanae* e *Tubercularia* sp. isolados de *Taxus brevifolia* Nutt. e *Taxus mairei* (Lemee & Lev.) S.Y.Hu ex T.S.Liu, respectivamente, produtores de paclitaxel anticancerígeno (Stierle *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 2000). A Tabela 1 apresenta a riqueza de fungos endofíticos isolados de plantas medicinais presentes no Cerrado.

Tabela 1. Fungos endofíticos isolados de espécies medicinais presentes no Cerrado.

Família	Hospedeiro	Propriedades Farmacológicas do Hospedeiro	Fungos Isolados	Referência
Anacardiaceae	<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini (caju-de-árvore-do-cerrado)	Os frutos possuem ação antisséptica e cicatrizante.	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Bionectria ochroleuca</i> , <i>Periconia macrospinoso</i> , <i>Phomopsis lagerstroemiae</i> , <i>Penicillium kloeckeri</i> , <i>Eupenicillium shearii</i> , <i>Phomopsis asparagi</i> , <i>Penicillium pinophilum</i> , Agaricomycetes, <i>Diaporthe</i> sp., <i>Cladosporium cladosporioides</i> , dentre outros.	Faria <i>et al.</i> (2016)
Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (aroeira-vermelha)	As cascas do caule possuem ação anti-inflamatória e cicatrizante.	<i>Alternaria</i> sp., <i>Bjerkandera</i> sp., <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Diaporthe</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. e <i>Xylaria</i> sp.	Tonial <i>et al.</i> (2016)
Anacardiaceae	<i>Tapirira guianensis</i> Aubl. (pau-pombo)	As cascas e folhas são usadas em decocção para doenças de pele causadas por produtos químicos. Apresenta propriedades tóxicas.	<i>Phomopsis</i> sp., <i>Lecanicillium psalliotae</i> , <i>Stagonospora</i> sp., dentre outros.	Abreu <i>et al.</i> (2010)
Apocynaceae	<i>Hancornia speciosa</i> Gomes (mangabeira)	Os frutos, folhas e cascas do caule possuem atividade antioxidante, anti-inflamatória, sendo usada também como controle da hipertensão.	<i>Phoma cava</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , dentre outros.	Chagas <i>et al.</i> (2017)
Asteraceae	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. (marcela)	As folhas e cascas do caule são analgésicas, sedativas, anti-inflamatórias, e principalmente, gastroprotetoras.	O único endófito isolado (MF31b11) apresentou conidióforos septados e fíalides cilíndricas. Porém, a identificação morfológica não foi possível pelas dificuldades de visualização das outras estruturas.	Pedra <i>et al.</i> (2018)
Asteraceae	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC. (alecrim-do-campo)	O extrato das partes aérea do vegetal apresenta propriedades gastroprotetoras, diminuindo a formação de úlceras e	<i>Xylaria</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Corioloopsis</i> sp., <i>Mycelia</i> sp., <i>Preussia</i> sp.	Fernandes <i>et al.</i> (2018)

secreção gástrica.				
Asteraceae	<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC. (carqueja)	Folhas e hastes apresentam propriedades tônica digestiva, vermífuga, colagoga, litagoga, hipogliceminante, diurética, laxativa e antigripal.	<i>Diaporthe phaseolorum</i> , <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Preussia pseudominima</i> , <i>Epicoccum</i> sp., <i>Cochliobolus lunatus</i> , <i>Nigrospora</i> sp., dentre outros.	Vieira <i>et al.</i> (2014)
Asteraceae	<i>Lychnophora ericoides</i> Mart. (arnica da serra)	O extrato das folhas possuem propriedades analgésicas e anti-inflamatórias.	<i>Penicillium</i> sp., <i>Hyphodermella</i> spp., <i>Phomopsis</i> spp.	Chagas & Pupo (2018)
Asteraceae	<i>Vernonia polyanthes</i> Less. (assa-peixe)	As folhas possuem propriedades antifúngica, antileishmanial, antinociceptiva, anti-inflamatória e antibacteriana.	<i>Curvularia</i> spp., <i>Phomopsis</i> spp., <i>Guignardia mangiferae</i> , <i>Diaporthe phaseolorum</i> , <i>Cochliobolus sativus</i> , <i>Diaporthe helianthi</i> , <i>Diaporthe phaseolorum</i> , <i>Pestalotiopsis cocculi</i> , <i>Diaporthe infecunda</i> , <i>Muscodor</i> spp., <i>Xylaria berteri</i> .	Nascimento <i>et al.</i> (2015)
Asteraceae	<i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. ex Baker (guaco)	As folhas possuem propriedades antigripal, anti-inflamatória, antinevrálgica, antirreumática, antisséptica, béquica, broncodilatadora, calmante, cicatrizante, depurativa, diurética, expectorante e antimicrobiana.	<i>Nodulisporium</i> sp., <i>Hypoxylon</i> sp., <i>Daldinia</i> sp., <i>Xylaria luteostromata</i> .	Ribeiro <i>et al.</i> (2014)
Salicaceae	<i>Casearia sylvestris</i> Sw. (guaçatonga)	As folhas e casacas do caule possuem atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e antiúlcera.	<i>Colletotrichum crassipes</i> e <i>Xylaria</i> sp.	Chapla <i>et al.</i> (2018)
Fabaceae	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville (barbatimão)	Os extratos aquosos de folhas e cascas possuem atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antiprotzoária, antidiarreica e cicatrizante.	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Neofusicoccum</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Diaporthe phaseolorum</i> , <i>Guignardia camelliae</i> , <i>Preussia pseudominima</i> , <i>Xylaria hypoxylon</i> , <i>Pseudofusicoccum stromaticum</i> , <i>Cytospora</i> sp., dentre outros.	Carvalho <i>et al.</i> (2012)

1.4 Metabólitos secundários ou especiais e atividade biológica em fungos endofíticos

Os mecanismos específicos que induzem a produção de metabólitos secundários em microrganismos, muitas vezes semelhantes aos do hospedeiro, ainda não estão elucidados, porém, o isolamento de várias substâncias com atividades biológicas representa uma estratégia promissora de potencial metabólico (Kusari, Hertweck & Spiteller, 2012). Os fungos endofíticos armazenam metabólitos secundários que apresentam atividades biológicas benéficas ao seu hospedeiro, de modo que estas substâncias conferem proteção, justificando a associação mutualista (Kusari & Spiteller, 2011).

Os metabólitos secundários apresentam baixo peso molecular, com estrutura química complexa e diversificada, além de distribuição restrita entre as espécies, não sendo essenciais para a vida do organismo, mas imprescindíveis na adaptação em determinados ambientes (Keller, Turner & Bennett, 2005). Sugere-se que alguns metabólitos secundários possam participar na diferenciação morfológica dos fungos, aumento das ramificações de hifas, no processo de esporulação, no desenvolvimento sexual e assexual e na produção de outros metabólitos secundários (Calvo *et al.*, 2002).

Há cerca de 200 anos, discute-se sobre as funções básicas vitais dos metabólitos primários, como divisão e crescimento celular, respiração, estocagem e reprodução. O conceito de metabolismo secundário foi descrito por Kossel (1891) ao definir metabólitos secundários como opostos aos primários, sendo encontrados em órgãos ou células específicas, incluindo vegetais e microrganismos endofíticos (Carvalho *et al.*, 2016). Essas moléculas aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, atuando como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas de patógenos, além de absorverem luz ultravioleta, evitando a danificação das folhas (Patil, Patil & Maheshwari, 2016).

Croteau, Kutchan & Lewis (2000) relatam que os metabólitos primários e secundários não podem ser facilmente distinguidos com base nas estruturas químicas ou origens biossintéticas, e propõem que, diante de uma distinção válida, os produtos primários participam da nutrição e processos metabólicos essenciais dentro da planta, e os produtos secundários (naturais) influenciam as interações ecológicas entre as plantas e seu ambiente.

Os metabólitos secundários são classificados mediante sua rota biossintética, sendo que os três grandes grupos de moléculas principais são classificadas em compostos terpênicos (também conhecidos como terpenoides), compostos nitrogenados (primariamente os alcaloides), e compostos fenólicos (também denominados de polifenóis) (Harborne, 1999; Li & Tan, 2017). Existem mais de 25 mil compostos terpênicos, mais de 27 compostos nitrogenados e mais de 8 mil compostos fenólicos conhecidos, os quais são derivados de vias metabólicas (Croteau,

Kutchan & Lewis, 2000).

Tan & Zou (2001) afirmam que os microrganismos endofíticos produzem metabólitos característicos aos do seu hospedeiro, relacionando-se à troca gênica ocorrida entre o endófito e a planta ao longo da evolução. Assim, a atividade farmacológica evidenciada em algumas plantas pode estar relacionada às substâncias produzidas por microrganismos endofíticos ou pela própria planta em resposta a infecções (Arnold *et al.*, 2000; Ferrara, 2006). Estas substâncias com alta complexidade estrutural, que são inviáveis pela síntese orgânica *in vitro*, podem ser cultivados dos fungos endofíticos em meios artificiais (Chapla, Biasetto & Araujo, 2013). Para dimensionar a riqueza metabólica, a Tabela 2 apresenta metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos isolados de plantas medicinais presentes no Cerrado.

Tabela 2. Metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos isolados de espécies medicinais presentes no Cerrado e suas atividades biológicas.

Fungo Endofítico	Planta Hospedeira	Metabólitos Secundários	Atividades Biológicas	Referência
<i>Phomopsis</i> sp. isolado das folhas	<i>Lychnophora ericoides</i> Mart. (arnica da serra)	citocalasina H, citocalasina J, éter monometílico do alternariol, alternariol, 2,5-bis(hidroximetil)furano, tirosol	<i>Phomopsis</i> sp. desafia a actinobactéria <i>Streptomyces albospinus</i> consumindo seus recursos nutricionais, apesar de não apresentar atividade antibacteriana.	Chagas & Pupo (2018)
<i>Alternaria</i> sp. isolado das folhas	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (aroeira-vermelha)	(E)-2-hexil-cinamaldeído, 3-isobutil-hexa-hidropirrolol[1,2-a]pirazina-1,4-diona, 3-benzil-hexa-hidropirrolol[1,2-a]pirazina-1,4-diona	Atividade antimicrobiana.	Tonial <i>et al.</i> (2016)
<i>Cochliobolus sativus</i> isolado das folhas	<i>Vernonia polyanthes</i> Less. (assa-peixe)	coclioquinona A, isococlioquinona A, anidrococlioquinona A	Atividade antileishmanial.	Nascimento <i>et al.</i> (2015)
<i>Colletotrichum crassipes</i> isolado das folhas	<i>Casearia sylvestris</i> Sw. (guaçatonga)	dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Pro- <i>L</i> -Val), dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Pro- <i>D</i> -Tyr), dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Val- <i>D</i> -Tyr), dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Hyp- <i>L</i> -Ile), dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Pro- <i>D</i> -Leu), dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Pro- <i>L</i> -Ile), dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Pro- <i>L</i> -Phe), dicetopiperazina ciclo (<i>D</i> -Pro- <i>D</i> -Phe), <i>N</i> -(2-feniletil)-acetamida, tirosol	Inibição enzimática, atividade antioxidante e atividade antifúngica contra os fitopatógenos <i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Cladosporium esphaerospermum</i> .	Chapla <i>et al.</i> (2018)
<i>Xylaria</i> sp. isolado das folhas	<i>Casearia sylvestris</i> Sw. (guaçatonga)	griseofulvina, declorogriseofulvina, citocalasina B, C e D 5-carboxi-6-hidroxi-3,4-di-hidroisocumarina, 1-feniletil- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosse	Inibição enzimática, atividade antioxidante e atividade antifúngica contra os fitopatógenos <i>C. cladosporioides</i> e <i>C. esphaerospermum</i> .	Chapla <i>et al.</i> (2018)

1.4.1 Compostos terpenoides

Os terpenoides são uma classe de produtos naturais com uma vasta diversidade estrutural, sendo as substâncias mais abundantes já descritas na produção científica (Bruneton, 2001; Huang *et al.*, 2012). Os terpenos são formados pela junção de unidades de isopreno, uma molécula contendo 5 carbonos (C5). Dessa forma, a classificação dos terpenoides é realizada com base na quantidade de unidades de isoprenos presentes na molécula, sendo que os monoterpenoides têm duas unidades isoprenos (C10), os sesquiterpenoides têm três unidades isoprenos (C15), diterpenoides têm quatro unidades isoprenos (C20), sesterterpenoides têm cinco unidades isoprenos (C25), triterpenoides têm seis unidades isoprenos (C30) e carotenóides têm oito unidades isoprenos (C40); são derivadas do precursor biossintético pirofosfato de isopentila, e assim, as mais importantes do grupo (Hanson, 2008).

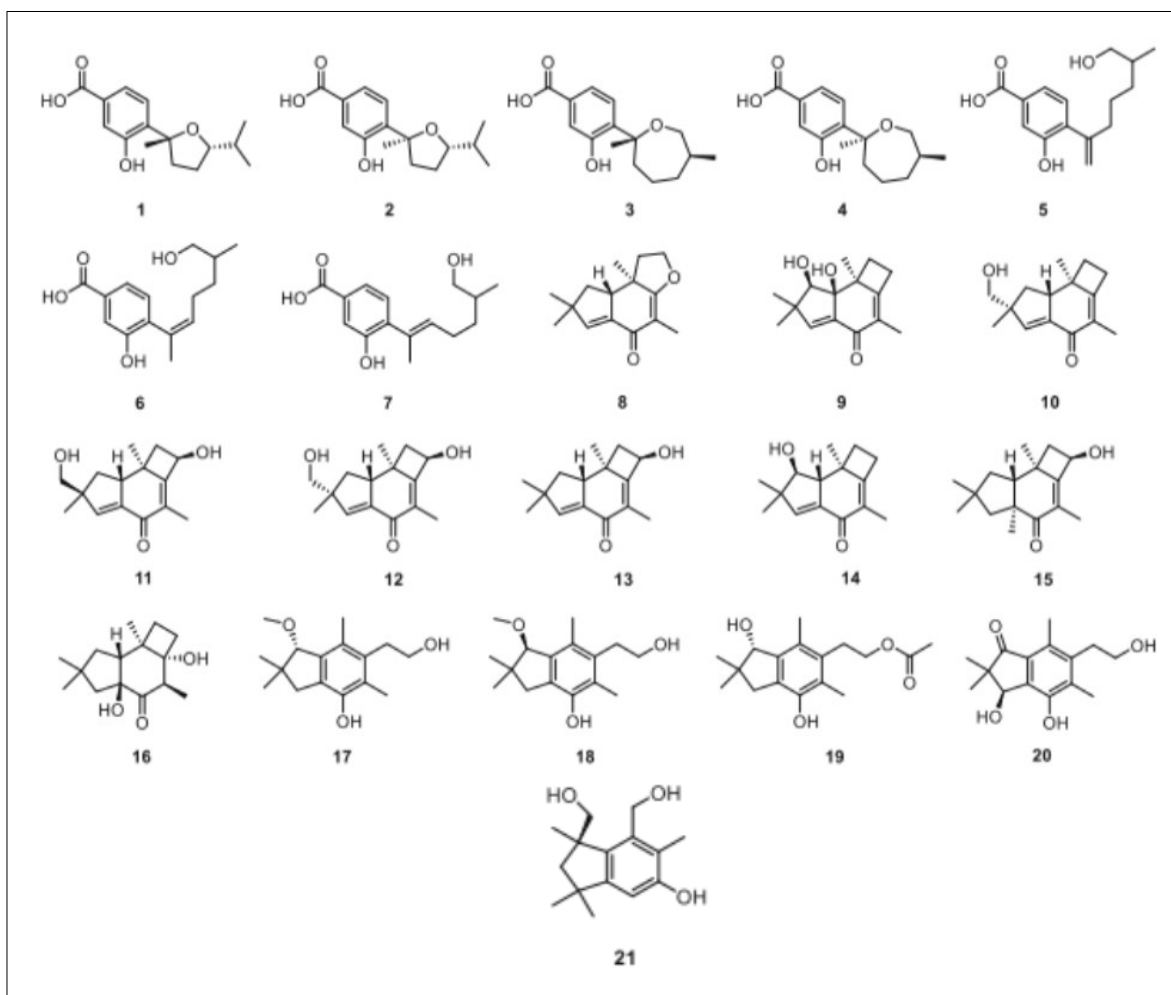
Nos fungos, os terpenoides originam-se na via do mevalonato, sendo o primeiro estágio a formação da hidroximetilglutaril-CoA, que, em seguida, sofre redução e descarboxilação, formando o produto isopentil-difosfato. Este produto é convertido em dimetilalil-difosfato, facilitando a construção da cadeia de isoprenos (Hanson, 2008).

Monoterpenoides e sesquiterpenoides apresentam alta qualidade sensorial, sendo utilizados como flavorizantes na indústria de medicamentos e alimentos (Koziol *et al.*, 2014). Têm ganhado devida atenção na prevenção e terapia de doenças em plantas, como inseticida e agente antimicrobiano, com propriedades fundamentais para armazenamento de produtos agrícolas e como blocos para a síntese de compostos de valor comercial (Carvalho & Fonseca, 2006). São amplamente usados nas fermentações envolvendo produção de cerveja (King & Dickinson, 2003) e conferindo sabor aos alimentos, sendo mais doces do que a sacarose (Souto-Bachiller *et al.*, 1997; Koziol *et al.*, 2014). Os triterpenoides, como esteroides e saponinas, são também utilizados na indústria farmacêutica e no setor de alimentos (Thimmappa *et al.*, 2014).

Wang *et al.* (2018) obtiveram sete novos sesquiterpenoides do fungo endofítico *Aspergillus* sp., isolado das folhas medicinais do mangue *Xylocarpus moluccensis* (Lam.) M. Roem., os quais são identificados e estruturalmente ilustrados na Figura 3 (1-7). Destes, aqueles codificados como 2, 3, 5 e 7 apresentaram atividade antibacteriana moderada contra *Staphylococcus aureus* e potencial antioxidante pela captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Xie *et al.* (2018) obtiveram catorze novos metabólitos secundários sesquiterpenoides do fungo endofítico *Phomopsis* sp. (atualmente *Diaporthe* sp.), isolado das folhas da planta medicinal *Phyllanthus glaucus* Wall. ex Mull. Arg., (Figura 2, 8-21), sendo um do tipo 2,3-seco-protoiludano (8), oito do tipo protoiludano (9 a 16), quatro do tipo iludalano (17 a 20) e um do tipo botryano (21). Os sesquiterpenoides de 8 a 14 e 16 apresentaram atividade

inibitória da enzima β -secretase 1 (BACE1), que, em teoria, pode retardar ou parar a doença de Alzheimer.

Figura 2. Estruturas químicas de sesquiterpenoides isolados dos fungos endofíticos *Aspergillus* sp. de *Xylocarpus moluccensis* (**1 a 7**) e *Phomopsis* sp. de *Phyllanthus glaucus* (**8-21**). Fonte: Wang *et al.*, 2018 e Xie *et al.*, 2018. 1 = ácido (7*R*,10*S*)-7,10-epoxisidônico, 2 = ácido (7*S*,10*S*)-7,10-epoxisidônico, 3 = ácido (7*R*,11*S*)-7,12-epoxisidônico, 4 = ácido (7*S*,11*S*)-7,12-epoxisidônico, 5 = ácido 7-desoxi-7,14-didesidro-12-hidroxisidônico, 6 = ácido (Z)-7-desoxi-7,8-didesidro-12-hidroxisidônico, 7 = ácido (E)-7-desoxi-7,8-didesidro-12-hidroxisidônico, 8 = 2,3-seco-protoiludano, 9 a 16 = protoiludano, 17 a 20 = iludalano, 21 = botryano.



Chen *et al.* (2019) isolaram três novos diterpenoides, sendo koninginois A, B e C do fungo endofítico *Trichoderma koningiopsis*, dos galhos da planta medicinal *Morinda officinalis* F. C. How, sendo que koninginol A e B apresentaram atividade bacteriana contra *Bacillus subtilis*, e

koninginol B apresentou atividade antitumoral. Liang *et al.* (2018) obtiveram dois novos triterpenoides tetracíclicos, integracídeo E e isointegracídeo E, do fungo endofítico *Hypoxylon* sp., isolado da planta medicinal *Artemisia annua* L. O novo metabólito secundário integracídeo E apresentou fraca ação à atividade da integrase anti-HIV-1 em ensaios de transferência acoplada e de cadeia.

1.4.2 Compostos nitrogenados

No reino Fungi, os compostos nitrogenados mais relatados são os alcaloides, sendo um grupo de compostos químicos naturais contendo em sua estrutura pelo menos um átomo de nitrogênio. São derivados de aminoácidos e de processos de transaminação, e classificam-se mediante os aminoácidos que os originaram, como por exemplo derivados da lisina, ornitina, tirosina, triptofano, histidina e fenilalanina (Aniszewski, 2007).

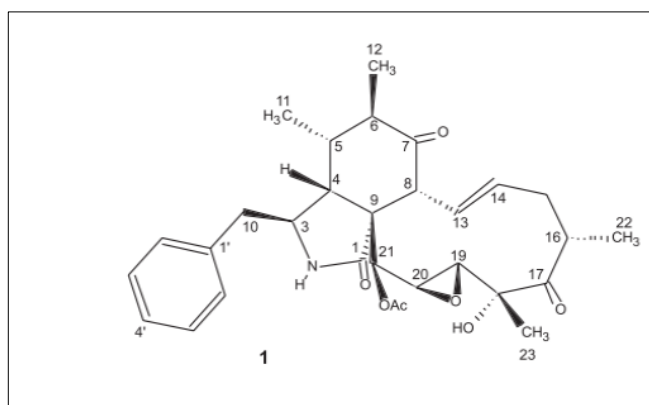
Os esqueletos de carbono do aminoácido precursor do alcaloide podem se manter na estrutura, ou ainda, o nitrogênio incorporar-se a esta estrutura, de modo que a parte restante dela é derivada de substâncias de rotas biossintéticas do acetato, chiquimato, fosfato desoxixilulose, e também por outros substratos como terpenos (Dewick, 2002; Taiz & Zeiger, 2004). Costuma-se ser encontrados em vegetais, onde dos 27 mil conhecidos, 21 mil estão presentes nestes, e a outra parcela habita microrganismos e animais (Dewick, 2002; Meyer *et al.*, 2013).

Boa parte dos alcaloides possuem afinidade por sítios lipofílicos cerebrais, atuando, assim, como calmantes, analgésicos e narcóticos. A morfina, codeína e papaverina, por exemplo, são alcaloides isolados da planta *Papaver somniferum* L., assim como a nicotina isolada da planta *Nicotiana tabacum* L. e a cafeína de *Coffea arabica* L. (Peixoto Neto & Caetano, 2005). Na indústria, os alcaloides têm sido utilizados como matéria-prima isolada de plantas e nas últimas décadas têm sido isolados de microrganismos (El-Sakka, 2010). Uma das maiores descobertas foi a produção de alcaloides *ergot* pelo fungo *Claviceps purpurea*, sendo utilizado atualmente para a obtenção do ácido lisérgico dietilamina (LSD), que em doses baixas, auxilia no tratamento da esquizofrenia (Aniszewski, 2007).

Silva *et al.* (2010) isolaram seis alcaloides, sendo uma nova citocalasina $C_{30}H_{37}NO_7$ (**1**) (Figura 3); 19,20-epoxicitocalasina D; 19,20-epoxicitocalasina C; 19,20-epoxicitocalasina N; 19,20-epoxicitocalasina Q; 19,20-epoxicitocalasina R do fungo endofítico *Xylaria* sp. presente nas folhas da planta medicinal *Piper aduncum* L. Destes, cinco apresentaram fraca atividade contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium sphaerospermum*, e quatro forte atividade contra células de mamíferos das linhagens HeLa (tumor de cérvix humano). Kumara *et al.* (2012) isolaram o alcaloide rohituquina do fungo endofítico

Fusarium proliferatum das cascas da planta medicinal *Dysoxylum binectariferum* Hook.f, com atividades anti-inflamatória, anticâncer e imunomoduladora.

Figura 3. Estrutura química de citocalasina isolada do fungo endofítico *Xylaria* sp. de *Piper aduncum* (**1**). Fonte: Silva *et al.*, 2010.



Yang *et al.* (2012) isolaram o alcaloide fusarimina 1 do fungo endofítico *Fusarium* sp. das folhas de *Melia azedarach* L. Os alcaloides possuem importantes atividades biológicas de grande interesse para a química de produtos naturais na biotecnologia (Keller, Turner & Bennett, 2005).

1.4.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, ou também denominados de polifenóis, apresentam como modelo estrutural um grupo fenol, composto por um anel aromático hidroxilado, com ampla diversidade estrutural e agrupados em diferentes classes mediante sua estrutura química básica, dentre elas ácidos fenólicos (ácidos benzoicos, cinâmico e seus derivados), flavonoides e seus derivados e cumarinas (Lattanzio, 2013).

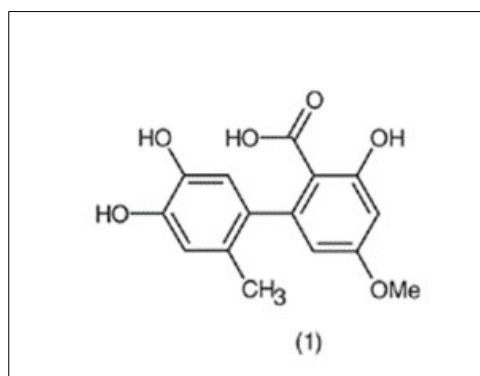
Dentre os grupos dos ácidos fenólicos, os ácidos benzoicos possuem sete átomos de carbono (C₆-C₁) e os ácidos cinâmicos possuem nove átomos de carbono (C₆-C₃). Os flavonoides possuem uma estrutura básica formada por C₆-C₃-C₆, sendo encontrados as antocianidinas, flavonas, flavonóis, e com menor frequência as auronas, calconas e isoflavonas. Cumarinas são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico (Soares, 2002).

Os flavonoides, em especial, são descritos com atividade antioxidante, pela capacidade de eliminação de radicais livres, além de atividade hepatoprotetora, anti-inflamatória, anticâncer e antiviral. Nas plantas, auxiliam no combate ao estresse oxidativo e regulam o crescimento, e em microrganismos, usando engenharia metabólica e biologia sintética, tem servido na produção de

produtos naturais raros e caros e em transformações simples e complexas sem as etapas de bloqueio e desbloqueio comuns na síntese orgânica (Kumar & Pandey, 2013).

Tang *et al.* (2020) isolaram flavonoides e uma cumarina de fungos endofíticos, dentre eles *Chaetomium globosum*, *Xylaria venosula* e outra espécie de Xylariaceae, das folhas e caule da planta medicinal *Conyza blinii* H. Lév. Foram produzidos flavonoides de alto valor, como 3-metoxiflavona, nobiletin, formononetina e daidzeína, e a cumarina escopoletina, além disso, *Xylaria venosula* e outra espécie de Xylariaceae apresentaram atividade antioxidante e *Chaetomium globosum* apresentou atividade antibacteriana. Cota *et al.* (2008) isolaram um bifenil, a altenusina (**1**) (Figura 4), do fungo endofítico *Alternaria* sp. das folhas da planta tripanocida *Trixis vouthieri* DC. coletadas em uma transição entre Mata Atlântica e Cerrado, que apresentou propriedade antioxidante e inibição enzimática.

Figura 4. Estrutura química de altenusina isolada do fungo endofítico *Alternaria* sp. de *Trixis vouthieri* (**1**). Fonte: Cota *et al.*, 2008.



Ikram *et al.* (2019) isolaram flavonoides dos fungos endofíticos *Penicillium roqueforti* e *Trichoderma reesei* das raízes de *Solanum surattense* Burm.f., apresentando atividade antioxidante e antibacteriana contra os fitopatógenos *Xanthomonas oryzae*, *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* e *Ralstonia solanacearum*. Pan, Zheng & Yang (2019) isolaram flavonoides do fungo endofítico *Psathyrella candolleana* da semente da planta medicinal *Ginkgo biloba* L., onde apresentou atividade antioxidante e antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. Foi isolado quercetina que é um flavonoide amplamente distribuído na natureza (Andres *et al.*, 2018) e ergosterol que é encontrado nas membranas celulares dos fungos, além de ser uma fonte de vitamina D2 (Ibrahim *et al.*, 2018).

1.5 Atividade de enzimas hidrolíticas

As enzimas têm sido utilizadas pelo ser humano tanto de maneira direta, pelo emprego de extratos enzimáticos brutos de origem vegetal, animal e microbiana, e ainda de maneira indireta ao aproveitar ação enzimática sobre determinados substratos. Assim, a produção e a utilização de enzimas microbianas, de maneira controlada, ganhou notoriedade na biotecnologia (Jaeger & Eggert, 2002).

As amilases se caracterizam como enzimas que hidrolisam a molécula de amido, obtendo-se produtos variados, como as dextrinas e polímeros pequenos constituídos por unidades de glicose (Gupta *et al.*, 2003). O amido é encontrado na natureza, em sementes de cereais, como arroz, trigo, aveia e milho e em tubérculos, como mandioca, batata e inhame, onde representa uma das mais importantes reservas de nutrição de todos os vegetais (Bobbio & Bobbio, 1995; Zanin & Moraes, 2004).

Na indústria de enzimas, as amilases são as mais antigas, sendo derivada de animais, plantas e microrganismos, sendo esta última a mais recorrente pela produção em larga escala (Gupta *et al.*, 2003). Possuem aplicação na indústria de papéis, têxtil, couro e detergentes, na indústria de cerveja e bebidas destiladas, na indústria alimentícia, na produção de cereais e pães, liquefação e sacarificação do amido, produção de ração para animais, e indústria farmacêutica e química (Souza & Magalhães, 2010).

Celulases são as enzimas mais abundantes em fonte renovável de energia (Wang *et al.*, 2020). Boa parte dos fungos degradam a celulose para seu desenvolvimento e produção de celulases. Trata-se do polissacarídeo mais abundante na natureza, e é degradado através de hidrólise enzimática. A celulose, em sua forma ativa, é composta por fibras cristalinas insolúveis ligadas em pontes de hidrogênio (Ahmed, 2009). Os fungos são considerados bons produtores de celulases com utilização na produção de enzima-padrão (Coelho & Nascimento, 2008).

As celulases são aplicadas na indústria de alimentos, na clarificação de sucos e extração de óleos de sementes e sucos de frutas; em rações, como suplementação para gados; na indústria têxtil, com a necessidade de altas temperaturas e pH na produção, utiliza-se enzimas termofílicas; além da indústria química e de combustíveis (Bhat, 2000). Usa-se também para melhorar a palatibilidade e alterar a textura em alimentos com baixa qualidade e no auxílio de extração de produtos naturais (Mu *et al.*, 2019).

As proteases são enzimas degradativas, que catalisam a hidrólise total das proteínas, sendo uma das mais relevantes na indústria de enzimas (Banerjee & Ray, 2017). No geral, elas clivam ligações peptídicas em fragmento de proteína e na própria proteína. Grande parte dos microrganismos secretam proteases para o meio externo, degradando proteínas que são utilizadas como fonte de nitrogênio e carbono na multiplicação celular (Vermelho *et al.*, 2008). Têm-se

utilizado proteases produzidas por microrganismos, visto a impossibilidade de proteases produzidas por vegetais e animais atender à demanda global (Rao *et al.*, 1998; Banerjee & Ray, 2017).

Costuma-se aplicar as proteases nas indústrias de detergentes, na indústria alimentícia, como por exemplo para aumentar a hidrólise e elasticidade do glúten na panificação e na produção de queijos, na indústria farmacêutica em combinações com antibióticos de largo espectro para tratar feridas e queimaduras, no tratamento de couro, ao remover restos de pelos e facilitar a embebição com água, e em processos de biorremediação (Ward *et al.*, 2006; Chaud, Vaz & Felipe, 2007).

As lipases são enzimas hidrolíticas que catalisam a hidrólise de ligações éster-carboxílicas presentes em acilgliceróis, liberando ácidos orgânicos e glicerol. São produzidas por plantas, animais e microrganismos. Nos últimos anos vem sendo obtida em larga escala de microrganismos, pois produzem uma variedade de lipases extracelulares (Sharma, Chisti & Aneerjee, 2001; Gonçalves Filho, Silva & Guidini, 2019). O interesse por essas enzimas de microrganismos se dá pela dificuldade de obter material disponível no pâncreas de animais (Hasan, Shah & Hameed, 2006). Elas têm sido utilizadas na indústria de alimentos na fabricação de pães, queijos e iogurtes; detergentes; oleoquímica; cosméticos; couro; papel; polpa; e no tratamento de efluentes contendo gorduras (Carvalho *et al.*, 2005; Hasan, Shah & Hameed, 2006).

As pectinases são enzimas que degradam substâncias pécticas, as quais são constituídas por cadeias de ácido galacturônico, utilizadas nas indústrias de alimentos para clarificação de sucos (Jayani, Saxena & Gupta, 2005), tratamento preliminar de suco de uva, fermentação de chá e chocolate, extração de polpa de tomate, degomagem de fibras na indústria têxtil e papel, extração de óleos, reduzir a viscosidade da ração animal, e tratamento de resíduos vegetais (Uenojo & Pastore, 2007). Por outro lado, as tanases são enzimas que hidrolisam ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis gerando glicose e ácido gálico (Macedo, Matsuda & Battestin, 2005). Essas enzimas são aplicadas na preparação de chás diminuindo turbidez e aumentando extratibilidade, na estabilização de vinhos para evitar descoloração, adição em ração animal para aumentar a assimilação dos nutrientes da formulação e facilitar a digestão, principalmente cereais e sementes, e tratamento de efluentes de indústrias de curtumes que constituem alta carga poluente (Pinto *et al.*, 2005).

Souza *et al.* (2019) obtiveram 47 isolados de oito espécies de fungos endofíticos das folhas das plantas medicinais e aromáticas *Mentha spicata* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum purpuraceus* L. e manjeriço geneticamente modificado, sendo que 21 isolados apresentaram atividade proteolítica com predominância de isolados do gênero *Colletotrichum* e 24 isolados

apresentaram atividade amilolítica, com predominância de isolados do gênero *Nigrospora*. Cruzzi *et al.* (2011) isolaram 11 espécies de fungos endofíticos da planta medicinal *Baccharis dracunculifolia* DC. presente no Cerrado, das quais 10 espécies apresentaram índice enzimático elevado e uma apresentou índice enzimático negativo para produção de enzimas amilolíticas; e uma espécie apresentou índice enzimático fortemente elevado, cinco apresentaram índice enzimático elevado e cinco apresentaram índice enzimático negativo para a produção de enzimas proteolíticas.

1.6 Atividade antioxidante

Antioxidantes são definidos como quaisquer substâncias que, em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, inibe ou atrasa a oxidação desse substrato de maneira eficiente (Gulcin, 2020). Os processos metabólicos de organismos levaram à produção contínua de radicais livres que promovem mecanismos de defesa antioxidantes, que limita os níveis intracelulares e impede a indução de danos. Assim, os antioxidantes inibem e reduzem as lesões causadas por radicais livres nas células, de modo que esses agentes protetores são classificados em antioxidantes enzimáticos, como superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, NADPH-quinona oxidoreductase, enzimas de reparo, e antioxidantes não-enzimáticos, como α -tocoferol, β -caroteno, ácido ascórbico, flavonoides, selênio, proteínas do plasma, glutathione, clorofilina, L-cisteína, curcumina (Neha *et al.*, 2019).

O mecanismo de defesa contra os radicais livres mais significativo é impedir a sua formação pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. Outros mecanismos antioxidantes de proteção dos organismos são interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular por fontes exógenas, impedindo o ataque em aminoácidos das proteínas, lipídeos, ácidos graxos poli-insaturados e em bases do DNA evitando lesões e perda da função celular; reparo das lesões geradas pelos radicais livres; e em algumas situações, adaptação do organismo em resposta à formação dos radicais por meio de enzimas antioxidantes (Salehi *et al.*, 2018).

É importante o controle das enzimas antioxidantes para a sobrevivência em ambiente aeróbico (Covarrubias *et al.*, 2008), assim, os organismos eucariontes, como os fungos, possuem enzimas antioxidantes que reagem com os compostos oxidantes e protegem tecidos e células do estresse oxidativo (Smith, Doyle & Murphy, 2015). É importante destacar que é possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas que em outro falhe ou ainda aumente as lesões induzidas pelos radicais livres (Salehi *et al.*, 2018).

Tendo em vista que os antioxidantes atuam para diminuir o estresse oxidativo, esses compostos são essenciais para prevenir e combater doenças que possuem o estresse oxidativo como condição associada (Zimmermann & Kirsten, 2016). Dentre esses fatores para o estresse oxidativo estão a utilização de álcool, tabagismo, alimentação inadequada, exercícios físicos realizados em alta intensidade, envelhecimento, estresse emocional, patologias crônicas, como hipertensão arterial, diabetes mellitus, câncer, e patologias degenerativas, como mal de Alzheimer e Parkinson (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Santos *et al.* (2020b) isolaram 19 fungos endofíticos das plantas medicinais *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. e *Siparuna guianensis* Aubl., e, com base nos resultados de atividade antioxidante, verificaram que duas cepas foram capazes de eliminar radicais livres. Kaur *et al.* (2020) obtiveram o fungo endofítico *Aspergillus fumigatus* das cascas da planta medicinal *Moringa oleifera* Lam., que apresentou boa atividade antioxidante, revelado pelos métodos de sequestro de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e pelo sequestro de radicais livres ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)].

1.7 Atividade antimicrobiana

Substâncias antimicrobianas são um grupo de agentes terapêuticos derivados de organismos vivos, denominados antibióticos, antifúngicos ou antivirais, ou sintéticos, denominados quimioterápicos. Trata-se de substâncias com capacidade inibitória ou letal contra espécies microbianas, assim como previnem o desenvolvimento de microrganismos resistentes e impedem o aparecimento de efeitos indesejáveis ao hospedeiro (Marston *et al.*, 2016). Atividade antibiótica verificada em metabólitos secundários ou enzimas, como em processos fermentativos produzidos, isolados e caracterizados a partir de fungos endofíticos tem sido constantemente evidenciada (Ferrara, 2006; Clementino *et al.*, 2015; Chandra *et al.*, 2021).

Milhões de pessoas adoecem e até morrem todos os anos por algumas estirpes de bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, por meio de salmonelose, doença reumática, intoxicação alimentar, envenenamento, diarreia, infecções hospitalares, dentre outras (Puerto *et al.*, 2006; Mutters, Walger & Lubbert, 2020). A descoberta de novos agentes microbianos é fundamental devido ao aparecimento de microrganismos resistentes e infecções oportunistas (Pena *et al.*, 2001). Dentre as principais bactérias que causam danos à saúde humana, estão as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, e as bactérias Gram-negativas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*.

A principal diferença entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas está na constituição da parede celular. Nas bactérias Gram-negativas a parede celular é composta por uma camada de peptidoglicano e envolvida por lipoproteína, membrana externa e lipopolissacarídeo, com uma membrana externa de lipídios que é impermeável a substâncias hidrofílicas (Bado *et al.*, 2008). As bactérias Gram-positivas não possuem essa barreira seletiva tão eficiente, pois possuem apenas uma camada externa de peptidoglicano, sendo dividida em duas regiões, um polímero de aminoaçúcares transversais e uma fração de pentapeptídeo (Bado *et al.*, 2008; Carvalho *et al.*, 2013).

Há também infecções fúngicas causadas, principalmente, por espécies do gênero *Candida*. Estas leveduras comensais se tornam patogênicas quando ocorrem alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro ou em procedimentos médicos invasivos. Está associada a doenças degenerativas, imunodeficiências congênitas ou adquiridas, neoplasias, infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e imunodepressão por ato médico (Colombo & Guimarães, 2003).

Ramasamy *et al.* (2010) isolaram 348 fungos endofíticos de 27 plantas medicinais da Malásia e verificaram que 16% deles inibiram *Bacillus subtilis* e 2% inibiram *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Fernandes *et al.* (2009) isolaram 22 fungos endofíticos das folhas de *Coffea arabica* L. e testou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*, verificando que o isolado *Alternaria alternata* apresentou melhor rendimento. Em revisão sistemática realizada por Dantas, Alves & Chapla (2021) foram relatados fungos endofíticos do Cerrado com propriedades antimicrobianas, principalmente antifúngica, com destaque para o gênero *Diaporthe*.

1.8 Atividade antitumoral

O câncer é considerado um dos principais problemas de saúde mundial, com aumento de casos todos os anos, em decorrência da exposição a fatores ambientais associados ao processo de industrialização ou por fatores genéticos (Guerra *et al.*, 2005; Hegde & Chen, 2020). Nesta patologia, ocorre proliferação celular anormal, desencadeada quando a renovação celular que ocorre durante toda a vida apresenta falhas. A proliferação celular descontrolada pode afetar tecidos adjacentes ou espalhar para outros órgãos (World Health Organization, 2002).

