

# FUNGOS ENDOFÍTICOS E SEU POTENCIAL COMO PRODUTORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS

*Francisco José Teixeira Gonçalves<sup>1</sup>  
Francisco das Chagas Oliveira Freire<sup>2</sup>  
Joilson Silva Lima<sup>3</sup>*

**RESUMO** - Os fungos endofíticos ocorrem em todas as espécies de plantas já estudadas, e são definidos como organismos que colonizam os tecidos vegetais, inter ou intracelularmente, sem causarem quaisquer sintomas externos aparentes. Ademais, eles conferem aos seus hospedeiros uma maior resistência ao ataque de insetos, de herbívoros, bem como a estresses abióticos e bióticos. Atualmente os fungos endofíticos são considerados uma excelente fonte de produção de compostos bioativos, com potencial utilização na agricultura, na medicina e na indústria de um modo geral. O trabalho em apreço discute as pesquisas ora em andamento sobre o isolamento e identificação de fungos endofíticos de plantas da caatinga cearense, bem como a possibilidade de produção de compostos de interesse agrícola.

Palavras-chave: Fungos endofíticos. Isolamento. Identificação. Compostos bioativos. Caatinga.

## 1 INTRODUÇÃO

São considerados como endofíticos bactérias ou fungos que colonizam os tecidos vegetais sadios, tanto inter como intracelularmente, sem causarem quaisquer sintomas aparentes de doenças (WIL-

---

<sup>1</sup> Engenheiro agrônomo, doutorando em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE. E-mail: goncalvesfj@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Engenheiro agrônomo, Ph.D., fitopatologista/micologista, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, CEP: 60.511-110. E-mail: francisco.freire@embrapa.br

<sup>3</sup> Engenheiro agrônomo, doutorando em Fitotecnia/Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE. E-mail: joilsonagro@gmail.com

## *Ciências Agrárias*

SON, 1995). Fungos endofíticos têm sido isolados de todos os tipos de plantas estudadas até o momento, como coníferas (PETRINI; FISHER, 1986; GUO *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2007; HORMAZABAL; PIONTELLI, 2009) e gramíneas (BACON *et al.*, 1977; CLAY, 1988). Ademais, fungos endofíticos já foram também isolados de tecidos saudáveis de algas marinhas (CUBIT, 1974; HAWKSWORTH, 1988a; b), de líquens (LI *et al.*, 2007), de musgos e samambaias ((SCHULZ *et al.*, 1993; FISHER, 1996), de hepáticas (BOULLARD, 1988) e de pteridófitas (DHARGALKAR; BHAT, 2009). A relação entre os endofíticos e seus hospedeiros envolve basicamente o mutualismo, com ambos se beneficiando dessas interações, muito embora tenham de estabelecer um sistema simbiótico harmonioso. As plantas restringem consideravelmente o crescimento dos endofíticos, enquanto eles utilizam diversos mecanismos para gradualmente se adaptar ao ambiente onde vivem. O potencial para biotransformações e um apurado sistema enzimático permitem sua sobrevivência e reprodução (ZIKMUNDOVÁ *et al.*, 2002). Os endofíticos têm uma espantosa habilidade de transformar compostos complexos. Além disso, após coevolurem com seus hospedeiros durante milhares de anos, os endofíticos adquiriram a capacidade de produzir *in vitro* as mesmas substâncias fabricadas por seus hospedeiros.

Fungos endofíticos de plantas, embora ainda pouco estudados, se destacam como uma enorme fonte potencial de novos produtos para a exploração e aplicação na agricultura, na medicina e na indústria de um modo geral. Das 300.000 espécies de plantas superiores existentes no nosso planeta, cada uma hospeda um ou mais fungos endofíticos (STROBEL *et al.*, 2004). Um dos casos mais recentes da importância dos metabólitos de fungos endofíticos foi definitivamente confirmado com a descoberta de que o fungo *Taxomyces andreanae* é um eficiente produtor de paclitaxel (Taxol®), a mais importante substância anticancerígena, identificada e extraída, inicialmente, da casca da planta asiática *Taxus brevifolia* (STIERLE *et al.*, 1993; 1995). Desde então, muitos outros fungos endofíticos isolados de outras plantas têm sido confirmados como produtores de paclitaxel (BASHYAL *et al.*, 1999; WANG *et al.*, 2000). Fungos endofíticos produzem uma ampla varie-

dade de metabólitos secundários bioativos, tais como ácidos fenólicos, benzopiranonas, flavonoides, quinonas, terpeneoides, tetralonas e xantonas, dentre outros. Muitos desses compostos apresentam propriedades que os tornam úteis como agroquímicos, antibióticos, anticancerígenos, antiparasitários, antioxidantes e imunossupressores (TAN; ZOU, 2001; GUNATILAKA, 2006).

O uso de metabólitos bioativos obtidos a partir de fungos endofíticos apresenta inúmeras vantagens, quando comparado com a extração dessas substâncias diretamente das plantas. Por exemplo, eliminam-se o efeito da sazonalidade, problemas ambientais ou políticos com o corte ou a coleta de partes das plantas, além da obtenção de melhores rendimentos industriais.

O trabalho em apreço discute a importância da obtenção e o uso de metabólitos obtidos a partir de fungos endofíticos encontrados em plantas da caatinga, especialmente no estado do Ceará.

## **2 FUNGOS ENDOFÍTICOS PRODUTORES DE METABÓLITOS BIOATIVOS**

Os antibióticos foram os primeiros metabólitos fúngicos reconhecidos pela humanidade. Os chineses já utilizavam sapatos mofados para curar ferimentos nos pés, cerca de 3.000 A.C., muito embora tenha sido apenas em 1928 que o médico escocês Alexander Fleming descobriu a penicilina a partir de culturas de *Penicillium chrysogenum* (TAKAHASHI; LUCAS, 2008). Mais recentemente, inúmeros fungos endofíticos, tais como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cryptosporiopsis quercina*, *Muscodor albus*, *Periconia* sp., *Pestalotiopsis* sp. e *Phomopsis* sp. têm sido confirmados como produtores de antibióticos, inclusive de antibióticos voláteis (EZRA *et al.*, 2004; STROBEL *et al.*, 2004; VERMA *et al.*, 2011; ARIVUDAINAMBI *et al.*, 2011). Por outro lado, substâncias anticancerígenas estão entre as mais pesquisadas nos últimos anos, sendo o paclitaxel a mais famosa (STIERLE *et al.*, 1993;1995). Além do *Taxomyces andreanae*, outros fungos demonstram enorme potencial na produção de paclitaxel e de outros anticancerígenos, tais como *Alternaria alternata*, *Alternaria taxis*, *Bartallinia robillardoides*, *Chaetomium* spp.,

## Ciências Agrárias

*Fusarium solani*, *Halorosellinia* sp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Pestalotiopsis microspora*, *P. breviseta*, *P. pauciseta*, *Phomopsis citricarpa*, *Tubercularia* sp., dentre outros (EVIDENTE *et al.*, 1996; GORMAN *et al.*, 1997; GALLO *et al.*, 2002; GUO *et al.*, 2008; QIN *et al.*, 2009; ZHOU *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2010; PANDI *et al.*, 2011; NITHYA; MUTHUMARY, 2011). A importância e o impacto de produtos naturais, inclusive os metabólitos de fungos endofíticos, no desenvolvimento de drogas anticancerígenas foi abordado de modo brilhante por Cragg *et al.* (2009). Na Tabela 1, encontram-se listados alguns metabólitos fúngicos, sua utilização, bem como os fungos que os produzem.

Tabela 1 - Alguns fungos endofíticos, metabólitos produzidos e suas atividades

(continua)

Fungos Produtores	Metabólitos	Atividade
<i>Acremonium</i> spp.	leucinostatina A, espirobenzofurano e acremonidina	anticancerígeno, antifúngico e antibiótico
<i>A.fusigerum</i>	foenistatina	anticancerígeno
<i>A. tubakii</i>	cefaibol	antiparasítico
<i>Alternaria</i> sp.	alternariol (1), alternariol-5-O-éster de metil, alternariol (6), ésteres de monometil, desmetilalternusina (7) e altersetina	Citotóxicos e antibiótico
<i>Alternaria alternata</i>	taxoides tipo III	anticancerígenos
<i>Ampelomyces</i> sp.	macrosporin-7-O-sulfato, 3-O-metilalternina-7-O-sulfato, ampelopirona, desmetildiaportinol, desmetildiclorodiaportina e ampelanol	citotóxicos
<i>Ascotricha amphitricha</i>	ascosterosida	antifúngico

Tabela 1 - Alguns fungos endofíticos, metabólitos produzidos e suas atividades

(continuação)