Metabólitos secundários e enzimas têm sido uma fonte promissora de fármacos antitumorais, visto que 48% dos agentes anticancerígenos usados derivam-se direta ou indiretamente dessas fontes naturais. As substâncias bioativas de fungos endofíticos têm sido avaliadas em programas de bioprospecção para o desenvolvimento de novos fármacos (Strobel &

Daisy, 2003; Newman & Cragg, 2012). Um exemplo de substância bioativa é o taxol, com propriedades anticancerígenas, que pode ser obtido por diferentes espécies de fungos endofíticos (Santos & Varavallo, 2011). O paclitaxel, que possui nome comercial Taxol[®], que é obtido da planta medicinal *Taxus brevifolia* Nutt., pode também ser obtido do fungo endofítico *Taxomyces andreanae* primeiramente isolado desta planta (Stierle, Strobel & Stierle, 1993; Naik, 2019).

Chapla, Biasetto & Araujo (2013) obtiveram citocalasinas de dois endófitos identificados como *Xylaria* sp. das plantas *Piper aduncum* L. e *Senna spectabilis* (DC.) Irwin et Barn. var. *excelsa* (Schrad.) Irwin et Barn., que apresentaram forte atividade contra a linhagem tumoral HeLa. Ikram *et al.* (2019) obtiveram os fungos endofíticos *Penicillium roqueforti* e *Trichoderma reesei* das raízes de *Solanum surattense* Burm.f., que apresentaram atividade contra a bactéria fitopatogênica e causadora de tumores em vegetais *Agrobacterium tumefaciens*.

1.9 Atividade biorremediativa

A biorremediação pode ser entendida como um processo de aplicação de agentes biológicos para diminuir a concentração de poluentes, com intuito de estabilizar e minimizar os riscos de uma área, recuperando-a gradativamente (Yadav & Yadav, 2017). A adoção dessa prática tem como pontos positivos menor custo e utilização de recursos naturais nessa recuperação, com métodos que degradam, mineralizam, imobilizam, transformam ou removem contaminantes. Existem dois métodos aplicados, o primeiro se dá *in situ*, tratando-se diretamente o local da contaminação, e o segundo *ex situ*, retirando-se o material contaminado para tratamento em outro local (Stepniewska & Kuzniar, 2013).

Microrganismos são os principais agentes da biorremediação, os quais atuam também de maneira indireta na fitorremediação (Azubuike, Chikere & Okpokwasili, 2016). A fitorremediação é uma técnica de biorremediação que utiliza plantas e micróbios associados para minimizar contaminações. Fungos endofíticos desempenham transformação orgânica e inorgânica, ciclagem de elementos e transformações de minerais, sendo, então, importantes para a biorremediação, pois possibilitam tolerância e degradação a um grande número de toxinas (Deng & Cao, 2017). Na adaptação da planta hospedeira, os endófitos imobilizam contaminantes do solo, promovem o crescimento da planta, diminuem a fitotoxicidade e auxiliam na tolerância aos metais da planta (Li *et al.*, 2012).

Algumas patentes descrevem o uso de fungos endofíticos para biorremediação e fitorremediação, tais como *Fusarium oxysporum* na fitorremediação de solo contaminado com metais pesados (Peng *et al.*, 2016), *Fusarium culmorum* e *Muscodor albus* na descontaminação e

decomposição de resíduos humanos e de outros animais (Strobel *et al.*, 2005), *Phomopsis* sp. [*Diaporthe*] (Wang *et al.*, 2017a) e *Xylaria* sp. (Wang *et al.*, 2017b) na degradação de herbicida na água ou no solo.

1.10 Toxicidade

Os metabólitos secundários produzidos pelos fungos endofíticos, que desempenham o papel de proteção às plantas contra pragas, podem apresentar considerável toxicidade, como por exemplo, os alcaloides destes microrganismos em gramíneas forrageiras contra herbívoros (Azevedo, 1999; Bastías *et al.*, 2018). No entanto, os efeitos benéficos na relação planta-hospedeiro são maiores do que os malefícios, e por esta razão vêm ganhando notoriedade biotecnológica (Peixoto Neto, Azevedo & Araújo, 2002; Burragoni & Jeon, 2021).

Espécies do gênero *Fusarium*, que tem sido frequentemente isoladas de plantas, são geralmente relatadas como produtoras de micotoxinas, como por exemplo fumonisina, que causa diversos distúrbios em animais e seres humanos (Cendoya *et al.*, 2018). Com isso, para o armazenamento de plantas medicinais é necessário que o processo de desidratação seja feito com cautela, dentro dos padrões de qualidade, pois fungos podem ser potencialmente produtores de toxinas. O armazenamento, transporte e exposição para comercialização devem ser observados, principalmente com relação à umidade (Guião *et al.*, 2004).

O gênero *Phomopsis* (atualmente *Diaporthe*) também é conhecido pela sua diversidade de metabólitos secundários bioativos, como citocalasinas, xantonas e a micotoxina fomopsina A, sendo que muitos isolados desse gênero apresentam atividade citotóxica, antimalárica e antituberculose, porém sem aplicações devido à sua toxicidade significativa (Hussain *et al.*, 2009). O potencial biotecnológico de parte dos metabólitos secundários produzidos por este gênero está nas micotoxinas que afetam o sistema nervoso de invertebrados (Bills *et al.*, 2002).

A presença de endófitos em plantas medicinais de interesse econômico, como por exemplo *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., *Borreria* G. Mey. e *Heterosmilax japonica* Kunth, é conhecida, sendo que, mais recentemente, tem-se verificado a produção de toxinas por estes fungos, isoladamente ou em antibiose, as quais estão relacionadas a proteção da planta contra insetos, fitopatógenos e endófitos (Mussi-Dias *et al.*, 2012).

1.11 Atividade antagonística contra fungos fitopatogênicos

Fungos interagem intensamente com as plantas hospedeiras garantindo a elas resistência contra patógenos e parasitas, e essa interação benéfica tem sido explorada no manejo integrado de doenças e pragas (Whipps, 2001).

Os pesticidas químicos ainda continuam sendo utilizados em larga escala na agricultura, no entanto, esses produtos podem causar contaminações de águas superficiais e subterrâneas, resistência em populações de patógenos, apresentar efeitos em organismos não-alvos, deixar resíduos em alimentos, entre tantas outras consequências maléficas (Amorim, Rezende & Bergamin, 2011). O controle biológico de doenças em plantas, o qual utiliza de microrganismo(s) para o controle populacional de outro organismo, é uma metodologia alternativa ao uso de agroquímicos, pois possui custo reduzido de manutenção, menor agressividade ao ecossistema e eficiência comprovada (Azevedo *et al.*, 2000; Bettiol *et al.*, 2008).

O controle biológico ainda não é generalizado entre os agricultores no Brasil, mas há avanços em alguns cultivos, como por exemplo a utilização de produtos à base de *Trichoderma* spp. em substratos de mudas, na qual a adição do fungo pode ser por via líquida, através da irrigação, ou por sólida, com a incorporação de micélio e conídios ao substrato (Ghazanfar *et al.*, 2018). Outro exemplo é a utilização do fungo *Hansfordia pulvinata* para o controle do mal-das-folhas da seringueira (*Hevea brasiliensis* L.) causado pelo fungo fitopatogênico *Microcyclus ulei* (Bettiol *et al.*, 2008).

Lopes *et al.* (2017) isolaram fungos endofíticos das folhas e hastes da planta medicinal *Cymbopogon nardus* L. Rendle e avaliaram o potencial antagônico desse fungo contra fitopatógenos. Os autores verificaram que os endófitos *Trichoderma* sp. e *Fusarium* sp. apresentaram maior potencial antagônico, em que os isolados de *Trichoderma* sp. inibiram o crescimento dos fitopatógenos *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata* e *Fusarium oxysporum*. Silva *et al.* (2013b) utilizaram isolados de *Trichoderma* spp. das folhas, sementes, raízes e frutos da planta medicinal *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. e da planta adstringente e parasiticida *Carya illinoensis* (Wangenh.) K.Koch contra isolados de *Pestalotiopsis clavispora* patógenos da própria *Carya illinoensis*, em que a maioria dos isolados de *Trichoderma* spp. apresentou alta capacidade antagônica.

Com isso, a presente revisão de literatura demonstra que fungos endofíticos que habitam plantas medicinais, incluindo as do bioma Cerrado, apresentam potenciais fontes de metabólitos secundários e enzimas com propriedades bioativas, sendo necessárias novas pesquisas envolvendo fungos endofíticos presentes em espécies vegetais até então não estudadas. Estes resultados podem ampliar a descrição de atividades biológicas de interesse biotecnológico.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Analisar a tendência global de pesquisas sobre atividade biológica em fungos endofíticos e prospectar essas propriedades em fungos endofíticos associados a folhas de *Palicourea rigida* Kunth (Rubiaceae), uma planta medicinal nativa do Cerrado.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma revisão cienciométrica da produção científica global sobre a atividade biológica em fungos endofíticos.
- Isolar e cultivar fungos endofíticos de folhas de *P. rigida* em área de Cerrado.
- Investigar a capacidade de produção de metabólitos secundários desses isolados fúngicos.
- Investigar a atividade enzimática de amilase, celulase, protease, lipase, pectinase e tanase.
- Investigar a atividade antioxidante pelos métodos de sequestro de radicais livres 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e poder de redução do íon férrico (FRAP).
- Investigar a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e leveduras causadoras de doenças humanas.
- Investigar a atividade antitumoral em tecidos de batata.
- Investigar a atividade biorremediativa em solo contaminado com óleo de soja.
- Investigar a toxicidade sobre *Artemia salina* Leach.
- Investigar a atividade antagonística contra fungos fitopatogênicos.

3. Literatura Citada

ABREU, L. M.; ALMEIDA, A. R.; SALGADO, M.; PFENNING, L. H. Fungal endophytes associated with the mistletoe *Phoradendron perrottetti* and its host tree *Tapirira guianensis*. **Mycological Progress**, v. 9, n. 4, p. 559-566, 2010.

AGÊNCIA BRASIL. **Desmatamento e ocupação do desordenada ameaçam conservação do Cerrado**. 2018. Disponível em: agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2018-06/desmatamento-e-ocupacao-desordenada-ameacam-conservacao-do-cerrado.

AHMED, S.; BASHIR, A.; SALEEM, H.; SAADIA, M.; JAMIL, A. Production and purification of cellulose-degrading enzymes from a filamentous fungus *Trichoderma harzianum*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 41, n. 3, p. 1411-1419, 2009.

ALVES, V. G.; SCHUQUEL, I. T. A.; FERREIRA, H. D.; SANTIN, S. M. O.; SILVA, C. C. Coumarins from roots of *Palicourea rigida*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 53, n. 6, p. 1157-1159, 2017.

ALY, A. H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, n. 6, p. 1829-1845, 2011.

AMORIM, L.; REZENDE, J.; BERGAMIN, A. **Manual de fitopatologia**. 4 ed. Editora Agrônômica Ceres, Piracicaba, 2011. 704 p.

ANCHEEVA, E.; DALETOS, G.; PROKSCH, P. Bioactive secondary metabolites from endophytic fungi. **Current Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 1836-1854, 2020.

ANDRES, S.; PEVNY, S.; ZIEGENHAGEN, R.; BAKHIYA, N.; SCHAFER, B.; HIRSCH-ERNEST, K. I.; LAMPEN, A. Safety aspects of the use of quercetin as a dietary supplement. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 1, ID 1700447, 2018.

ANISZEWSKI, T. **Alkaloids – Secrets of Life. Alkaloid Chemistry, Biological, Significance, Applications and Ecological Role**. 1 ed. Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, 2007.

AQUINO, F. G.; OLIVEIRA, M. C. **Reserva legal no bioma Cerrado: uso e preservação**. Planaltina, Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2006. 25 p.

ARAÚJO, W. L.; MACCHERONI JÚNIOR, W.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; BARROSO, P. A. V.; SARIDAKIS, H. O.; AZEVEDO, J. L. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 229-236, 2001.

ARNOLD, A. E.; MAYNARD, Z.; GILBERT, G. S.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? **Ecology Letters**, v. 3, n. 4, p. 267-274, 2000.

AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I. S. D.; AZEVEDO, J. L. D. **Ecologia Microbiana**. EMBRAPA-CNPMA, Jaguariúna, p. 117-137, 1998.

AZEVEDO, J. L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? **Brazilian Journal of Botany**, v. 22, n. 2, p. 225-229, 1999.

AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JÚNIOR, W.; PEREIRA, J. O.; ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 40-65, 2000.

AZUBUIKE, C. C.; CHIKERE, C. B.; OKPOKWASIL, G. C. Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 1-18, 2016.

BADO, I.; GARCÍA, V.; ROBINO, L.; CORDEIRO, N.; SEIJA, V.; VIGNOLI, R. Principales mecanismos de resistencia antibiotica. In: VIGNOLI, R.; SEIJA, V. (eds.). **Temas de Bacteriología y Virología Médica**. Universidad de la República – Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay, p. 649-662, 2008.

BALBACH, A. A. **Flora Nacional na Medicina Doméstica**. 11 th, Editora Edel: A Edificação do Lar. São Paulo, Brasil, 1980. 885 p.

BALDIVIA, D. S.; LEITE, D. F.; CASTRO, D. T. H.; CAMPOS, J. F.; SANTOS, U. P.; PAREDES-GAMERO, E. J.; CAROLLO, C. A.; SILVA, D. B.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. Evaluation of *in vitro* antioxidant and anticancer properties of the aqueous extract from the stem bark of *Stryphnodendron adstringens*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, p. 2432, 2018.

BANERJEE, G.; RAY, A. K. Impact of microbial proteases on biotechnological industries. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 33, n. 2, p. 119-143, 2017.

BARBOSA, F. M. Cerradania: Alumeia e óia pros encantamentos dos cerratenses. 1 ed. Clube de Autores, Brasília, 2017. 190 p.

BASTÍAS, D. A.; MARTÍNEZ-GHERSA, M. A.; NEWMAN, J. A.; CARD, S. D.; MACE, W. J.; GUNDEL, P. E. The plant hormone salicylic acid interacts with the mechanism of anti-herbivory conferred by fungal endophytes in grasses. **Plant, Cell & Environment**, v. 41, n. 2, p. 395-405, 2018.

BERNSTEIN, M. E.; CARROLL, G. C. Internal fungi in old-growth Douglas fir foliage. **Canadian Journal of Botany**, v. 55, n. 6, p. 644-653, 1977.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M. J.; KRAUSS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A. M. C. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (eds.). **Controle Microbiano de Pragas na América Latina – Avanços e Desafios**. FEALQ, Piracicaba, p. 303-331, 2008.

BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 5, p. 355-383, 2000.

BILLS, G.; DOMBROWSKY, A.; PELAEZ, F.; POLISHOOK, J.; AN, Z. Recent and future discoveries of pharmacologically active metabolites from tropical fungi. In: WATLING, R.; FRANKLAND, J. C.; AINSWORTH, A. M.; ISSAC, S.; ROBINSON, C. H. (eds.). **Tropical Mycology: Micromycetes**, v. 2. CABI Publishing, New York, p. 165-194, 2002.

BOBBIO, F.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2 ed. Livraria Varela, São Paulo, 1995. 223 p.

BRUNETON, J. **Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales**. 2 edición, Acribia Editorial, Zaragoza, Spain, 2001. p. 615-626.

BURRAGONI, S. G.; JEON, J. Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine, and beyond. **Microbiological Research**, v. 245, 126691, 2021.

CALVO, A. M.; WILSON, R. A.; BOK, J. W.; KELLER, N. P. Relationship between secondary metabolism and fungal development. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 447-459, 2002.

CAMPOS, J. F.; ESPINDOLA, P. P. T.; TOTQUATO, H. F. V.; VITAL, W. D.; JUSTO, G. Z.; SILVA, D. B.; CAROLLO, C. A.; SOUZA, K. P.; PAREDE-GAMERO, E. J.; SANTOS, E. L. Leaf and root extracts from *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) promote apoptotic death of leukemic cells via activation of intracellular calcium and caspase-3. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 466, 2017.

CARROLL, G. C. Beyond pest deterrence – Alternative strategies and hidden costs of endophytic mutualisms in vascular plants. In: ANDREWS, J. H.; HIRANO, S. S. (eds.). **Microbial Ecology of Leaves**. Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience. Springer-Verlag, New York, 1991. p. 358-375.

CARVALHO, P. O.; CALAFATTI, S. A.; MARASSI, M.; SILVA D. M.; CONTESINI, F. J.; BIZACO, R. Potencial de biocatálise enantiosseletiva de lipases microbianas. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 614-621, 2005.

CARVALHO, C. C. C. R.; FONSECA, M. M. R. Carvone: why and how shouldone bother to produce this terpene. **Food Chemistry**, v. 95, n. 3, p. 413-422, 2006.

CARVALHO, C. R.; GONÇALVES, V. N.; PEREIRA, C. B.; JOHANN, S.; GALLIZA, I. V.; ALVES, T. M. A.; RABELLO, A.; SOBRAL, M. E. G.; ZANI, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. The diversity, antimicrobial and anticancer activity of endophytic fungi associated with the medicinal plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) from the Brazilian savannah. **Symbiosis**, v. 57, n. 2, p. 95-107, 2012.

CARVALHO, F. S.; ALEIXO, A. A.; MIRANDA, V. C.; CARVALHO, R. S.; CAMARGOS, V. N.; HERRERA, K. M. S.; MAGALHÃES, J. T.; SANTOS, K. M.; RIBEIRO, R. I. M. A.; LIMA, L. A. R. S.; FERREIRA, J. M. S. Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana *Aristolochia galeata* Mart. & Zucc. (Aristolochiaceae) frente as bactérias gram positivas e gram negativas. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 2, p. 42-44, 2013.

CARVALHO, L. N.; SILVA, E. O.; CHAGAS-PAULA, D. A.; LUIZ, J. H. H.; MASAHARU, I. Importance and implications of the production of phenolic secondary metabolites by endophytic fungi: A mini-review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 4, p. 259-271, 2016.

CARVALHO, J. T. G.; BALDIVIA, D. S.; LEITE, D. F.; ARAÚJO, L. C. A.; ESPINDOLA, P. P. T.; ANTUNES, K. A.; ROCHA, P. S.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. Medicinal Plants from Brazilian Cerrado: Antioxidant and Anticancer Potential and Protection against Chemotherapy Toxicity. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 3685264, 2019.

CASAGRANDE, J. C.; MACORINI, L. F. B.; ANTUNES, K. A.; SANTOS, V. P.; CAMPOS, J. F.; DIAS-JÚNIOR, N. M.; SANOALLI, A.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; RABELO, L. A.; PAREDES-GAMERO, E. J.; SANTOS, E. L.; SOUZA, K. P. Antioxidant and cytotoxic activity of hydroethanolic extract from *Jacaranda decurrens* leaves. **PLoS One**, v. 9, n. 11, e. 112748, 2014.

CENDOYA, E.; CHIOTTA, M. L.; ZACHETTI, V.; CHULZE, S. N.; RAMIREZ, M. L. Fumonisin and fumonisin-producing *Fusarium* occurrence in wheat and wheat by products: A review. **Journal of Cereal Science**, v. 80, p. 158-166, 2018.

CHAGAS, M. B. O.; SANTOS, I. P.; SILVA, L. C. N.; CORREIA, M. T. S.; ARAÚJO, J. M.; CAVALCANTI, M. S.; LIMA, V. L. M. Antimicrobial activity of cultivable endophytic fungi associated with *Hancornia speciosa* Gomes bark. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, p. 179-188, 2017.

CHAGAS, F. O.; PUPO, M. T. Chemical interaction of endophytic fungi and actinobacteria from *Lychnophora ericoides* in co-cultures. **Microbiological Research**, v. 212-213, p. 10-16, 2018.

CHANDRA, S. Endophytic fungi: novel sources of anticancer lead molecules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, n. 1, p. 47-59, 2012.

CHANDRA, H.; KUMARI, P.; PRASAD, R.; GUPTA, S. C.; YADAV, S. Antioxidant and antimicrobial activity displayed by a fungal endophyte *Alternaria alternata* isolated from *Picrorhiza kurroa* from Garhwal Himalayas, India. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 33, p. 101955, 2021.

CHAPLA, V. M.; BIASSETTO, C. R.; ARAUJO, A. R. Fungos endofíticos: uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 421-437, 2013.

CHAPLA, V. M.; ZERAIK, M. L.; CAFEU, M. C.; SILVA, G. H.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; PFENNING, L. H.; ARAUJO, A. R. Griseofulvin, diketopiperazines and cytochalasins from endophytic fungi *Colletotrichum crassipes* and *Xylaria* sp., and their antifungal, antioxidant and anticholinesterase activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 8, p. 1707-1713, 2018.

CHAUD, L. C. S.; VAZ, P. V.; FELIPE, M. G. Considerações sobre a produção microbiana e aplicações de proteases. **Nucleus**, v. 4, n.1/2, p. 87-97, 2007.

CHEN, S.; LI, H.; CHEN, Y.; LI, S.; XU, J.; GUO, H.; LIU, Z.; ZHU, S.; LIU, H.; ZHANG, W. Three new diterpenes and two new sesquiterpenoids from the endophytic fungus *Trichoderma koningiopsis* A729. **Bioorganic Chemistry**, v. 86, p. 368-374, 2019.

CLEMENTINO, L. C.; BARBOSA, C. C.; SILVA, D. P. D.; SILVA, F. D.; QUEIROZ, J. C. F. Bioprospecção de antibióticos produzidos por fungos da Caatinga. **Evidência**, v. 15, n. 1, p. 37-56, 2015.

COELHO, R. R. R.; NASCIMENTO, R. P. Seleção de actinomicetos produtores de enzimas de interesse biotecnológico. In: BON, E. P. S.; CORVO, M. L.; VERMELHO, A. B.; PAIVA, C. L. A.; FERRARA, M. A.; COELHO, R. R. R.; ALENCASTRO, R. B. (eds.). **Enzimas em**

biotecnologia: produção, aplicações e mercado. 1 ed. Interciência, Rio de Janeiro, 2008. p. 71-94.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

COTA, B. B.; ROSA, L. H.; CALIGIORNE, R. B.; RABELLO, A. L. T.; ALVES, T. M. A.; ROSA, C. A.; ZANI, C. L. Altenusin, a biphenyl isolated from the endophytic fungus *Alternaria* sp., inhibits trypanothione reductase from *Trypanosoma cruzi*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 285, n. 2, p. 177-182, 2008.

COVARRUBIAS, L.; HERNÁNDEZ-GARCÍA, D.; SCHNABEL, D.; SALAS-VIDAL, E.; CASTRO-OBREGÓN, S. Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active? **Developmental Biology**, v. 320, n. 1, p. 1-11, 2008.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**, v. 24, p. 1250-1319, 2000.

CRUZZI, 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. 4, n. 2, p. 47-57, 2011.

DANTAS, S. B. S.; ALVES, F. A. M.; CHAPLA, V. M. Chemical, diversity and biotechnological potential of endophytic fungi isolated from Brazilian Cerrado plants. **Biota Neotropica**, v. 21, n. 2, 2021.

DENG, Z.; CAO, L. Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: a review. **Chemosphere**, v. 168, p. 1100-1106, 2017.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach.** 2 ed. John Wiley & Sons Ltd., New York, 2002.

EL-SAKKA, M. A. **Phytochemistry (3) Alkaloids.** 3 ed. Al Azhar University Press, Cairo, Egypt, 2010. 122 p.

FAETH, S. H.; FAGAN, W. F. Fungal endophytes: common host plant symbionts but uncommon mutualists. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 2, p. 360-368, 2002.

FARIA, P. S. A.; SENÁBIO, J. A.; SOARES, M. A.; SILVA, F. G.; CUNHA, A. P. A.; SOUCHIE, E. L. Assessment of functional traits in the assemblage of endophytic fungi of *Anacardium othonianum* Rizzini. **Pakistan Journal of Botany**, v. 48, n. 3, p. 1241-1252, 2016.

FERNANDES, G. W.; OKI, Y.; BELMIRO, M. S.; RESENDE, F. M.; JÚNIOR, A. C.; AZEVEDO, J. L. Multitrophic interactions among fungal endophytes, bees, and *Baccharis dracunculifolia*: resin tapering for propolis production leads to endophyte infection. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 3, p. 329-337, 2018.

FERNANDES, M. R. V.; SILVA, T. A. C.; PFENNING, L. H.; COSTA-NETO, C. M.; HEINRICH, T. A.; ALENCAR, S. M.; LIMA, M. A.; IKEGAKI, M. Biological activities of the

fermentation extract of the endophytic fungus *Alternaria alternata* isolated from *Coffea arabica* L. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 4, p. 677-685, 2009.

FERRARA, M. A. Fungos endofíticos. Potencial para a produção de substâncias bioativas. **Revista Fitos**, v. 2, n. 1, p. 73-79, 2006.

GAVILANES, M. L.; CASTRO, E. M.; PIRES, M. F.; PEREIRA, F. J.; PEREIRA, M. P. Micromorfometria foliar de *Palicourea rigida* Kunth. (Rubiaceae) em ambiente de cerrado e campo rupestre. **CERNE**, v. 22, n. 2, p. 163-170, 2016.

GHAZANFAR, M. U.; RAZA, M.; RAZA, W.; QAMAR, M. I. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. **Plant Protection**, v. 2, n. 3, 2018.

GONÇALVES FILHO, D.; SILVA, A. G.; GUIDINI, C. Z. Lipases: sources, immobilization methods, and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 18, p. 7399-7423, 2019.

GRANDI, T. S.M.; TRINDADE, J. A.; PINTO, M. J. F.; FERREIRA, L. L.; CATELLA, A. C. Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 3, n. 2, p. 185-224, 1989.

GRUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V. K.; CHAUHAN, B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 11, p. 1599-1616, 2003.

GUERRA, M. R.; GALLO, C. V. M.; AZEVEDO, G.; MENDONÇA, S. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 3, p. 227-234, 2005.

GUIÃO, M.; LAMSTER, E.; ROCHA, D.; NOGUEIRA, A. C. O.; LANA, J. M. **Plantas medicinais: cultivo, utilidades e comercialização**. EMATER - Minas Gerais/Prorenda Rural, Instituto Estadual de Florestas, Doces Matas, Belo Horizonte, 2004. 192 p.

GULCIN, I. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651-715, 2020.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 5 ed. Oxford University, Oxford, United Kingdom, 2015. 905 p.

HANSON, J. R. **The Chemistry of Fungi**. Ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, Brighton, UK, 2008. 73 p.

HARBORNE, J. B. Classes and functions of secondary products. In: WALTON, N. J.; BROWN, D. E. (eds.), **Chemicals from plants: perspectives on secondary plant products**, Imperial College Press: London, UK, 1999. p. 1-25.

HARTLEY, S. E.; GANGE, A. C. Impacts of plant symbiotic fungi on insect herbivores: mutualism in a multitrophic context. **Annual Review of Entomology**, v. 54, p. 323-342, 2009.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 2, p. 235-251, 2006.

HEGDE, P. S.; CHEN, D. S. Top 10 challenges in cancer immunotherapy. **Immunity**, v. 52, n. 1, p. 17-35, 2020.

HUSSAIN, H.; AKHTAR, N.; DRAEGER, S.; SCHULZ, B.; PESCIPELLI, G.; SALVADORI, P.; ANTUS, S.; KURTÁN, T.; KROHN, K. New biactive 2,3-epoxycyclohexenes and isocoumarins from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. from *Laurus azorica*. **European Journal of Organic Chemistry**, n. 5, p. 749-756, 2009.

HUANG, M.; LU, J. J.; HUANG, M. Q.; BAO, J. L.; CHEN, X. P.; WANG, Y. T. Terpenoids: natural products for cancer therapy. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 21, n. 12, p. 1801-1818, 2012.

IBRAHIM, S. R. M.; MOHAMED, G. A.; HAIDARI, R. A. A.; EL-KHOLY, A. A. E. S.; ASFOUR, H. Z.; ZAYED, M. F. Fusaristerol A: A new cytotoxic and antifungal ergosterol fatty acid ester from the endophytic fungus *Fusarium* sp. associated with *Mentha longifolia* roots. **Pharmacognosy Magazine**, v. 14, n. 56, p. 308-311, 2018.

IKRAM, M.; ALI, N.; JAN, G.; HAMAYUN, M.; JAN, F. G.; IQBAL, A. Novel antimicrobial and antioxidative activity by endophytic *Penicillium roqueforti* and *Trichoderma reesei* isolated from *Solanum surattense*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 9, e. 164, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Projeto Monitoramento Cerrado**. 2020. Disponível em: <http://cerrado.obt.inpe.br/>.

JAEGER, K. E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 390-397, 2002.

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, v.40, n. 9, p. 2931-2944, 2005.

JIA, M.; CHEN, L.; XIN, H. L.; ZHENG, C. J.; RAHMAN, K.; HAN, T.; QIN, L. P. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 906, 2016.

JIA, Q.; QU, J.; MU, H.; SUN, H.; WU, C. Foliar endophytic fungi: diversity in species and functions in forest ecosystems. **Symbiosis**, v. 80, n. 2, p. 103-132, 2020.

KAUR, N.; ARORA, D. S.; KALIA, N.; KAUR, M. Antibiofilm, antiproliferative, antioxidant and antimutagenic activities of an endophytic fungus *Aspergillus fumigatus* from *Moringa oleifera*. **Molecular Biology Reports**, v. 47, p. 2901-2911, 2020.

KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. Fungal secondary metabolism – from biochemistry to genomics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 12, p. 937-947, 2005.

KING, A. J.; DICKINSON, J. R. Biotransformation of hop aroma terpenoids by ale and lager yeasts. **FEMS Yeast Research**, v. 3, n. 1, p. 53-62, 2003.

KOZIOL, A.; STRYJEWSKA, A.; LIBROWSKI, T.; SALAT, K.; GAWEL, M.; MONICZEWSKI, A.; LOCHYNSKI, S. An overview of the pharmacological properties and potential applications of natural monoterpenes. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 14, p. 1156-1168, 2014.

KUMAR, S.; KAUSHIK, N. Metabolites of endophytic fungi as novel source of biofungicide: a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 4, p. 507-522, 2012.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, ID 162750, p. 1-16, 2013.

KUMARA, P. M.; ZUEHLKE, S.; PRITI, V.; RAMESHA, B. T.; SHWETA, S.; RAVIKANTH, G.; VASUDEVA, R.; SANTHOSHKUMAR, T. R.; SPITELLER, M.; SHAANKER, R. U. *Fusarium proliferatum*, an endophytic fungus from *Dysoxylum binectariferum* Hook.f, produces rohitukine, a chromane alkaloid possessing anti-cancer activity. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 101, n. 2, p. 323-329, 2012.

KUSARI, S.; SPITELLER, M. Are we ready for industrial production of bioactive plant secondary metabolites utilizing endophytes? **Natural Product Reports**, v. 28, n. 7, p. 1203-1207, 2011.

KUSARI, S.; HERTWECK, C.; SPITELLER, M. Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. **Chemistry & Biology**, v. 19, n. 7, p. 792-798, 2012.

LATTANZIO, V. Phenolic Compounds: Introduction. In: RAMAWA, K. G.; MÉRILLON, J. M. (eds.). **Natural Products**. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2013. p. 1543-1580.

LI, H. Y.; WEI, D. Q.; SHEN, M.; ZHOU, Z. P. Endophytes and their role in phytoremediation. **Fungal Diversity**, v. 54, n. 1, p. 11-18, 2012.

LI, Y.; TAN, H. Biosynthesis and molecular regulation of secondary metabolites in microorganisms. **Science China Life Sciences**, v. 60, n. 9, p. 935-938, 2017.

LIANG, H. Q.; ZHANG, D. W.; GUO, S. X.; YU, J. Two new tetracyclic triterpenoids from the endophytic fungus *Hypoxylon* sp. 6269. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 20, n. 10, p. 951-956, 2018.

LIMA NETO, G. A.; KAFFASHI, S.; LUIZ, W. T.; FERREIRA, W. R.; SILVA, Y. S. A. D.; PAZIN, G. V.; VIOLANTE, I. M. P. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1069-1077, 2015.

LOPES, J. C.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; NEVES, A. C. C.; CHAPLA, V. M.; BATISTELLA, C. A. R. Fungos endofíticos isolados do capim citronela e seleção de antagonistas a fitopatógenos. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 3, p. 84-88, 2017.

MACEDO, G. A.; MATSUDA, L. K.; BATTESTIN, V. Screening of tanase producing fungi present in rich tannin vegetable residues. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 4, p. 833-838, 2005.

MACHADO, A. O.; SILVA, A. P.; CONSOLARO, H.; BARROS, M. A. G.; OLIVEIRA, P. E. Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* H. B. & K. (Rubiaceae) in the Cerrados of Central Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 686-696, 2010.

MARONI, B.; DI STASI, L. C.; MACHADO, S. **Plantas medicinais do cerrado de Botucatu**. FAPESP, BIOTA, UNESP, São Paulo, 2006. p. 9-134.

MARSTON, H. D.; DIXON, D. M.; KNISELY, J. M.; PALMORE, T. N.; FAUCI, A. S. Antimicrobial resistance. **Jama**, v. 316, n. 11, p. 1193-1204, 2016.

MEYER, J. M.; REZENDE, F. M.; SOARES, S. A.; TOMBA, A. C. B. Metabolismo Secundário. In: LOPEZ, A. M. *et al.* (eds.) **Botânica no Inverno 13**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 34-40, 2013.

MORAES, M. A.; SANTOS, B. C. S.; FABRI, R. L.; SCIO, E.; ALVES, M. S.; YAMAMOTO, C. H.; RODARTE, M. P.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; ARAÚJO, A. L. S. M.; ARAÚJO, A. L. A.; SOUSA, O. V. Pharmacological potential of *Palicourea rigida* Kunth: a possible participation of flavonoid compounds. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, n. 10, p. 194-206, 2017.

MOREL, L. J. F.; BARATTO, D. M.; PEREIRA, P. S.; CONTINI, S. H. T.; MOMM, H. G.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Loganin production in *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae) from populations native to Brazilian Cerrado. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 2, p. 2559-2565, 2011.

MUSSI-DIAS, V.; ARAÚJO, A. C. O.; SILVEIRA, S. F.; ROCABADO, J. M. A.; ARAÚJO, K. L. Fungos endofíticos associados a plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 261-266, 2012.

MU, R.; HONG, X.; NI, Y.; LI, V.; PANG, J.; WANG, Q.; XIAO, J.; ZHENG, Y. Recent trends and applications of cellulose nanocrystals in food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, p. 136-144, 2019.

MUTTERS, R.; WALGER, P.; LUBBERT, C. Calculated initial parenteral treatment of bacterial infections: Bacterial gastrointestinal infections. **GMS Infectious Diseases**, v. 8, Doc06, 2020.

NAIK, B. S. Developments in taxol production through endophytic fungal biotechnology: a review. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 19, n. 1, p. 1-13, 2019.

NASCIMENTO, A. M.; SOARES, M. G.; TORCHELSEN, F. K. V. S.; ARAUJO, J. A. V.; LAGE, P. S.; DUARTE, M. C.; ANDRADE, P. H. R.; RIBEIRO, T. G.; COELHO, E. A. F.; NASCIMENTO, A. M. Antileishmanial activity of compounds produced by endophytic fungi derived from medicinal plant *Vernonia polyanthes* and their potential as source of bioactive substances. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 11, p. 1793-1800, 2015.

NEHA, K.; HAIDER, M. R.; PATHAK, A.; YAR, M. S. Medicinal prospects of antioxidants: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 178, p. 687-704, 2019.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.

NICOLETTI, R.; FIORENTINO, A. Plant bioactive metabolites and drugs produced by endophytic fungi of Spermatophyta. **Agriculture**, v. 5, n. 4, p. 918-970, 2015.

NORILER, S. A.; SAVI, D. C.; ALUIZIO, R.; PALÁCIO-CORTES, A. M.; POSSIEDE, Y. M.; GLIENKE, C. Bioprospecting and structure of fungal endophyte communities found in the Brazilian biomes, Pantanal, and Cerrado. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1526, 2018.

OLIVEIRA, A. K. M.; MATIAS, R.; LOPES, S. S.; FONTOURA, F. M. Allelopathy and influence of leaves of *Palicourea rigida* (Rubiaceae) on seed germination and seedling formation in lettuce. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, supp. 2, p. 938-947, 2014.

OLIVEIRA, H. W. C.; VIVEIRO, A. A. Cerrado e plantas medicinais: algumas reflexões sobre o uso e a conservação. **Ensino, Saúde e Ambiente**, v. 5, n. 3, p. 102-120, 2012.

PAN, Y.; ZHENG, W.; YANG, S. Chemical and activity investigation on metabolites produced by an endophytic fungi *Psathyrella candolleana* from the seed of *Ginkgo biloba*. **Natural Products Research**, p. 1-4, 2019.

PATIL, R. H.; PATIL, M. P.; MAHESHWARI, V. L. Chapter 5 – Bioactive secondary metabolites from endophytic fungi: A review of biotechnological production and their potential applications. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 49, p. 189-205, 2016.

PEDRA, N. S.; GALDINO, K. C. A.; SILVA, D. S.; RAMOS, P. T.; BONA, N. P.; SOARES, M. S. P.; AZAMBUJA, J. H.; CANUTO, K. M.; BRITO, E. S.; RIBEIRO, P. R. V.; SOUZA, A. S. Q.; CUNICO, W.; STEFANELLO, F. M.; SPANEVELLO, R. M.; BRAGANHOL, E. Endophytic fungus isolated from *Achyrocline satureioides* exhibits selective antiglioma activity – the role of Sch-642305. **Frontiers in Oncology**, v. 8, p. 1-20, 2018.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, p. 62-76, 2002.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; CAETANO, L. C. **Plantas medicinais: do popular ao científico**. 1 ed. EDUFAL, Maceió, 2005. 90 p.

PENA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M. C.; MUÑOZ, J. D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **Journal Ethnopharmacology**, v. 77, n. 1, p. 37-40, 2001.

PENG, K.; WEN, T.; XIONG, R.; TIAN, S.; CHEN, C.; ZHONG, Z.; JIANG, P.; PENG, Y.; WAN, Y. *Fusarium oxysporum* and its application in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. CN 105733958 A, 2016.

PEREIRA, J. O.; AZEVEDO, J. L.; PETRINI, O. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: a first report. **Mycologia**, v. 85, n. 3, p. 362-364, 1993.

PINHEIRO, R. P.; MORAES, M. A.; SANTOS, B. C. S.; FABRI, R. L.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; YAMAMOTO, C. H.; ARAÚJO, A. L. S. M.; ARAÚJO, A. L. A.; SOUSA, O. V. Identification of compounds from *Palicourea rigida* leaves with topical anti-inflammatory potential using experimental models. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 4, p. 1005-1016, 2018.

PINTO, G. A. S.; COURI, S.; LEITE, S. G. F.; BRITO, E. S. Tanase: conceitos, produção e aplicação. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 435-462, 2005.

PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Rio de Janeiro, v. 6, p. 429-

430, 1984.

PUERTO, A. S.; FERNÁNDEZ, J. G.; CASTILLO, J. D. L. D.; PINO, M. J. S.; ANGULO, G. P. *In vitro* activity of β -lactam and non- β -lactam antibiotics in extended-spectrum β -lactamase-producing clinical isolates of *Escherichia coli*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 54, n. 2, p. 135-139, 2006.

RAMASAMY, K.; LIM, S. M.; BAKAR, H. A.; ISMAIL, N.; ISMAIL, M. S.; ALI, M. F.; WEBER, J. F. F.; COLE, A. L. J. Antimicrobial and cytotoxic activities of Malaysian endophytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 5, p. 640-643, 2010.

RANA, K. L.; KOUR, D.; SHEIKH, I.; DHIMAN, A.; YADAV, N.; YADAV, A. N.; RASTEGARI, A. A.; SINGH, K.; SAXENA, A. K. Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. In: YADAV, A.; MISHRA, S.; SINGH, S.; GUPTA, A. (eds.) **Recent advancement in white biotechnology through fungi**. Fungal Biology, Springer, Cham., 2019. p. 1-62.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 597-635, 1998.

REDLIN, S. C.; CARRIS, L. M. **Endophytic fungi in grasses and woody plants. Systematics, Ecology and Evolution**. APS Press, 3340 Pilot Knob Rd., St. Paul, Minnesota, 1996. 223 p.

RESENDE, M. L. F.; GUIMARÃES, L. L. **Inventários da biodiversidade do bioma Cerrado: Biogeografia de plantas**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE, Rio de Janeiro, 2007. 14 p.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, O. J. F. **Cerrado: ecologia e flora**. Embrapa Cerrados/Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, v. 1, p. 151-212, 2008.

RIBEIRO, F. P. C.; KAMIDA, H. M.; ALMEIDA, P. R. M.; UETANABARO, A. P. T.; COSTA, L. C. B.; BRANCO, A. Isolation and identification of endophytic fungi in the medicinal plant *Mikania laevigata* (Asteraceae). **Pharmacognosy Journal**, v. 6, n. 4, p. 10-15, 2014.

ROCHA, P. S.; CAMPOS, J. F.; NUNES-SOUZA, V.; VIEIRA, M. C.; BOLETI, A. P. A.; RABELO, L. A.; SANTOS, E. L.; SOUZA, K. P. Antioxidant and protective effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi against doxorubicin-induced toxicity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 184, n. 3, p. 869-884, 2018.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102-123, 2001.

RODRIGUEZ, R.; REDMAN, R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 5, p. 1109-1114, 2008.

RODRIGUEZ, R. J.; WHITE JUNIOR, J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, R. S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**, v. 182, n. 2, p. 314-330, 2009.

ROSA, E. A.; SILVA, B. C.; SILVA, F. M.; TANAKA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; FERREIRA, H. D.; SILVA, C. C. Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, supp. 1, p. 484-488, 2010.

RUSTAMOVA, N.; BOZOROV, K.; EFFERTH, T.; YILI, A. Novel secondary metabolites from endophytic fungi: synthesis and biological properties. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 2, p. 425-448, 2020.

SAIKKONEN, K.; GUNDEL, P. E.; HELANDER, M. Chemical ecology mediated by fungal endophytes in grasses. **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 7, p. 962-968, 2013.

SALEHI, B.; MARTORELL, M.; ARBISER, J. L.; SUREDA, A.; MARTINS, N.; MAURYA, P. K.; SHARIFI-RAD, M.; KUMAR, P.; SHARIFI-RAD, J. Antioxidants: Positive or Negative Actors? **Biomolecules**, v. 8, n. 4, p. 124, 2018.

SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 2, p. 199-212, 2011.

SANTOS, U. P.; CAMPOS, J. F.; TORQUATO, H. F. V.; PAREDES-GAMERO, E. J.; CAROLLO, C. A.; ESTEVINHO, L. M.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties as well as the phenolic content of the extract from *Hancornia speciosa* Gomes. **PLoS One**, v. 11, n. 12, e. 0167531, 2016.

SANTOS, J. M.; ALFREDO, T. M.; ANTUNES, K. A.; CUNHA, J. S. M.; COSTA, E. M. A.; LIMA, E. S.; SILVA, D. B.; CAROLLO, C. A.; SCHMITZ, W. O.; BOLETI, A. P. A.; SANTOS, E. L.; SOUZA, K. P. *Guazuma ulmifolia* Lam. decreases oxidative stress in blood cells and prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 1, p. 2935051, 2018.

SANTOS, L.; VIEL, A. M.; TAROSSO, L. F.; MOMESSO, L. S.; PALMIERI, D. A.; SPERA, K. D. Medicinal plants of the Brazilian cerrado: knowing to preserve. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 556-567, 2020a.

SANTOS, T. F. B.; CARVALHO, C. S.; ALMEIDA, M. A.; DELFORNO, T. P.; DUARTE, I. C. S. Endophytic fungi isolated from Brazilian medicinal plants as potential producers of antioxidants and their relations with anti-inflammatory activity. **3 Biotech**, v. 10, n. 5, a. 223, 2020b.

SCHULTHESS, F. M.; FAETH, S. H. Distribution, abundances, and associations of the endophytic fungal Community of Arizona fescue (*Festuca arizonica*). **Mycologia**, v. 90, n. 4, p. 569-578, 1998.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, V. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v. 19, n. 8, p. 627-662, 2001.

SIEBER, T. N. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? **Fungal Biology Reviews**, v. 21, n. 2-3, p. 75-89, 2007.

SILVA-JÚNIOR, M. C. **100 árvores do Cerrado – guia de campo**. Rede de Sementes do Cerrado, Brasília-DF, 2005. 278 p.

SILVA, G. H.; OLIVEIRA, C. M.; TELES, H. L.; BOLZANI, V. S.; ARAUJO, A. R.; PFENNING, L. H.; YOUNG, M. C. M.; COSTA-NETO, C. M.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Citocalasinas produzidas por *Xylaria* sp., um fungo endofítico de *Piper aduncum* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2038-2041, 2010.

SILVA, M. S.; PEREIRA, A. M. S.; MOREL, L. J. F.; FRANÇA, S. C.; BERTONI, B. W. Association of loganin contents with the genetic characterization of natural populations of *Palicourea rigida* Kunth determined by AFLP molecular markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 51, p. 189-194, 2013a.

SILVA, F. B.; SILVA, F. J. T.; SILVA, F. F.; LEAL, L. V.; POLETTO, I. Isolamento e seleção de *Trichoderma* spp. antagonistas à *Pestalotiopsis clavispora*, patógeno da nogueira-pecã. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 3, p. 109-118, 2013b.

SILVA, C. P.; CÂNDIDO, J. B.; SANTOS, A. F.; SOUZA, P. B. Espécies botânicas caracterizadas sob alguma forma de risco de extinção nos parques estaduais do Tocantins. **Revista Desafios**, v. 7, n. 2, p. 1-19, 2020.

SMITH, H.; DOYLE, S.; MURPHY, R. Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 185, p. 389-397, 2015.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos com antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUTO-BACHILLER, F. A.; JESUS-ECHEVARRÍA, M.; CÁRDENAS-GONZÁLEZ, O. E.; ACUÑA-RODRIGUEZ, M. F.; MELÉNDEZ, P. A.; ROMERO-RAMSEY, L. Terpenoid composition of *Lippia dulcis*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 6, p. 1077-1086, 1997.

SOUZA, C. P.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.

SOUZA, P. M.; MAGALHÃES, P. O. Application of microbial α -amylase in industry – A review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 850-861, 2010.

SOUZA, J. B.; SILVA, S.; SOUZA, R. S.; ANDRADE, A. M. F.; ALVES, C. A. B.; MEDEIROS, M. B. Atividade enzimática de fungos endofíticos isolados de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 13, n. 3, p. 5-22, 2019.

STEPNIEWSKA, Z.; KUZNIAR, A. Endophytic microorganisms – promising applications in bioremediation of greenhouse gases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 22, p. 9589-9596, 2013.

STIERLE, A.; STROBEL, G.; STIERLE, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. **Science**, v. 260, n. 5105, p. 214-216, 1993.

STIERLE, A.; STROBEL, G.; STIERLE, D.; GROTHAUS, P.; BIGNAMI, G. The search for a taxol-producing microorganism among the endophytic fungi of the Pacific yew, *Taxus brevifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 9, p. 1315-1324, 1995.

STONE, J.; PETRINI, O. Endophytes of forest trees: a model for fungus-plant interactions. In: CARROLL, G. C.; TUDZYNSKI, P. (eds.). **The Mycota**. V. Plant relationships. Vol. 5B. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1997. p. 129-142.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491-502, 2003.

STROBEL, G.; DAISY, B.; CASTILLO, U.; HARPER, J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 2, p. 257-268, 2004.

STROBEL, G. A.; DIRKSE, E.; EZRA, D.; CASTILLO, U.; PHILLIPS, B. **A method of using endophytic fungi to decontaminate and decompose human and animal wastes**. WO 2005116272 A2, 2005.

SUNDARRAM, A.; MURTHY, T. P. K. α -amylase production and applications: a review. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, v. 2, n. 4, p. 166-175, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Artemed, Porto Alegre, 2004.

TAN, R. X.; ZOU, W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural Product Reports**, v. 18, n. 4, p. 448-459, 2001.

TANG, Z.; WANG, Y.; YANG, J.; XIAO, Y.; CAI, Y.; WAN, Y.; CHEN, H.; YAO, H.; SHAN, Z.; LI, C.; WANG, G. Isolation and identification of flavonoid-producing endophytic fungi from medicinal plant *Conyza blinii* H.Lév that exhibit higher antioxidant and antibacterial activities. **PeerJ**, v. 8, e. 8978, 2020.

TAYLOR, C. M. Conspectus do gênero *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotrieae) com a descrição de algumas novas espécies do Equador e da Colômbia. **Anais do Jardim Botânico de Missouri**, v. 84, p. 224-262, 1997.

THIMMAPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T.; O'MAILLE, P.; OSBOURN, A. Triterpene biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 225-257, 2014.

TONIAL, F.; MAIA, B. H. L. N. S.; GOMES-FIGUEIREDO, J. A.; SOBOTTKA, A. M.; BERTOL, C. D.; NEPEL, A.; SAVI, D. C.; VICENTE, V. A.; GOMES, R. R.; GLIENKE, C. Influence of culturing conditions on bioprospecting and the antimicrobial potential of endophytic fungi from *Schinus terebinthifolius*. **Current Microbiology**, v. 72, n. 2, p. 173-183, 2016.

TURIBIO, T. O.; FERREIRA, E. M. S.; SOUSA, F. M. P.; SILVA, J. F. M.; PIMENTA, R. S. Verificação da produção de substâncias antimicrobianas por fungos endofíticos associados à soja (*Glycine max* (L.) Merrill) no Estado do Tocantins. **Revista Cereus**, v. 10, n. 3, p. 92-102, 2018.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinolytic enzymes: Industrial applications and future perspectives. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

VENCATO, I.; SILVA, F. M.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; TANAKA, C. M. A.; SILVA, C. C.; SABINO, J. R. Vallesiachotamine. **Acta Crystallographica Section E**, v. 62, n. 2, p. 429-431, 2006.

VERMELHO, A. B.; TERMIGNONI, C.; MACEDO, A. J.; BRANDELLI, A.; BON, E. P. S. Enzimas queratinolíticas: aplicações biotecnológicas. In: BON, E. P. S.; CORVO, M. L.; VERMELHO, A. B.; PAIVA, C. L. A.; FERRARA, M. A.; COELHO, R. R. R.; ALENCASTRO, R. B. (eds.). **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado**. 1 ed. Interciência, Rio de Janeiro, p. 289-300, 2008.

VIEIRA, E. M.; ANDRADE, I.; PRICE, P. W. Fire effects on a *Palicourea rigida* (Rubiaceae) gall midge: a test of the plant vigor hypothesis. **Biotropica**, v. 28, n. 2, p. 210-217, 1996.

VIEIRA, M. L. A.; JOHANN, S.; HUGHES, F. M.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. The diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi associated with medicinal plant *Baccharis trimera* (Asteraceae) from the Brazilian savannah. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 60, n. 12, p. 847-856, 2014.

VILA VERDE, G. M.; PAULA, J. R.; CARNEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 64-66, 2003.

WANG, J.; LI, G.; LU, H.; ZHENG, Z.; HUANG, Y.; SU, W. Taxol from *Tubercularia* sp. strain TF5, an endophytic fungus of *Taxus mairei*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 193, n. 2, p. 249-253, 2000.

WANG, Y.; ZENG, D.; FENG, G.; TANG, W.; LI, H. **One Kind of Stem Point Enzyme E41 Metal Fungal Strain and Application Thereof**. CN 106947697 A, 2017a.

WANG, Y.; FENG, G.; LI, H.; ZENG, D.; TANG, W. **One Kind of Carbon Angle Bacterial Genus E68 Fungal Strain and Application Thereof**. CN 107177511 A, 2017b.

WANG, P.; YU, J. H.; ZHU, K.; WANG, Y.; CHENG, Z. Q.; JIANG, C. S.; DAI, J. G.; WU, J.; ZHANG, H. Phenolic bisabolane sesquiterpenoids from a Thai mangrove endophytic fungus, *Aspergillus* sp. xy02. **Fitoterapia**, v. 127, p. 322-327, 2018.

WANG, B. T.; HU, S.; YU, X. Y.; JIN, L. ZHU, Y. J.; JIN, F. J. Studies of cellulose and starch utilization and the regulatory mechanisms of related enzymes in fungi. **Polymers**, v. 12, n. 3, p. 530, 2020.

WARD, O. P.; QUIN, W. M.; DHANJOON, J.; YE, J.; SINGH, A. Physiology and biotechnology of *Aspergillus*. **Advances in Applied Microbiology**, v. 58, p. 1-75, 2006.

WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 1, p. 487-511, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **National cancer control programmes: Policies and managerial guidelines**. 2 ed. Geneva, 2002. 180 p.

WÜTHERICH, D.; AZÓCAR, A.; GARCÍA-NUÑEZ, C.; SILVA, J. F. Seed dispersal in *Palicourea rigida*, a common treelet species from Neotropical savannas. **Journal of Tropical Ecology**, v. 17, n. 3, p. 449-458, 2001.

XIE, S.; WU, Y.; QIAO, Y.; GUO, Y.; WANG, J.; HU, Z.; ZHANG, Q.; LI, X.; HUANG, J.; ZHOU, Q.; LUO, Z.; LIU, J.; ZHU, H.; XUE, Y.; ZHANG, Y. Protoilludane, illudalane, and

botryane sesquiterpenoids from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. TJ507A. **Journal of Natural Products**, v. 81, n. 6, p. 1311-1320, 2018.

YADAV, A; YADAV. K. Exploring the potential of endophytes in agriculture: a minireview. **Advances in Plants & Agricultural Research**, v. 6, n. 4, p. 102-106, 2017.

YADAV, A. N. Biodiversity and biotechnological applications of host-specific endophytic fungi for sustainable agriculture and allied sectors. **Acta Scientific Microbiology**, v. 1, n. 5, p. 01-05, 2018.

YAN, L.; ZHU, J.; ZHAO, X.; SHI, J.; JIANG, C.; SHAO, D. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 8, p. 3327-3340, 2019.

YANG, S. X.; XIAO, J.; LAATSCH, H.; HOLSTEIN, J. J.; DITTRICH, B.; ZHANG, Q.; GAO, J. M. Fusarimine, a novel polyketide isoquinoline alkaloid, from the endophytic fungus *Fusarium* sp. LN12, isolated from *Melia azedarach*. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 47, p. 6372-6375, 2012.

ZANIN, G. M.; MORAES, F. F. Amilases. In: SAID, S.; PIETRO, R. C. L. R (eds.). **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Legis Summa, Ribeirão Preto, 2004. p. 35-85.

ZIMMERMANN, A. M.; KIRSTEN, V. R. Food with antioxidant function in chronic diseases. **Disciplinarum Scientia Saúde**, v. 8, n. 1, p. 51-68, 2016.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Manuscrito submetido à revista científica *Environmental Science and Pollution Research* (JCR 2020: 4.223) e, portanto, encontra-se formatado segundo as normas de submissão.

Tendência global nas pesquisas de atividade biológica em fungos endofíticos: uma análise cienciométrica

Igor Romeiro dos Santos¹, Leonardo Luiz Borges¹, Daniel Diego Costa Carvalho², Jadson Diogo Pereira Bezerra³, Ahmed M. Abdel-Azeem⁴ e Solange Xavier-Santos¹

¹ Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Central, Laboratório de Micologia Básica, Aplicada e Divulgação Científica – FungiLab, Anápolis, Goiás, Brasil.

² Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Sudeste, Laboratório de Fitopatologia, Ipameri, Goiás, Brasil.

³ Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Setor de Micologia, Goiânia, Goiás, Brasil.

⁴ Suez Canal University, Faculty of Science, Botany and Microbiology, Ismailia, Egypt.

Resumo Simples: Produtos naturais produzidos por fungos endofíticos têm instigado pesquisas em todo o mundo, vistos como uma possibilidade para diversas aplicações biotecnológicas. As atividades biológicas relatadas nesses microrganismos apontam para o valioso reservatório de compostos bioativos, muitas vezes semelhantes aos das plantas hospedeiras. Nesta revisão, analisamos a tendência mundial das pesquisas sobre atividade biológica em fungos endofíticos, considerando na análise das publicações o título, o resumo e as palavras-chave. Assim, destacamos as características temporais dos artigos, países, instituições e autores mais relevantes e a classificação das atividades biológicas confirmadas. Nosso estudo confirma o progresso nesta área.

Resumo: Fungos endofíticos colonizam o interior dos vegetais, estabelecendo uma relação mutualística, sem causar danos aparentes, e distribuem-se por órgãos e tecidos do hospedeiro. A importância biotecnológica desses microrganismos tem instigado pesquisas pelo mundo. Por meio da ciencimetria é possível verificar tendências e lacunas em diferentes áreas da pesquisa, contribuindo com a sociedade acadêmica para que novos estudos sejam fomentados. Com o objetivo de identificar a produção do conhecimento científico acerca da atividade biológica em fungos endofíticos, foi realizado um levantamento na plataforma Web of Science, dos trabalhos publicados entre 1997 e 2019, que possuem no título, resumo ou palavras-chave os termos (Fung* AND Endophytic) AND (Bioprospecting OR Bio-prospecting OR Prospecting OR Bioactivit* OR “Biological Activit*”). Foram obtidos 458 trabalhos que atenderam ao critério da busca e, então, averiguadas as seguintes informações: ano de publicação; média de citação por ano; periódico; índice H do periódico; área de concentração; palavras-chave e coocorrência entre elas; autores e coautores; artigos mais citados; índice H dos dez autores mais frequentes; país de filiação dos autores e coautores; rede de colaboração entre países, instituições e periódicos; bioensaios realizados por ano; e atividade biológica verificadas em fungos endofíticos. A distribuição temporal

dos artigos apresentou aumento a partir da década de 2000, quando houve maior financiamento mundial em universidades e investimento em ciência. A China é o país mais frequente a sediar as pesquisas, seguido do Brasil e Índia. Esse investimento refletiu entre 2016 a 2019, período em que houve maior quantidade de bioensaios, de modo que quase metade (43%) comprovam atividade antimicrobiana (antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, antiviral), seguida por atividade antitumoral (29%). Essas propriedades demonstram a capacidade dos fungos endofíticos produzirem moléculas bioativas de interesse farmacológico e agrônômico.

Palavras-chave: bioatividade; indicadores cienciométricos; pesquisa quantitativa; produtos naturais.

1. Introdução

Microrganismos endofíticos, incluindo os fungos, habitam de forma assintomática os tecidos vivos internos de plantas saudáveis, apresentando uma interação com a planta hospedeira, conferindo auxílio no crescimento e resistência à herbivoria, patógenos e estresses abióticos [1]. Em contrapartida, os endófitos recebem proteção e nutrientes do hospedeiro [2]. No entanto, em algum momento, estes podem se tornar patogênicos devido a interferências bióticas ou abióticas [3], sugerindo-se que a interação fungo e planta hospedeira seja caracterizada pelo equilíbrio entre o potencial de virulência do fungo e a defesa da planta [4,5]. Além disso, sabe-se que cada hospedeiro vegetal pode abrigar uma comunidade endofítica, entretanto, a frequência e composição dos endófitos depende das características ambientais (principalmente o clima), distribuição geográfica das plantas, umidade do ambiente, idade e tecido vegetal [6,7].

Metabólitos secundários e enzimas de fungos endofíticos têm apresentado grande importância biotecnológica, principalmente na composição de novos fármacos e no controle biológico de pragas na agricultura [8]. Ensaios de bioprospecção desses organismos tem revelado compostos naturais com atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante e antiprotozoária com perspectivas para uso no tratamento de doenças e notáveis aplicações industriais [9,10]. A manipulação de microrganismos endofíticos possibilita formas mais eficientes de produzir fármacos, minimizando o perigo de extinção de espécies vegetais que, ao longo dos anos, vêm sofrendo pressão indiscriminada para extração de produtos medicinais [11].

O levantamento bibliográfico realizado por Jia et al. (2016) [12] apontou que 96 espécies medicinais abrigam fungos endofíticos produtores de compostos bioativos, em que as hospedeiras são comumente utilizadas como medicamentos por consumo direto ou extração de componentes. Verificou-se ainda que os endófitos associados a Taxaceae e Orchidaceae são maiores do que em outras famílias. As espécies da família Taxaceae estão relacionadas com endófitos produtores de taxol, um diterpenoide com atividade antitumoral, principalmente para tratamento de câncer de ovário, útero e mama [13].

Os endófitos possuem a capacidade de promover acúmulo de metabólitos secundários das suas plantas hospedeiras, e assim, os pesquisadores realizam isolamento desses microrganismos em plantas com propriedades terapêuticas na busca de compostos semelhantes [14]. Isso é justificado pela perda acelerada de espécies medicinais, comprometendo mais de 50.000 espécies pela destruição do habitat natural [15]. Para atender a demanda médica e agrônômica, é importante encontrar fontes alternativas de compostos bioativos, principalmente em hospedeiras ameaçadas ou de difícil cultivo [16].

Pesquisas envolvendo benefícios de fungos endofíticos tem ganhado destaque em todo o mundo [17], como apresenta a revisão de Rashmi, Kushveer & Sarma (2019) [18], em que é relatada uma lista com mais de 800 gêneros que apresentam compostos bioativos, sendo os gêneros dominantes *Alternaria*, *Aspergillus*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Phoma*. Com intuito de fazer um levantamento das tendências de atividades biológicas desses microrganismos, a cienciometria é uma forte aliada na avaliação de aspectos quantitativos dessas pesquisas, verificando jornais científicos, autores, aspectos gerais dos artigos e a comunicação entre os cientistas [19,20]. Considerando o avanço das pesquisas verificando o potencial biotecnológico dos fungos endofíticos, nessa revisão, nós objetivamos contribuir com uma análise cienciométrica da literatura científica global sobre atividade biológica em fungos endofíticos.

2. Metodologia

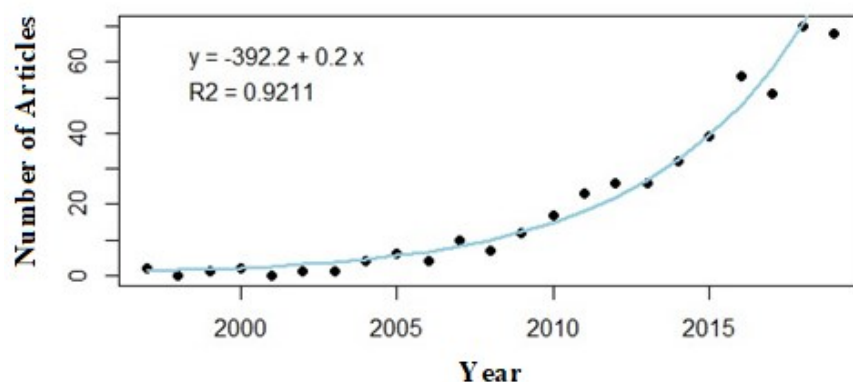
Considerando-se as publicações disponibilizadas na plataforma Web of Science (Clarivate Analytics) durante o período de 1945 a 2019, foi feita uma pesquisa utilizando-se como termos de busca e respectivos operadores booleanos: (Fung* AND Endophytic) AND (Bioprospecting OR Bio-prospecting OR Prospecting OR Bioactivit* OR “Biological Activit*”) incluídos no título, resumo e palavras-chave. Os trabalhos científicos recuperados foram avaliados individualmente quanto ao atendimento da temática e categorizados em artigo original (*article*), artigo de correção (*correction*) e artigo de revisão (*review*).

Para cada publicação científica recuperada na plataforma, foram registradas as informações: a) ano de publicação, b) média de citação de artigos por ano, c) periódico em que o trabalho foi publicado, d) índice H do periódico, e) área de concentração, f) palavras-chave e coocorrência entre elas, g) autores e coautores, h) artigos mais citados, i) índice H dos dez autores que mais publicaram, j) países da filiação de autores e coautores, k) colaboração entre países, instituições e periódicos, l) bioensaios realizados por ano e m) atividades biológicas verificadas em fungos endofíticos. A análise foi realizada no *software R* [21] com auxílio do pacote *bibliometrix* [22]. Para associação entre palavras-chave foi utilizado gráfico de coocorrência, a partir do algoritmo de agrupamento

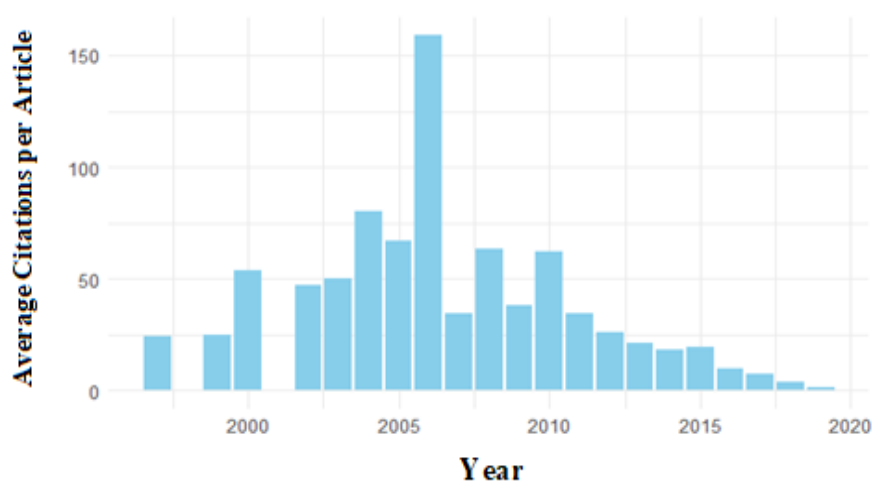
walktrap, o qual captura a estrutura da comunidade simulando *random walks* (passeios aleatórios) em redes [23]. Utilizou-se gráfico de fluxo (diagrama de Sankey) para apresentar a colaboração entre países, instituições e periódicos.

3. Resultados

A busca inicial resultou em 675 publicações científicas, das quais 458 atendiam à temática estudada, sendo 392 artigos originais, três artigos de correção e 63 artigos de revisão. As publicações recuperadas estão distribuídas em 197 periódicos. Além disso, foram encontradas 1329 palavras-chave e uma média de 18,87 citações por artigo. Apesar da busca ter incluído desde o ano de 1945, os primeiros trabalhos encontrados abordando essa temática datam de 1997 (n=2). Foi observado um aumento acentuado de trabalhos a partir de 2005. O maior número de trabalhos foi em 2018 (n=70) (Figura 1a). A maior média de citações por artigo foi em 2006 (n=159) (Figura 1b). O número expressivo de citações neste ano se deve ao artigo “Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence” publicado em *Journal of Natural Products* [24], que recebeu 528 citações, seguido pelos artigos “Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants” publicado no *World Journal of Microbiology & Biotechnology* [25], com 62 citações, e “Marinamide, a novel alkaloid and its methyl ester produced by the application of mixed fermentation technique to two mangrove endophytic fungi from the South China Sea” publicado no *Chinese Science Bulletin* [26], com 45 citações. Essa série temporal mostra a visibilidade dos artigos em 2006, com artigos de revisão e experimentais, trazendo uma ampla variedade e caracterização de moléculas bioativas. Por outro lado, os artigos publicados a partir de 2011 não atingiram repercussão científica suficiente para serem citados.



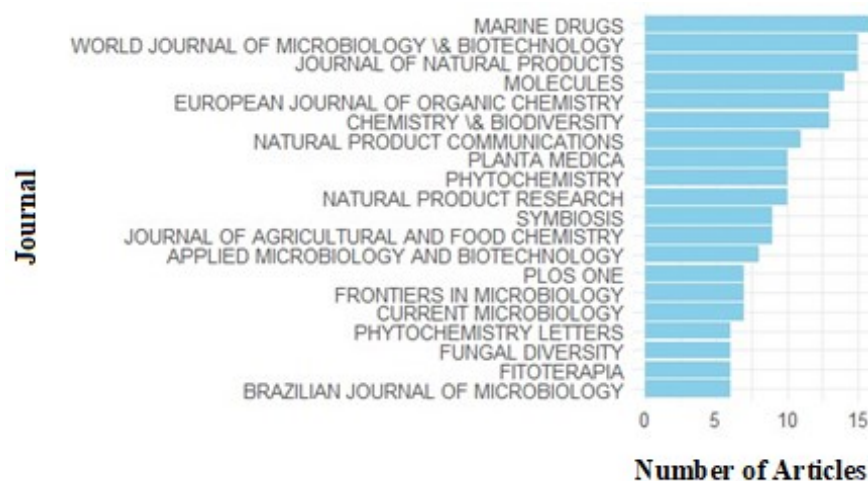
(a)



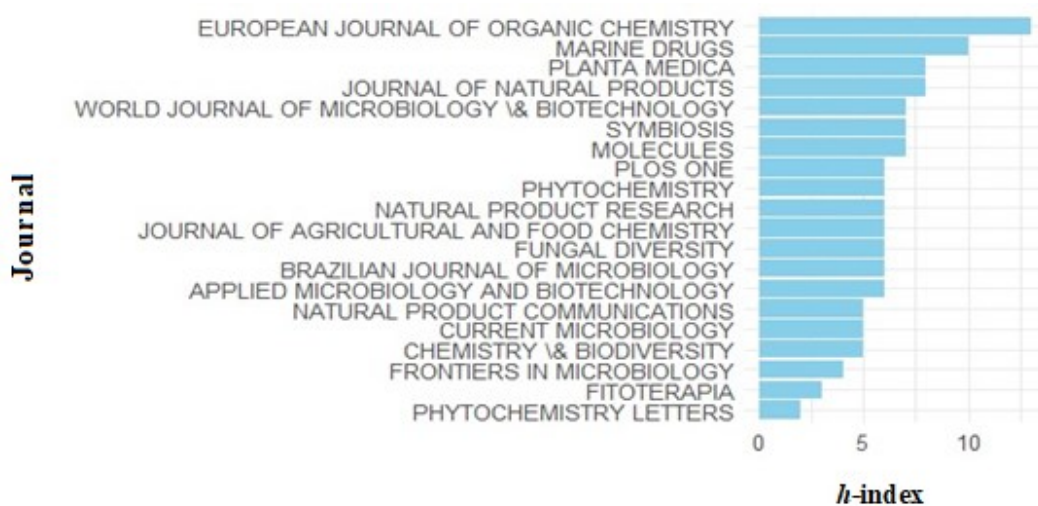
(b)

Figura 1 - Distribuição temporal (a) da produção científica e (b) da média de citações de artigos por ano. A curva exponencial crescente (a) denota a tendência geral (valor-p: 2.85^{-13}).

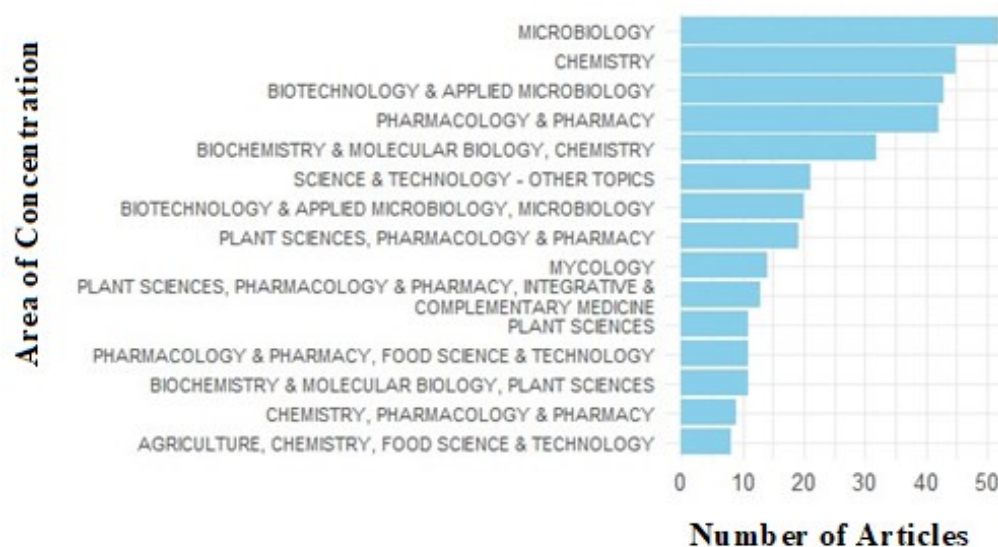
O periódico *Marine Drugs* foi o que apresentou o maior número de publicações ($n=16$), seguido por *World Journal of Microbiology & Biotechnology* ($n=15$) e *Journal of Natural Products* ($n=15$) (Figura 2a). Os periódicos com maior índice H foram *European Journal of Organic Chemistry* ($n=13$), seguido por *Marine Drugs* ($n=10$), *Planta Medica* ($n=8$) e *Journal of Natural Products* ($n=8$) (Figura 2b). Em relação à área de concentração, 52 trabalhos estão na área de “Microbiologia”, seguidos por “Química” ($n=45$), e “Biotecnologia e Microbiologia Aplicada” ($n=43$) (Figura 2c). Outras áreas de concentração também merecem destaque (e.g.: “Farmacologia e Farmácia”, “Bioquímica e Biologia Molecular” e “Ciência e Tecnologia”), sendo que 229 trabalhos se enquadram em duas ou mais áreas de concentração.



(a)



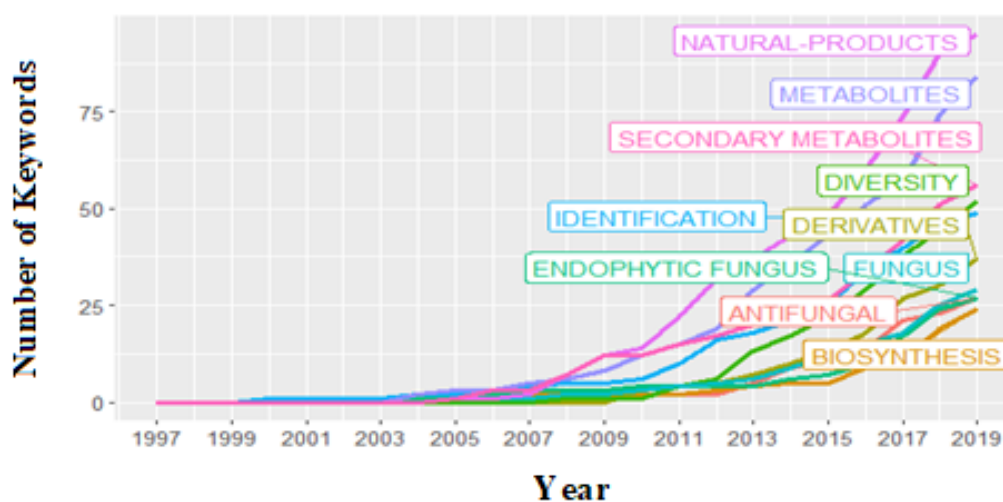
(b)



(c)

Figura 2 - Distribuição dos (a) artigos quanto ao periódico, (b) dos periódicos quanto ao índice H, (c) dos artigos quanto à área de concentração.

A busca por palavra-chave mais utilizada revelou que “natural-products” foi citada 95 vezes; seguida de “metabolites” e “secondary metabolites”, com 84 e 56 ocorrências, respectivamente (Figura 3a), as quais aparecem em destaque na rede de coocorrência (Figura 3b). A palavra-chave “natural-products” é utilizada com as palavras-chave “metabolites”, “identification”, “diversity”, “microorganisms”, dentre outras, assim como a palavra-chave “secondary metabolites” é utilizada com as palavras-chave “biological-activity”, “biological-activities”, “endophytic fungus”, “in-vitro”, “fungi”, dentre outras.

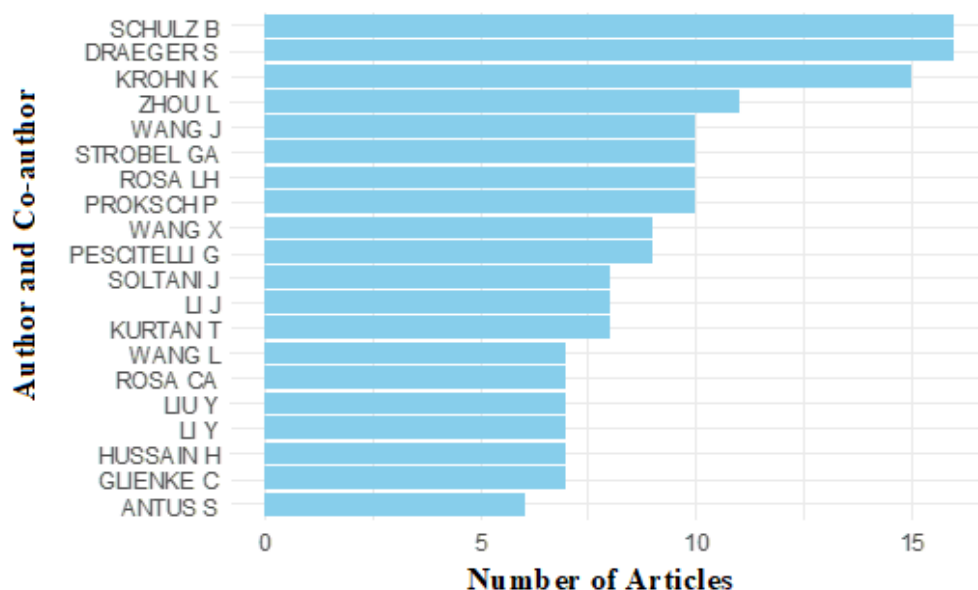


(a)

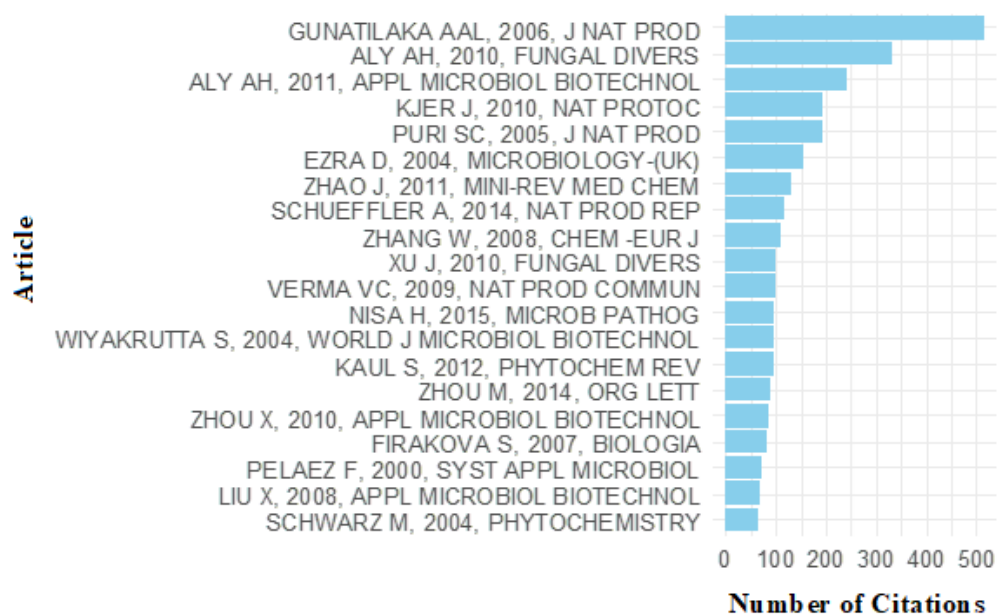
Figura 3 – Palavras-chave encontradas nos artigos, (a) dinâmica das mais frequentes, (b) rede de coocorrência das mais frequentes.

Os autores e coautores com maior número de publicações são Barbara Schulz (SCHULZ, B) e Siergfried Draeger (DRAEGER, S) (com 16 artigos cada), seguidos de Karsten Krohn (KROHN, K) (n=15) (Figura 4a). O artigo com maior número de citações é “Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence” (GUNATILAKA, 2006) [24] com 513 citações, o equivalente a 37 citações por ano (Figura 4b), o qual apresenta uma revisão de microrganismos associados a plantas, como recurso enorme e inexplorado de produtos naturais, com estruturas químicas de relevância biológica, com

ênfoque em fungos endofíticos.



(a)



(b)

Figura 4 – Distribuição (a) dos autores segundo o total de publicações, (b) dos artigos segundo o total de citações.

Dentre os autores que mais publicaram, Barbara Schulz e Siergfried Draeger, pertencem à mesma instituição de pesquisa, Universidade de Tecnologia de Braunschweig em Braunschweig na Alemanha. Dentre os 10 autores que mais publicaram, Peter Proksch da Universidade Heinrich

Heine de Dusseldorf em Dusseldorf na Alemanha, possui o maior índice H (n=58) (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição dos 10 autores que mais publicaram, quanto à instituição de filiação, país e índice H

Author and Co-author	Affiliation	Country	<i>h</i>-index
Barbara Schulz	Braunschweig University of Technology	Germany	37
Siegfried Draeger	Braunschweig University of Technology	Germany	33
Karsten Krohn	University of Paderborn	Germany	37
Ligang Zhou	China Agricultural University	China	30
Junfeng Wang	Chinese Academy of Sciences	China	22
Gary Allan Strobel	Montana State University	USA	56
Luiz Henrique Rosa	Universidade Federal de Minas Gerais	Brazil	23
Peter Proksch	Heinrich Heine University Dusseldorf	Germany	58
Xiaohan Wang	South China Agricultural University	China	11
Gennaro Pescitelli	University of Pisa	Italy	38

China foi o país com o maior número de pesquisas realizadas (412 artigos), seguido do Brasil (n=189) e Índia (n=160) (Figura 5a). Os EUA apresentam a maior rede de colaboração entre países, com China, Índia, Brasil, Egito e Reino Unido. As instituições que mais publicam entre diferentes periódicos são Universidade de São Paulo, Universidade Federal do Paraná e Universidade Federal de Minas Gerais (Brasil) e China Sun Yat-sen University, China Agricultural University e Zhejiang University (China). Também foi verificado que a University of Mississippi (EUA) foi a que obteve o maior número de publicações em diferentes periódicos (n=7). A Sun Yat-sen University (na China) foi a única instituição a publicar no periódico Marine Drugs (Figura 5b).

Figura 5 - Principais países (a) a sediar pesquisas sobre atividade biológica em fungos endofíticos, (b) instituições e periódicos no fluxo de colaboração das pesquisas.

As análises relacionadas à atividade biológica abordada nos 395 artigos experimentais revelam que houve 484 bioensaios (alguns trabalhos verificavam apenas uma atividade e outros mais de uma

atividade). A maioria dos bioensaios ocorreu a partir de 2014, sendo 2018 o ano com o maior número de registros (n=81), seguido por 2019 (n=79), 2016 (n=51), 2017 (n=48) e 2014 (n=42) (Figura 6).