<i>Bartalinia robillardoides</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Chaetomium fusiforme</i>	ácido acético, ácido valérico, 3-éster de metil e butano-2-3-diol	Antifúngico e anticancerígeno
<i>C. globosum</i>	quetomugilina A e D	antifúngico
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ácido coletótrico	antibiótico e antifúngico
<i>Coniochaeta ellipsoidea</i>	coniosetina	antibiótico
<i>Curvularia</i> sp.	benzopiranas	antifúngicos
<i>Cytonaema</i> sp.	ácido citônico A e B	antivirais
<i>Diplodia mutila</i>	esferopsidinas B e C	herbicida e antifúngico
<i>Edenia gomezpompae</i>	naftoquinona espiroquetal	aleloquímico
<i>Exophiala pisciphila</i>	ácido exofílico	antiviral
<i>Fusarium oxysporum</i>	vincristina	anticancerígeno
<i>F. solani</i>	tax-3	anticancerígeno
<i>F. subglutinans</i>	subglutanol A e B	imunossupressores
<i>Gliocladium</i> sp.	compostos orgânicos voláteis	antibióticos
<i>Guignardia citricarpa</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Halorosellinia</i> sp.	antracenediona	anticancerígeno
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Muscodor albus</i>	naftalenos	antibióticos voláteis
<i>M. vitigenus</i>	naftaleno	inseticida
<i>Nigrospora sphaerica</i>	afidicolina e peróxido de ergosterol	anticancerígeno
<i>Nodulisporium</i> sp.	ácido nodulispórico	inseticida
<i>Periconia</i> sp.	piperina e taxol	antibióticos
<i>P. atropurpurea</i>	pericocinina B	citotóxico
<i>Pestalotiopsis adusta</i>	pestaclorados A e C	antifúngicos
<i>P. breviseta</i>	taxol	anticancerígeno
<i>P. foedan</i>	pestafolida A, pestafalidas a e e, isobenzofuranonas	antifúngicos

Tabela 1 - Alguns fungos endofíticos, metabólitos produzidos e suas atividades

(conclusão)

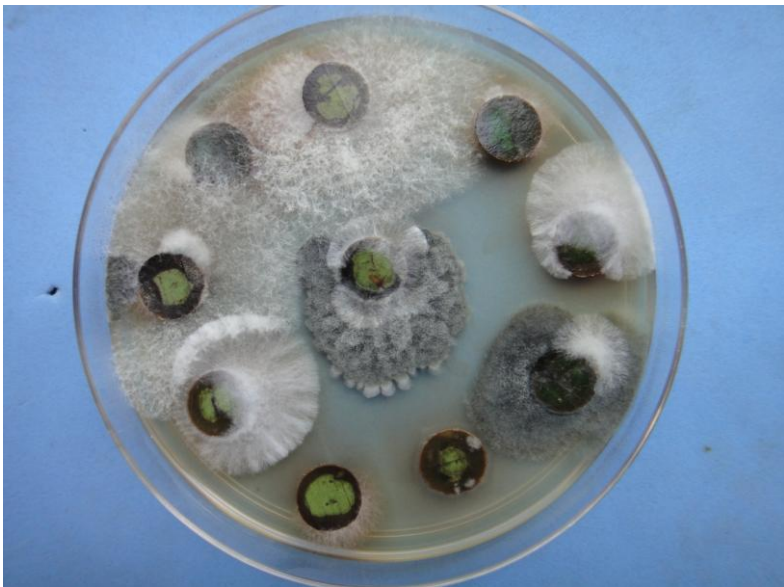
<i>P. guepini</i>	taxol	anticancerígeno
<i>P. microspora</i>	pestacina e isopestacina	antioxidante e antibiótico
<i>P. pauciseta</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Phoma betae</i>	metilisocumarina	anticancerígeno
<i>Phomopsis</i> sp.	fomopsilactona e fomoe-namida	antibiótico e anticancerígeno
<i>Phyllosticta tabernaemontanae</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Rhinocladiella</i> sp.	citocalasina	antibiótico
<i>Seimatoantlerium nepalense</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Sphaeropsis sapinea</i> f. sp. <i>cupressi</i>	esferopsidinas B e C	herbicida e antifúngico
<i>Stegolerium kukenani</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Taxomyces andreanae</i>	taxol	anticancerígeno
<i>Tubercularia</i> sp.	taxol	anticancerígeno
<i>Verticillium</i> sp.	benzofurano e peróxido de ergosterol	antibacteriano e antifúngico

### 3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Os cuidados iniciais para o isolamento de fungos endofíticos se referem ao armazenamento e à condução do material coletado até o local de isolamento, especialmente se a distância entre esses locais é longa o suficiente para permitir que outros organismos se desenvolvam sobre os tecidos ou possam afetar a sobrevivência dos organismos endofíticos. Nesses casos, as amostras devem ser mantidas em sacos plásticos e em caixas refrigeradas. O ideal seria processar as amostras em um período nunca superior a 24 horas após a coleta, muito embora amostras refrigeradas possam ser examinadas até alguns dias após sua obtenção (FISHER; PETRINI, 1987).