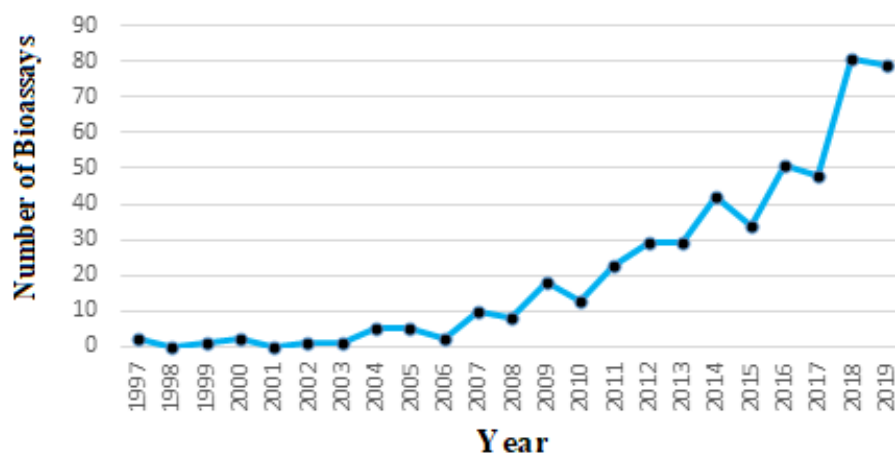


Figura 6 – Distribuição dos bioensaios descritos na literatura científica catalogada na base Web of Science, entre 1997 a 2019.

A categorização das atividades biológicas resultou em 12 grupos (e.g.: antimicrobiana, antitumoral, enzimática, antioxidante, inseticida, anti-inflamatória, imunomodulatória, antidiabética, estímulo a germinação de sementes, antiobesidade, antialgal, anti-hemólise). A atividade antimicrobiana (antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, antiviral) correspondeu a quase 50% dos bioensaios (n=208), seguida da atividade antitumoral (29%, n=140) e atividade enzimática (9%, n=44). Outros tipos de atividades (e.g.: antioxidante, inseticida, anti-inflamatória, imunomodulatória, antidiabética, estímulo a germinação de sementes, antiobesidade, antialgal, anti-hemólise) tiveram percentual inferior a 9% (Figura 7).

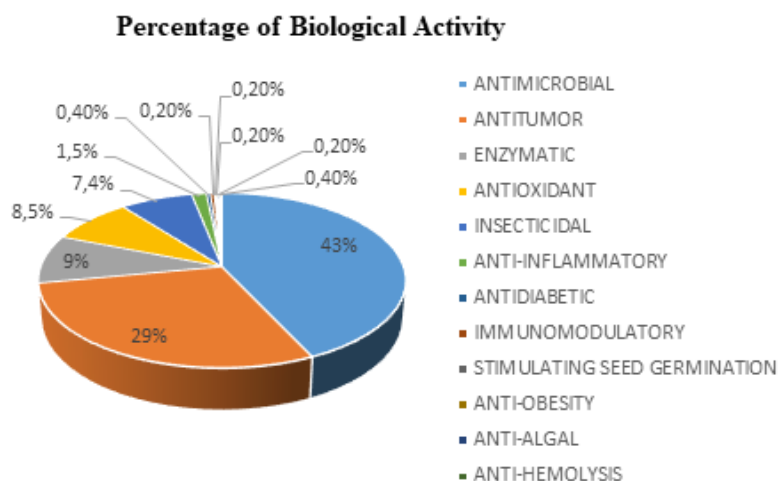


Figura 7 – Distribuição dos artigos segundo o tipo de atividade biológica.

4. Discussão

A evolução das publicações sobre atividade biológica em fungos endofíticos ao longo dos anos aponta o aumento do interesse dos pesquisadores pela descoberta de novos bioativos, levando-se em consideração que o número de trabalhos científicos é a forma mais eficaz para medir esse crescimento [27]. As primeiras publicações tiveram início em 1997, assim corroborando com o levantamento de Gupta *et al.* (2020) [28], que menciona que primeiros trabalhos experimentais envolvendo esse tema, ainda que poucos, datam da década de 90, marcando assim o início e apreciação dos pesquisadores pelos compostos bioativos desses microrganismos. Apesar dos primeiros estudos de importância biotecnológica de fungos endofíticos terem sido publicados na década de 1990, esses endófitos já haviam sido relatados em estudos anteriores (e.g.: desde 1866) e descritos em tecidos fossilizados de plantas, apontando que essa relação simbiótica mutualística é primitiva [29,30].

A partir da descoberta do potencial biotecnológico dos endófitos, foi observado aumento significativo da produção científica a partir de 2000, e isso se deve também ao maior financiamento mundial em universidades, oferecendo subsídios para formação acadêmica e investimento em ciência, além da atenção pelas aplicabilidades no tratamento das enfermidades [31]. O aumento de pesquisas científicas se deve pela constante busca de novos compostos bioativos com oportunidades de aplicações na medicina e biotecnologia [32]. Pandey *et al.* (2014) [32] apontaram que estas investigações continuarão avançando, trazendo melhores percepções dos compostos e suas atividades biológicas; fato observado neste estudo que demonstra um aumento significativo de publicações científicas em 2018 e 2019.

Pesquisas envolvendo atividade biológica em fungos endofíticos estão alinhadas em três grandes áreas de concentração (microbiologia [incluindo microbiologia aplicada], química e biotecnologia), isso porque os metabólitos e enzimas extracelulares produzidos por esses microrganismos podem ser aplicáveis em vários processos industriais e agrícolas [33]. Isso estimula o isolamento de fungos endofíticos de hospedeiros ainda não estudados, na busca de novos produtos naturais, e justifica a utilização das palavras-chave “produtos naturais”, “metabólitos” e “metabólitos secundários”. Strobel (2003) [7] aponta que a associação biológica entre endófito e planta hospedeira produza uma diversidade de metabólitos secundários, e que essa associação pode ter desenvolvido sistema genético que permite a transferência entre eles. Ainda, pelo fato das publicações serem realizadas em um curto e determinado tempo (Figura 1a) - menos de duas décadas - a interação entre pesquisadores pode explicar a repetição de metodologias, o que facilita a

discussão dos dados, e com isso, a repetição de palavras-chave [34].

Entre os dez autores com maior número de publicações, quatro (Barbara Schulz, Siergfried Draeger, Karsten Krohn e Peter Proksch) pertencem a instituições da Alemanha. O governo alemão vem projetando a pesquisa e inovação no eixo de suas políticas de crescimento, garantindo condições básicas e essenciais para um ambiente propício à educação [35]. Dentre essas políticas, destaca-se o programa *HightechStrategie* de 2005, que é o maior programa de pesquisa e inovação em andamento, além deste podem ser citadas outras políticas (e.g.: Iniciativa da Excelência, o Pacto da Educação Superior e o Pacto para Pesquisa e Inovação) que fomentam o progresso das pesquisas nas universidades [35].

No entanto, a China é o país que detém maior número de publicações numa avaliação entre autores e coautores, apontando investimentos em infraestrutura e financiamento de pesquisas, tanto por órgãos públicos quanto empresas privadas. A *National Science Foundation* (2018) [36] mostrou que desde 2000 a China aumentou seus investimentos em pesquisa e desenvolvimento, em uma média de 18% anual contra uma média de 4%, no mesmo período, dos EUA. Esse investimento já trouxe importantes mudanças desde 2018 quando a China ultrapassou os EUA em números de publicações [37], resultado semelhante observado no nosso estudo.

Os dados obtidos em nosso estudo estão em acordo com os obtidos por Gonçalves, Bastos e Hanna (2017) [38] que demonstraram que a China possui maior quantitativo de patentes envolvendo fungos endofíticos aplicados na área farmacêutica e cosmética (31 patentes, 86% dos documentos encontrados). O território chinês apresenta uma rica biodiversidade, sendo relatadas mais de 30 mil espécies de microrganismos, o que gera um grande potencial natural para pesquisas científicas de grande interesse para as indústrias farmacêuticas e de biotecnologia como setores estratégicos. A meta das indústrias é o desenvolvimento e comercialização de medicamentos inovadores, principalmente para o tratamento de doenças crônicas e infecções [39]. Outros países em desenvolvimento, como Brasil e Índia, aparecem no *ranking* dos que mais publicaram atestando atividade biológica em fungos endofíticos, e, portanto, também se interessam em novas pesquisas nessa área estratégica de desenvolvimento. Apesar de o Brasil ocupar a segunda colocação de países com maior número de publicações, Gonçalves, Bastos e Hanna (2017) [38] mencionam que ainda são necessários maiores investimentos nas universidades para o desenvolvimento de novas tecnologias, sendo registradas poucas patentes relacionadas a fungos endofíticos e suas aplicabilidades na base de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI).

Os periódicos que mais publicaram artigos comprovando atividades biológicas em fungos endofíticos, *Marine Drugs* (3,5%), *World Journal of Microbiology & Biotechnology* (3,3%) e *Journal of Natural Products* (3,3%) são responsáveis por pouco mais de 10% das publicações que

contribuem com a bioquímica dos endófitos, sejam por hospedeiras terrestre ou marinha. Com relação ao periódico com maior índice H, foi verificado que o *European Journal Organic Chemistry*, entre 2005 e 2006 já estava na 4ª colocação no *ranking* desse índice [40], e, assim, apresentou um avanço no número de publicações, tornando-se um dos 20 periódicos mais relevantes na área de química orgânica.

Os EUA são o país com predominância de rede de colaboração das pesquisas, merecendo destaque, uma vez que apresenta disparidade de conhecimento técnico-científico em bioprospecção utilizando fungos [41], o que leva à existência cada vez maior de cooperação e troca de conhecimento com países em desenvolvimento, com destaques para a China, Índia e Brasil. A maior quantidade de bioensaios realizados em 2018 (17%), 2019 (16%), 2016 (11%), e 2017 (10%), foi responsável por quase 55% do total das pesquisas, demonstrando uma tendência de crescimento.

Os princípios ativos estudados comprovaram com maior frequência propriedades antimicrobianas em quase metade dos bioensaios, dada a importância clínica de microrganismos patogênicos, especialmente bactérias resistentes a drogas, o que justifica a busca por substâncias com novas atividades antimicrobianas [42]. Além disso, quase 30% dos bioensaios comprovaram propriedades antitumorais, com novas perspectivas para explorar drogas contra o câncer. Pelo grande valor econômico dessas terapias, Chen *et al.* (2014) [43] relataram que entre 2010 e 2013, cerca de 100 pesquisas com metabólitos secundários de fungos endofíticos com essas propriedades estavam em andamento, principalmente na China e Índia, e pelo menos 30 novos metabólitos foram isolados.

5. Conclusões

A análise das publicações envolvendo atividade biológica em fungos endofíticos revelou uma tendência de crescimento no número de trabalhos a partir da década 2000, sendo China, Brasil e Índia os países que conduziram o maior número dessas pesquisas. Além disso, os periódicos que mais publicaram artigos científicos com resultados de bioatividade de fungos endofíticos foram *Marine Drugs*, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, *Journal of Natural Products*, *Molecules* e *European Journal of Organic Chemistry*, sendo este último o de maior índice H. O rápido e importante aumento no número de bioensaios entre 2016 e 2019 aponta a evolução da produção científica no mundo, e que países em desenvolvimento tem se preocupado em buscar novas fontes de compostos bioativos nos microrganismos endofíticos. Destacaram-se os estudos que comprovaram propriedades antimicrobianas e antitumorais, sendo as atividades mais encontradas, com possibilidade de aplicações futuras.

Contribuições dos autores

Conceitualização, análise dos dados e escrita do artigo, IRS e SXS; redação – revisão, LLB, DDCC, JDPB, AMAA e SXS.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Goiás (UEG) pela bolsa de estudo concedida ao autor IRS.

Conflitos de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

Referências

1. Rana, KL; Kour, D; Sheikh, I; Yadav, N; Yadav, AN; Kumar, V; Singh, BP; Dhaliwal, HS; Saxena, AK. Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. *Advances in Endophytic Fungal Research*. **2019a**, 105-144.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-03589-1_6
2. Rana, KL; Kour, D; Sheikh, I; Dhiman, A; Yadav, N; Yadav, AN.; Rastegari, AA; Singh, K; Saxena, AK. Endophytic fungi: Biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi*, **2019b**, 1-62.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_1
3. Rodriguez, R; Redman, R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, **2008**, 59, 5, 1109-1114.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erm342>
4. Schulz, B; Boyle, C; Draeger, S; Rommert, AK; Krohn, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*, **2002**, 106, 9, 996-1004.
<https://doi.org/10.1017/S0953756202006342>
5. Saikkonen, K; Wali, P; Helander, M; Faeth, SH. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends in Plant Science*, **2004**, 9, 6, 275-280.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.04.005>
6. Saikkonen, K; Faeth, SH; Helander, M; Sullivan, TJ. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **1998**, 29, 319-343.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319>
7. Strobel, G. A. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, **2003**, 5, 6, 535-544.
[https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00073-X)
8. Gangadevi, V; Muthumary, J. A novel endophytic taxol-producing fungus *Chaetomella raphigera* isolated from a medicinal plant, *Terminalia arjuna*. *Applied Biochemistry and*

Biotechnology, **2009**, 158, 3, 675-684.

<https://doi.org/10.1007/s12010-009-8532-0>

9. Strobel, G; Daisy, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **2003**, 67, 4, 491-502.

<https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003>

10. Chapla, VM; Biasetto, CR; ARAUJO, AR. Fungos endofíticos: uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. *Revista Virtual de Química*, **2013**, 5, 3, 421-437.

<http://hdl.handle.net/11449/75343>

11. Peixoto Neto, PAS; Azevedo, JL; Araújo, WL. Microrganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, **2002**, 29, 62-76.

12. Jia, M; Chen, L; Xin, HL; Zheng, CJ; Rahman, K; Han, T; Qin, LP. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in Microbiology*, **2016**, 7, 906.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00906>

13. Gangadevi, V; Muthumary, J. Taxol production by *Pestalotiopsis terminaliae*, an endophytic fungus of *Terminalia arjuna* (arjun tree). *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **2009**, 52, 9–15.

<https://doi.org/10.1042/BA20070243>

14. Chen, L; Zhang, QY; Jia, M; Ming, QL; Yue, W; Rahman, K; Qin, LP; Han, T. Endophytic fungi with antitumor activities: Their occurrence and anticancer compounds. *Critical Reviews Microbiology*, **2016**, 42, 454–473.

<https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.959892>

15. Venieraki, A; Dimou, M; Katinakis, P. Endophytic fungi residing in medicinal plants have the ability to produce the same or similar pharmacologically active secondary metabolites as their hosts. *Hellenic Plant Protection Journal*, **2017**, 10, 2, 51-66, 2017.

<https://doi.org/10.1515/hppj-2017-0006>

16. Atanasov, AG; Waltenberger, B; Pferschy-Wenzig, EM; Linder, T; Wawrosch, C; Uhrin, P; Temml, V; Wang, L; Schwaiger, S; Heiss, EH; Rollinger, JM; Schuster, D; Breuss, JM; Bochkov, V; Mihovilovic, MD; Kopp, B; Bauer, R; Dirsch, VM; Stuppner, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, **2015**, 33, 8, 1582-1614.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>

17. Jalgaonwala, RE; Mohite, BV; Mahajan, RT. A review: Natural products from plant associated endophytic fungi. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, **2011**, 1, 2, 21-32.

18. Rashmi, M; Kushveer, JS; Sarma, VV. A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity. *Mycosphere*, **2019**, 10, 1, 798-1079.

<https://doi.org/10.5943/mycosphere/10/1/19>

19. McGrath, W. What bibliometricians, scientometricians and informetricians study – a typology

for definition and classification, and topics for discussion. *In: International Conference on Bibliometrics, Scientometrics and Informetrics, 2. Proceedings...* Ontario: The University of Western Ontario, **1989**.

20. Macias-Chapula, CA. O papel da informetria e da cienciometria e sua perspectiva nacional e internacional. *Ciência da Informação*, **1998**, 27, 2, 134-140.

<https://doi.org/10.1590/S0100-19651998000200005>

21. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. Disponível: [<https://www.R-project.org/>](https://www.R-project.org/).

22. Aria, M; Cuccurullo, C. *Bibliometrix*: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, **2017**, 11, 4, 959-975.

<https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>

23. Pons, P; Latapy, M. Computing communities in large networks using random walks. *In: Yolum, P; Gung, T; Gurgen, F; Ozturan, C (eds.). Computer and Information Sciences – ISCIS’05*, v. 3733, chap. 31, Springer, Berlin, Heidelberg, **2005**, 284-293.

https://doi.org/10.1007/11569596_31

24. Gunatilaka, AAL. Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of Natural Products*, **2006**, 69, 3, 509-526.

<https://doi.org/10.1021/np058128n>

25. Sette, LD; Passarini, MRZ; Delarmelina, C; Salati, F; Duarte, MCT. Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **2006**, 22, 11, 1185-1195.

<https://doi.org/10.1007/s11274-006-9160-2>

26. Zhu, F; Lin, Y. Marinamide, a novel alkaloid and its methyl ester produced by the application of mixed fermentation technique to two mangrove endophytic fungi from the South China Sea. *Chinese Science Bulletin*, **2006**, 51, 12, 1426-1430.

<https://doi.org/10.1007/s11434-006-1426-4>

27. Verbeek, A; Debackere, K; Luwel, M; Zimmermann, E. Measuring progress and evolution in science and technology – I: The multiple uses of bibliometric indicators. *International Journal of Management Reviews*, **2002**, 4, 2, 179-211.

<https://doi.org/10.1111/1468-2370.00083>

28. Gupta, S; Chaturved, P; Kulkarni, MG; Staden, JV. A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endophytic fungi. *Biotechnology Advances*, **2020**, 39, 107462.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107462>

29. Redecker, D; Kodner, R; Graham, LE. Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, **2000**, 289, 5486, 1920-1921.

<https://doi.org/10.1126/science.289.5486.1920>

30. Krings, M; Taylor, TN; Hass, H; Kerp, H; Dotzler, N; Hermsen, EJ. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New*

Phytologist, **2007**, 174, 3, 648-657.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02008.x>

31. Frank, DJ; Meyer, JW. University expansion and the knowledge society. *Theory and Society*, **2007**, 36, 4, 287-311.

<https://doi.org/10.1007/s11186-007-9035-z>

32. Pandey, PK; Singh, S; Yadav, RNS; Singh, AK; Singh, MCK. Fungal endophytes: Promising tools for pharmaceutical science. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **2014**, 52, 2, 128-138.

33. Yadav, AN. Biodiversity and biotechnological applications of host-specific endophytic fungi for sustainable agriculture and allied sectors. *Acta Scientific Microbiology*, **2018**, 1, 5, 1-5.

34. Chen, X; Chen, J; Wu, D; Xie, Y; Li, J. Mapping the research trends by co-word analysis based on keywords from funded project. *Procedia Computer Science*, **2016**, 91, 547-555.

<https://doi.org/10.1016/j.procs.2016.07.140>

35. Neves, CEB; Neves, FM. Pesquisa e inovação: novos desafios para a educação superior no Brasil e na Alemanha. *Caderno CRH*, **2011**, 24, 63, 481-501.

<https://doi.org/10.1590/S0103-49792011000300003>

36. National Science Foundation. State of US science enterprise report shows US leads in S&E as China rapidly advances. 2018. Disponível:

https://www.nsf.gov/news/news_summ.jsp?cntn_id=244271&org=NSF&from=news.

37. Nature. China declared world's largest producer of scientific articles. 2018. Disponível:

<https://www.nature.com/articles/d41586-018-00927-4>.

38. Gonçalves, B; Bastos, E; Hanna, S. Prospecção tecnológica de fungos endofíticos e aplicações na indústria farmacêutica. *Cadernos de Prospecção*, **2017**, 10, 1, 56-67.

<http://dx.doi.org/10.9771/cp.v10i1.20114>

39. Li, Y. Imitation to innovation in China: the role of patents in biotechnology and pharmaceutical industries. US: Edward Elgar, **2010**, 208 p.

40. Bornmann, L; Marx, W; Schier, H. Hirsch-type index values for organic chemistry journals: a comparison of new metrics with the journal impact factor. *European Journal of Organic Chemistry*, **2009**, 10, 1471-1476.

<https://doi.org/10.1002/ejoc.200801243>

41. Lima, RA; Velho, LMLS; Faria, LIL. Delimitação de uma área multidisciplinar para análise bibliométrica de produção científica: o caso da Bioprospecção. *TransInformação*, **2007**, 9, 2, 153-168.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-37862007000200006>

42. Schmitt, EK; Moore, CM; Krastel, P; Petersen, F. Natural products as catalysts for innovation: a pharmaceutical industry perspective. *Current Opinion in Chemical Biology*, **2011**, 15, 4, 497-504.

<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.05.018>

43. Chen, L; Zhang, QY; Jia, M; Ming, QL; Yue, W; Rahman, K; Qin, LP; Han, T. Endophytic fungi with antitumor activities: Their occurrence and anticancer compounds. *Critical Reviews in Microbiology*, **2014**, 42, 3, 454-473.
<https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.959892>

ARTIGO 2

Manuscrito publicado na revista científica *Journal of Fungi* (JCR 2020: 5.816), e, portanto, encontra-se formatado segundo as normas de submissão.

Atividade biológica de fungos endofíticos de *Palicourea rigida* Kunth (Rubiaceae), uma planta medicinal do Cerrado brasileiro

Igor Romeiro dos Santos¹, Ahmed M. Abdel-Azeem², Marwa T. Moheisen³, Magdalena Piekutowska⁴, Donia H. Sheir⁵, Lucas Leonardo da Silva¹, Camila da Silva Castro¹, Daniel Diego Costa Carvalho⁶, Jadson Diogo Pereira Bezerra⁷, Hosam A. Saad⁸, Leonardo Luiz Borges¹, Solange Xavier-Santos¹

¹ Laboratório de Micologia Básica, Aplicada e Divulgação Científica – FungiLab, Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Central, Anápolis, Goiás, Brasil.

² Botany and Microbiology Department, Faculty of Science, Suez Canal University, Ismailia, Egypt.

³ Botany and Microbiology Department, Faculty of Science, Damietta University, New Damietta, Egypt.

⁴ Department of Geoecology and Geoinformation, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Stupsk, Partyzantów, Stupsk, Poland.

⁵ National Research Centre, Chemistry of Natural and Microbial Products Department, Pharmaceutical Industries Division, Giza, Egypt.

⁶ Laboratório de Fitopatologia, Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Sudeste, Ipameri, Goiás, Brasil.

⁷ Setor de Micologia, Departamento de Biociências e Tecnologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

⁸ Department of Chemistry, College of Science, Taif University, Taif, Saudi Arabia.

Resumo

Uma infinidade de plantas do Cerrado brasileiro são conhecidas por suas propriedades medicinais, muitas das quais são atribuídas aos fungos endófitos que nelas habitam. Essa interação resulta na produção de compostos bioativos tanto pela planta quanto pelos endófitos. Esse estudo teve por objetivo realizar a bioprospecção da atividade biológica em fungos endofíticos isolados de folhas da planta medicinal *Palicourea rigida* Kunth, nativa do Cerrado. Quatro isolados fúngicos (*Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, *Botryosphaeriales* SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652) foram cultivados sob agitação, em caldo Czapek-Dox, nos quais foi detectada a presença de fenóis e flavonoides, além da produção de amilase, celulase, protease e tanase, e ainda atividade antioxidante em teores menores e moderados, sendo 5,6804; 22,4748; 11,8528; e 27,4803 mg.mL⁻¹, respectivamente, quando se avaliou o sequestro de radicais livres (DPPH) e 8,0917; 47,0602; 0; e 32,2691 mol Fe²⁺.mg⁻¹, respectivamente, para a redução de sulfato ferroso (FRAP). A análise da atividade antimicrobiana mostrou que o extrato de *Botryosphaeriales* SXS651 apresentou uma concentração mínima inibitória (CMI) de 23,20 mg.mL⁻¹ contra *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*; e *Diaporthe* sp. SXS652 apresentou CMI de 27,00 mg.mL⁻¹ contra *Escherichia coli*. Na avaliação antitumoral, o isolado *Colletotrichum* sp. SXS649 apresentou inibição de tumores em discos de batata em 69%, na concentração de 9,70 mg.mL⁻¹. Todos os isolados se mostraram eficientes agentes da biorremediação de solo contaminado com óleo de soja, de modo que o solo tratado com esses isolados permitiram uma taxa de germinação de *Lactuca sativa* superior, com redução da fitotoxicidade acima de 20%. Além disso, todos os isolados mostraram ação antagonística aos fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger*, *Inonotus rickii*, *Pestalotiopsis mangiferae* e *Coniophora puteana* (taxa de inibição entre 34,2 e 76,9%). Na avaliação

da toxicidade preliminar, todos os isolados apresentaram alta toxicidade ($CL_{50} < 100 \text{ mg.mL}^{-1}$) ao microcrustáceo *Artemia salina*. Os resultados obtidos revelam que os fungos endofíticos estudados são promissores candidatos para serem empregados em processos biotecnológicos, como agentes terapêuticos; em processos de biorremediação de solos; e na agricultura para o controle biológico de fungos fitopatogênicos. No entanto, são necessários novos ensaios verificando a toxicidade.

Palavras-chave: Potencial biotecnológico; bioprospecção; metabólitos secundários; produtos naturais.

Introdução

O Cerrado brasileiro é a maior região de vegetação de savana tropical do mundo, sendo um dos principais hotspots de biodiversidade, com muitas espécies endêmicas e algumas ameaçadas (Mittermeier et al., 2005; Coelho et al., 2020). Uma grande parcela da biodiversidade do Cerrado é constituída por plantas medicinais, as quais são utilizadas na medicina popular ou em rituais religiosos (Mussi-Dias et al., 2012). Além disso, muitas plantas medicinais do Cerrado têm sido processadas pela indústria farmacêutica para obtenção de substâncias bioativas, ou utilizadas como medicamento fitoterápico (Da Silva, Confortin & Swamy, 2021).

Produtos naturais contendo metabólitos secundários são importantes indicadores de bioatividade das espécies vegetais (Newman & Cragg, 2012). Além das plantas, microrganismos endofíticos também vêm sendo explorados para obtenção desses compostos (Rajamanikyam et al., 2017). Diversos tecidos das plantas abrigam microrganismos endofíticos que desempenham proteção contra pragas e patógenos, auxiliando no crescimento vegetal, resistência a estresses, produção de enzimas e outros metabólitos (Sun & Guo, 2012). Em contrapartida, os fungos endofíticos recebem nutrientes e proteção do hospedeiro (Vasundhara, Reddy & Kumar, 2019). A exploração mundial de plantas medicinais tem levado à perda da diversidade, o que reforça a necessidade de investigação e descobertas de diferentes fontes de compostos bioativos (Gupta et al., 2020). Os fungos são fontes valiosas de produtos naturais com potenciais diversos (Stierle, Strobel & Stierle, 1993; Zheng et al., 2021).

Nos últimos anos, diversas atividades biológicas têm sido verificadas em produtos naturais de fungos endofíticos com potenciais aplicações biotecnológicas. Apesar disso, pesquisas de bioprospecção em endófitos ainda necessitam de grande atenção, visto que existem poucas produções a partir deles no mercado farmacêutico (Kumara et al., 2012; Gupta et al., 2020). As principais atividades biológicas de fungos endofíticos são antimicrobiana (Phongpaichit et al., 2006; Chutulo & Raju, 2020), antitumoral (Cui, Guo & Xiao, 2011; Chen et al., 2016), enzimática (Bhagobaty & Joshi, 2012), antioxidante (Huang et al., 2007; Nuraini, Setyaningsih & Susilowati, 2019), e inseticida (Hu et al., 2005; Rosa et al., 2011). Diversos produtos naturais de fungos endofíticos isolados de plantas medicinais do Cerrado brasileiro são relatados na literatura, os quais destacam atividade antimicrobiana e anticâncer de endófitos de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Carvalho et al., 2012), e de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Vieira et al., 2014) e atividade antioxidante e anticolinesterásica de fungos endofíticos de *Casearia sylvestris* Sw. (Chapla et al., 2018).

Palicourea rigida Kunth (Rubiaceae) é uma planta medicinal nativa do Cerrado utilizada na medicina popular para o tratamentos de desordens urinárias e do sistema reprodutor feminino (Rosa et al., 2010a; Moraes et al., 2017) e também como diurética, hipotensora, cicatrizante e ainda no tratamento de dores estomacais, renais e tosses (Pinheiro et al., 2018). No entanto, sua micobiota endofítica ainda não foi estudada, tampouco quanto propriedades bioativas desses fungos. Esse trabalho teve por objetivo promover a bioprospecção da atividade biológica de fungos endofíticos

isolados de folhas de *P. rigida* quanto ao potencial enzimático, antioxidante, antimicrobiano, antitumoral, biorremediativo, antagonístico e de toxicidade.

Material e métodos

Área de coleta e obtenção dos fungos endofíticos

Os fungos endofíticos estudados foram isolados de folhas de *P. rigida* da Reserva Ecológica da UEG (REC-UEG), um fragmento de cerrado *sensu stricto* localizado no Câmpus Central da Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Goiás (16°23'40''S e 37°57'32''W) (Figura 1). A área é caracterizada pelas fitofisionomias cerrado *sensu stricto*, mata seca e mata de galeria (Barreto & Angelini, 2003). O clima da região é do tipo Cwb (tropical de altitude, com inverno seco e verão quente e úmido) segundo a classificação de Koppen (Cardoso & Marcuzzo, 2014).

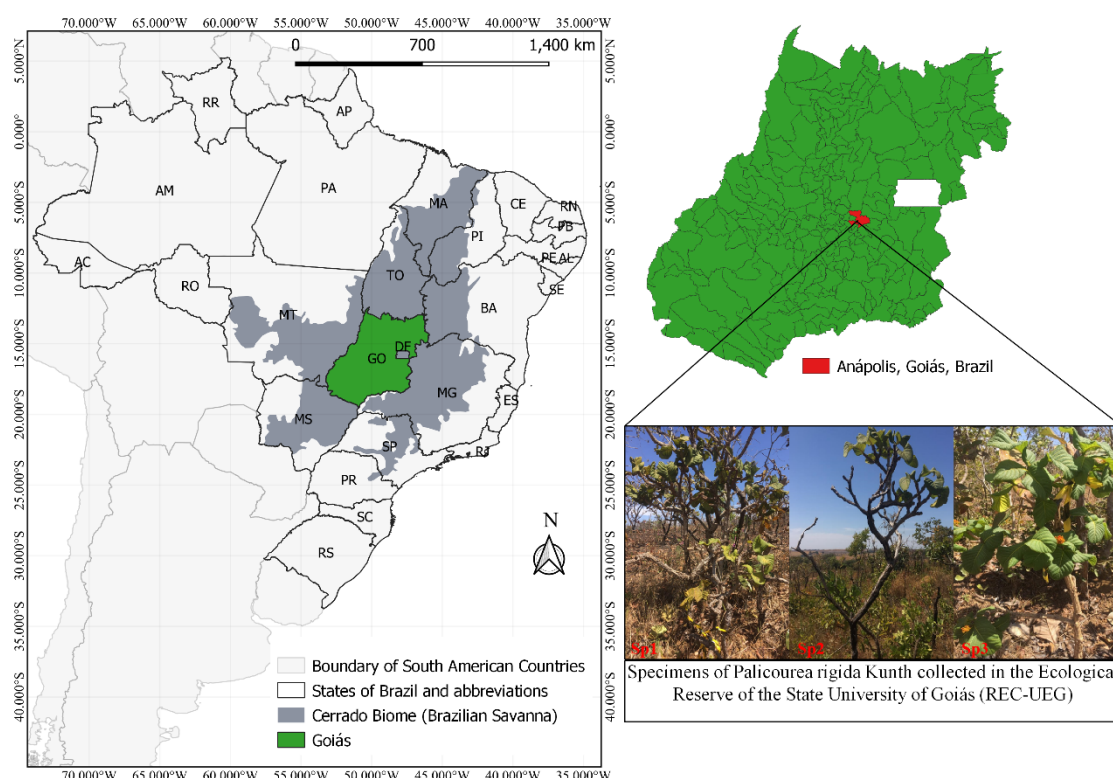


Figura 1. Localização geográfica da Reserva Ecológica da UEG (REC-UEG), Anápolis, Goiás, Brasil e espécimes de *Palicourea rigida* amostrados.

Foram selecionados três espécimes sadios de *P. rigida* localizados no cerrado *sensu stricto*, nos pontos assim georreferenciados: 1) 16°22'53''S e 48°56'39''W, 2) 16°22'43''S e 48°56'34''W e 3) 16°22'14''S e 48°56'30''W. Uma amostra da planta foi incorporada ao acervo do Herbário da Universidade Estadual de Goiás (HUEG), sob o seguinte código de acesso: HUEG 13846.

Folhas foram coletadas para o isolamento de fungos endofíticos utilizando-se metodologia adaptada de Rosa et al. (2010b). Primeiramente, elas foram lavadas em água corrente para retirada de resíduos de poeira, em seguida, imersos em etanol 70% por um minuto, em seguida transferidos para solução hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo) por três minutos, e novamente imersos em etanol 70% por 30 segundos, seguido por duas vezes em água destilada esterilizada. Fragmentos de aproximadamente 3 a 5 mm² foram cortados com auxílio de uma tesoura.

Os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) suplementado com antibiótico cloranfenicol ($100 \mu\text{g.mL}^{-1}$) para restringir o crescimento bacteriano. As placas foram incubadas a $27 \pm 2^\circ\text{C}$ por até 60 dias e monitoradas semanalmente. Cada colônia de fungo visualizada foi transferida para uma nova placa contendo meio BDA para obtenção de culturas puras. Entre os isolados obtidos, quatro (SXS649, SXS650, SXS651 e SXS652) apresentaram crescimento vigoroso e foram selecionados para a bioprospecção da atividade biológica. Culturas desses isolados preservadas pelo método proposto por Castellani (1939) foram incorporadas à coleção de culturas do Laboratório de Micologia Básica, Aplicada e Divulgação Científica da UEG (FungiLab). Isolados endofíticos representativos também foram depositados na coleção de trabalho de Jadson D. P. Bezerra (Coleção de Culturas de Fungos da Universidade Federal de Goiás - FCCUFG) no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

Cultivo para prospecção de compostos bioativos e atividade biológica

Para obtenção dos metabólitos dos fungos estudados, foi utilizada a metodologia de Bagheri et al. (2013). Seis discos de 12 mm^2 de cultura de cada isolado crescido em placa com BDA por 7 dias foram transferidos para frascos de Erlenmeyer (500 mL), contendo 300 mL de caldo Czapek-Dox (NaNO_3 , 3 g; K_2HPO_3 , 1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g; KCl, 0,5 g; FeSO_4 , 0,01 g; sacarose, 30 g; água destilada, 1000 mL). As culturas foram incubadas por 30 dias a 27°C , em agitador rotativo a 150 rpm. Após o período de incubação, o material foi filtrado utilizando água destilada esterilizada como solvente e o sobrenadante (extrato contendo os metabólitos fúngicos) armazenado a 10°C , para ser empregado nos ensaios para detecção de compostos bioativos e atividade biológica. Todos os cultivos e ensaios foram realizados em triplicata.

Rastreio quali quantitativo dos metabólitos secundários ou especiais

Foi realizado o rastreio qualitativo dos extratos fúngicos quanto à presença de saponinas, esteroides, alcaloides, fenóis e flavonoides seguindo metodologia de Aly et al. (2010); Devi, Shankar & Sutha (2012); e Ikram et al. (2019).

Para a determinação quantitativa do teor de fenóis totais foi adotada a metodologia de Singleton & Rossi (1965), que consistiu na utilização de alíquotas de 0,1 mL de cada extrato fúngico em tubos de ensaio, adicionando-se $0,6 \text{ mg.mL}^{-1}$ de ácido gálico e posterior transferência para balões volumétricos contendo 2 mL de água destilada. Foi adicionado 100 μL da solução de ácido gálico em tubos de ensaio, acrescentando 2 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 5 minutos, adicionou 2 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3), completando o volume para 900 μL com água destilada. Após 120 minutos na ausência de luz, a absorbância foi medida a 760 nm em espectrofotômetro digital (Mod. IL-592-Kazuaki), utilizando como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 200, 400, 600, 800 e 1000 μL para construção da curva. Por meio da equação da reta obtida na curva do gráfico do padrão, foi realizado o cálculo do teor de fenóis totais, sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico em 1 mL de extrato fúngico.

A determinação do teor de flavonoides totais foi realizada a partir da metodologia de Rolim et al. (2006), utilizando rutina (3-*O*-rutinosideo-quercetina) como padrão. Alíquotas de 1 mL de cada amostra dos extratos fúngicos, em triplicata, foram adicionados em 100 mL de solução de metanol ácido acético 0,02M (99:1). Após repouso de 40 minutos na ausência de luz, a absorbância foi medida a 316 nm em espectrofotômetro digital (Mod. IL-592-Kazuaki). O conteúdo de flavonoides totais foi determinado usando curva padrão de rutina nas concentrações de 100, 200, 300, 400 e 500 μL , completando-se volume para 2 mL com solução de metanol. Por meio da equação da reta obtida na curva do gráfico padrão, foi realizado o cálculo do teor de flavonoides totais, sendo os resultados expressos em mg de rutina em 1 mL de extrato fúngico.

Os extratos foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) para separação dos componentes das amostras. As análises foram realizadas em cromatógrafo Waters® modelo HPLC Alliance® com módulo de separação e2695, detector de arranjo de diodo (DAD) 2998 e sistema de processamento de dados Empower 2.0. As separações cromatográficas foram conduzidas em coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 de fase reversa (250 x 4,6 mm², 5 µm) e utilizando como fase móvel 0,05% ácido fórmico em acetonitrila grau HPLC (pH=3,45) (solvente A) e 0,05% ácido fórmico em água ultrapura (Mili-Q®) (pH=3,15) (solvente B) em fluxo de 1 mL/min. O seguinte gradiente de fase móvel foi aplicado: 0%-5% A (0-5 min); 5%-10% A (5-15 min); 10%-15% A (15-25 min), 15%-20% A (25-35 min) e 15 min isocrático de 20% A (35-50 min). O volume de injeção foi de 10 µL, à temperatura de 35 °C. A fase móvel foi previamente filtrada em membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) de 0,45 µm (Millex®) e desgaseificada em banho de ultrassom (USC 1800A, 40 kHz, Uniques).

Assim, 1 mL de cada extrato fúngico foi diluído em 2 mL de metanol grau HPLC e os padrões (Sigma Aldrich, Brasil) preparados na concentração de 0,25 mg.mL⁻¹, em metanol grau HPLC. Foi avaliada qualitativamente a presença de ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, cafeína, catequina, epicatequina e naringina. Os comprimentos de onda utilizados para detecção foram 254, 327 e 366 nm. A identificação dos compostos no extrato foi realizada por comparação entre os tempos de retenção (Tr) e o espectro de absorção ultravioleta (UV) (190 a 400 nm) dos picos obtidos. As soluções foram previamente filtradas em membrana de 0,45 µm Millex®.

Determinação do teor de sólidos

Para a determinação do teor de sólidos, uma alíquota de 1 mL de cada extrato fúngico foi depositada numa balança com elemento de aquecimento halógeno (Ohaus®-MB35), e submetida a 105°C entre 5 a 10 minutos. O resultado foi expresso pela média de três determinações, em percentual, obtendo-se, assim, por diferença o teor de sólidos (% teor de voláteis – 100 = % teor de sólidos). As concentrações totais de cada extrato fúngico são apresentadas na Tabela 1, assim como as quatro concentrações padronizadas. Os valores foram utilizados como referência para avaliação da atividade antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e de toxicidade.

Tabela 1. Concentração total do teor de sólidos dos extratos fúngicos e padronização das concentrações para avaliação da atividade antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e toxicidade

Extrato fúngico	Total de teor de sólidos (%)	Concentração 1 (mg.mL ⁻¹)	Concentração 2 (mg.mL ⁻¹)	Concentração 3 (mg.mL ⁻¹)	Concentração 4 (mg.mL ⁻¹)
SXS649	0,97	9,70	4,85	2,42	1,21
SXS650	2,52	25,20	12,60	6,30	3,15
SXS651	2,32	23,20	11,60	5,80	2,90
SXS652	2,70	27,00	13,50	6,75	3,37

Rastreo da produção de enzimas

A determinação da atividade das enzimas amilase, celulase, protease, lipase, pectinase e tanase, seguiu metodologias adaptadas de Pontecorvo et al. (1953) e Hankin & Anagnostakis (1975). As colônias foram cultivadas em placas de Petri contendo BDA durante cinco dias, em estufa BOD, a 27°C. Dado este período, um disco de cultura de 6 mm² de diâmetro foi inoculado no centro da placa de Petri contendo meio mínimo basal sólido (NaNO₃, 6g; KH₂PO₄, 1,5 g; MgSO₄.7H₂O, 0,5 g;

FeSO₄, 0,02 g; ZnSO₄, 0,02 g; ágar, 20 g; água destilada 1000 mL), com as respectivas fontes de carbono, ou seja, amido de milho (5 g) para detecção de amilases; carboximetilcelulose 10% (5 g) para celulases; leite desnatado (20 g) para proteases; Tween 80 (5 mL) para lipases, pectina (5 g) para pectinases, e ácido tânico (5 g) para tanases. As placas foram incubadas a 25°C durante cinco dias, em que a presença ou ausência de formação de halo em torno da colônia indicou a capacidade de produção das enzimas. Para revelação do halo de amilases usou-se solução de lugol, para celulases usou-se solução vermelho congo 0,1% e em seguida lavou-se as placas com NaCl, para proteases usou-se solução azul de metileno 1%, pectinases usou-se solução de lugol e lavou-se com água; para lipases verificou-se a presença de cristais; e tanases o halo enegrecido. A determinação da atividade foi expressa pelo índice enzimático (IE), por meio da fórmula $IE = \text{diâmetro do halo} / \text{diâmetro do colônia}$. Os isolados com $IE \geq 2,00$ são os que possuem maior atividade enzimática extracelular. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Avaliação da atividade biológica

Atividade antioxidante

Para a verificação da atividade antioxidante dos isolados fúngicos, foram realizados dois ensaios, o primeiro baseado no sequestro de radicais livres (DPPH) e o segundo no poder de redução do ferro (FRAP).