A Embrapa Agroindústria Tropical desenvolveu recentemente uma capela portátil de madeira, com uma pequena lâmpada fluorescente acoplada, a qual permite o isolamento de fungos endofíticos imediatamente após a coleta. A caixa apresenta as dimensões de 40cm x 45cm x 60cm, é coberta com uma tinta branca impermeável e possui um orifício na parte superior a fim de permitir a saída dos gases produzidos pela lamparina de álcool (Figura 2). No caso específico do projeto sobre fungos endofíticos associados a plantas da caatinga cearense, ora em condução pela Embrapa Agroindústria Tropical, o dispositivo permite que o material seja processado poucas horas após a coleta, no próprio hotel ou pousada. Antes de se iniciar o isolamento, a caixa e o ambiente em torno são pulverizados com álcool 70%, e os resultados obtidos, após 1 ano de utilização, são semelhantes aos de um laboratório convencional de Fitopatologia, utilizando capela de fluxo laminar (Figura 1).

Figura 1 - Fungos endofíticos isolados a partir de discos foliares de uma planta da caatinga, 10 dias após o plaqueamento.



Com relação à esterilização superficial do material vegetal coletado existem inúmeras informações (BILLS, 1997; PETRINI, 1987; FREIRE; BEZERRA, 2001). Em qualquer método utilizado, o objetivo básico é eliminar a presença de propágulos fúngicos ou bacterianos na superfície do fragmento a ser plaqueado.

De um modo geral, o tecido escolhido é esterilizado superficialmente com álcool 96%, seguido de uma lavagem em hipoclorito de sódio (NaOCl) 3,0% ou cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>) 0,5%, e novamente imerso em álcool 96%. Alguns materiais podem ser esterilizados somente com ácido paracético 35%. Logo após a esterilização os fragmentos devem ser plaqueados, podendo-se utilizar diferentes meios de cultivo. Normalmente usam-se o extrato-de-malte-ágar (EMA), batata-dextrose-ágar (BDA), V-8, aveia-ágar (AA), dentre outros, mas sempre acrescentando um antibiótico a fim de inibir o crescimento bacteriano.

Os antibióticos mais usados nos meios de cultivo são a oxite-traciclina, a clorotetraciclina e o sulfato de estreptomina. A maioria dos autores, entretanto, prefere o cloranfenicol em virtude de ele poder ser autoclavado já incorporado ao meio (BILLS, 1997). Para fungos que esporulam lentamente, a repicagem para o meio de batata-cenoura-ágar (BCA) geralmente acelera a produção de estruturas reprodutivas. Esse método apresenta a desvantagem de favorecer o surgimento dos fungos de crescimento mais rápido, os quais, logicamente, impedem o crescimento dos mais lentos. Alguns fungos, denominados de fastidiosos (exigentes), jamais crescerão nos meios de cultura utilizados, representando mais uma desvantagem do plaquemaneto direto.

Uma técnica bastante eficiente na recuperação de organismos endofíticos é a maceração dos tecidos em um blender, seguida de filtração em peneiras de diferentes tamanhos. Um maior número de organismos é obtido, embora seja mais laboriosa e indicada para um pequeno número de amostras (BILLS; POLISHOOK, 1994a; 1994b).

Mais recentemente, com o uso de técnicas moleculares, um número mais representativo de endofíticos tem sido identificado, até mesmo diretamente nos tecidos vegetais. Arnold *et al.* (2000), por e-



xemplo, encontraram 418 fungos endofíticos em apenas 83 folhas. A extração do DNA total presente na amostra de tecido vegetal estudada vem sendo considerada uma técnica promissora com o intuito de se avaliar corretamente o número de endofíticos presentes. Em qualquer artigo sobre endofíticos o método de isolamento deverá ser explicitado, tendo-se em vista que os resultados finais são estreitamente correlacionados à metodologia adotada (HYDE; SOYTONG, 2008). No Quadro 2 encontram-se sumariados alguns métodos convencionais para a esterilização e o isolamento de fungos endofíticos de plantas.