O método DPPH avalia a capacidade de captura do radical livre sintético DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por um composto antioxidante, formando um composto estável, por meio da transferência de elétrons ou de átomos de hidrogênio de um composto antioxidante para um oxidante (Brand-Williams, Cuvelier & Berset, 1995; Duarte-Almeida et al., 2006). Esta atividade foi realizada conforme metodologia adaptada de Zhao et al. (2012) e Pan et al. (2017). Uma alíquota de 1 mL do extrato fúngico foi adicionada a 2 mL de solução de DPPH e metanol (MeOH) (25 µg.mL⁻¹). Foi preparada uma curva analítica com diferentes concentrações do extrato fúngico (0, 200, 400, 600, 800, 1000 µL). A mistura foi incubada por 30 min a 37 °C na ausência de luz, e a absorbância foi medida a 515 nm em espectrofotômetro digital (Mod. IL-592-Kazuaki). Para fins de comparação com a atividade antioxidante do extrato fúngico, foi preparada uma curva padrão com um antioxidante sintético, BHT (butilhidroxitolueno) (25 µg.mL⁻¹). O controle negativo foi feito substituindo-se o volume da amostra por igual volume de MeOH e, para o branco, utilizou-se apenas MeOH. A concentração capaz de inibir 50% da atividade do radical DPPH (IC₅₀) foi calculada por regressão linear e expressa em média ± desvio padrão, onde o eixo X representa a concentração (mg.mL⁻¹) e o eixo Y representa absorbância inicial do controle / 2. O percentual de atividade antioxidante foi calculado utilizando a equação: $AA\% = [(Ac-A) \div Ac] \times 100$, onde A é o valor de absorbância da amostra e Ac é o valor de absorbância da solução controle.

O método FRAP avalia o poder antioxidante de redução do ferro, envolvendo exclusivamente reações de transferência de elétrons em que ocorre a redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe³⁺ em Fe²⁺ (Pulido, Bravo & Saura-Calixto, 2000). Para este ensaio foi utilizada a metodologia descrita por Pan et al. (2017). Os extratos fúngicos foram diluídos em água destilada de modo a se obter as concentrações 0, 20, 40, 60, 80, 100 µL. Como padrão foi utilizada solução de sulfato ferroso 2,0 mM, a partir da qual foram preparados os pontos da curva analítica em diferentes concentrações (100 a 400 µM). O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 50 mL de tampão acetato de potássio (0,3M, pH 3,6), 5 mL de solução TPTZ (TPTZ 10 mM em HCl 40 mM) e 5 mL de cloreto férrico (20 mM) em solução aquosa. O controle negativo foi feito substituindo-se o volume da amostra por igual volume de água destilada. Para o branco utilizou-se apenas água destilada no lugar do extrato fúngico. Em uma microplaca de 96 poços foram adicionados em cada poço 20 µL do extrato fúngico, 30 µL de água destilada e 200 µL do reagente FRAP. A placa foi incubada a 37 °C por 8 minutos e, então,

submetida à leitura da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro de microplacas (SpectraMax-M3, Molecular Devices). A atividade antioxidante foi expressa de acordo com a absorbância equivalente a 1.000 μM do padrão sulfato ferroso, calculados na equação $y = ax + b$, onde y = absorbância correspondente a 1.000 μM de sulfato ferroso e x = diluição da amostra (mg.mL^{-1}) equivalente a 1.000 μM de sulfato ferroso.

Atividade antimicrobiana

Para a avaliação da atividade antimicrobiana, foi determinada a concentração mínima inibitória (CMI) por intermédio de testes de microdiluição dos extratos fúngicos, conforme o *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) (CLSI, 2009), com modificações. As cepas bacterianas gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATCC25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, gram-negativas *Escherichia coli* ATCC25312, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 e as leveduras *Candida albicans* ATCC10231 e *Candida tropicalis* ATCC13860 foram reativadas da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia da UEG, Câmpus Central. As bactérias foram inoculadas em meio sólido ágar Mueller Hinton (MH) e incubadas 35 °C por 24 h e as leveduras em meio sólido ágar Sabouraud e incubadas a 35 °C por 24 h.

Assim, foram inoculadas colônias de cada microrganismo em tubo contendo 4,5 mL de solução fisiológica 0,9% até a obtenção de uma turvação correspondente a 0,5 da escala de MacFarland. A solução foi diluída em 1:100 em solução fisiológica, atingindo-se a concentração de $1.10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$, em seguida inserido em caldo MH e caldo Sabouraud. O procedimento foi realizado 20 minutos antes da inoculação nos poços das microplacas. Os extratos fúngicos foram solubilizados em caldo MH e caldo Sabouraud, com diluições seriadas numa proporção de 1:1000.

As diluições do antibiótico cloranfenicol e do antimicótico nitrato de miconazol foram preparadas segundo as recomendações do CLSI (CLSI, 2009) e utilizadas como controle da técnica. Após o preparo das diluições, foram pipetados nos poços das microplacas 100 μL de cada concentração dos extratos fúngicos. Como controle de viabilidade, foram pipetados 100 μL de caldo MH e caldo Sabouraud com o inóculo. Como controle dos extratos, foram pipetados 200 μL de caldo MH e Sabouraud sem inóculo e 200 μL de cada extrato fúngico. Em seguida, 100 μL de cada inóculo foi depositado em todos os poços da placa, com exceção dos poços que foram utilizados como controle da esterilidade do meio e das amostras. As microplacas foram vedadas e incubadas a 35 °C por 24 h. Após o período de incubação, acrescentou-se em todos os poços 25 μL de resazurina sódica a 0,1%. Então, as placas foram novamente incubadas por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada através da comparação da turvação das amostras nos poços antes de acrescentar a resazurina sódica a 0,1% e após acrescentar a resazurina sódica a 0,1%, sendo que o aumento da turbidez ou opacidade no meio foi considerado indicativo do crescimento de microrganismos, seguindo metodologia de Lennette et al. (1985), em que a permanência da coloração azul significa inibição do crescimento de microrganismos e a coloração vermelho rosáceo significa atividade metabólica pelo crescimento de microrganismos. A CMI é definida como menor concentração do composto em mg.mL^{-1} capaz de inibir totalmente o crescimento bacteriano visível a olho nu.

Atividade antitumoral

Para avaliação da atividade antitumoral, seguiu-se a metodologia adaptada de Henríquez et al. (2014). A bactéria *Rhizobium radiobacter* ATCC4720 foi reativada da coleção de culturas do laboratório de Microbiologia da UEG, Câmpus Central, e cultivada em meio ágar tripton de soja (TSA) por 24 h e em seguida preparada uma suspensão bacteriana na concentração $1.10^8 \text{ UFC.mL}^{-1}$, sendo determinada através da comparação com a escala de McFarland e a diluição de 1:10 em

caldo nutriente, obtendo-se uma suspensão 1.10^6 UFC.mL⁻¹, em que foi incubada por 48 h a 36°C para posterior incubação dos discos de batata.

Batatas de tamanho médio (*Solanum tuberosum* L.) frescas e descascadas, tiveram a superfície desinfetada por imersão em NaClO a 0,1% por 30 minutos. Em seguida, discos de batata (5 x 8 mm²) foram extraídos da região do núcleo, utilizando-se um furador de metal. Os discos de batata foram depositados em placas de Petri contendo ágar bacteriológico, sendo que cada placa recebeu três discos para cada diluição dos extratos fúngicos.

Cada mistura de inoculação foi preparada com 1900 µL da suspensão de cultura bacteriana, 0,5 mL de água destilada e 100 µL de cada extrato fúngico, assim obtendo-se as concentrações finais de 1000, 500, 250 e 125 µL desses extratos. Em seguida, foi inoculado 100 µL de cada mistura de inoculação em cada disco de batata, os quais foram incubados por 20 dias a 25°C. Os discos de controle da técnica foram realizados da mesma forma, apenas retirando-se os extratos fúngicos. Como controle positivo foi utilizada vincristina (100 µg.mL⁻¹) pelo seu efeito significativo na inibição de tumores (Trigui et al., 2013).

Dado esse período, a leitura foi realizada 30 minutos após a adição de solução de lugol (5% I₂ + 10% KI) e as contagens dos tumores foram realizadas e comparadas com o controle da técnica. Os resultados foram apresentados em porcentagem, pela fórmula: $100 - \text{média de tumores encontrados na amostra} / \text{média de tumores encontrados no controle de crescimento} \times 100$. A atividade significativa foi indicada por 20% ou mais de inibição.

Atividade biorremediativa

Para avaliação do potencial dos extratos fúngicos para a biorremediação de solo contaminado com óleo de soja, foi realizado ensaio de redução de fitotoxicidade do solo utilizando-se sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), a partir da metodologia de Hussain et al. (2018), com modificações. Assim, foram coletadas amostras de solo nas mesmas localizações dos espécimes da planta hospedeira *P. rigida* que integra a vegetação da REC-UEG e determinada a capacidade de retenção do solo, seguindo ISO 17126:2005. Assim, utilizando-se copos plásticos de 300 mL furados na base, foram pesados 100 g de solo peneirado em peneira granulométrica inox com abertura 16 (1,18 mm²) e colocados em recipiente com água mantidos até saturação por 15 h para escorrer a água excedente. Dado este período, os copos foram pesados para obtenção da massa do solo úmido, pela seguinte fórmula: $C = mw - md$, sendo C a capacidade de retenção (100%), mw a massa de solo úmido em g e md massa de solo seco em g. Com isso, foi encontrada a capacidade máxima de retenção de água em 100 g de solo. A concentração de óleo de soja considerada tóxica para as sementes de *L. sativa* é de 10% (10 mL), segundo Lisboa (2015).

Em seguida, utilizando-se copos plásticos de 300 mL furados na base, foram pesados, em quadruplicadas, 100 g de solo. Para o controle 1 considerou-se solo, água e 10 sementes de alface em cada copo; para o controle 2, considerou-se solo, água, 10% de óleo de soja (10 mL) e 10 sementes de alface em cada copo; para o tratamento considerou solo, 10% de óleo de soja (10 mL) e o valor de C (capacidade de retenção, conforme obtido anteriormente) de extrato fúngico, sendo 32 mL. As preparações foram incubadas em estufa de germinação por 144 horas a 25°C. Após, foi verificado o percentual de germinação e comprimento das raízes e hipocótilos, sendo comparados com os controles.

Atividade antagonística

A avaliação do antagonismo foi realizada pelo método de culturas pareadas em placas seguindo metodologia de Mariano (1993), por meio do confronto direto dos fungos endofíticos contra os isolados dos fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger* SXS635 (isolado causando mofo preto em frutos), *Inonotus rickii* SXS37 (isolado causando podridão em madeira), *Pestalotiopsis mangiferae*

SXS647 (isolado causando manchas foliares em *Mangifera indica* L.) e *Coniophora puteana* SXS623 (isolado causando podridão em madeira), reativados da Coleção de Culturas do FungiLab da UEG em placas de Petri contendo BDA e incubados a 25 °C. Cada placa de Petri contendo meio BDA recebeu dois discos de 6 mm² pareados equidistantes, a 1 cm² da borda, sendo um disco da borda da colônia do fungo endofítico e outro disco da borda da colônia do fungo fitopatogênico. Em seguida, as placas foram incubadas a 27°C por 14 dias. Como controle da técnica (testemunha), o fungo fitopatogênico foi inoculado sem a presença dos fungos endofíticos em um polo da placa.

As interações competitivas entre os fungos endofíticos e os fitopatógenos foram avaliadas seguindo escala de Badalyan, Innocenti & Garibyan (2002), de acordo com os três tipos de interação possíveis: A - “deadlock” com contato micelial; B - “deadlock” a distância; C – crescimento do endofítico sobre o fitopatógeno sem “deadlock” inicial, sendo dividido em quatro subcategorias (CA1, CA2, CB1 e CB2), em que CA1 e CA2 - crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial, e CB1 e CB2 - crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial a distância. Além disso, para verificar a percentagem de inibição do crescimento do fitopatógeno foi aferida a área destes em comparação com a área do controle, pela fórmula: Percentagem de inibição do crescimento do fitopatógeno (PI%) = $(Dc - Dt / Dc) \times 100$, onde Dc - diâmetro médio da colônia do fitopatógeno das placas testemunhas (sem antagonista) e Dt - diâmetro médio da colônia do fitopatógeno frente ao antagonista (isolado endofítico), seguindo metodologia de Edginton et al. (1971).

Toxicidade

A toxicidade dos extratos fúngicos foi avaliada contra *Artemia salina* Leach., seguindo metodologia de Molina-Salinas & Said-Fernández (2006), com modificações. Foi preparada água marinha sintética a partir da dissolução de sal marinho (36 g.L⁻¹) em água destilada, com adição de extrato de levedura (6 mg.L⁻¹). A solução foi autoclavada a 120 °C por 15 min. Uma alíquota de 250 mg de cistos de *A. salina* foi incubada por 37 h em 500 mL de água marinha sintética, sob iluminação natural e oxigenação constante a 25 °C. Após o período de incubação, com a eclosão dos cistos e liberação dos náuplios, estes foram atraídos por fonte de luz, pipetados e transferidos para microplacas de poliestireno com 96 poços. Padronizou-se os inóculos em 10±1 náuplios para cada poço contendo 100 µL. Os extratos fúngicos foram solubilizados em água marinha sintética (10, 20, 40, 60, 80 µL).

Para o controle da técnica foram utilizados 10 µL de água marinha sintética adicionado a 190 µL de água destilada esterilizada, e de letalidade foram utilizados dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) nas concentrações 100; 50; 25; 12,5 e 6,25 µg (Svensson et al., 2005). A determinação da CL₅₀ foi realizada a partir da contagem de náuplios mortos e vivos, decorridas 24 h de exposição aos extratos, utilizando-se microscópio estereoscópico óptico, pela metodologia de dose-resposta *Probit* por meio do programa Statplus® versão 5.7.8 – 2014 *professional* (Analyst Soft), com regressão linear obtida da relação entre a percentagem de náuplios mortos e a concentração dos extratos fúngicos. Como classificação do nível de toxicidade utilizou-se critério estabelecido por Nguta et al. (2012) e Dame et al. (2016), em que CL₅₀ <100 mg.mL⁻¹ forte, 100-500 mg.mL⁻¹ moderada, 500-1000 mg.mL⁻¹ baixa, >1000 mg.mL⁻¹ não tóxico.

Análises estatísticas

Os resultados foram demonstrados através da média ± desvio padrão. Análise de variância (ANOVA) seguida do teste Tukey foi utilizada para medir o grau de significância a 5% nas médias da avaliação das atividades de biorremediação e antagonismo, utilizando o software BioEstat 5.3®.

Resultados

Os fungos endofíticos de *P. rigida* selecionados para os ensaios de bioprospecção foram identificados como *Colletotrichum* sp. SXS649 (Glomerellaceae: Glomerellales: Sordariomycetes), *Pestalotiopsis* sp. SXS650 (Sporocadaceae: Xylariales: Sordariomycetes), Botryosphaeriales SXS651 (Dothideomycetes), e *Diaporthe* sp. SXS652 (Diaporthaceae: Diaporthales: Sordariomycetes), todos pertencentes ao filo Ascomycota. Taxonomicamente pertencem a uma classe, quatro ordens e três famílias.

O rastreio qualitativo para metabólitos secundários comprovou a presença de fenóis e flavonoides nos extratos de todos os isolados estudados. Não houve presença de saponinas, esteroides e alcaloides. A quantificação de compostos fenólicos e flavonoides totais mostrou um teor de 210 a 890 mg de fenólicos totais equivalente de ácido gálico/mL de extrato e de 84 a 374 de flavonoides totais equivalente de rutina/mL de extrato. O isolado *Colletotrichum* sp. SXS649 apresentou a maior quantidade de ambos os metabólitos (Tabela 2). Os cromatogramas resultantes da análise HPLC-DAD sugerem a presença de compostos em todos os extratos fúngicos (Figura 2), no entanto, nenhum desses compostos foi semelhante aos padrões analisados (ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, cafeína, catequina, epicatequina e naringina). Novas pesquisas são necessárias para identificação desses compostos.

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em 1 mL de extrato dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth

Extrato fúngico	Fenólicos (mg de ácido gálico/1 mL)	Flavonoides (mg de rutina/1 mL)
SXS649	890±12,50	374±3,00
SXS650	322±6,55	185±1,73
SXS651	233±6,02	84±2,30
SXS652	210±4,61	159±1,52

Os valores correspondem à média das triplicatas ± desvio padrão.

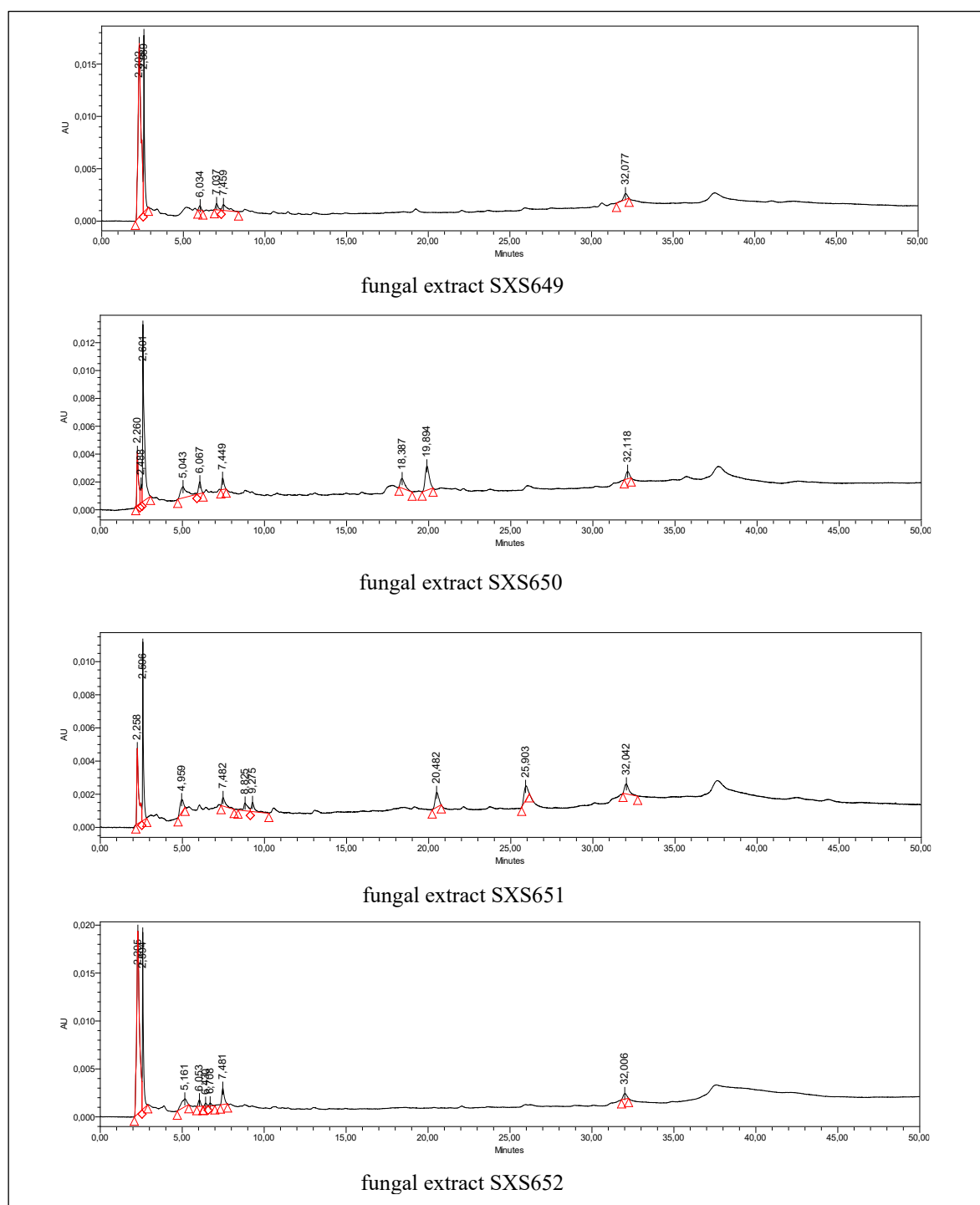
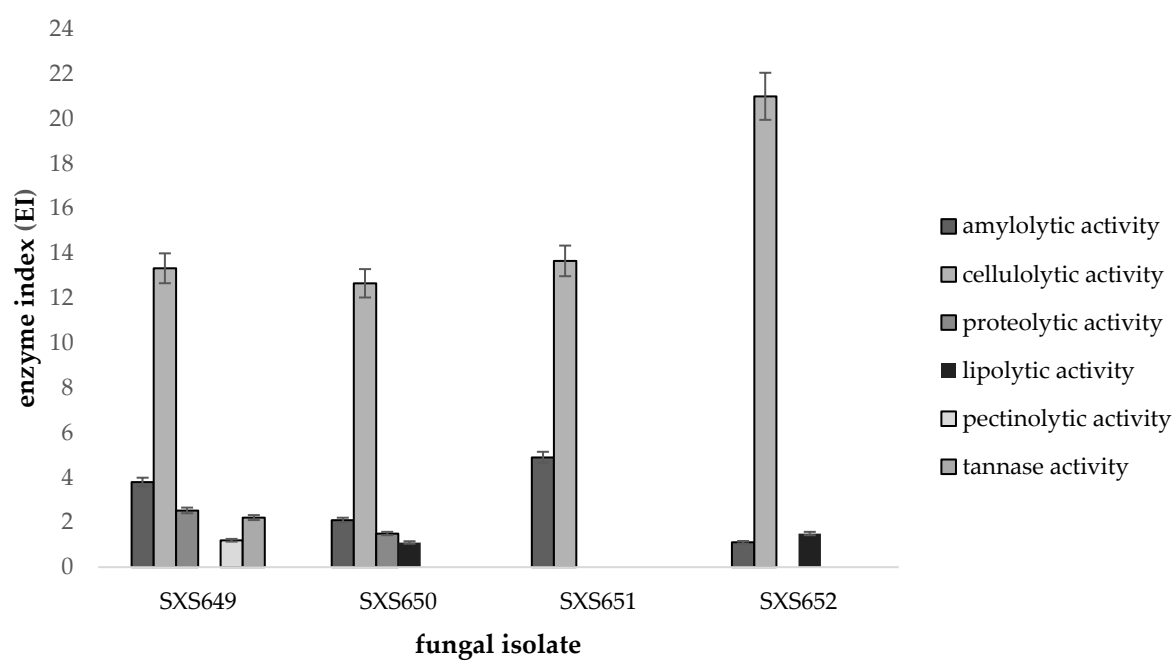
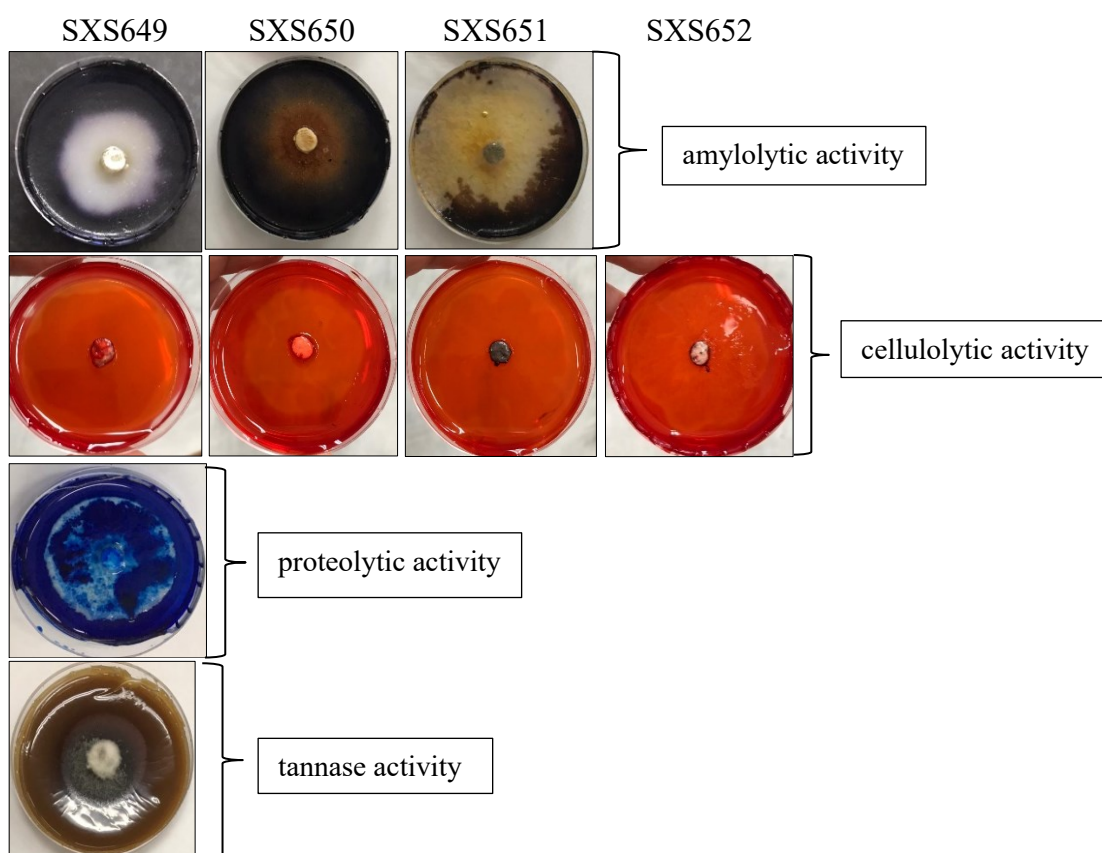


Figura 2. Cromatogramas de HPLC dos extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth

Os ensaios para detecção da atividade enzimática mostraram que todos os isolados apresentaram uma alta atividade celulolítica, com IE entre 12,66 e 21,00. *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650 e Botryosphaeriales SXS651 apresentaram atividade amilolítica, com IE de 3,80; 2,10; e 4,90, respectivamente. Além disso, *Colletotrichum* sp. SXS649 apresentou atividade proteolítica com IE 2,53 e atividade tanásica com IE 2,21. Nenhum isolado apresentou atividade lipolítica e pectinolítica, com IE abaixo de 2,00 (Figura 3).



(a)



(b)

Figura 3. Perfil enzimático dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, *Botryosphaeriales* SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth. (a) Índice enzimático (IE) e (b) culturas em meios específicos mostrando o halos de degradação do substrato como indicativo da atividade enzimática.

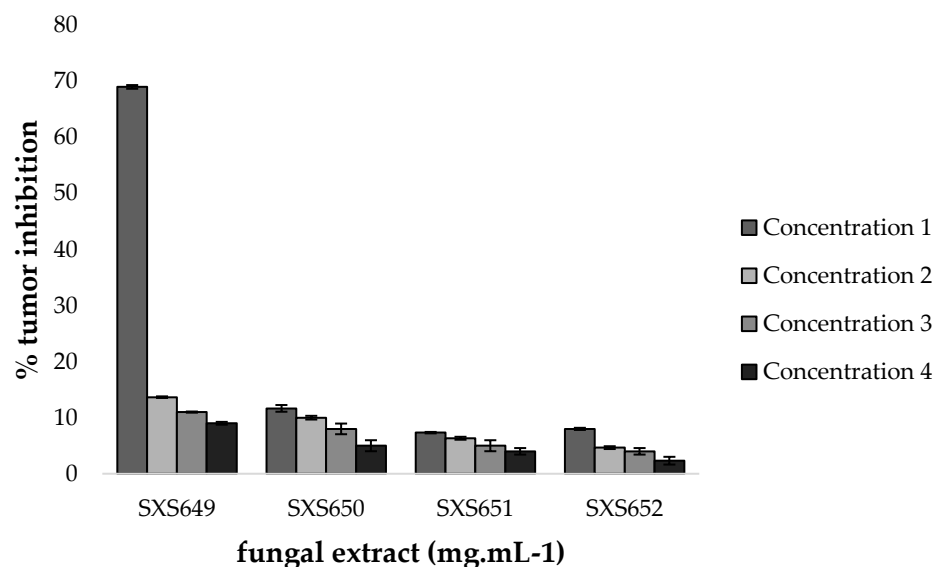
Os extratos fúngicos demonstraram potencial antioxidante no ensaio de DPPH, ainda que tenham sido necessárias concentrações elevadas para atingir o mesmo percentual de captura do controle positivo com hidroxitolueno butilado (BHT). A IC_{50} detectada entre os isolados é apresentada na Tabela 3. Foram necessários apenas $0,0118 \text{ mg.mL}^{-1}$ de BHT para se atingir resultados semelhantes aos dos extratos. Para o percentual da atividade antioxidante por meio de captura de radicais livres (AA%) atingir em média 65,48% (sendo o maior potencial) foi necessária uma concentração de $11,60 \text{ mg.mL}^{-1}$ do extrato do isolado *Botryosphaeriales* SXS651 e $0,015 \text{ mg.mL}^{-1}$ de BHT. Para o ensaio de FRAP, os extratos dos isolados *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650 e *Diaporthe* sp. SXS652 apresentaram resultados correspondentes à diluição das amostras equivalente a $1.000 \text{ } \mu\text{M}$ de sulfato ferroso. *Pestalotiopsis* sp. SXS650 e *Diaporthe* sp. SXS652 apresentaram atividade antioxidante em níveis moderados pelos métodos DPPH e FRAP, *Colletotrichum* sp. SXS649 apresentou níveis menores de atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP e *Botryosphaeriales* SXS651 apresentou níveis menores de atividade antioxidante pelo método DPPH.

Tabela 3. Valores de IC_{50} (mg.mL^{-1}) dos extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, *Botryosphaeriales* SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth que inibem radicais livres DPPH e redução do ferro FRAP

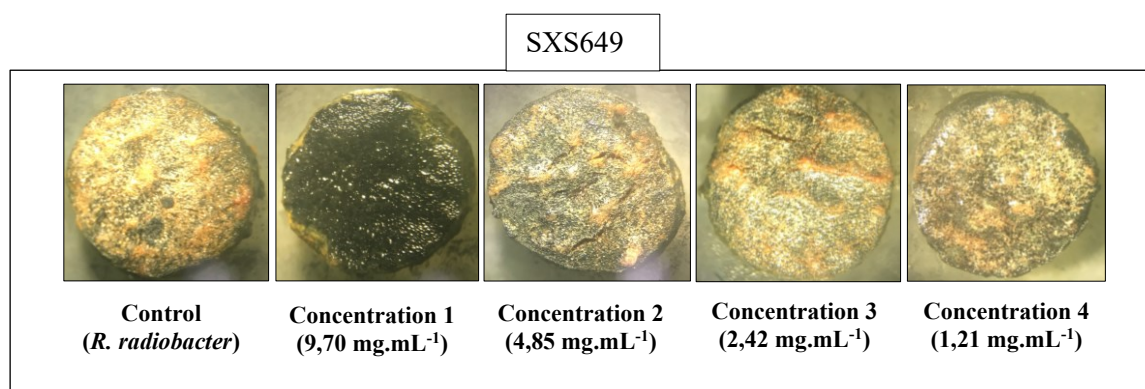
Extrato fúngico	IC_{50} DPPH*	AA%**	IC_{50} FRAP***	Concentração para atingir IC_{50} (mg.mL^{-1})****
SXS649	$5,6804 \pm 0,38$	57,8529	$8,0917 \pm 0,03$	4,85
SXS650	$22,4748 \pm 1,20$	51,2709	$47,0602 \pm 0,03$	25,20
SXS651	$11,8528 \pm 1,06$	65,4832	Não apresentou	11,60
SXS652	$27,4803 \pm 0,00$	46,3043	$32,2691 \pm 0,25$	27,00
Controle (BHT)	$0,0118 \pm 0,00$	65,5431	-	0,01

Os valores são a média das triplicatas $\pm$ desvio padrão. *Equivalente aos cálculos do IC_{50} (mg.mL^{-1}) obtidos a partir do gráfico de absorbância contra a concentração para cada amostra no sequestro de radicais livres. **Percentual da atividade antioxidante calculada pelo método de DPPH, considerando a concentração média de cada extrato fúngico. ***Equivalente em sulfato ferroso ($\text{mol Fe}^{2+}.\text{mg}^{-1}$ de fração). ****Valores de teor de sólidos dos extratos fúngicos para atingir IC_{50} para DPPH e FRAP.

Na verificação da atividade antimicrobiana, o extrato de *Botryosphaeriales* SXS651 foi capaz de inibir as bactérias *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa* na concentração $23,20 \text{ mg.mL}^{-1}$, e o extrato de *Diaporthe* sp. SXS652 apresentou inibição de *Escherichia coli* na concentração $27,00 \text{ mg.mL}^{-1}$. Na verificação da atividade antitumoral, apenas o extrato de *Colletotrichum* sp. SXS649 apresentou inibição de tumores (69%) na concentração $9,70 \text{ mg.mL}^{-1}$, as demais concentrações testadas deste isolado apresentaram inibição menor que 20% (Figura 4). Os extratos dos demais isolados fúngicos não apresentaram atividade antitumoral ou inibiram a formação de tumores em menos de 20%.



(a)



(b)

Figura 4. Atividade antitumoral, em discos de batata, de extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth. (a) Taxa de inibição frente à concentração dos extratos fúngicos e (b) tumores em discos de batata no tratamento com extrato de *Colletotrichum* sp. SXS649.

Na verificação da capacidade de biorremediação de solo contaminado com óleo de soja, a capacidade máxima de retenção de água em 100 g de solo foi de 32 mL. Diante disso, esse foi o volume de água ou de extrato fúngico adicionado ao solo para os ensaios. Quando o solo foi contaminado com 10% de óleo de soja ocorreu uma redução do número de sementes germinadas (Tabela 4). No solo tratado com os extratos fúngicos houve aumento da germinação das sementes, com destaque para o tratamento com *Colletotrichum* sp. SXS649, onde foi verificada a taxa de 72,5% de germinação (32,5% de redução da fitotoxicidade), seguido pelo tratamento com *Pestalotiopsis* sp. SXS650 com 67,5% de germinação (27,5% de redução da fitotoxicidade), Botryosphaeriales SXS651 com 65,0% de germinação (25% de redução da fitotoxicidade) e *Diaporthe* sp. SXS652 com 60,0% de germinação (20% de redução da fitotoxicidade) (Figura 5). Esse mesmo efeito de redução de fitotoxicidade foi observado no comprimento radicular e do hipocótilo.

Tabela 4. Viabilidade de sementes de *Lactuca sativa* em solo contaminado com 10% de óleo de soja e tratado com extratos (32 mL) dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, *Botryosphaeriales* SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth

Concentrações das amostras	Germinação (%) (n=240)*	Comprimento médio da raiz (mm ²)	Comprimento médio do hipocótilo (mm ²)
100 g de solo + 32 mL de água (Controle 1)	95,00±5,00 ^a	23,47±2,12 ^a	41,38±5,47 ^a
100 g de solo + 10% de óleo de soja (Controle 2)	40,00±7,07 ^c	10,38±2,56 ^b	18,66±5,35 ^b
100 g de solo + 10% de óleo de soja + 32 mL de extrato fúngico SXS649	72,50±4,33 ^b	21,36±0,81 ^a	35,90±1,67 ^a
100 g de solo + 10% de óleo de soja + 32 mL de extrato fúngico SXS650	67,50±4,33 ^b	20,86±2,96 ^a	34,49±4,63 ^a
100 g de solo + 10% de óleo de soja + 32 mL de extrato fúngico SXS651	65,00±5,00 ^b	20,94±1,64 ^a	36,62±1,19 ^a
100 g de solo + 10% de óleo de soja + 32 mL de extrato fúngico SXS652	60,00±0,00 ^b	22,87±0,91 ^a	35,83±4,12 ^a

Os valores correspondem à média das triplicatas ± desvio padrão. Valores seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (p < 0,05). *(n = número total de sementes plantadas).

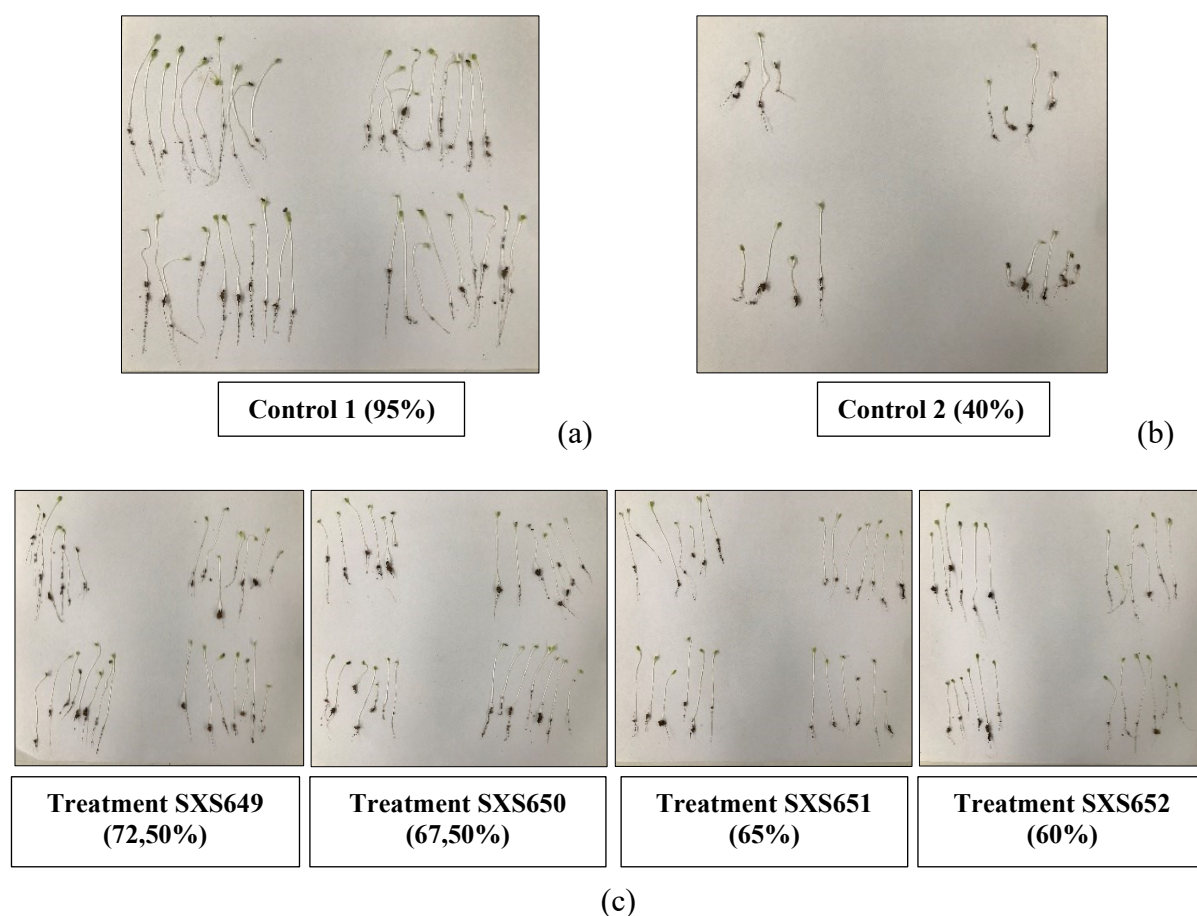


Figura 5. Desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* tratadas com extratos (32 mL) dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth. (a) Controle 1 (100 g de solo + 32 mL de água), (b) Controle 2 (100 g de solo + 10% de óleo de soja) e (c) Tratamentos com os extratos fúngicos (100 g de solo + 10% de óleo de soja + 32 mL de extrato fúngico SXS649, SXS650, SXS651 e SXS652)

Todos os isolados mostraram atividade antagonística contra fungos fitopatogênicos testados, com percentual de inibição (PI%) entre 34,17 e 76,93% (Tabela 5), sendo que todos os endófitos apresentaram percentual de inibição superior a 50% a pelo menos um dos fungos fitopatogênicos testados. Os três maiores percentuais de inibição foram contra *C. puteana* (76,93%), *A. niger* (59,25%) e *I. rickii* (57,14%) (Figura 6). Na verificação da toxicidade, todos os extratos fúngicos mostraram alta letalidade ao microcrustáceo *A. salina* ($CL_{50} < 100 \text{ mg.mL}^{-1}$) (Tabela 6).