Figura 2 - Câmara para o isolamento de endofíticos de plantas durante as viagens de coleta.



## *Ciências Agrárias*

Quadros 2 - Método convencionais de isolamento de fungos endofíticos de diferentes tecidos de plantas

Órgão	Fragmento a ser utilizado	Esterilização	Meio de cultivo*
Folhas***	Discos de 5mm de Ø	1-3 min. em álcool 96%, 3-5 min. em NaOCl, 1 min.em álcool, 1 min. em H <sub>2</sub> O esterilizada	BDA, EMA,V-8
Raízes***	Segmentos de 1cm	1-3 min. em álcool 96%, 3-5 min. em NaOCl, 1 min.em álcool, 1 min. em H <sub>2</sub> O esterilizada	BDA, EMA,V-8
Ramos***	Segmentos de 1cm**	1-3 min. em álcool 96%, 3-5 min. em NaOCl, 1 min.em álcool, 1 min. em H <sub>2</sub> O esterilizada;	BDA, EMA,V-8
Sementes	Sementes sem lesão	1-3 min. em álcool 96%, 3-5 min. em NaOCl, 1 min.em álcool, 1 min. em H <sub>2</sub> O esterilizada	BDA, BCA, EMA,V-8
Cascas	Secções de 1cm, da casca ou do xilema	1-3 min. em álcool 96%, 3-5 min. em NaOCl, 1 min.em álcool, 1 min. em H <sub>2</sub> O esterilizada	BDA, BCA, EMA,V-8
Mudas	Segmentos de 1cm do hipocótilo ou raízes	1-3 min. em álcool 96%, 3-5 min. em NaOCl, 1 min.em álcool, 1 min. em H <sub>2</sub> O esterilizada	BDA, EMA,V-8

\*Sempre acrescidos de cloranfenicol, na concentração de 150 ppm por litro de meio;

\*\*Os segmentos selecionados devem ser abertos centralmente, antes da esterilização, e plaqueados com a parte plana em contato com o meio de cultivo;

\*\*\*Após a esterilização superficial podem ser submetidas ao método da maceração.

#### **4 PERSPECTIVAS PARA A OBTENÇÃO DE METABÓLITOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE PLANTAS DA CAATINGA CEARENSE**

Na área do semiárido do Nordeste brasileiro encontra-se a caatinga, o único bioma exclusivamente nacional, com um patrimônio biológico não encontrado em nenhum outro local do planeta. Ocupando uma área em torno de 935 mil km<sup>2</sup>, ocorrendo em partes dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Sergipe, Pernambuco, Bahia e até em parte de Minas Gerais. Somente no Ceará a caatinga cobre uma área de 126.926 km<sup>2</sup>, correspondendo a 85% da área do estado. É um bioma heterogêneo, com enorme biodiversidade e endemismos (MAIA, 2004). A despeito da ampla biodiversidade da caatinga, muito pouco se conhece sobre sua população fúngica. Com relação aos fungos endofíticos no Nordeste, as informações são incipientes (MARIANO *et al.*, 1997; FREIRE; BEZERRA, 2001; SILVA *et al.*, 2006). Em outros estados brasileiros muitos autores começam a despertar para a importância estratégica deste interessante grupo de fungos (SOUZA *et al.*, 2004; ALMEIDA *et al.*, 2005; MARI-NHO *et al.*, 2007; ESTEVES *et al.*, 2007; MAGALHÃES *et al.*, 2008).

Dois recentes revisões nacionais destacam a importância dos endofíticos na proteção de plantas contra insetos pragas e o papel dos endofíticos em plantas tropicais (AZEVEDO *et al.*, 2000; 2002). Não é difícil imaginar o elevado potencial de metabólitos secundários de fungos, especialmente dos endofíticos, ocorrentes em plantas desse que é o mais fragilizado bioma brasileiro.

O projeto financiado pelo Banco do Nordeste do Brasil (BNB), ora em execução pela Embrapa Agroindústria Tropical, já permitiu o isolamento de cerca de 18.000 colônias de fungos endofíticos, oriundas de 21.000 fragmentos de tecidos vegetais plaqueados. Do total de fungos obtidos, 750 foram selecionados e mantidos na coleção do CNPAT (Quadro 3). As primeiras avaliações demonstram um enorme potencial quanto à obtenção de metabólitos bioativos. Com efeito, duas pironas e 1 ciclopeptídeo, aparentemente inéditos, já foram quimicamente caracterizados por meio de cromatografias líqui-

## Ciências Agrárias

das de alta eficiência (HPLC) e de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13, utilizando-se técnicas uni e bidimensionais (COSY, HSQC e HMBC). É bastante provável que esses e muitos outros fungos isolados no presente projeto, e não identificados ainda, se revelem como excelentes produtores de metabólitos úteis para a agricultura ou para a indústria farmacêutica. Testes para avaliar as propriedades dessas substâncias contra insetos pragas e fungos fitopatogênicos já se encontram em progresso.