Tabela 5. Ação antagonística dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth contra os fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger* SXS635, *Inonotus rickii* SXS37, *Pestalotiopsis mangiferae* SXS647 e *Coniophora puteana* SXS623 detectada pelo método de pareamento em placa e tipo de interação competitiva, segundo escala de Badalyan, Innocenti & Garibyan (2002)

Fungos endofíticos	Inibição (%) contra			
	<i>A. niger</i>	<i>I. rickii</i>	<i>P. mangiferae</i>	<i>C. puteana</i>
SXS649	56,79±0,89 (B) ^a	50,00±0,51 (A) ^c	53,16±1,24 (A) ^b	42,85±1,22 (A) ^b
SXS650	59,25±3,60 (B) ^a	57,14±1,06 (A) ^a	48,10±0,66 (A) ^c	36,73±1,08 (B) ^c
SXS651	54,32±0,87 (A) ^a	47,14±1,25 (A) ^d	56,96±0,69 (CA1) ^a	38,77±0,89 (CA1) ^c
SXS652	50,61±0,87 (B) ^b	54,28±1,13 (A) ^b	34,17±0,81 (A) ^d	76,93±0,81 (CA1) ^a

Os valores correspondem à média das triplicatas ± desvio padrão. Valores com a mesma letra minúscula não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p < 0,05$). (A) “deadlock” com contato micelial; (B) “deadlock” a distância; (CA1) crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial.

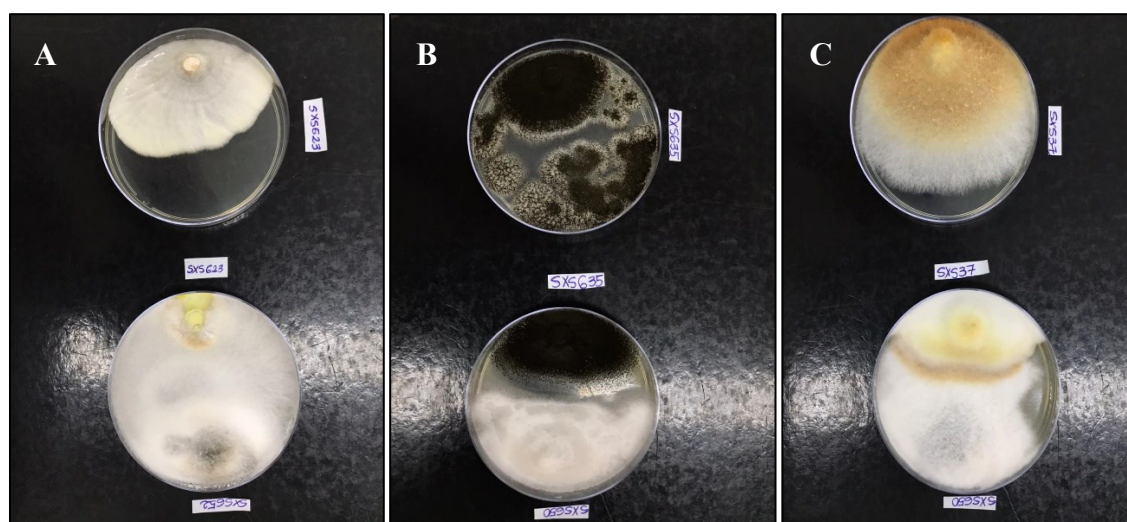


Figura 6. Teste de cultura pareada de fungos endofíticos isolados de *Palicourea rigida* Kunth contra fungos fitopatogênicos aos 14 dias de incubação. As placas dispostas na linha superior correspondem ao controle e na inferior ao teste. A: acima *Coniophora puteana* SXS623 e abaixo o mesmo fungo x *Diaporthe* sp. SXS652 (PI 76,93%). B: acima *Aspergillus niger* SXS635 e abaixo o mesmo fungo x *Pestalotiopsis* sp. SXS650 (PI 59,25%). C: acima *Inonotus rickii* SXS37 e abaixo o mesmo fungo x *Pestalotiopsis* sp. SXS650 (PI 57,14%).

Tabela 6. Toxicidade dos extratos dos fungos endofíticos *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, *Botryosphaeriales* SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652 isolados de *Palicourea rigida* Kunth contra *Artemia salina* utilizando a metodologia de dose-resposta *Probit* por meio do programa Statplus®

Extrato fúngico	CL ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	Intervalo (95% de confiança)	Grau de toxicidade em todas as concentrações dos extrato fúngico
-----------------	--	------------------------------------	--

SXS649	5,00	4,47±5,53	Forte
SXS650	12,51	10,25±14,77	Forte
SXS651	16,46	15,14±17,77	Forte
SXS652	13,23	10,73±15,73	Forte
Controle (Dicromato de Potássio)	0,046	0,041±0,51	Forte

Os valores correspondem à média das triplicatas ± desvio padrão.

Discussão

O gênero *Colletotrichum* já foi relatado como endófito em quase todos os principais grupos de angiospermas (Rivera-Orduña et al., 2011; Hofstetter et al., 2012; Tadc et al., 2012), sendo ainda caracterizado como um importante patógeno que causa antracnose, podridões de frutas pré e pós-colheita, amortecimento de flores e doenças de queima de mudas em várias espécies vegetais, principalmente cereais, por todo o mundo (Bailey & Jeger, 1992; Manamgoda et al., 2013). Assim, as espécies de *Colletotrichum* estão entre os endófitos e patógenos mais comuns em estruturas foliares de plantas terrestres, com registro em aproximadamente 2.200 espécies vegetais (Farr & Rossman, 2013). Em espécies medicinais do Cerrado brasileiro, *Colletotrichum* já foi isolado endofiticamente em *Schinus terebinthifolius* (Tonial et al., 2016), *Hancornia speciosa* (Chagas et al., 2017), *Casearia sylvestris* (Chapla et al., 2018) e *Stryphnodendron adstringens* (Carvalho et al., 2012). Esse é o primeiro registro em *P. rigida*.

A literatura tem demonstrado a presença de compostos fenólicos e flavonoides em *P. rigida*. Rosa et al. (2010a) verificaram teores significativos desses compostos fenólicos em fração polar (933,25 µg.mL⁻¹) das folhas, e também o isolamento dos flavonoides quercetina 3-O-β-D-glicosídeo, quercetina 3-O-soforosídeo e isoraminetina 3-glicosídeo. Em estudo fitoquímico dos extratos etanólicos das folhas dessa planta, Lima Neto et al. (2015) detectaram a presença de flavonóides em concentrações superiores aos do padrão rotina (440,5 e 365,5 mg.g⁻¹, respectivamente). Machado et al. (2010) relatam a presença de compostos fenólicos em *Palicourea* e em outras espécies da família Rubiaceae. A detecção desses metabólitos nos fungos endofíticos dela isolados confirma a semelhança na produção, em que hospedeira e endófitos apresentam trocas metabólicas (Jia et al., 2016).

Notarte et al. (2019) detectaram a presença de fenóis, flavonoides, além de esteróis e terpenóides nos extratos de *Colletotrichum* isolado da planta medicinal *Uvaria grandiflora*. Esses compostos mostraram atividade antioxidante com poder de redução férrica (4,41 mg.mL⁻¹) e atividade de eliminação de superóxido (0,78 mg.mL⁻¹), além de alta toxicidade frente ao microcrustáceo *A. salina* com dose letal <0,40 mg.mL⁻¹. Mahmud et al. (2020) isolaram três espécies de *Colletotrichum* (*C. gloeosporioides*, *C. tropicale* e *C. siamense*) da planta medicinal *Justicia gendarussa*, os quais apresentaram menor e moderada atividade antioxidante pelo método de eliminação de DPPH e forte atividade citotóxica e letalidade a *A. salina*, sugerindo que seus extratos possuem metabólitos bioativos, os quais foram identificados como flavonoides, cumarinas, terpenoides e esteroides. No Cerrado brasileiro, metabólitos secundários de *Colletotrichum crassipes* isolado das folhas da planta medicinal *Casearia sylvestris* exibiu potente atividade antifúngica contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* (Chapla et al., 2018).

O gênero *Pestalotiopsis* também já foi relatado como endofítico da planta medicinal do Cerrado *Baccharis trimera*, demonstrado atividade antifúngica contra *Paracoccidioides brasiliensis* (Vieira et al., 2014). Fungos da ordem Botryosphaerales também tem sido relatados na literatura global como endofíticos, vivendo em tecidos vegetais por longos períodos. Contudo, outras espécies da ordem são fitopatógenos e algumas causadoras de infecções oportunistas em humanos (Slippers et

al., 2013; Slippers et al., 2014). Duan et al. (2019) isolou 52 endófitos da ordem Botryosphaeriales de *Distylium chinense*, os quais apresentaram atividade antioxidante significativa e atividade antimicrobiana contra pelo menos um dos microrganismos avaliados pelos autores.

Diaporthe sp., isolado das folhas das plantas medicinais do Cerrado *Vernonia polyanthes* e *Anacardium othonianum*, demonstrou atividade antimicrobiana a *Leishmania amazonensis* (Nascimento et al., 2015), e sendo capaz de solubilizar fosfato (Faria et al., 2016). Gomes et al. (2013) relataram um grande número de isolados de *Diaporthe* sp. obtidos de espécies medicinais do Brasil, sugerindo que essas plantas são repositórios para este gênero. Noriler et al., (2018) encontrou atividade antibacteriana, em isolados de *Diaporthe* sp. obtidos de *Stryphnodendron adstringens*.

Na verificação da atividade enzimática dos isolados obtidos de *P. rigida*, *Colletotrichum* sp. apresentou a maior produção enzimática, das quais amilase, celulase, protease e tanase, seguido por *Pestalotiopsis* sp. e Botryosphaeriales com produção de amilase e celulase, sendo fontes a serem utilizadas na indústria. Na verificação da atividade antioxidante, todos os isolados apresentaram teores menores e moderados, com destaque para *Pestalotiopsis* sp. que apresentou IC₅₀ 47,06 mg.mL⁻¹ no método FRAP. Dois isolados, Botryosphaeriales e *Diaporthe* sp., apresentaram atividade antimicrobiana a *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, sendo candidatos para uso terapêutico. Na verificação da atividade antitumoral em discos de batata, *Colletotrichum* sp. apresentou inibição de tumores em 69%, resultado este que confirma que este isolado apresenta bioativos antitumorais. Swetha et al. (2017) verificaram também que *Colletotrichum* sp., obtido das folhas de *Artocarpus heterophyllus*, pode ser promissor agente antitumoral.

Além disso, todos os isolados apresentaram atividade biorremediativa de solo contaminado com óleo de soja, com taxas acima de 20% de redução da fitotoxicidade, pois houve aumento da germinação e do comprimento radicular e hipocótilo de *L. sativa*, em que as enzimas produzidas pelos microrganismos sofreram ativação do sítio catalítico na presença de substratos hidrofóbicos, auxiliando nessa atividade (Krishnamurthy & Naik, 2017). Bibi et al. (2018) também demonstraram que fungos endofíticos obtidos de plantas saudáveis próximas ao campus da Universidade em Mardan, no Paquistão, também promoveram a biorremediação do solo contaminado com cromo, pelo ensaio utilizando *L. sativa*. Russell et al. (2011) também demonstram o potencial biorremediativo de isolados endofíticos do gênero *Pestalotiopsis*, os quais mostram capacidade de degradar o polímero sintético de poliéster poliuretano.

No teste de antagonismo em placa contra *A. niger*, *I. rickii*, *P. mangiferae* e *C. puteana*, em 55% dos confrontos, os fungos endofíticos apresentaram bloqueio com contato micelial aos fungos fitopatogênicos, em 25% apresentaram bloqueio a distância aos fungos fitopatogênicos, e em 20% apresentaram contato micelial e crescimento parcial sobre os fungos fitopatogênicos. Essa interação entre endófito e fitopatógeno foi marcada por um crescimento micelial acelerado. De forma semelhante ao isolado *Colletotrichum* sp. do nosso estudo, Adnan et al. (2018) verificaram que *Xylaria regalis*, isolado de *Thuja plicata*, também inibiu o fungo fitopatogênico *Aspergillus niger*. O fungo de podridão parda *C. puteana* que causa uma perda de massa de madeira de até 70% (Hiltunen et al., 2020) foi inibido significativamente por *Diaporthe* sp. em nosso estudo, indicando que este endófito pode ser um antagonista eficiente de *C. puteana* em campo.

A verificação da toxicidade dos isolados apontou alta letalidade ao microcrustáceo *A. salina*, com CL₅₀<100 mg.mL⁻¹, o que aponta cautela em suas prováveis utilizações biotecnológicas e que novos ensaios verificando os teores tóxicos são necessários. No entanto, suas utilizações ambientais são bastante favoráveis, seja pela biorremediação de solos ou pelo controle biológico de fitopatógenos.

Conclusão

Nossos dados indicam que os endófitos isolados (*Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, Botryosphaeriales SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652) produzem fenóis e flavonoides, além de amilases, celulasas, protease e tanases. Além disso, a atividade antioxidante foi detectada em níveis menores para extratos de *Colletotrichum* sp. e Botryosphaeriales e em níveis moderados para *Pestalotiopsis* sp. e *Diaporthe* sp., considerando os métodos DPPH e FRAP. Na atividade antimicrobiana, Botryosphaeriales inibiu o crescimento de *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* e *Diaporthe* sp. inibiu o crescimento de *E. coli*. Na atividade antitumoral, *Colletotrichum* sp. foi capaz de inibir em 69% a incidência de tumores em batata. Na biorremediação de solo contaminado com óleo de soja, todos os extratos fúngicos foram capazes de reduzir a fitotoxicidade do solo, com taxa acima de 20%, promovendo a germinação de sementes de *L. sativa*. Na verificação da toxicidade, todos os extratos fúngicos promoveram alta taxa de letalidade em *A. salina*, além disso, os isolados também mostraram ação antagonística contra os fungos fitopatogênicos *A. niger*, *I. rickii*, *P. mangiferae* e *C. puteana*, com percentual de inibição entre 34,17 e 76,93%. Diante disso, esses endófitos podem ser uma fonte promissora de compostos bioativos a serem utilizados como agentes terapêuticos, no entanto, são necessários novos ensaios verificando a toxicidade, mas, incentivamos suas utilizações em processos de biorremediação de solos e na agricultura para o controle biológico de fitopatógenos. Propomos também pesquisas envolvendo identificação e caracterização desses compostos bioativos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Estadual de Goiás pelas bolsas de estudo concedidas.

Referências

- Adnan, M., Alshammari, E., Ashraf, S. A., Patel, K., Lad, K., & Patel, M. (2018). Physiological and molecular characterization of biosurfactant producing endophytic fungi *Xylaria regalis* from the cones of *Thuja plicata* as a potent plant growth promoter with its potential application. *BioMed Research International*, 2018, 7362148.
- Aly, A. H., Debbab, A., Kjer, J., & Proksch, P. (2010). Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Diversity*, 41(1), 1-6.
- Badalyan, S. M., Innocenti, G., & Garibyan, N. G. (2002). Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. *Phytopathologia Mediterranea*, 41(3), 200-225.
- Bagheri, A. A., Saadatmand, S., Niknam, V., Nejadsatari, T., & Babaeizad, V. (2013). Effect of endophytic fungus, *Piriformospora indica*, on growth and activity of antioxidant enzymes of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(11), 1337-1350.
- Bailey, J. A., & Jeger, M. J. (1992). *Collectotrichum: Biology, pathology and control*. Wallingford: CAB International Press, pp. 1-46.
- Barreto Junior, N. M., & Angelini, R. (2003). Mapeamento topográfico e delimitação fitofisionômica da área natural do campus da UEG (Anápolis). In *Mostra de Iniciação Científica da UEG*. (1a. Anais). Anápolis, GO: Universidade Estadual de Goiás, 5p.

- Bhagobaty, R. K., & Joshi, S. R. (2012). Enzymatic activity of fungi endophytic on five medicinal plant species of the pristine sacred forests of Meghalaya, India. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(1), 33–40.
- Bibi, S., Hussain, A., Hamayun, M., Rahman, H., Iqbal, A., Shah, M., Irshad, M., Qasim, M., Islam, B. (2018). Bioremediation of hexavalent chromium by endophytic fungi; safe and improved production of *Lactuca sativa* L. *Chemosphere*, 211, 653-663.
- Brand-Wiliams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Cardoso, M. R. D., Marcuzzo, F. F. N., & Barros, J. R. (2014). Classificação climática de Köppen-Geiger para o estado de Goiás e o Distrito Federal. *Acta Geográfica*, 8(16), 40-55.
- Carvalho, C. R., Gonçalves, V. N., Pereira, C. B., Johann, S., Galliza, I. V., Alves, T. M. A., Rabello, A., Sobral, M. E. G., Zani, C. L., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2012). The diversity, antimicrobial and anticancer activity of endophytic fungi associated with the medicinal plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) from the Brazilian savannah. *Symbiosis*, 57(2), 95-107.
- Castellani, A. (1939). Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, 24, 270-276.
- Chagas, M. B. O., Santos, I. P., Silva, L. C. N., Correia, M. T. S., Araújo, J. M., Cavalcanti, M. S., & Lima, V. L. M. (2017). Antimicrobial activity of cultivable endophytic fungi associated with *Hancornia speciosa* Gomes bark. *The Open Microbiology Journal*, 11, 179-188.
- Chapla, V. M., Zeraik, M. L., Cafeu, M. C., Silva, G. H., Cavalheiro, A. J., Bolzani, V. S., Young, M. C. M., Pfenning, L. H., & Araujo, A. R. (2018). Griseofulvin, diketopiperazines and cytochalasins from endophytic fungi *Colletotrichum crassipes* and *Xylaria* sp., and their antifungal, antioxidant and anticholinesterase activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(8), 1707-1713.
- Chen, L., Zhang Q. Y., Jia, M., Ming, Q. L., Yue, W., Rahman, K., Qin, L. P., & Han, T. (2016). Endophytic fungi with antitumor activities: Their occurrence and anticancer compounds. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(3), 454-473.
- Chutulo, E. C., & Raju, K. C. (2020). Antimicrobial activity of *Fusarium oxysporum*, endophytic fungus, isolated from *Psidium guajava* L. (white fruit). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(11), 5844-5855.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2009). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. (8 Edition). Approved Standard M07-A8. Wayne, PA, USA: CLSI. 65p.
- Coelho, A. J. P., Magnago, L. F. S., Matos, F. A. R., Mota, N. M., Diniz, E. S., & Meira-Neto, J. A. A. (2020). Effects of anthropogenic disturbances on biodiversity and biomass stock of Cerrado, the Brazilian savanna. *Biodiversity and Conservation*, 29(11), 3151-3168.

- Cui, J. L., Guo, S. X., & Xiao, P. G. (2011). Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of *Aquilaria sinensis*. *Journal of Zhejiang University Science B*, 12(5), 385-392.
- Da Silva, L. E., Confortin, C., & Swamy, M. K. (2021). Antibacterial and Antifungal Plant Metabolites from the Tropical Medicinal Plants. In Pal, D., Nayak, A. K. (Ed.) *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications. Advanced Structured Materials*, vol 140. Springer, Cham.
- Dame, Z. T., Silima, B., Gryzenhout, M., & Ree, T. V. (2016). Bioactive compounds from the endophytic fungus *Fusarium proliferatum*. *Natural Product Research*, 30(11), 1301-1304.
- Devi, N. N., Shankar, D., & Sutha S. (2012). Biomimetic synthesis of silver nanoparticles from an endophytic fungus and their antimicrobial efficacy. *International Journal of Biomedical and Advance Research*, 3(5), 409-415.
- Duan, X., Xu, F., Qin, D., Gao, T., Shen, W., Zuo, S., Yu, B., Xu, J., Peng, Y., & Dong, J. (2019). Diversity and bioactivities of fungal endophytes from *Distylium chinense*, a rare waterlogging tolerant plant endemic to the Three Gorges Reservoir. *BMC Microbiology*, 19(1), 278.
- Duarte-Almeida, J. M., Santos, R. J., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2006). Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26(2), 446-452.
- Edginton, L. V., Knew, K. L., & Barron, G. L. (1971). Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, 61(1), 42-44.
- Faria, P. S. A., Senábio, J. A., Soares, M. A., Silva, F. G., Cunha, A. P. A., & Souchie, E. L. (2016). Assessment of functional traits in the assemblage of endophytic fungi of *Anacardium othonianum* Rizzini. *Pakistan Journal of Botany*, 48(3), 1241-1252.
- Farr, D. F., & Rossman, A. Y. (2013). Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory, ARS, USDA. <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- Gomes, R. R., Glienke, C., Videira, S. I. R., Lombard, L., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2013). *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*, 31, 1-41.
- Gupta, S., Chaturvedi, P., Kulkarni, M. G., & Van Staden, J. (2020). A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endophytic fungi. *Biotechnology Advances*, 39, 107462.
- Hankin, L., & Anagnostakis, S. L. (1975) The use of solid media for detection of enzymes production by fungi. *Mycologia*, 67(3), 597-607.
- Henríquez, M., Vergara, K., Norambuena, J., Beiza, A., Maza, F., Ubilla, P., Araya, I., Chávez, R., San-Martín, A., Darias, J., Darias, M. J., & Vaca, I. (2014). Diversity of cultivable fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 65-76.

- Hiltunen, S., Mankinen, A., Javed, M. A., Ahola, S., Venäläinen, M., & Telkki, V. V. (2020). Characterization of the decay process of Scots pine caused by *Coniophora puteana* using NMR and MRI. *Holzforschung*, 74(11), 1021-1032.
- Hofstetter, V., Buyck, B., Croll, D., Viret, O., Couloux, A., & Gindro, K. (2012). What if esca disease of grapevine were not a fungal disease? *Fungal Diversity*, 54(1), 51–67.
- Hu, M. Y., Zhong, G. H., Sun, Z. T., Sh, G., & Liu, H. M. (2005). Insecticidal activities of secondary metabolites of endophytic *Pencillium* sp. in *Derris elliptica* Benth. *Journal of Applied Entomology*, 129(8), 413-417.
- Huang, W. Y., Cai, Y. Z., Xing, J., Corke, H., & Sun, M. (2007). A potential antioxidant resource: Endophytic fungi from medicinal plants. *Economic Botany*, 61(1), 14-30.
- Hussain, A., Hamayun, M., Rahman, H., Iqbal, A., Shah, M., Irshad, M., Qasim, M., & Islam, B. (2018). Bioremediation of hexavalent chromium by endophytic fungi; safe and improved production of *Lactuca sativa* L. *Chemosphere*, 211, 653-663.
- Ikram, M., Ali, N., Jan, G., Hamayun, M., Jan, F. G., & Iqbal, A. (2019). Novel antimicrobial and antioxidative activity by endophytic *Penicillium roqueforti* and *Trichoderma reesei* isolated from *Solanum surattense*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(9), 164.
- Jia, M., Chen, L., Xin, H. L., Zheng, C. J., Rahman, K., Han, T., & Qin, L. P. (2016). A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 906.
- Krishnamurthy, Y. L., & Naik, B. S. (2017). Endophytic Fungi Bioremediation. In Maheshwari, D., Annapurna, K. (Ed.) *Endophytes: Crop Productivity and Protection. Sustainable Development and Biodiversity*, vol 16. Springer, Cham.
- Kumara, P. M., Zuehlke, S., Priti, V., Ramesha, B. T., Shweta, S., Ravikanth, G., Vasudeva, R., Santhoshkumar, T. R., Spiteller, M., Uma-Shaanker, R. (2012). *Fusarium proliferatum*, an endophytic fungus from *Dysoxylum binectariferum* Hook.f, produces rohitukine, a chromane alkaloid possessing anti-cancer activity. *Antonie van Leeuwenhoek*, 101(2), 323-329.
- Lennette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J., & Shadowmy, H. J. (1985). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D.C., American Society for Microbiology.
- Lima Neto, G. A., Kaffashi, S., Luiz, W. T., Ferreira, W. R., Silva, Y. S. A. D., Pazin, G. V., & Violante, I. M. P. (2015). Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17(4), 1069-1077.
- Lisboa, H. C. F. (2015). Fungos endofíticos: prospecção de atividade biocatalítica e aplicação biotecnológica. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química. 222p.
- Machado, A. O., Silva, A. P., Consolaro, H., Barros, M. A. G., & Oliveira, P. E. (2010). Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* HB & K. (Rubiaceae) in the Cerrados of Central Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 24(3), 686-696.

- Mahmud, S. M. N., Sohrab, M. H., Begum, M. N., Rony, S. R., Sharmin, S., Moni, F., Akhter, S., Mohiuddin, A. K. M., Afroz, F. (2020). Cytotoxicity, antioxidant, antimicrobial studies and phytochemical screening of endophytic fungi isolated from *Justicia gendarussa*. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 225-232.
- Manamgoda, D. S., Udayanga, D., Cai, L., Chukeatirote, E., & Hyde, K. D. (2013). Endophytic *Colletotrichum* from tropical grasses with a new species *C. endophytica*. *Fungal Diversity*, 61(1), 107-115.
- Mariano, R. L. R. (1993). Métodos de seleção *in vitro* para o controle microbiológico de patógenos de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 1, 369-409.
- Mittermeier, R. A., Fonseca, G. A. B., Rylands, A. B., & Brandon, K. (2005). Uma breve história da conservação da biodiversidade no Brasil. *Megadiversidade*, 1(1), 14-21.
- Molina-Salinas, G. M., & Said-Fernández, S. A. (2006). Modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). *Pharmacologyonline*, 3, 633-638.
- Moraes, M. A., Santos, B. C. S., Fabri, R. L., Scio, E., Alves, M. S., Yamamoto, C. H., Rodarte, M. P., Del-Vechio-Vieira, G., Araújo, A. L. S. M., Araújo, A. L. A., & Sousa, O. V. (2017). Pharmacological potential of *Palicourea rigida* Kunth: A possible participation of flavonoid compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(10), 194-206.
- Mussi-Dias, V., Araújo A. C. O., Silveira, S. F., Rocabado, J. M., & Araújo, K. L. (2012). Fungos endofíticos associados a plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 14(2), 261-266.
- Nascimento, A. M., Soares, M. G., Torchelsen, F. K. V. S., Araujo, J. A. V., Lage, P. S., Duarte, M. C., Andrade, P. H. R., Ribeiro, T. G., Coelho, E. A. F., & Nascimento, A. M. (2015). Antileishmanial activity of compounds produced by endophytic fungi derived from medicinal plant *Vernonia polyanthes* and their potential as source of bioactive substances. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(11), 1793-1800.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311-335.
- Nguta, J. M., Mbaria, J. M., Gakuya, D. W., Gathumbi, P. K., Kabasa, J. D., & Kiama, S. G. (2012). Biological screening of Kenyan medicinal plants using *Artemia Salina* L. (Artemiidae). *Pharmacologyonline*, 14(2), 358-361.
- Noriler, S. A., Savi, D. C., Aluizio, R., Palácio-Cortes, A. M., Possiede, Y. M., & Glienke, C. (2018). Bioprospecting and structure of fungal endophyte communities found in the Brazilian biomes, Pantanal, and Cerrado. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1526.
- Notarte, K. I. R., Devanadera, M. K. P., Mayor, A. B. R., Cada, M. C. A., Pecundo, M. H., & Macabeo, A. P. G. (2019). Toxicity, antibacterial, and antioxidant activities of fungal endophytes *Colletotrichum* and *Nigrospora* spp. isolated from *Uvaria grandiflora*. *Philippine Journal of Science*, 148(3), 503-510.

- Nuraini, F. R., Setyaningsih, R., & Susilowati, A. (2019). Antioxidant activity of bioactive compound produced by endophytic fungi isolated from endemic plant of South Kalimantan *Mangifera casturi* Kosterm. In *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing LLC, pp. 080013.
- Pan, F., Su, T. J., Cai, S. M., & Wu, W. (2017). Fungal endophyte-derived *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis*: diversity, antioxidant capacities *in vitro* and relations to phenolic, flavonoid or saponin compounds. *Scientific Reports*, 7(1), 42008.
- Phongpaichit, S., Rungjindamai, N., Rukachaisirikul, V., & Sakayaroj, J. (2006). Antimicrobial activity in cultures of endophytic fungi isolated from *Garcinia species*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 48(3), 367-372.
- Pinheiro, R. P., Moraes, M. A., Santos, B. C. S., Fabri, R. L., Del-Vechio-Vieira, G., Yamamoto, C. H., Araújo, A. L. S. M., Araújo, A. L. A., & Sousa, O. V. (2018). Identification of compounds from *Palicourea rigida* leaves with topical anti-inflammatory potential using experimental models. *Inflammopharmacology*, 26(4) 1005-1016.
- Pontecorvo, G., Roper, J. A., Hemmons, L. M., Mc Donald, K. D., & Bufton, A. W. J. (1953). The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Advances in Genetics*, 5, 141-238.
- Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 48, 3396-3402.
- Rajamanikyam, M., Vadlapudi, V., Amanchy, R., & Upadhyayula, S. M. (2017). Endophytic fungi as novel resources of natural therapeutics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, e17160542.
- Rivera-Orduña, F. N., Suarez-Sanchez, R. A., Flores-Bustamante, Z. R., Gracida-Rodriguez, J. N., & Flores-Cotera, L. B. (2011). Diversity of endophytic fungi of *Taxus globosa* (Mexican yew). *Fungal Diversity*, 47(1), 65-74.
- Rolim, A., Oishi, T., Maciel, C. P. M., Zague, V., Pinto, C. A. S. O., Kaneko, T. M., Consiglieri, V. O., & Velasco, M. V. R. (2006). Total flavonoids quantification from O/W emulsion with extract of Brazilian plants. *International Journal of Pharmaceutics*, 308(1-2), 107-114.
- Rosa, E. A., Silva, B. C., Silva, F. M., Tanaka, C. M. A., Peralta, R. M., Oliveira, C. M. A., Kato, L., Ferreira, H. D., & Silva, C. C. (2010a). Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida*, Rubiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 20(3): 484-488.
- Rosa, L. H., Gonçalves, V. N., Caligiorne, R. B., Alves, T. M. A., Rabello, A., Sales, P. A., Romanha, A. J., Sobral, M. E. G., Rosa, C. A., & Zani, C. L. (2010b). Leishmanicidal, trypanocidal, and cytotoxic activities of endophytic fungi associated with bioactive plants in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 420-430.
- Rosa, L. H., Tabanca, N., Tehen, N., Wedge, D. E., Bernier, U. R., Becnel, J. J., Elejalde, N. M., Moraes, R. M. (2011). Antifungal and Insecticidal Activity of Endophytic Fungi Associated with the American Medicinal Plant *Echinacea purpurea* (L.) Moench. (Asteraceae). *Planta Medica*, 77(5), P_11.

- Russell, J. R., Huang, J., Anand, P., Kucera, K., Sandoval, A. G., Dantzler, K. W., Hickman, D., Jee, J., Kimovec, F. M., Koppstein, D., Marks, D. H., Mittermiller, P. A., Núñez, Santiago, M., Townes, M. A., Vishnevetsky, M., Williams, N. E., Vargas, M. P. N., Boulanger, L. A., Bacom-Slack, C., & Strobel, S. A. (2011). Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(17), 6076-6084.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Slippers, B., Boissin, E., Phillips, A. J. L., Groenewald, J. Z., Lombard, L., Wingfield, M. J., Postma, A., Burgess, T., Crous, P. W. (2013). Phylogenetic lineages in the Botryosphaerales: a systematic and evolutionary framework. *Studies in Mycology*, 76, 31-49.
- Slippers, B., Roux, J., Wingfield, M. J., van der Walt, F. J. J., Jami, F., Mehl, J. W. M., & Marais, G. J. (2014). Confronting the constraints of morphological taxonomy in the Botryosphaerales. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 33, 155-168.
- Stierle, A., Strobel, G. A., & Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*. *Science*, 260(5105), 214-216.
- Sun, X., & Guo, L. D. (2012). Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. *Mycology*, 3(1), 65-76.
- Svensson, B. M., Mathiasson, L., Martensson, L., & Bergstrom, S. (2005). *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills. *Environmental Monitoring and Assessment*, 102, 309-321.
- Swetha, S., Sibitha, V., Nachiyar, C. V., Prakash, P., & Renugadevi, K. (2017). Bioprospecting endophytic fungus *Colletotrichum* sp. isolated from *Artocarpus heterophyllus* for anticancer activity. *Research Journal of Biotechnology*, 12(2), 46-56.
- Tadyc, M., Bergen, M. S., Johnson-Cicalese, J., Polashock J. J., Vorsa, N., & White Junior, J. F. (2012). Endophytic and pathogenic fungi of developing cranberry ovaries from flower to mature fruit: diversity and succession. *Fungal Diversity*, 54(1), 101-116.
- Tonial, F., Maia, B. H. L. N. S., Gomes-Figueiredo, J. A., Sobottka, A. M., Bertol, C. D., Nepel, A., Savi, D. C., Vicente, V. A., Gomes, R. R., & Glienke, C. (2016). Influence of culturing conditions on bioprospecting and the antimicrobial potential of endophytic fungi from *Schinus terebinthifolius*. *Current Microbiology*, 72(2), 173-183.
- Trigui, F., Pigeon, P., Jaleli, K., Top, S., Aifa, S., El Arbi, M. (2013). Selection of a suitable disc bioassay for the screening of anti-tumor molecules. *International Journal of Biomedical Science*, 9(4), 230-236.
- Vasundhara, M., Reddy, M. S., & Kumar, A. (2019). Secondary metabolites from endophytic fungi and their biological activities. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, pp. 237-258.
- Vieira, M. L. A., Johann, S., Hughes, F. M., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2014). The diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi associated with medicinal plant *Baccharis trimera*

- (Asteraceae) from the Brazilian savannah. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(12), 847-856.
- Vieira, M. L. A.; Johann, S., Hughes, F. M., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2014). The diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi associated with medicinal plant *Baccharis trimera* (Asteraceae) from the Brazilian savannah. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(12), 847-856.
- Zhao, J. T., Fu, Y. J., Luo, M., Zu, Y. G., Wang, W., Zhao, C. J., & Gu, C. B. (2012). Endophytic fungi from pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.] produce antioxidant cajaninstilbene acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(17), 4314-4319.
- Zheng, R., Li, S., Zhang, X., & Zhao, C. (2021). Biological Activities of Some New Secondary Metabolites Isolated from Endophytic Fungi: A Review Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 959.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo cienciométrico da atividade biológica em fungos endofíticos, permitiu traçar o perfil das pesquisas, sua distribuição temporal entre países, instituições, autores e periódicos, bem como o foco das pesquisas, permitindo identificar tendências, vieses e lacunas na exploração dessa temática. Foi possível constatar o crescimento de publicações a partir da década 2000, em que China, Brasil e Índia conduziram o maior número dessas pesquisas, sendo a maior produção em 2018 (70 artigos) e a maior média de citações por ano ocorreu em 2006 (156 citações/artigo). Os três periódicos mais frequentes foram *Marine Drugs*, *World Journal of Microbiology & Biotechnology* e *Journal of Natural Products*. Além disso, a maior quantidade de publicação está na área de Microbiologia (52 artigos), a palavra-chave mais frequente foi “natural-products” (citada 95 vezes) e os autores mais frequentes foram Barbara Schulz e Siergfried Draeger (16 artigos cada), ambos da Universidade de Tecnologia de Braunschweig na Alemanha. Quase metade dos artigos (43%) comprovaram propriedades antimicrobianas, 29% comprovaram propriedades antitumorais, 9% comprovaram propriedades enzimáticas, 8% comprovaram propriedades antioxidantes, e 11% outras atividades. Essas tendências apontam o aumento do interesse desta área entre a comunidade científica e fica evidente que terão maiores números de publicações nos próximos anos.

A bioprospecção da atividade biológica em fungos endofíticos da planta medicinal *Palicourea rigida* Kunth, nativa do Cerrado, resultou na obtenção de diversos isolados fúngicos, dos quais, quatro selecionados, *Colletotrichum* sp. SXS649, *Pestalotiopsis* sp. SXS650, *Botryosphaeriales* SXS651 e *Diaporthe* sp. SXS652, mostram-se promissores, visto que foi verificada bioatividade em seus metabólitos secundários e enzimas. O rastreio apontou a presença de fenóis e flavonoides, além da produção de amilases, celulasas, proteases e tanases. Assim, constatou-se que:

- Extratos de *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Botryosphaeriales* e *Diaporthe* sp. apresentaram atividade antioxidante em teores menores e moderados pelos métodos DPPH e FRAP.

- Extrato de *Botryosphaeriales* apresentou atividade antimicrobiana contra as bactérias *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa* e extrato de *Diaporthe* sp. apresentou atividade antimicrobiana contra a bactéria *Escherichia coli*.

- Extrato de *Colletotrichum* sp. apresentou atividade antitumoral ao reduzir tumores em discos de batata.

- Extratos de *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Botryosphaeriales* e *Diaporthe* sp.

apresentaram atividade biorremediativa de solo contaminado com óleo de soja, pois foram capazes de reduzir a fitotoxicidade deste solo, com taxa acima de 20%, promovendo a germinação de sementes de *Lactuca sativa*.

- *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp., Botryosphaeriales e *Diaporthe* sp. apresentaram atividade antagonística contra os fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger*, *Inonotus rickii*, *Pestalotiopsis mangiferae* e *Coniophora puteana*, pelo método de culturas pareadas em placas.

- Extratos de *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp., Botryosphaeriales e *Diaporthe* sp. apresentaram alta toxicidade preliminar frente ao microcrustáceo *Artemia salina*.

Portanto, os resultados obtidos mostraram que estes endófitos possuem potenciais atividades biológicas e que novos estudos são necessários para caracterizar os compostos bioativos produzidos por eles.

ANEXOS

ANEXO I

Tabela I. Lista de artigos de pesquisa de atividade biológica em fungos endofíticos, publicados entre 1997 a 2019, que possuem no título, resumo ou palavras-chave os termos: (Fung* AND Endophytic) AND (Bioprospecting OR Bio-prospecting OR Prospecting OR Bioactivit* OR “Biological Activit*”), indexados na base de dados Web of Science.

Título do Artigo	Autoria, Ano
Diversity and bioactivities of fungal endophytes from <i>Distylium chinense</i> , a rare waterlogging tolerant plant endemic to the Three Gorges Reservoir.	DUAN et al., 2019.
An Endophytic <i>Diaporthe apiculatum</i> Produces Monoterpenes with Inhibitory Activity against Phytopathogenic Fungi.	SONG et al., 2019.
Fungal polysaccharide similar with host <i>Dendrobium officinale</i> polysaccharide: Preparation, structure characteristics and biological activities.	ZENG et al., 2019.
Isolation of Antibiotic 3R,5R-Dihydroxyhexanoate Polymers From Endophytic Fungi.	MOREHOUSE et al., 2019.
Molecular identification and phytochemical screening of endophytic fungi isolated from <i>Lithospermum officinale</i> L. roots: A new source of shikonin.	MOLLAEI et al., 2019.
Wortmannine H, a phenylpentenol isolated from an endophytic fungus, <i>Talaromyces wortmannii</i> LGT-4.	LI et al., 2019.
Endophytes from ethno-pharmacological plants: Sources of novel antioxidants - A systematic review.	TOGHUEO et al., 2019.
Phytotoxic Metabolites Produced by Legume-Associated Ascochyta and Its Related Genera in the Dothideomycetes.	KIM et al., 2019.
Bio-Guided Fractionation of Prenylated Benzaldehyde Derivatives as Potent Antimicrobial and Antibiofilm from <i>Ammi majus</i> L. Fruits-Associated <i>Aspergillus amstelodami</i>	FATHALLAH et al., 2019.
Absolute Configuration and Biological Activities of Meroterpenoids from an Endophytic Fungus of <i>Lycium barbarum</i> .	LONG et al., 2019.
Antimicrobial potential of endophytic fungi from <i>Astragalus chinensis</i> .	LIU et al., 2019.
Structure of a polysaccharide from <i>Trichoderma atroviride</i> and its promotion on tanshinones production in <i>Salvia miltiorrhiza</i> hairy roots.	WU et al., 2019.
Angularly Prenylated Indole Alkaloids with Antimicrobial and Insecticidal Activities from an Endophytic Fungus <i>Fusarium sambucinum</i> TE-6L.	ZHANG et al., 2019.
Functional roles of fungal endophytes in host fitness during stress conditions.	NAIK, 2019.
Vochysiamides A and B: Two new bioactive carboxamides produced by the new species <i>Diaporthe vochysiae</i> .	NORILER et al., 2019.