Quadro 3 - Plantas da caatinga cearense e alguns fungos endofíticos já isolados.

(continua)

Planta Hospedeira (Família)	Fungos isolados
<i>Auxemma oncocalyx</i> (Pau Branco – Borriginaceae)	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> spp., <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Stenocarpella</i> sp. (?)
<i>Baubinia</i> spp (Unha-de-vaca – Leguminosae)	Botryosphaeria-like, <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Corynespora</i> sp., <i>Glomerella</i> sp., <i>Guignardia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Nigrospora sphaerica</i> , <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Torula</i> sp.
<i>Caesalpinia ferrea</i> (Jucá – Leguminosae)	Botryosphaeriaceae, <i>Guignardia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> spp., <i>Phomopsis</i> sp.
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> (Catingueira-Leguminosae)	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Guignardia</i> sp. <i>Nodulisporium</i> sp.
<i>Calotropis procera</i> (Flor-de-seda - Asclepiadaceae)	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Glomerella</i> sp., <i>Guignardia</i> sp.
<i>Cereus jamacaru</i> (Mandacaru-Cactaceae)	<i>Acremonium</i> sp., <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Guignardia</i> sp., <i>Nigrospora sphaerica</i> , <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Sporormiella</i> sp.
<i>Cnidioscolus phyllacanthus</i> (Faveleira – Euphorbiaceae)	<i>Fusarium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> sp., levedura, <i>Phoma</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp.
<i>Combretum leprosum</i> (Mofumbo – Combretaceae)	Botryosphaeriaceae, <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Corynespora</i> sp., <i>Fusicoccum</i> sp., <i>Guignardia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp.

Quadro 3 - Plantas da caatinga cearense e alguns fungos endofíticos já isolados.

(continuação)

<i>Cordia trichotoma</i> (Freijó – Boraginaceae)	<i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Phomopsis</i> spp.
<i>Croton campestris</i> (Velame – Euforbiaceae)	<i>Bipolaris</i> sp., <i>Botryosphaeria</i> -like, <i>Chaetodiplodia</i> sp., (?), <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Guignardia</i> sp., <i>Nigrospora</i> sp., <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp.
<i>Croton sonderianus</i> (Velame – Euforbiaceae)	Botryosphaeriaceae, <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Curvularia</i> sp., <i>Nigrospora</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp.
<i>Enterolobium contortisiliquon</i> (Tamboril- Leguminosae)	Botryosphaeriaceae, <i>Corynespora</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Sporormiella</i> sp.
<i>Eugenia</i> sp. (Mirtaceae)	Botryosphaeriaceae, <i>Guignardia</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Sporormiella</i> sp.
<i>Helicteres mollis</i> (saca-rolha- Sterculiaceae)	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusicoccum</i> sp., <i>Guignardia</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp.
<i>Ipomoea carnea</i> (Salsa-branca- Convolvulaceae)	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp.
<i>Licania rígida</i> (Oiticica- Crysobalanaceae)	<i>Bipolaris</i> sp., <i>Cladosporium sphaerospermum</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Corynespora</i> sp., <i>Fusicoccum</i> sp., <i>Guignardia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Paecilomyces</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Sporormiella</i> sp., <i>Torula</i> -like
<i>Mascagnia cartacea</i> (Tingui- Malpighiaceae)	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Fusicoccum</i> spp., <i>Guignardia</i> sp.
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá- Leguminosae)	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Phoma</i> sp.
<i>Miracrodouon urundeuva</i> (Aroeira- Leguminosae)	<i>Alternaria</i> sp., Botryosphaeriaceae, <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Fusicoccum</i> spp., <i>Guignardia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Sordaria</i> sp.

## Ciências Agrárias

Quadro 3 - Plantas da caatinga cearense e alguns fungos endofíticos já isolados.