Extending the Metabolite Diversity of the Endophyte <i>Dimorphosporicola tragani</i> .	GONZALEZ-MENENDEZ et al., 2019.
In vitro-exploration of fungal endophytes of Egyptian <i>Cynara scolymus</i> L. (artichoke) and investigation of some their bioactive potentials.	NERMIEN et al., 2019.
Three new eudesmane-type sesquiterpenoids from the mangrove-derived endophytic fungus <i>Penicillium</i> sp. J-54.	CHEN et al., 2019.
Curtachalasin, immunosuppressive agents from the endophytic fungus <i>Xylaria</i> cf. <i>curta</i> .	WANG et al., 2019.
Isolation, Identification and Bioactivity Screening of Turkish Marine-Derived Fungi.	HEYDARI et al., 2019.
Meta-analysis of the role of entomopathogenic and unspecialized fungal endophytes as plant bodyguards.	GANGE et al., 2019.
Effect of Fermentation Broth of Endophytic Fungi on Physiological and Biochemical Characteristics of Tomato Seedling Under Calcium Nitrate Stress.	NIU et al., 2019.
Absolute Configuration and Biological Activities of Meroterpenoids from an Endophytic Fungus of <i>Lycium barbarum</i> .	LONG et al., 2019.
Ophiobolin-Type Sesterterpenoids from the Mangrove Endophytic Fungus <i>Aspergillus</i> sp. ZJ-68.	CAI et al., 2019.
Characterization of the lipid profile of Antarctic brown seaweeds and their endophytic fungi by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).	TEIXEIRA et al., 2019.
Cytotoxic prenylated indole alkaloid produced by the endophytic fungus <i>Aspergillus terreus</i> P63.	GUBIANI et al., 2019.
Sesquiterpenoids and mycotoxin swainsonine from the locoweed endophytic fungus <i>Alternaria oxytropis</i> .	TAN et al., 2019.
Melanogenesis Inhibitors from the Endophytic Fungus <i>Aspergillus amstelodami</i> .	ELSBAYY et al., 2019.
Extracellular polysaccharides of endophytic fungus <i>Alternaria tenuissima</i> F1 from <i>Angelica sinensis</i> : Production conditions, purification, and antioxidant properties.	WANG et al., 2019.
Antioxidant activity of exo-metabolites produced by <i>Fusarium oxysporum</i> : An endophytic fungus isolated from leaves of <i>Otoba gracilipes</i> .	CAICEDO et al., 2019.
Biotransformation of artemisinic acid by the fungus <i>Trichothecium roseum</i> and anti-candidal activity of its metabolites.	SINGH et al., 2019.
Two new 12-membered macrolides from the endophytic fungal strain <i>Cladosporium colocasiae</i> A801 of <i>Callistemon viminalis</i> .	LIU et al., 2019.
Total Synthesis and Amyloid beta Aggregation Inhibitory Activity of (-)-L-755,807	TANAKA III et al., 2019.
Endophytic Fungus Drives Nodulation and N-2 Fixation Attributable to Specific Root Exudates.	XIE et al., 2019.
The Purification, Characterization, and Biological Activity of New Polyketides from Mangrove-Derived Endophytic Fungus <i>Epicoccum nigrum</i> SCNU-F0002.	YAN et al., 2019.
Changes of volatile organic compounds and bioactivity of <i>Alternaria brassicae</i> GL07 in different ages.	PAN et al., 2019.
Aspernolide F, as a new cardioprotective butyrolactone against doxorubicin-induced cardiotoxicity.	EL-AGAMY et al., 2019.
Metabolic Profiling of Water-Soluble Compounds from the Extracts of Dark Septate Endophytic Fungi (DSE) Isolated from Scots Pine (<i>Pinus sylvestris</i> L.) Seedlings Using UPLC-Orbitrap-MS.	TIENAHUO et al., 2019.
Endophytic Fungi from Terminalia Species: A Comprehensive Review.	TOGHUEO et al., 2019.

Colonization Frequency, Endophytic Infection Rate and Bioactivities of Microbes of Desert Medicinal Plants.	REHMAN et al., 2019.
Benzopyran derivatives from endophytic <i>Daldinia eschscholzii</i> JC-15 in <i>Dendrobium chrysotoxum</i> and their bioactivities.	HU et al., 2019.
Brazilian Plants: An Unexplored Source of Endophytes as Producers of Active Metabolites.	SAVI et al., 2019.
Bioprospecting of Novel and Bioactive Metabolites from Endophytic Fungi Isolated from Rubber Tree <i>Ficus elastica</i> Leaves.	DING et al., 2019.
Penicisulfuranol A, a novel C-terminal inhibitor disrupting molecular chaperone function of Hsp90 independent of ATP binding domain.	DAI et al., 2019.
Biotechnological application of endophytic filamentous <i>Bipolaris</i> and <i>Curvularia</i> : a review on bioeconomy impact.	BENGYELLA et al., 2019.
A metabolite of endophytic fungus <i>Cadophora orchidicola</i> from <i>Kalimeris indica</i> serves as a potential fungicide and TLR4 agonist.	WANG et al., 2019.
Growth-promoting bioactivities of <i>Bipolaris</i> sp. CSL-1 isolated from <i>Cannabis sativa</i> suggest a distinctive role in modifying host plant phenotypic plasticity and functions.	LUBNA et al., 2019.
Cytochalasins and an Abietane-Type Diterpenoid with Allelopathic Activities from the Endophytic Fungus <i>Xylaria</i> Species.	HAN et al., 2019.
Cytosporone B as a Biological Preservative: Purification, Fungicidal Activity and Mechanism of Action against <i>Geotrichum citri-aurantii</i> .	YIN et al., 2019.
Discovery of Natural Dimeric Naphthopyrones as Potential Cytotoxic Agents through ROS-Mediated Apoptotic Pathway.	XU et al., 2019.
Identification and characterization of new <i>Muscodor</i> endophytes from gramineous plants in Xishuangbanna, China.	MAO et al., 2019.
Antimicrobial and iNOS inhibitory activities of the endophytic fungi isolated from the mangrove plant <i>Acanthus ilicifolius</i> var. <i>xiamenensis</i> .	CHI et al., 2019.
Diversity of natural products of the genera <i>Curvularia</i> and <i>Bipolaris</i> .	KHIRALLA et al., 2019.
Diversity and Antifungal Activity of Fungal Endophytes of <i>Asparagus racemosus</i> Willd.	CHOWDHARY et al., 2019.
The Beneficial Root-Colonizing Fungus <i>Mortierella hyalina</i> Promotes the Aerial Growth of <i>Arabidopsis</i> and Activates Calcium-Dependent Responses That Restrict <i>Alternaria brassicae</i> -Induced Disease Development in Roots.	JOHNSON et al., 2019.
Diversity and Spatiotemporal Distribution of Fungal Endophytes Associated with <i>Citrus reticulata</i> cv. Siyadoo.	SADEGHI et al., 2019.
Neuroprotective Secondary Metabolite Produced by an Endophytic Fungus, <i>Neosartorya fischeri</i> JS0553, Isolated from <i>Glehnia littoralis</i> .	BANG et al., 2019.
Isolation, Identification, and Activity Evaluation of Chemical Constituents from Soil Fungus <i>Fusarium avenaceum</i> SF-1502 and Endophytic Fungus <i>Fusarium proliferatum</i> AF-04.	JIANG et al., 2019.
The potential of endophytic fungi as bio-control agents against the cotton leafworm, <i>Spodoptera littoralis</i> (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae).	SAAD et al., 2019.
The study of metabolites from fermentation culture of <i>Alternaria oxytropis</i> .	SONG et al., 2019.

Exopolysaccharides from the fungal endophytic <i>Fusarium</i> sp. A14 isolated from <i>Fritillaria unibracteata</i> Hsiao et KC Hsia and their antioxidant and antiproliferation effects.	PAN et al., 2019.
Targeted metabolomic profiling reveals interspecific variation in the genus <i>Hypericum</i> in response to biotic elicitors.	BALINTOVA et al., 2019.
Isolation of anticancer and anti-trypanosome secondary metabolites from the endophytic fungus <i>Aspergillus flocculus</i> via bioactivity guided isolation and MS based metabolomics.	TAWFIKE et al., 2019.
Enhanced production of unusual triterpenoids from <i>Kadsura angustifolia</i> fermented by a symbiont endophytic fungus, <i>Penicillium</i> sp. SWUKD4.1850.	QIN et al., 2019.
Diversity and biological activities of endophytic fungi associated with <i>Catharanthus roseus</i> .	DHAYANITHY et al., 2019.
Arugosins O-Q, New Fungal Metabolites from the Fungus Xylariaceae sp. Isolated from Leaves of <i>Lansium domesticum</i> (Meliaceae).	RUDIYANSYAH et al., 2019.
Influence of OSMAC-Based Cultivation in Metabolome and Anticancer Activity of Fungi Associated with the Brown Alga <i>Fucus vesiculosus</i> .	FAN et al., 2019.
Elicitors derived from endophytic fungi <i>Chaetomium globosum</i> and <i>Paraconiothyrium brasiliense</i> enhance paclitaxel production in <i>Corylus avellana</i> cell suspension culture.	SALEHI et al., 2019.
The chemical composition, antifungal, antioxidant and antimutagenicity properties of bioactive compounds from fungal endophytes associated with <i>Thai orchids</i> .	BUNGTONGDEE et al., 2019.
Curvulin and spirostaphylotrichins R and U from extracts produced by two endophytic <i>Bipolaris</i> sp. associated to aquatic macrophytes with antileishmanial activity.	ALMEIDA et al., 2018.
Polyketide and Prenylxanthone Derivatives from the Endophytic Fungus <i>Aspergillus</i> sp. TJ23.	QIAO et al., 2018.
Prospecting endophytes from different Fe or Zn accumulating wheat genotypes for their influence as inoculants on plant growth, yield, and micronutrient content.	SINGH et al., 2018.
Volatile organic compounds from <i>Hypoxylon anthochroum</i> endophytic strains as postharvest mycofumigation alternative for cherry tomatoes.	MACIAS-RUBALCAVA et al., 2018.
Novel resources of Taxol from endophytic and entomopathogenic fungi: Isolation, characterization and LC-Triple mass spectrometric quantification.	El-MAALI et al., 2018.
Phenotyping the genus <i>Hypericum</i> by secondary metabolite profiling: emodin vs. skyrin, two possible key intermediates in hypericin biosynthesis.	KIMAKOVA et al., 2018.
Endophytic fungi isolated from medicinal plants: future prospects of bioactive natural products from <i>Tabebuia/Handroanthus</i> endophytes.	Gomez et al., 2018.
Active Metabolites from Endolichenic Fungus <i>Talaromyces</i> sp.	YUAN et al., 2018.
Biological Activity and Chemical Composition of the Endophytic Fungus <i>Fusarium</i> sp. TP-G1 Obtained from the Root of <i>Dendrobium officinale</i> Kimura et Migo.	SHI et al., 2018.
Cellulases and xylanases production by endophytic fungi by solid state fermentation using lignocellulosic substrates and enzymatic saccharification of pretreated sugarcane bagasse.	MARQUES et al., 2018.

New azaphilones and tremulane sesquiterpene from endophytic <i>Nigrospora oryzae</i> cocultured with <i>Irpex lacteus</i> .	ZHOU et al., 2018.
Biotransformation of beta-Mangostin by an Endophytic Fungus of <i>Garcinia mangostana</i> to Furnish Xanthenes with an Unprecedented Heterocyclic Skeleton.	ARUNRATTIYAKORN et al., 2018.
Exploitation of Mangrove Endophytic Fungi for Infectious Disease Drug Discovery.	DEMERS et al., 2018.
Optimization of Fermentation Condition for Echinacoside Yield Improvement with <i>Penicillium</i> sp. H1, an Endophytic Fungus Isolated from <i>Ligustrum lucidum</i> Ait Using Response Surface Methodology.	XU et al., 2018.
Antibiotic Mycotoxins from an Endophytic <i>Fusarium acuminatum</i> Isolated from the Medicinal Plant <i>Geum macrophyllum</i> .	CLARK et al., 2018.
New secondary metabolites from the endophytic fungus <i>Fusarium</i> sp HP-2 isolated from "Qi-Nan" agarwood.	XIAO et al., 2018.
Characterization, culture medium optimization and antioxidant activity of an endophytic vitexin-producing fungus <i>Dichotomopilus funicola</i> Y3 from pigeon pea [<i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp.].	GU et al., 2018.
Hybrid of dehydroergosterol and nitrogenous alternariol derivative from the fungus <i>Pestalotiopsis uvicola</i> .	HOU et al., 2018.
Two new tricycloalternarenes from Hawaiian endophytic fungus <i>Didymella</i> sp FT433.	LI et al., 2018.
This era of biotechnological tools: an insight into endophytic mycobiota.	DABA et al., 2018.
Mangrove-Associated Fungi: A Novel Source of Potential Anticancer Compounds.	DESHMUKH et al., 2018.
Prenylated Diphenyl Ethers from the Marine Algal-Derived Endophytic Fungus <i>Aspergillus tennesseensis</i> .	LI et al., 2018.
Lead Compounds from Mangrove-Associated Microorganisms.	ANCHEEVA et al., 2018.
Antiviral and Antioxidant Potential of Fungal Endophytes of Egyptian Medicinal Plants.	SELIM et al., 2018.
Bioactive Resorcylic Acid Lactones with Different Ring Systems from Desert Plant Endophytic Fungus <i>Chaetosphaeronema hispidulur</i> .	ZHANG et al., 2018.
Studies on Structure and Biological Activity of Indole Diketopiperazine Alkaloids.	JIA et al., 2018.
Novel natural compounds from endophytic fungi with anticancer activity.	LI et al., 2018.
Development of an efficient genetic system in a gene cluster-rich endophytic fungus <i>Calcarisporium arbuscula</i> NRRL 3705.	CAO et al., 2018.
Griseofulvin, Diketopiperazines and Cytochalasins from Endophytic Fungi <i>Colletotrichum crassipes</i> and <i>Xylaria</i> sp., and Their Antifungal, Antioxidant and Anticholinesterase Activities.	CHAPLA et al., 2018.
Antimicrobial Activity of Fungal Endophytes from <i>Vaccinium dunalianum</i> var. urophyllum.	TONG et al., 2018.
Bioprospecting and Structure of Fungal Endophyte Communities Found in the Brazilian Biomes, Pantanal, and Cerrado Sandriele.	NORILER et al., 2018.
Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Secondary Metabolites and Phylogenetic Study of Endophytic <i>Trichoderma</i> Species From Vinca Plants.	LEYLAIE et al., 2018
Bio-prospecting fungal endophytes of high altitude medicinal plants for commercially imperative enzymes.	KAPOOR et al., 2018.
Bioprospecting of <i>Diaporthe terebinthifolii</i> LGMF907 for antimicrobial compounds.	MEDEIROS et al., 2018.
Production of herbarin and dehydroherbarin by endophytic <i>Chaetosphaeronema</i> sp (KY321184) isolated from <i>Nepeta septemcrenata</i> and evaluation of their bioactivities.	OSMAN et al., 2018.

Endophyte microorganisms associated to <i>Theobroma cacao</i> as biological control agents of <i>Moniliophthora roreri</i> .	VERA LOOR et al., 2018.
Date Palm Trees Root-Derived Endophytes as Fungal Cell Factories for Diverse Bioactive Metabolites.	BEN MEFTEH et al., 2018.
Leishmanicidal and fungicidal activity of lipases obtained from endophytic fungi extracts.	ALVES et al., 2018.
Endophytic Mycoflora and Their Bioactive Compounds from <i>Azadirachta indica</i> : A Comprehensive Review.	CHUTULO et al., 2018.
Endophytic Fungi in Species of <i>Artemisia</i> .	COSOVEANU et al., 2018.
Antifungal Activities of Volatile Secondary Metabolites of Four <i>Diaporthe</i> Strains Isolated from <i>Catharanthus roseus</i> .	YAN et al., 2018.
Neuroprotective Compound from an Endophytic Fungus, <i>Colletotrichum</i> sp JS-0367.	SONG et al., 2018.
Isolation, identification and biological activities of endophytic fungus <i>Chaetomium</i> sp from <i>Euphorbia hirta</i> .	ANITHA et al., 2018.
Endophytic Fungi-Alternative Sources of Cytotoxic Compounds: A Review.	UZMA et al., 2018.
Diversity of cultivable fungal endophytes in <i>Paullinia cupana</i> (Mart.) Ducke and bioactivity of their secondary metabolites.	SILVA et al., 2018.
Partitioning of Fungal Endophyte Assemblages in Root-Parasitic Plant <i>Cynomorium songaricum</i> and Its Host <i>Nitraria tangutorum</i> .	CUI et al., 2018.
Biological Activities of Endophytic Fungus <i>Cochliobolus</i> sp. AL24 Isolated from <i>Aerva lanata</i> . L.	SHOBA et al., 2018.
Bioactive hydroanthraquinones from endophytic fungus <i>Nigrospora</i> sp. BCC 47789.	KORNSAKULKARN et al., 2018.
Fungal Endophytes: Beyond Herbivore Management.	BAMISILE et al., 2018.
Chaetochromones A - C, Three New Polyketides from Mangrove Plant Derived Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp. SCSIO 41006.	JU et al., 2018.
Antifungal Polyketides and Other Compounds from Amazonian Endophytic Talaromyces Fungi.	SILVA et al., 2018.
Shades of fungi - A review of pigments from endophytic fungi.	TAN et al., 2018.
Advance of swainsonine biosynthesis.	TAN et al., 2018.
Endophytic <i>Paraconiothyrium</i> sp from <i>Zingiber officinale</i> Rosc. Displays Broad-Spectrum Antimicrobial Activity by Production of Danthron.	ANISHA et al., 2018.
Bysspectin A, an unusual octaketide dimer and the precursor derivatives from the endophytic fungus <i>Byssochlamys spectabilis</i> IMM0002 and their biological activities.	WU et al., 2018.
Metabolomic-Guided Isolation of Bioactive Natural Products from <i>Curvularia</i> sp., an Endophytic Fungus of <i>Terminalia laxiflora</i> .	TAWFIKE et al., 2018
<i>Simplicillium coffeanum</i> , a new endophytic species from Brazilian coffee plants, emitting antimicrobial volatiles.	GOMES et al., 2018.
Culturable Endophytes Diversity Isolated from <i>Paeonia ostii</i> and the Genetic Basis for Their Bioactivity.	YANG et al., 2018.
Bioactive Metabolites from Pathogenic and Endophytic Fungi of Forest Trees.	MASI et al., 2018.
Prospects of endophytic fungal entomopathogens as biocontrol and plant growth promoting agents: An insight on how artificial inoculation methods affect endophytic colonization of host plants.	BAMISILE et al., 2018.

Endophytic <i>Fusarium solani</i> : A rich source of cytotoxic and antimicrobial naphthaquinone and aza-anthraquinone derivatives.	KHAN et al., 2018.
Endophytic fungus <i>Pseudofusicoccum stromaticum</i> produces cyclopeptides and plantrelated bioactive rotenoids.	SOBREIRA et al., 2018.
Enzymatic and Phytochemical Analysis of Endophytic Fungi on Aegle Marmelos From Western Ghats of Tamil Nadu, India.	MANI et al., 2018
Bioactive gamma-butyrolactones from Endophytic Fungus <i>Aspergillus versicolor</i> .	IBRAHIM et al., 2018.
Three xanthone dimers from the <i>Thai mangrove</i> endophytic fungus <i>Phomopsis</i> sp xy21.	WANG et al., 2018.
Modeling and Optimum Extraction of Multiple Bioactive Exopolysaccharide from an Endophytic Fungus of <i>Crocus sativus</i> L.	WEN et al., 2018.
Isolation of endophytic fungi from <i>Thermopsis lanceolata</i> and their antioxidant activity.	YANG et al., 2018.
Secondary Metabolites of Mangrove-Associated Strains of <i>Talaromyces</i> .	NICOLETTI et al., 2018.
Polyketides with different post-modifications from desert endophytic fungus <i>Paraphoma</i> sp.	LI et al., 2018.
Antifungal Activity of the Extract and the Active Substances of Endophytic <i>Nigrospora</i> sp from the Traditional Chinese Medicinal Plant <i>Stephania kwangsiensis</i> .	LUO et al., 2017.
Metabolites Produced by an Endophytic <i>Phomopsis</i> sp and Their Anti-TMV Activity.	TAN et al., 2017.
Metabolites with Insecticidal Activity from <i>Aspergillus fumigatus</i> JRJ111048 Isolated from Mangrove Plant <i>Acrostichum specioum</i> Endemic to Hainan Island.	GUO et al., 2017.
Three New Chromone Derivatives Produced by <i>Phomopsis</i> sp HNY29-2B from <i>Acanthus ilicifolius</i> Linn.	DING et al., 2017.
Anti-candidal effect of endophytic fungi isolated from <i>Calotropis gigantea</i> .	NATH et al., 2017.
Bioactive and biocontrol potential of endophytic fungi associated with <i>Brugmansia aurea</i> Lagerh.	SINGH et al., 2017.
The Bacterial and Fungal Microbiota of Hyperaccumulator Plants: Small Organisms, Large Influence.	THIJS et al., 2017.
Chaetochromones A-C, Three New Polyketides from Mangrove Plant Derived Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp SCSIO 41006.	JU et al., 2017.
Chemoprofile and functional diversity of fungal and bacterial endophytes and role of ecofactors - A review.	SHAH et al., 2017.
Antimycobacterial and antimalarial activities of endophytic fungi associated with the ancient and narrowly endemic neotropical plant <i>Vellozia gigantea</i> from Brazil.	FERREIRA et al., 2017.
Metabolomic Tools to Assess the Chemistry and Bioactivity of Endophytic <i>Aspergillus</i> Strain.	TAWFIKE et al., 2017.
Antibacterial and Antioxidant Constituents of Extracts of Endophytic Fungi Isolated from <i>Ocimum basilicum</i> var. thrysiflora Leaves.	ATIPHASAWORN et al., 2017.
Fungal endophytes associated with <i>Viola odorata</i> Linn. as bioresource for pancreatic lipase inhibitors.	KATOCH et al., 2017.
The impact of Andean Patagonian mycoflora in the search for new lead molecules.	AQUEVEQUE et al., 2017.
Phylogeny, antimicrobial, antioxidant and enzyme-producing potential of fungal endophytes found in <i>Viola odorata</i> .	KATOCH et al., 2017.
Preparation and Bioactivity of Exopolysaccharide from an Endophytic Fungus <i>Chaetomium</i> sp of the Medicinal Plant <i>Gynostemma pentaphylla</i> .	ZHANG et al., 2017.

Biodiversity and chemotaxonomy of <i>Preussia</i> isolates from the Iberian Peninsula.	GONZALEZ-MENENDEZ et al., 2017.
Fungal Endophytes: an Alternative Source for Production of Volatile Compounds from Agarwood Oil of <i>Aquilaria subintegra</i> .	MONGGOOT et al., 2017.
Insights into <i>Penicillium brasilianum</i> Secondary Metabolism and Its Biotechnological Potential.	BAZIOLI et al., 2017.
Diversity and antimicrobial activity of culturable fungi from fishscale bamboo (<i>Phyllostachys heteroclada</i>) in China.	ZHOU et al., 2017.
Marine Algicolous Endophytic Fungi - A Promising Drug Resource of the Era.	SARASAN et al., 2017.
Optimization of Submerged Fermentation Medium for Matrine Production by <i>Aspergillus terreus</i> , an Endophytic Fungus Harboring Seeds of <i>Sophora flavescens</i> , Using Response Surface Methodology.	ZHANG et al., 2017.
An Insight into the Secondary Metabolism of <i>Muscodor yucatanensis</i> : Small-Molecule Epigenetic Modifiers Induce Expression of Secondary Metabolism-Related Genes and Production of New Metabolites in the Endophyte.	QADRI et al., 2017.
The genus <i>Diaporthe</i> : a rich source of diverse and bioactive metabolites.	CHEPKIRUI et al., 2017.
Bioactivities of phenolics-rich fraction from <i>Diaporthe arengae</i> TATW2, an endophytic fungus from <i>Terminalia arjuna</i> (Roxb.).	PATIL et al., 2017.
Metabolomics-Guided Isolation of Anti-trypanosomal Metabolites from the Endophytic Fungus <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .	KAMAL et al., 2017.
Endophytic fungi in economically important plants: ecological aspects, diversity and potential biotechnological applications.	SOUZA et al., 2017.
Epigenetic Modulation of Endophytic <i>Eupenicillium</i> sp LG41 by a Histone Deacetylase Inhibitor for Production of Decalin-Containing Compounds.	LI et al., 2017.
Cytotoxic Naphthoquinone and Azaanthraquinone Derivatives from an Endophytic <i>Fusarium solani</i> .	CHOWDHURY et al., 2017.
Identification and Antifungal Activity of Metabolites from the Mangrove Fungus <i>Phoma</i> sp L28.	HUANG et al., 2017.
Biological activity of <i>Diaporthe terebinthifolii</i> extracts against <i>Phyllosticta citricarpa</i> .	TONIAL et al., 2017.
Update: Biological and Chemical Aspects of <i>Senna spectabilis</i> .	SELEGATO et al., 2017.
Endophytic fungi from mangrove inhibit lung cancer cell growth and angiogenesis in vitro.	LIU et al., 2017.
Endophytism and bioactivity of endophytic fungi isolated from <i>Combretum lanceolatum</i> Pohl ex Eichler.	SIQUEIRA et al., 2017.
Antimicrobial activity of endophytic fungi from olive tree leaves.	MALHADAS et al., 2017.
Fungal Root Microbiome from Healthy and Brittle Leaf Diseased Date Palm Trees (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) Reveals a Hidden Untapped Arsenal of Antibacterial and Broad Spectrum Antifungal Secondary Metabolites.	MEFTEH et al., 2017.
Recent advances in endophytic exopolysaccharides: Production, structural characterization, physiological role and biological activity.	LIU et al., 2017.
De novo Transcriptome Assembly of <i>Phomopsis liquidambari</i> Provides Insights into Genes Associated with Different Lifestyles in Rice (<i>Oryza sativa</i> L.).	ZHOU et al., 2017.
Bioprospecting endophytic fungus <i>Colletotrichum</i> sp isolated from <i>Artocarpus heterophyllus</i> for anticancer activity.	SUNKAR et al., 2017.

Induction of Diverse Bioactive Secondary Metabolites from the Mangrove Endophytic Fungus <i>Trichoderma</i> sp. (Strain 307) by Co-Cultivation with <i>Acinetobacter johnsonii</i> (Strain B2).	ZHANG et al., 2017.
Indole-diketopiperazine Alkaloids from <i>Eurotium cristatum</i> EN-220, an Endophytic Fungus Isolated from the Marine Alga <i>Sargassum thunbergii</i> .	DU et al., 2017.
Biological activity of the lipopeptide-producing <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> PGPBacCA1 on common bean <i>Phaseolus vulgaris</i> L. pathogens.	TORRES et al., 2017.
New and bioactive natural products from an endophyte of <i>Panax notoginseng</i> .	XIE et al., 2017.
Analysis of chemical constituents, antimicrobial and anticancer activities of dichloromethane extracts of <i>Sordariomycetes</i> sp endophytic fungi isolated from <i>Strobilanthes crispus</i> .	JINFENG et al., 2017.
Bioactive Constituents from an Endophytic Fungus, <i>Penicillium polonicum</i> NFW9, Associated with <i>Taxus fauna</i> .	FATIMA et al., 2017.
Secondary metabolites from fungal endophytes of <i>Solanum nigrum</i> .	EL-HAWARY et al., 2017.
Endophytic Fungi as Novel Resources of natural Therapeutics.	RAJAMANIKYAM et al., 2017.
Fungal Biotechnology of the Red Sea Alga <i>Sargassum subrepandum</i> with Potential of Anticancer and Anti-Hepatitis C Virus Protease Activities.	HAWAS et al., 2017.
Bioprospecting of antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi from <i>Bauhinia guianensis</i> .	PINHEIRO et al., 2017.
Selection, isolation, and identification of fungi for bioherbicide production.	CASTRO DE SOUZA et al., 2017.
Antifungal and antiproliferative activities of endophytic fungi isolated from the leaves of <i>Markhamia tomentosa</i> .	IBRAHIM et al., 2017.
2,5-diketopiperazines in food and beverages: Taste and bioactivity.	BORTHWICK et al., 2017.
Gibberpyrone Biosynthesis in the Rice Pathogen <i>Fusarium fujikuroi</i> Is Facilitated by a Small Polyketide Synthase Gene Cluster.	JANEVSKA et al., 2016.
Bioactive Volatiles from an Endophytic <i>Daldinia</i> cf. <i>concentrica</i> Isolate Affect the Viability of the Plant Parasitic Nematode <i>Meloidogyne javanica</i> .	LIARZI et al., 2016.
A New Benzoyl Compound Isolated from the Endophytic Fungi of Kandis Gajah (<i>Garcinia griffithii</i>) and Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i>).	ELFITA et al., 2016.
Endohyphal bacteria from fungal endophytes of the Mediterranean cypress (<i>Cupressus sempervirens</i>) exhibit in vitro bioactivity.	PAKVAZ et al., 2016.
Application of Bioassay-Guided Fractionation Coupled with a Molecular Approach for the Dereplication of Antimicrobial Metabolites.	RAKSHITH et al., 2016.
GSK-3 beta inhibitory activities of novel dichlororesorcinol derivatives from <i>Cosmospora vilior</i> isolated from a mangrove plant.	SHIONO et al., 2016.
A chitin deacetylase from the endophytic fungus <i>Pestalotiopsis</i> sp efficiently inactivates the elicitor activity of chitin oligomers in rice cells.	CORD-LANDWEHR et al., 2016.

Isolation and characterization of bioactive metabolites from <i>Xylaria psidii</i> , an endophytic fungus of the medicinal plant <i>Aegle marmelos</i> and their role in mitochondrial dependent apoptosis against pancreatic cancer cells.	ARORA et al., 2016.
Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of extracts of endophytic fungi isolated from Indonesian Zingiberaceous plants.	PRAPTIWI et al., 2016.
Phomopsichin A-D; Four New Chromone Derivatives from Mangrove Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp 33#	HUANG et al., 2016.
Enhancement of botrallin and TMC-264 production in liquid culture of endophytic fungus <i>Hyalodendriella</i> sp Ponipodefl2 after treatments with metal ions.	LUO et al., 2016.
Endophytic fungi associated with <i>Taxus fuana</i> (West Himalayan Yew) of Pakistan: potential bio-resources for cancer chemopreventive agents.	FATIMA et al., 2016.
Bioprospecting plant-associated microbiomes.	MULLER et al., 2016.
Chemical and Biological Study of Cladosporin, an Antimicrobial Inhibitor: A Review.	WANG et al., 2016.
Evaluation of bioactive secondary metabolites from endophytic fungus <i>Pestalotiopsis neglecta</i> BAB-5510 isolated from leaves of <i>Cupressus torulosa</i> D.Don.	SHARMA et al., 2016.
Mycochemistry of marine algicolous fungi.	JI et al., 2016.
Secondary Metabolites of the Endophytic Fungus <i>Lachnum abnorme</i> from <i>Ardisia cornudentata</i> .	CHANG et al., 2016.
Cytotoxic and Antibacterial Preussomerins from the Mangrove Endophytic Fungus <i>Lasiodiplodia theobromae</i> ZJ-HQ1.	CHEN et al., 2016.
Mycosynthesis of silver nanoparticles using extract of endophytic fungi, <i>Penicillium</i> species of <i>Glycosmis mauritiana</i> , and its antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and tyrokinase inhibitory activity.	GOVINDAPPA et al., 2016.
Antiproliferative effect of extract from endophytic fungus <i>Curvularia trifolii</i> isolated from the "Veracruz Reef System" in Mexico.	COUTTOLENC et al., 2016.
Antiviral anthraquinones and azaphilones produced by an endophytic fungus <i>Nigrospora</i> sp from <i>Aconitum carmichaeli</i> .	ZHANG et al., 2016.
Insecticidal potential of an endophytic <i>Cladosporium velox</i> against <i>Spodoptera litura</i> mediated through inhibition of alpha glycosidases.	SINGH et al., 2016.
Molecular Phylogeny, Diversity, and Bioprospecting of Endophytic Fungi Associated with wild Ethnomedicinal North American Plant <i>Echinacea purpurea</i> (Asteraceae).	CARVALHO et al., 2016.
Biological Evaluation of Endophytic Fungus <i>Chaetomium</i> sp NF15 of <i>Justicia adhatoda</i> L.: A Potential Candidate for Drug Discovery.	FATIMA et al., 2016.
Secondary Metabolites and Biological Activities of <i>Talaromyces</i> sp. LGT-2, an Endophytic Fungus from <i>Tripterygium Wilfordii</i> .	ZHAO et al., 2016.
Camptothecine production by mixed fermentation of two endophytic fungi from <i>Nothapodytes nimmoniana</i> .	BHALKAR et al., 2016.
Secondary Metabolites from the Marine Algal-Derived Endophytic Fungi: Chemical Diversity and Biological Activity.	ZHANG et al., 2016.
Phytotoxic Potential of Secondary Metabolites and Semisynthetic Compounds from Endophytic Fungus <i>Xylaria feejeensis</i> Strain SM3e-1b Isolated from <i>Sapium macrocarpum</i> .	GARCIA-MENDEZ et al., 2016.

Bioprospecting foliar endophytic fungi of <i>Vitis labrusca</i> Linnaeus, Bord and Concord cv.	FELBER et al., 2016.
Talarolutins A-D: Meroterpenoids from an endophytic fungal isolate of <i>Talaromyces minioluteus</i> .	KAUR et al., 2016.
Eremophilane sesquiterpenes from Hawaiian endophytic fungus <i>Chaetoconis</i> sp FT087.	LI et al., 2016.
Endophyte distribution and comparative analysis of diversity in wetlands showing contrasting geomorphic conditions.	YOU et al., 2016.
Combined genetic and bioactivity-based prioritization leads to the isolation of an endophyte-derived antimycobacterial compound.	ALVIN et al., 2016.
Cytotoxic cochlioquinone derivatives from the endophytic fungus <i>Bipolaris sorokiniana</i> derived from <i>Pogostemon cablin</i> .	WANG et al., 2016.
Regio-selective Reduction of Oxysophoridine by Microorganism Isolated from Soil.	FU et al., 2016.
Potential of the Endophytic Fungus <i>Phialocephala fortinii</i> Rac56 Found in <i>Rhodiola</i> Plants to Produce Salidroside and p-Tyrosol.	CUI et al., 2016.
Richness of cultivable endophytic fungi along an altitudinal gradient in wet forests of Costa Rica.	ROJAS-JIMENEZ et al., 2016.
Alkaloids from an algicolous strain of <i>Talaromyces</i> sp.	YANG et al., 2016.
Molecular phylogenetics and anti-Pythium activity of endophytes from rhizomes of wild ginger congener, <i>Zingiber zerumbet</i> Smith.	KEERTHI et al., 2016.
Anti-phytopathogenic activity of sporothriolide, a metabolite from endophyte <i>Nodulisporium</i> sp A21 in <i>Ginkgo biloba</i> .	CAO et al., 2016.
Secondary Metabolites from Endophytic Fungus <i>Penicillium pinophilum</i> Induce ROS-Mediated Apoptosis through Mitochondrial Pathway in Pancreatic Cancer Cells.	KOUL et al., 2016.
Koningiopisins A-H, Polyketides with Synergistic Antifungal Activities from the Endophytic Fungus <i>Trichoderma koningiopsis</i> .	LIU et al., 2016.
High expression level of antioxidants and pharmaceutical bioactivities of endophytic fungus <i>Chaetomium globosum</i> JN711454.	SELIM et al., 2016.
Influence of Culturing Conditions on Bioprospecting and the Antimicrobial Potential of Endophytic Fungi from <i>Schinus terebinthifolius</i> .	TONIAL et al., 2016.
Koninginins N-Q, Polyketides from the Endophytic Fungus <i>Trichoderma koningiopsis</i> Harbored in <i>Panax notoginseng</i> .	LIU et al., 2016.
The indole alkaloid meleagrins, from the olive tree endophytic fungus <i>Penicillium chrysogenum</i> , as a novel lead for the control of c-Met-dependent breast cancer proliferation, migration and invasion.	MADY et al., 2016.
Bioprospecting and biotechnological applications of fungal laccase.	UPADHYAY et al., 2016.
Active fungal endophytes against phytopathogenic fungi-dwellers of Romanian and Canarian <i>Artemisia</i> spp.	COSOVEANU et al., 2016.
A Novel Anticandidal Compound Containing Sulfur from Endophytic Fungus <i>Emericella</i> sp.	MITTAL et al., 2016.
Isolation, characterisation, and antioxidant potentials of endophytic fungi of <i>Ephedra intermedia</i> .	XUE et al., 2016.

Antimicrobial activity of endophytic fungus <i>Fusarium</i> sp isolated from medicinal Honeysuckle plant.	ZHANG et al., 2016.
Secondary Metabolites and Bioactivity of the Endophytic Fungus <i>Phomopsis theicola</i> from Taiwanese endemic plant.	HSIAO et al., 2016.
Biological activities of ophiobolin K and 6-epi-ophiobolin K produced by the endophytic fungus <i>Aspergillus calidoustus</i> .	CARVALHO et al., 2016.
Bioactive Secondary Metabolites from the Endophytic <i>Aspergillus</i> Genus.	ZHANG et al., 2016.
Alternariol 9-methyl ether from the endophytic fungus <i>Alternaria</i> sp Samif01 and its bioactivities.	LOU et al., 2016.
Importance and Implications of the Production of Phenolic Secondary Metabolites by Endophytic Fungi: A Mini-Review.	CARVALHO et al., 2016.
Isolation and preliminary screening of endophytic fungi of <i>Ricinus communis</i> for their antimicrobial potential.	JAIN et al., 2015.
Fungal Endophyte Diversity and Bioactivity in the Indian Medicinal Plant <i>Ocimum sanctum</i> Linn.	CHOWDHARY et al., 2015.
Phylogenetic diversity of culturable endophytic fungi in Dongxiang wild rice (<i>Oryza rufipogon</i> Griff), detection of polyketide synthase gene and their antagonistic activity analysis.	WANG et al., 2015.
Determination of the absolute configuration of chaetoviridins and other bioactive azaphilones from the endophytic fungus <i>Chaetomium globosum</i> .	YOUN et al., 2015.
Endophytes as in vitro production platforms of high value plant secondary metabolites.	VENUGOPALAN et al., 2015.
Enhancement of Palmarumycin C-12 and C-13 Production by the Endophytic Fungus <i>Berkleasium</i> sp Dzf12 in an Aqueous-Organic Solvent System.	MOU et al., 2015.
Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects.	JOHRI et al., 2015.
Antifungal, Phytotoxic, and Cytotoxic Activities of Metabolites from <i>Epichloe bromicola</i> , a Fungus Obtained from <i>Elymus tangutorum</i> Grass.	SONG et al., 2015.
Polyketides from an Endophytic <i>Aspergillus fumigatus</i> Isolate Inhibit the Growth of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> and MRSA.	FLEWELLING et al., 2015.
Bioactive Secondary Metabolites Produced by the Fungal Endophytes of Conifers.	STIERLE et al., 2015.
Fungal biosynthesis of the bibenzoquinone oosporein to evade insect immunity.	FENG et al., 2015.
Bioprospecting Endophytic Fungi and Their Metabolites from Medicinal Tree <i>Aegle marmelos</i> in Western Ghats, India.	MANI et al., 2015.
Cytotoxic effects of oosporein isolated from endophytic fungus <i>Cochliobolus kusanoi</i> .	RAMESHA et al., 2015.
Antitumour activity of 3-nitropropionic acid from <i>Phomopsis</i> sp and optimization of fermentation conditions.	LU et al., 2015.
Endophytic <i>Streptomyces</i> in the traditional medicinal plant <i>Arnica montana</i> L.: secondary metabolites and biological activity.	WARDECKI et al., 2015.
Chemical investigation of metabolites produced by an endophytic <i>Aspergillus</i> sp isolated from <i>Limonia acidissima</i> .	SIRIWARDANE et al., 2015.
Antimicrobial activities of endophytic fungi obtained from the arid zone invasive plant <i>Opuntia dillenii</i> and the	RATNAWEERA et al.,

isolation of equisetin, from endophytic <i>Fusarium</i> sp.	2015.
Screening marine-derived endophytic fungi for xylan-degrading enzymes.	THIRUNAVUKKARASU et al., 2015.
Identification and Bioactivity of Compounds from the Mangrove Endophytic Fungus <i>Alternaria</i> sp.	WANG et al., 2015.
Symbionts, a promising source of bioactive natural products.	ZHANG et al., 2015.
Biological Activities and Identification of Bioactive Metabolite from Endophytic <i>Aspergillus flavus</i> L7 Isolated from <i>Aegle marmelos</i> .	PATIL et al., 2015.
Characterization of an Endophytic <i>Gloeosporium</i> sp and Its Novel Bioactivity with "Synergistans".	SCHAIBLE et al., 2015.
Investigation of Marine-Derived Fungal Diversity and Their Exploitable Biological Activities.	HONG et al., 2015.
Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review.	NISA et al., 2015.
Bioprospecting-fuels from fungi	STROBEL, 2015.
A highly diverse spectrum of naphthoquinone derivatives produced by the endophytic fungus <i>Biatriospora</i> sp CCF 4378.	STODULKOVA et al., 2015.
Genomic and chromatographic approach for the discovery of polyketide antimicrobial metabolites from an endophytic <i>Phomopsis liquidambaris</i> CBR-18.	RAO et al., 2015.
Fungal Endophyte Diversity and Bioactivity in the Mediterranean Cypress <i>Cupressus sempervirens</i> .	SOLTANI et al., 2015.
Fusartricin, a sesquiterpenoid ether produced by an endophytic fungus <i>Fusarium tricinctum</i> Salicorn 19	ZHANG et al., 2015.
Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of <i>Calotropis procera</i> and their antimicrobial activity.	NASCIMENTO et al., 2015.
Indole diketopiperazines from endophytic <i>Chaetomium</i> sp 88194 induce breast cancer cell apoptotic death.	WANG et al., 2015.
Anti-TMV Activity of Malformin A(1), a Cyclic Penta-Peptide Produced by an Endophytic Fungus <i>Aspergillus tubingensis</i> FJB11.	TAN et al., 2015.
Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance.	KHAN et al., 2015.
Development of carrier-based formulation of root endophyte <i>Piriformospora indica</i> and its evaluation on <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	TRIPATHI et al., 2015.
Phomoxanthone A - From Mangrove Forests to Anticancer Therapy.	FRANK et al., 2015.
3-epi-Waol A and Waol C: polyketide-derived gamma-lactones isolated from the endophytic fungus <i>Libertella blepharis</i> F2644.	ADAMES et al., 2015.
Acremoxanthone E, a Novel Member of Heterodimeric Polyketides with a Bicyclo[3.2.2]nonene Ring, Produced by <i>Acremonium camptosporum</i> W. GAMS (Clavicipitaceae) Endophytic Fungus.	MELLENDEZ-GONZALEZ et al., 2015.
Biotechnological prospecting of foliar endophytic fungi of guaco (<i>Mikania glomerata</i> Spreng.) with antibacterial and antagonistic activity against phytopathogens.	POLONIO et al., 2015.
Exploitation of endophytic fungus, <i>Guignardia mangiferae</i> for extracellular synthesis of silver nanoparticles and their in vitro biological activities.	BALAKUMARAN et al., 2015.