(conclusão)

<i>Moringa oleifera</i> (Moringa–Moringaceae)	<i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Sporormiella</i> sp.
<i>Pilosocereus gounellei</i> (Xique-xique–Cactaceae)	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Gnignardia</i> sp., <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Pestalotiopsis</i> sp.
<i>Piptadenia stipulacea</i> (Jurema branca – Leguminosae)	<i>Cladosporium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.
<i>Prosopis juliflora</i> (Algaroba – Leguminosae)	<i>Corynespora</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> sp., <i>Lasiodiplodia</i> -like
<i>Senna spectabilis</i> (Canafistula – Leguminosae)	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Nodulisporium</i> sp.
<i>Zyziphus joazeiro</i> (Juazeiro – Rhamnaceae)	<i>Cladosporium sphaerospermum</i> , <i>Nodulisporium</i> sp., <i>Phomopsis</i> spp., <i>Sporormiella</i> sp.

### ENDOPHYTIC FUNGI AS POTENTIAL PRODUCERS OF BIOACTIVE COMPOUNDS

*ABSTRACT - Endophytic fungi are defined as organisms which spend the whole or part of their lifecycle colonizing inter-and/or intracellularly inside the healthy tissues of the host plants without apparent adverse effects. They occur ubiquitously in plants and in contrast to their pathogenic counterparts, the endophytic fungi exist in a mutualistic association with their host plants, and in many cases, enhance the ability of plants to tolerate abiotic and biotic stresses. They are known for the ability to produce a number of important secondary metabolites with potential application in agriculture, medicine and food industry. This work mainly discusses the research progress on the isolation and identification of endophytic fungi from*

*plants of biome Caatinga, in Ceará State (Brazil), as well as their potential for producing bioactive compounds of agriculture importance.*

*Key-words: Endophytic fungi. Isolation. Identification. Bioactive compounds.*

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C.V.; YARA, R.; ALMEIDA, M. Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada *in vivo* e *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.5, p.467-470, 2005.
- ARIVUDAINAMBI, U.S.E.; ANAND, T. D.; SHANMUGAIAH, V.; KARUNAKARAN, C.; RAJENDRAN, A. Novel bioactivemetabolites producing endophytic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* against multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus*. **FEMS Immunological Medical Microbiology**, v. 61, p. 340–345, 2011.
- ARNOLD, A.E.; MAYNARD, Z.; GILBERT, G.S.; COLEY, P.D.; KURSAR, T.A. Are the fungal endophytes hiperdiverse? **Ecology Letters**, v.3, p. 267-274, 2000.
- AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI Jr.; W., PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Eletronic Journal of Biotechnology**, v.3, p. 1 – 36, 2000a.
- AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI Jr., W.; ARAÚJO, W.L.; PEREIRA, J.O. Microorganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: SERAFI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. **Biociologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. (Eds.). EDUCS, Caxias do Sul, p.235 – 268, 2002b.
- BACON, C.W.; PORTER, J.K.; ROBBINS, J.D.; LUTTRELL, E.S. *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses. **Applied and Environmental Microbiology**, v.11, p. 576-581, 1977.

## *Ciências Agrárias*

BASHYAL, B.; LI, J.Y.; STROBEL, G.A.; HESS, W. M. *Seimatoantlerium nepalense*, an endophytic taxol producing coelomycete from Himalayan yew (*Taxus wallachiana*). **Mycotaxon**, v.72, p.33-42, 1999.

BILLS, G.F.; POLISHOOK, J.D. Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. **Mycologia**, v. 86, p.187-198, 1994a.

BILLS, G.F.; POLISHOOK, J.D. Microfungi from decaying leaves of *Heliconia mariae* (Heliconiaceae). **Brenesia**, v.41/42, p.27-43, 1994b.

BOULLARD, B. Observations of the coevolution of fungi with hepatics. In: PIROZYNSKI, K. A.; HAWKSWORTH, D. L. (ed.). **Coevolution of Fungi with Plants and Animals.**, p. 107-124. Academic Press: London, U.K. 1988.

CANUTO, K.M.; RODRIGUES, T.H.S.; OLIVEIRA F.S.A.; GONÇALVES, F.J.T. **Fungos endofíticos: perspectiva de descoberta e aplicação de compostos bioativos na agricultura.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 2012. 34 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos,154).

CLAY, K. Fungal endophytes of grasses: a defensive mutualism between plants and fungi. **Ecology**, v.69, p. 10-16, 1988.

CRAGG, G.M.; GROTHAUS, P.G.; NEWMAN, D.J. Impact of natural products on developing new anti-cancer agents. **Chemical Review**, v. 109, p. 3012-3043, 2009.