Penicisochromans from the endophytic fungus <i>Penicillium</i> sp BCC18034.	BUNBAMRUNG et al., 2014.
A New Cyclic Peptide and a New Steroid from the Fungus <i>Penicillium</i> sp GD6 Isolated from the Mangrove <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> .	ZHOU et al., 2014.
Alertoxins with potent anti-HIV activity from <i>Alternaria tenuissima</i> QUE1Se, a fungal endophyte of <i>Quercus emoryi</i> .	BASHYAL et al., 2014.
Aspergillines A-E, Highly Oxygenated Hexacyclic Indole-Tetrahydrofuran-Tetramic Acid Derivatives from <i>Aspergillus versicolor</i> .	ZHOU et al., 2014.
A search for antiplasmodial metabolites among fungal endophytes of terrestrial and marine plants of southern India.	KAUSHIK et al., 2014.
Endophytic fungi: expanding the arsenal of industrial enzyme producers.	GOMES CORREA et al., 2014.
Marine Derived Fungi of Peninsular Malaysia - a Biochemical Perspective.	PALIANY et al., 2014.
Endophytic Fungi Found in Association with <i>Bacopa monnieri</i> As Potential Producers of Industrial Enzymes and Antimicrobial Bioactive Compounds.	KATOCH et al., 2014.
Separation and purification of bioactive botrallin and TMC-264 by a combination of HSCCC and semi-preparative HPLC from endophytic fungus <i>Hyalodendriella</i> sp Ponipodef12.	MAO et al., 2014.
Diverse and bioactive endophytic <i>Aspergilli</i> inhabit Cupressaceae plant family.	SOLTANI et al., 2014.
Endophytic Fungi from <i>Artemisia argyi</i> Levl. et Vant. and Their Bioactivity.	QIAN et al., 2014.
Antiproliferative, Antifungal, and Antibacterial Activities of Endophytic <i>Alternaria</i> Species from Cupressaceae.	SOLTANI et al., 2014.
Biological activity of fungi from the phyllosphere of weeds and wild herbaceous plants.	BERESTETSKIY et al., 2014.
Functionalized para-substituted benzenes as 1,8-cineole production modulators in an endophytic <i>Nodulisporium</i> species.	NIGG et al., 2014.
Production of an antimicrobial cytochalasan by an endophytic <i>Chaetomium globosum</i> HYML55 from <i>Hypericum mysorense</i> and its RNA secondary structure analysis.	SAMAGA et al., 2014.
Vermistatin Derivatives with alpha-Glucosidase Inhibitory Activity from the Mangrove Endophytic Fungus <i>Penicillium</i> sp HN29-3B1.	LIU et al., 2014.
Phomopsidone A, a novel depsidone metabolite from the mangrove endophytic fungus <i>Phomopsis</i> sp A123.	ZHANG et al., 2014.
Chemical and bioactive natural products from Microthyriaceae sp., an endophytic fungus from a tropical grass.	ALMEIDA et al., 2014.
Psychrophilic endophytic fungi with biological activity inhabit Cupressaceae plant family.	MOGHADDAM et al., 2014.
Bioactivity of endophytic <i>Trichoderma</i> fungal species from the plant family Cupressaceae.	HOSSEYNI-MOGHADDAM et al., 2014.
Bioactive Secondary Metabolites from <i>Phomopsis</i> sp., an Endophytic Fungus from <i>Senna spectabilis</i> .	CHAPLA et al., 2014.
Diversity and Antimicrobial Activity of Culturable Endophytic Fungi Isolated from <i>Moso Bamboo</i> Seeds.	SHEN et al., 2014.

Production of 3-nitropropionic acid by endophytic fungus <i>Phomopsis longicolla</i> isolated from <i>Trichilia elegans</i> A. JUSS ssp. <i>elegans</i> and evaluation of biological activity.	FLORES et al., 2014.
Myrtucommulone production by a strain of <i>Neofusicoccum australe</i> endophytic in myrtle (<i>Myrtus communis</i>). Fungal natural products in research and development.	NICOLETTI et al., 2014. SCHUEFFLER et al., 2014.
Bioactive Natural Compounds from the Mangrove Endophytic Fungi.	WANG et al., 2014.
Endophytic fungi from <i>Myrcia guianensis</i> at the Brazilian Amazon: Distribution and bioactivity.	DOS BANHOS et al., 2014.
Anti- <i>L. donovani</i> Activity in Macrophage/Amastigote Model of Palmarumycin CP18 and its Large Scale Production.	ORTEGA et al., 2014.
Biological Evaluation of Endophytic Fungus, <i>Chaetomium globosum</i> JN711454, as Potential Candidate for Improving Drug Discovery.	SELIM et al., 2014.
Antifungal activity of metabolites of the endophytic fungus <i>Trichoderma brevicompactum</i> from garlic.	SHENTU et al., 2014.
Antifungal and antibacterial metabolites from an endophytic <i>Aspergillus</i> sp associated with <i>Melia azedarach</i> .	XIAO et al., 2014.
Characterisation and bioactivity of oosporein produced by endophytic fungus <i>Cochliobolus kusanoi</i> isolated from <i>Nerium oleander</i> L.	ALURAPPA et al., 2014.
Pro-Apoptotic and Immunostimulatory Tetrahydroxanthone Dimers from the Endophytic Fungus <i>Phomopsis longicolla</i> .	ROENSBURG et al., 2013.
Screening Mangrove Endophytic Fungi for Antimalarial Natural Products.	CALCUL et al., 2013.
Dereplication Strategy for Antimicrobial Metabolite Using Thin-Layer Chromatography-Bioautography and LC-PDA-MS Analysis.	RAKSHITH et al., 2013.
Antimicrobial and Antioxidant Activities and Effect of 1-Hexadecene Addition on Palmarumycin C-2 and C-3 Yields in Liquid Culture of Endophytic Fungus <i>Berkleasmium</i> sp Dzf12.	MOU et al., 2013.
Medium optimization for palmarumycin C-13 production in liquid culture of endophytic fungus <i>Berkleasmium</i> sp Dzf12 using response surface methodology.	ZHAO et al., 2013.
Stereochemical Assignment of the Fungal Metabolites Pestalotiopsone D and E through Enantiopure Synthesis.	BEEKMAN et al., 2013.
Xanthone derivatives from the fermentation products of an endophytic fungus of <i>Phomopsis amygdali</i> .	HU et al., 2013.
A Mixed Culture of Endophytic Fungi Increases Production of Antifungal Polyketides.	CHAGAS et al., 2013.
Antibacterial activity of alkaloids produced by endophytic fungus <i>Aspergillus</i> sp EJC08 isolated from medical plant <i>Bauhinia guianensis</i> .	PINHEIRO et al., 2013.
Cytotoxic metabolites from the cultures of endophytic fungi from <i>Panax ginseng</i> .	ZHENG et al., 2013.
Antifeedent and toxic activity of endophytic <i>Alternaria alternata</i> against tobacco caterpillar <i>Spodoptera litura</i> .	KAUR et al., 2013.
Prospecting endophytic fungal assemblage of <i>Digitalis lanata</i> Ehrh. (foxglove) as a novel source of digoxin: a cardiac glycoside.	KAUL et al., 2013.
Aniquinazolines A-D, Four New Quinazolinone Alkaloids from Marine-Derived Endophytic Fungus <i>Aspergillus nidulans</i> .	AN et al., 2013.

Naphtho-gamma-pyrones from Endophyte <i>Aspergillus niger</i> Occurring in the Liverwort <i>Heteroscyphus tener</i> (STEPH.) SCHIFFN.	LI et al., 2013.
<i>Piriformospora indica</i> : a versatile root endophytic symbiont.	UNNIKUMAR et al., 2013.
<i>Coniochaeta ligniaria</i> : antifungal activity of the cryptic endophytic fungus associated with autotrophic tissue cultures of the medicinal plant <i>Smallanthus sonchifolius</i> (Asteraceae).	ROSA et al., 2013.
Endophytic fungi producing of esterases: Evaluation in vitro of the enzymatic activity using pH indicator.	FAVERO LISBOA et al., 2013.
Mangrove derived fungal endophytes - a chemical and biological perception.	DEBBAB et al., 2013.
Isolation and bioassay screening of fungal endophytes from North Atlantic marine macroalgae.	FLEWELLING et al., 2013.
Antifungal Activity against Plant Pathogens of Metabolites from the Endophytic Fungus <i>Cladosporium cladosporioides</i> .	WANG et al., 2013.
Production of 3-nitropropionic acid by endophytic fungus <i>Phomopsis longicolla</i> isolated from <i>Trichilia elegans</i> A. JUSS ssp <i>elegans</i> and evaluation of biological activity.	FLORES et al., 2013.
Determination of Secalonic Acid A from Endophytic Fungus <i>Penicillium oxalicum</i> by High Performance Liquid Chromatography.	WANG et al., 2013.
An antimicrobial compound from the endophytic fungus <i>Phoma</i> sp isolated from the medicinal plant <i>Taraxacum mongolicum</i> .	ZHANG et al., 2013.
Endophytic Fungi Isolated from Oil-Seed Crop <i>Jatropha curcas</i> Produces Oil and Exhibit Antifungal Activity.	KUMAR et al., 2013.
Cytotoxic metabolites from <i>Perenniporia tephropora</i> , an endophytic fungus from <i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i> .	WU et al., 2013.
Identification and bioactive potential of endophytic fungi isolated from selected plants of the Western Himalayas.	QADRI et al., 2013.
In vitro Anti-staphylococcal Potential of Endophytic Fungi from <i>Aegle marmelos</i> .	MESHRAM et al., 2012.
New Furanones from the Plant Endophytic Fungus <i>Pestalotiopsis besseyi</i> .	LIU et al., 2012.
The diversity and importance of fungi associated with marine sponges.	SURYANARAYANAN, 2012.
Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites.	KAUL et al., 2012.
Endophytic fungi from <i>Combretum leprosum</i> with potential anticancer and antifungal activity.	SANTOS et al., 2012.
Bioactive Natural Compounds from the Plant Endophytic Fungi <i>Pestalotiopsis</i> spp.	WANG et al., 2012.
Antifungal activity of altenusin isolated from the endophytic fungus <i>Alternaria</i> sp against the pathogenic fungus <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .	JOHANN et al., 2012.
Sesquiterpenoids from the Mangrove-Derived Endophytic Fungus <i>Diaporthe</i> sp.	ZANG et al., 2012.
Benzopyranones from the Endophytic Fungus <i>Hyalodendriella</i> sp Ponipodef12 and Their Bioactivities.	MENG et al., 2012.
Structural elucidation and bioactivity of a novel exopolysaccharide from endophytic <i>Fusarium solani</i> SD5.	MAHAPATRA et al., 2012.

Medium Optimization for Exopolysaccharide Production in Liquid Culture of Endophytic Fungus <i>Berkleasium</i> sp Dzf12.	LI et al., 2012.
Alkaloids Produced by Endophytic Fungi: A Review	ZHANG et al., 2012.
<i>Muscodor sutura</i> , a novel endophytic fungus with volatile antibiotic activities.	KUDALKAR et al., 2012.
Total Synthesis, Absolute Configuration, and Biological Activity of Xyloallenoid A.	WANG et al., 2012.
The diversity, antimicrobial and anticancer activity of endophytic fungi associated with the medicinal plant <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville (Fabaceae) from the Brazilian savannah.	CARVALHO et al., 2012.
Phomopsinones A-D: Four New Pyrenocines from Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp.	HUSSAIN et al., 2012.
Modulation of volatile organic compound formation in the Mycodiesel-producing endophyte <i>Hypoxylon</i> sp CI-4.	UL-HASSAN et al., 2012.
Bioactive metabolites from <i>Phoma</i> species, an endophytic fungus from the Chinese medicinal plant <i>Arisaema erubescens</i> .	WANG et al., 2012.
Microbial Diversity Inside Pumpkins: Microhabitat-Specific Communities Display a High Antagonistic Potential Against Phytopathogens.	FUERNKRANZ et al., 2012.
Isolation and evaluation of endophytic fungi with antimicrobial ability from <i>Phyllostachys edulis</i> .	SHEN et al., 2012.
Two new compounds from an endophytic fungus <i>Alternaria solani</i> .	AI et al., 2012.
Production of indole-3-acetic acid by Thai native orchid-associated fungi.	CHUTIMA et al., 2012.
Cytotoxic and Antifungal Activities of 5-Hydroxyramulosin, a Compound Produced by an Endophytic Fungus Isolated from <i>Cinnamomum mollisimum</i> .	SANTIAGO et al., 2012.
Diversity and antimicrobial activities of the fungal endophyte community associated with the traditional Brazilian medicinal plant <i>Solanum cernuum</i> Vell. (Solanaceae).	VIEIRA et al., 2012.
Isolation and Identification of Endophytic Fungi from <i>Actinidia macrosperma</i> and Investigation of Their Bioactivities.	LU et al., 2012.
Leishmanicidal and antitumoral activities of endophytic fungi associated with the Antarctic angiosperms <i>Deschampsia antarctica</i> Desv. and <i>Colobanthus quitensis</i> (Kunth) Bartl.	SANTIAGO et al., 2012.
Terpenoids from Endophytic Fungi	SOUZA et al., 2011.
Phomosines H-J, Novel Highly Substituted Biaryl Ethers, Isolated from the Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp from <i>Ligustrum vulgare</i> .	KROHN et al., 2011.
Isolation, structure elucidation and biological activity of metabolites from Sch-642305-producing endophytic fungus <i>Phomopsis</i> sp CMU-LMA.	ADELIN et al., 2011.
Antagonistic bioactivity of endophytic strains isolated from <i>Salvia miltiorrhiza</i> .	YAN et al., 2011.
Natural Products with Antitumor Activity from Endophytic Fungi.	WANG et al., 2011.
BACE1 inhibitory activity of fungal endophytic extracts from Malaysian medicinal plants.	HARUN et al., 2011.
Pestalothols E-H: Antimicrobial Metabolites from an Endophytic Fungus Isolated from the Tree <i>Arbutus unedo</i> .	QIN et al., 2011.
Endophytic Fungi from Dragon's Blood Specimens: Isolation, Identification, Phylogenetic Diversity and Bioactivity.	CUI et al., 2011.
Chemical investigation of novel ascomycetes using PCR based screening approaches.	JUMPATHONG et al., 2011.

Vincamine-producing endophytic fungus isolated from <i>Vinca minor</i> .	YIN et al., 2011.
Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises.	ALY et al., 2011.
Screening and evaluation of antiparasitic and in vitro anticancer activities of Panamanian endophytic fungi.	MARTINEZ-LUIS et al., 2011.
Three New Antimicrobial Metabolites from the Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp.	AHMED et al., 2011.
An Endophytic <i>Phomopsis</i> sp Possessing Bioactivity and Fuel Potential with its Volatile Organic Compounds.	SINGH et al., 2011.
Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of <i>Aquilaria sinensis</i> .	CUI et al., 2011.
Azaphilones from the Endophyte <i>Chaetomium globosum</i> .	BORGES et al., 2011.
Bioactive Secondary Metabolites from Endophytic Fungi in Plants.	ZHU et al., 2011.
Bioactivity and genetic diversity of endophytic fungi in <i>Rhododendron tomentosum</i> Harmaja.	TEJESVI et al., 2011.
Isolation, characterization, and bioactivity of endophytic fungi of <i>Tylophora indica</i> .	KUMAR et al., 2011.
Isolation and detection of taxol, an anticancer drug produced from <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , an endophytic fungus of the medicinal plant <i>Morinda citrifolia</i> .	PANDI et al., 2011.
Cytotoxic and antimicrobial activities of Malaysian marine endophytic fungi.	ARIFFIN et al., 2011.
Plant-Derived Bioactive Compounds Produced by Endophytic Fungi.	ZHAO et al., 2011.
Enhancement of <i>Diepoxin zeta</i> Production by Yeast Extract and Its Fractions in Liquid Culture of Berkleasmium-Like Endophytic Fungus Dzf12 from <i>Dioscorea zingiberensis</i> .	ZHAO et al., 2011.
Interaction of Mycobiont: <i>Piriformospora Indica</i> with Medicinal plants and plants of Economic importance.	BAGDE et al., 2010.
Three Dimeric Naphtho-gamma-Pyrones from the Mangrove Endophytic Fungus <i>Aspergillus tubingensis</i> Isolated from <i>Pongamia pinnata</i> .	HUANG et al., 2010.
<i>Pestalotiopsis</i> a highly creative genus: chemistry and bioactivity of secondary metabolites.	XU et al., 2010.
Separation and determination of the bioactivity of oosporein from <i>Chaetomium cupreum</i> .	MAO et al., 2010.
Diversity and Antimicrobial and Plant-Growth-Promoting Activities of Endophytic Fungi in <i>Dendrobium loddigesii</i> Rolfe.	CHEN et al., 2010.
Metabolites from the Mangrove Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp (#zsu-H76).	YANG et al., 2010.
Penicnoline, a new pyrrolyl 4-quinolinone alkaloid with an unprecedented ring system from an endophytic fungus <i>Penicillium</i> sp.	SHAO et al., 2010.
Brasilamides A-D: Sesquiterpenoids from the Plant Endophytic Fungus <i>Paraconiothyrium brasiliense</i> .	LIU et al., 2010.
A review: recent advances and future prospects of taxol-producing endophytic fungi.	ZHOU et al., 2010.
Leishmanicidal, trypanocidal, and cytotoxic activities of endophytic fungi associated with bioactive plants in Brazil.	ROSA et al., 2010.
Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products.	ALY et al., 2010.
Endophytes from the pharmaceutical plant, <i>Annona squamosa</i> : isolation, bioactivity, identification and diversity of its polyketide synthase gene.	LIN et al., 2010.
Anti-Plant Pathogenic Fungal Compounds from Endophytic Fungi.	MA et al., 2010.
Development of methods for detection and <i>Agrobacterium</i> -mediated transformation of the	EZRA et al., 2010.

sterile, endophytic fungus <i>Muscodor albus</i> .	
Diketopiperazine Alkaloids from <i>Penicillium</i> spp. HS-3, an Endophytic Fungus in <i>Huperzia serrata</i> .	SHAN et al., 2010.
Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products.	KJER et al., 2010.
The Bioactive Metabolites of the Mangrove Endophytic Fungus <i>Talaromyces</i> sp ZH-154 Isolated from <i>Kandelia candel</i> (L.) Druce.	LIU et al., 2010.
Chemical and Functional Diversity of Natural Products from Plant Associated Endophytic Fungi.	VERMA et al., 2009.
Biological activities of the fermentation extract of the endophytic fungus <i>Alternaria alternata</i> isolated from <i>Coffea arabica</i> L.	VIEIRA-FERNANDES et al., 2009.
Progress in the Studies on Alkaloids from Endophytic Fungi.	MA et al., 2009.
Two New Fusidilactones from the Fungal Endophyte <i>Fusidium</i> sp.	QIN et al., 2009.
Fungal endophytes from <i>Acer ginnala</i> Maxim: isolation, identification and their yield of gallic acid.	QI et al., 2009.
Comparative research of chemical constituents, antifungal and antitumor properties of ether extracts of <i>Panax ginseng</i> and its endophytic fungus.	XU et al., 2009.
New Naphthalene-Chroman Coupling Products from the Endophytic Fungus, <i>Nodulisporium</i> sp from <i>Erica arborea</i> .	DAI et al., 2009.
Pseudoanguillosporin A and B: Two New Isochromans Isolated from the Endophytic Fungus <i>Pseudoanguillospora</i> sp.	KOCK et al., 2009.
New Bioactive 2,3-Epoxy cyclohexenes and Isocoumarins from the Endophytic Fungus <i>Phomopsis</i> sp from <i>Laurus Azorica</i> .	HUSSAIN et al., 2009.
Xanthenes and Oxepino[2,3-b]chromones from Three Endophytic Fungi.	KROHN et al., 2009.
Anti-Inflammatory and Anticancer Activity of Ergoflavin Isolated from an Endophytic Fungus.	DESHMUKH et al., 2009.
Bioactive Chemical Constituents of a Sterile Endophytic Fungus from <i>Melilotus dentatus</i> .	HUSSAIN et al., 2009.
Bioactive Endophytes Warrant Intensified Exploration and Conservation.	SMITH et al., 2008
Bioactive nitronaphthalenes from an endophytic fungus, <i>Coniothyrium</i> sp., and their chemical synthesis.	KROHN et al., 2008.
Naphthoquinone spiroketal with allelochemical activity from the newly discovered endophytic fungus <i>Edenia gomezpompae</i> .	MACIAS-RUBALCAVA et al., 2008.
Antimicrobial activity of an endophytic <i>Xylaria</i> sp. YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin.	LIU et al., 2008.
New mono- and dimeric members of the secalonoid acid family: Blennolides A-G isolated from the Fungus <i>Blennoria</i> sp.	ZHANG et al., 2008.
Biological activities from extracts of endophytic fungi isolated from <i>Viguiera arenaria</i> and <i>Tithonia diversifolia</i> .	GUIMARÃES et al., 2008.
Fungal endophytes from <i>Dioscorea zingiberensis</i> rhizomes and their antibacterial activity.	XU et al., 2008.
Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from <i>Garcinia</i> plants.	PHONGPAICHIT et al., 2008.
Bioprospecting highly diverse endophytic <i>Pestalotiopsis</i> spp. with antibacterial properties from <i>Maytenus ilicifolia</i> , a medicinal plant from Brazil.	GOMES-FIGUEIREDO et al., 2007.
Cytoskyrins and cytosporones produced by <i>Cytospora</i> sp CR200: Taxonomy, fermentation and biological activities.	SINGH et al., 2007.

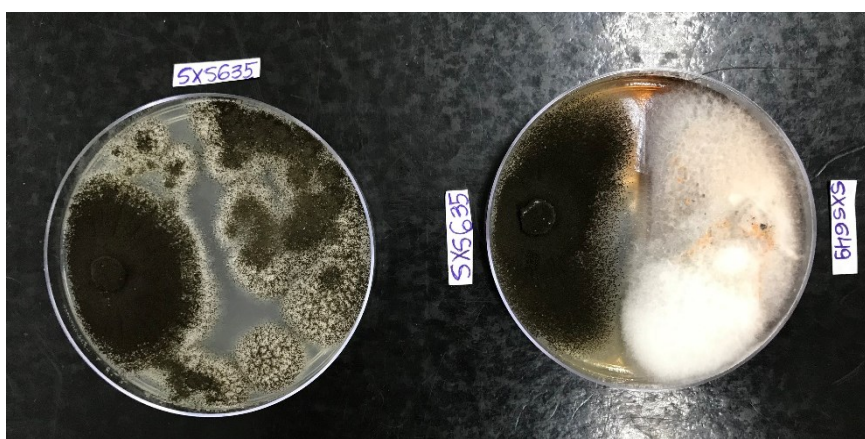
Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, <i>Camptotheca acuminata</i> : isolation, identification and bioactivity.	LIN et al., 2007.
Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants.	FIRAKOVA et al., 2007.
Bioactive natural products from the endophytic fungus <i>Ascochyta</i> sp from <i>Melilotus dentatus</i> - Configurational assignment by solid-state CD and TDDFT calculations.	KROHN et al., 2007.
Asperpyrone D and other metabolites of the plant-associated fungal strain <i>Aspergillus tubingensis</i> .	ZHAN et al., 2007.
Nematicidal metabolites produced by the endophytic fungus <i>Geotrichum</i> sp AL4.	LI et al., 2007.
Chemical constituents of the endophytic fungal strain <i>Phomopsis</i> sp NXZ-05 of <i>Camptotheca acuminata</i> .	TAN et al., 2007.
Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants.	SETTE et al., 2006.
Marinamide, a novel alkaloid and its methyl ester produced by the application of mixed fermentation technique to two mangrove endophytic fungi from the South China Sea.	ZHU et al., 2006.
Endophytic fungal metabolite fumigaclavine C causes relaxation of isolated rat aortic rings.	MA et al., 2006.
Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence.	GUNATILAKA, 2006.
An endophytic fungus from <i>Nothapodytes foetida</i> that produces camptothecin.	PURI et al., 2005.
X-ray structure determination, absolute configuration and biological activity of phomoxanthone A.	ELSASSER et al., 2005.
Benzopyrans from <i>Curvularia</i> sp., an endophytic fungus associated with <i>Ocotea corymbosa</i> (Lauraceae)	TELES et al., 2005.
New oblongolides isolated from the endophytic fungus <i>Phomopsis</i> sp from <i>Melilotus dentata</i> from the shores of the Baltic Sea.	DAI et al., 2005.
Insecticidal activities of secondary metabolites of endophytic <i>Pencillium</i> sp in <i>Derris elliptica</i> Benth.	HU et al., 2005.
Fungal biodiversity: Distribution, conservation and prospecting of fungi from India.	MANOHARACHARY et al., 2005.
New endophytic isolates of <i>Muscodor albus</i> , a volatile-antibiotic-producing fungus.	EZRA et al., 2004.
3-Hydroxypropionic acid as a nematicidal principle in endophytic fungi.	SCHWARZ et al., 2004.
Endophytic fungi with anti-microbial, anti-cancer and anti-malarial activities isolated from Thai medicinal plants.	WIYAKRUTTA et al., 2004.
A potent feed preservative candidate produced by <i>Calcarisporium</i> sp., an endophyte residing in stargrass (<i>Cynodon dactylon</i>).	JI et al., 2004.
Effect of substrate on the bioactivity of volatile antimicrobials produced by <i>Muscodor albus</i> .	EZRA et al., 2003.
Brefeldin A, a cytotoxin produced by <i>Paecilomyces</i> sp. and <i>Aspergillus clavatus</i> isolated from <i>Taxus mairei</i> and <i>Torreya grandis</i> .	WANG 1 et al., 2002.
The discovery of enfumafungin, a novel antifungal compound produced by an endophytic <i>Hormonema</i> species biological activity and taxonomy of the producing organisms.	PELAEZ et al., 2000.
Antimicrobial activities of secondary metabolites produced by endophytic fungi from <i>Spondias mombin</i> .	RODRIGUES et al., 2000.
Geniculol, a new biologically active diterpene from the endophytic fungus <i>Geniculosporium</i> sp.	KONIG et al., 1999.
<i>Mycena anoectochila</i> sp. nov. isolated from mycorrhizal roots of <i>Anoectochilus roxburghii</i> from Xishuangbanna,	GUO et al., 1997.

China.	
Glucosylation of the peptide leucinostatin A, produced by an endophytic fungus of European yew, may protect the host from leucinostatin toxicity.	STROBEL et al., 1997.

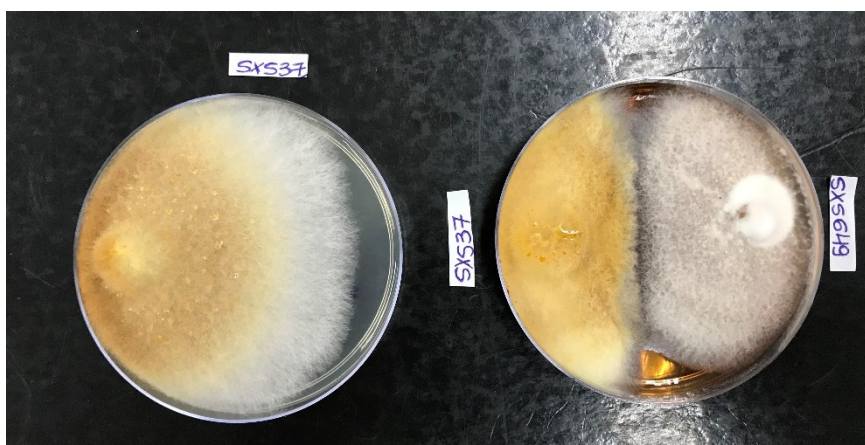
ANEXO II

Figura I. Exemplos de teste de cultura pareada de fungos endofíticos isolados de *Palicourea rigida* Kunth contra fungos fitopatogênicos aos 14 dias de incubação, com percentual de inibição (PI%) e tipo de interação competitiva segundo escala de Badalyan, Innocenti & Garibyan (2002).

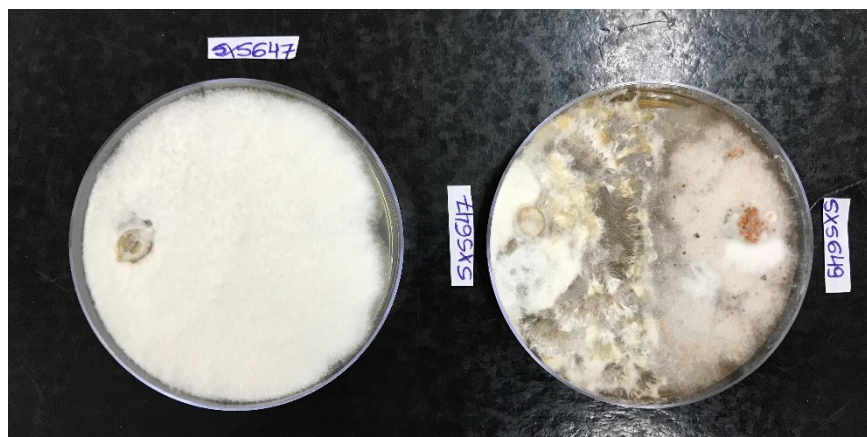
a. À esquerda, *Aspergillus niger* SXS635 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *A. niger* e o endófito *Colletotrichum* sp. SXS649; PI = 56,79%. Interação tipo B: “deadlock” a distância.



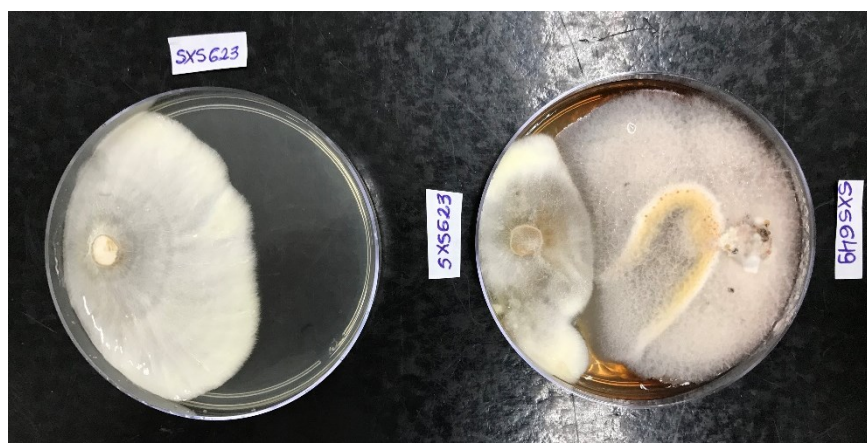
b. À esquerda, *Inonotus rickii* SXS37 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *I. rickii* e o endófito *Colletotrichum* sp. SXS649; PI = 50,00%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



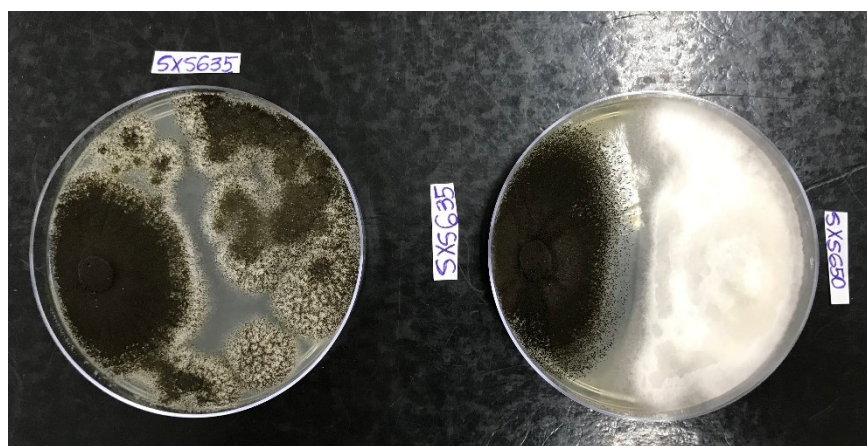
c. À esquerda, *Pestalotiopsis mangiferae* SXS647 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *P. mangiferae* e o endófito *Colletotrichum* sp. SXS649; PI = 53,16%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



d. À esquerda, *Coniophora puteana* SXS623 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *C. puteana* e o endófito *Colletotrichum* sp. SXS649; PI = 42,85%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



e. À esquerda, *Aspergillus niger* SXS635 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *A. niger* e o endófito *Pestalotiopsis* sp. SXS650; PI = 59,25%. Interação tipo B: “deadlock” a distância.



f. À esquerda, *Inonotus rickii* SXS37 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *I. rickii* e o endófito *Pestalotiopsis* sp. SXS650; PI = 57,14%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



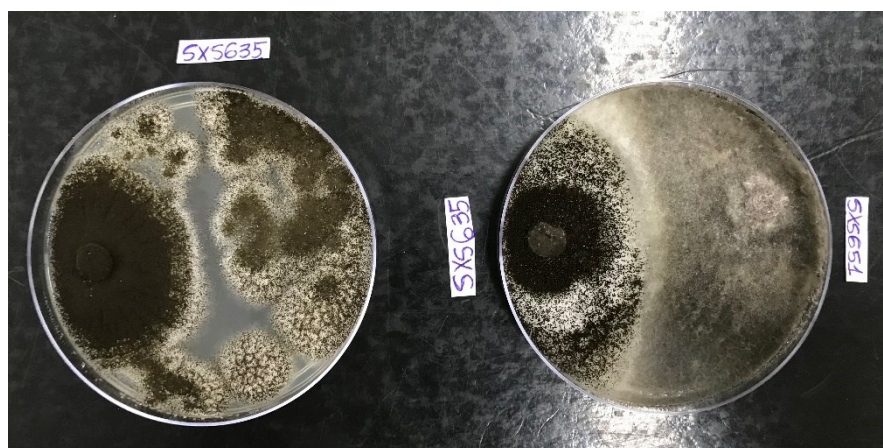
g. À esquerda, *Pestalotiopsis mangiferae* SXS647 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *P. mangiferae* e o endófito *Pestalotiopsis* sp. SXS650; PI = 48,10%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



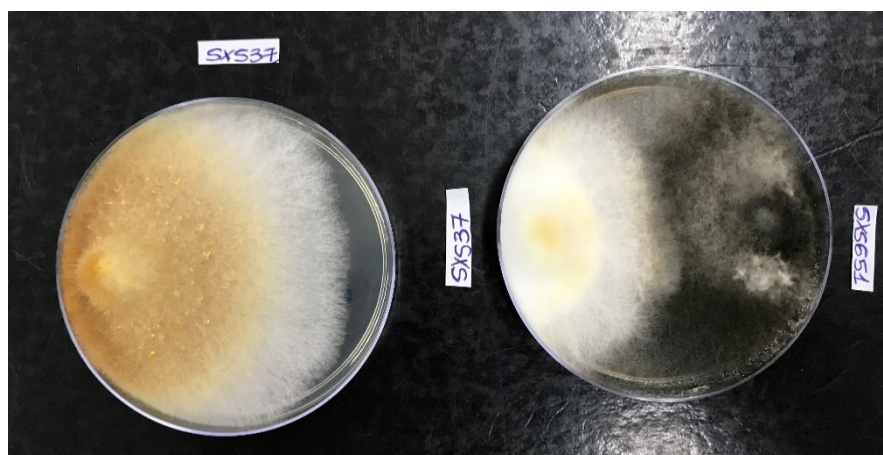
h. À esquerda, *Coniophora puteana* SXS623 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *C. puteana* e o endófito *Pestalotiopsis* sp. SXS650; PI = 36,73%. Interação tipo B: “deadlock” a distância.



i. À esquerda, *Aspergillus niger* SXS635 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *A. niger* e o endófito Botryosphaeriales SXS651; PI = 54,32%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



j. À esquerda, *Inonotus rickii* SXS37 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *I. rickii* e o endófito Botryosphaeriales SXS651; PI = 47,14%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



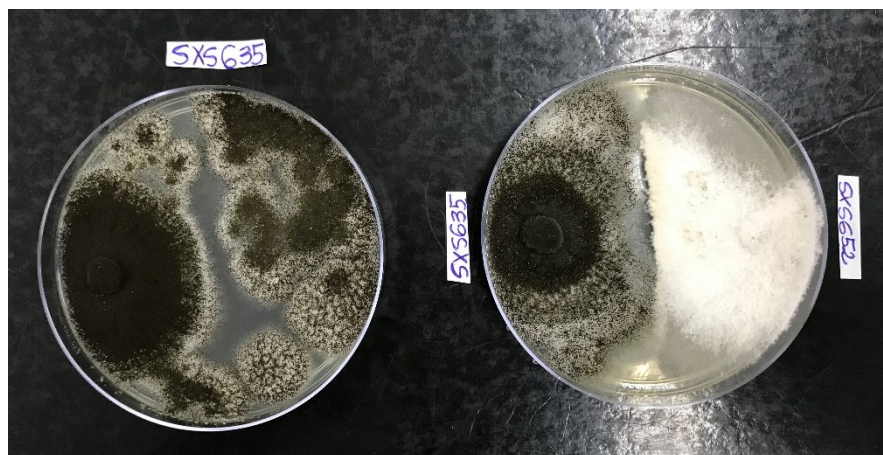
k. À esquerda, *Pestalotiopsis mangiferae* SXS647 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *P. mangiferae* e o endófito Botryosphaeriales SXS651; PI = 56,96%. Interação tipo CA1: crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial.



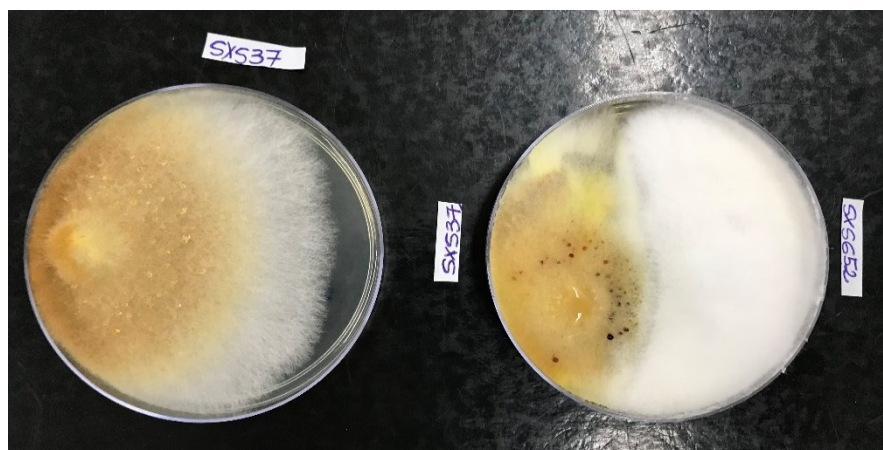
l. À esquerda, *Coniophora puteana* SXS623 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *C. puteana* e o endófito Botryosphaeriales SXS651; PI = 38,77%. Interação tipo CA1: crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial.



m. À esquerda, *Aspergillus niger* SXS635 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *A. niger* e o endófito *Diaporthe* sp. SXS652; PI = 50,61%. Interação tipo B: “deadlock” a distância.



n. À esquerda, *Inonotus rickii* SXS37 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *I. rickii* e o endófito *Diaporthe* sp. SXS652; PI = 54,28%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



o. À esquerda, *Pestalotiopsis mangiferae* SXS647 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *P. mangiferae* e o endófito *Diaporthe* sp. SXS652; PI = 34,17%. Interação tipo A: “deadlock” com contato micelial.



p. À esquerda, *Coniophora puteana* SXS623 (controle). À direita, pareamento entre o fitopatógeno *C. puteana* e o endófito *Diaporthe* sp. SXS652; PI = 76,93%. Interação tipo CA1: crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial.