CUBIT, J.D. **Interactions of seasonally changing physical factors and grazing affecting high intertidal communities on a rocky shore.** Ph.D. Dissertation, University of Oregon, USA.



DHARGALKAR, S.; BHAT, D.J. *Echinospaeria pteridis* sp. nov. and its *Vermiculariopsiella* anamorph. **Mycotaxon**, v. 108, p. 115-122, 2009.

ESTEVES, D.; SANTOS, M.P.; OKI, Y.; FERNANDES, G.W. Fungos endofíticos como mediadores na relação entre *Baccharis dracunculifolia* e herbívoros no Parque Nacional da Serra do Cipó, MG. In: DO VIII CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8. **Anais...**, Ca-xambu – MG.

EVIDENTE, A.; SPARAPANO, L.; FIERRO, O.; BRUNO, G.; GIORDANO, F.; MOTTA, A., Sphaeropsidins B and C, phytotoxic pimarane diterpenes from *Sphaeropsis sapinea* f. sp. *cupressi* and *Diplodia mutila*. **Phytochemistry**, v.45, p. 705–713, 1997.

EZRA, D.; HESS, W.M.; STROBEL, G. A. New endophytic isolates of *Muscodora albus*, a volatile-antibiotic-producing fungus. **Microbiology**, v. 150, p. 4023-4031, 2004.

FISHER, P.J. Survival and spread of the endophyte *Stagonospora pteridiicola* in *Pteridium aquilinum*, other ferns and some flowering plants. **New Phytologist**, v. 132, p. 119-122, 1996.

FREIRE, F.C.O.; BEZERRA, J.L. Foliar endophytic fungi of Ceará State (Brazil)- a preliminary study. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n.3, p. 304 – 308, 2001.

GALLO, M.B.C.; ALMEIDA, M.O.; CHAGAS, F.O.; CAVALCANTI, B.C.; BARROS, F.W.A.; MORAES, M.O.; COSTA-LOTUFO, L.V.; PESSOA, C.; BASTOS, J.K.; PUPO, M.T. Metabólitos secundários de *Phoma betae* e *Nigrospora sphaerica*, fungos endofíticos no Yacon: atividade citotóxica e relevância ecológica. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 25. Poços de Caldas, 2002. 2p.

## *Ciências Agrárias*

GORMAN, J.A.; CHANG, L.P.; CLARK, J.; GUSTAVSON, D.R.; LAM, K.S.; AMBER, S.W.; PIRNIK, D.; RICCA, C.; FERNANDES, P.B.; O'SULLIVAN, J. Ascosteroside, a new antifungal agent from *Ascotricha amphitricha*. I. Taxonomy, fermentation and biological activities. **Journal of Antibiotics**, v.40, p. 547–552, 1996.

GUNATILAKA, A.A.L. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence, **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 3, p. 509–526, 2006.

GUO, L.G.; HUANG G.R.; WANG Y.; HE W.H.; ZHENG, W.H.; HYDE, K.D. 2003. Molecular identification of white morphotype strains of endophytic fungi from *Pinus tabulaeformis*. **Mycol Res** 107, p. 680-688.

GUO, L.; WU, J-Z.; HAN, T.; CAO, T.; RAHMAN, K.; QIN, L-P. Chemical composition, antifungal and antitumor properties of ether extracts of *Scapania verrucosa* Heeg. and its endophytic fungus *Chaetomium fusiforme*. **Molecules**, v. 13, p. 2114-2125, 2008.

HAWKSWORTH, D. L. The variety of fungal-algal symbioses, their evolutionary significance, and the nature of lichens. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.96, p.; 3-20, 1988a.

HAWKSWORTH, D. L. Coevolution of fungi with algae and cyanobacteria in lichen symbioses. In: PIROZYNSKI, K. A.; HAWKSWORTH, D. L. (ed.). **Coevolution of Fungi with Plants and Animals** p. 125-148. Academic Press: London, U.K. 1988b.

HORMAZABAL, E.; PIONTELLI, E. Endophytic fungi from chilean native gymnosperms: Antimicrobial activity against human and phytopathogenic fungi. **World Journal of Microbiological Biotechnology**, v. 25, p.813-819, 2009.

HYDE, K.D.; SOYTONG, K. The fungal endophyte dilemma. **Fungal Diversity**, v. 33, p. 163-173, 2008.

LI, W.C.; ZHOU, J.; GUO, S.Y.; GUO, L.D. Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. **Fungal Diversity**, v. 25, p. 69-80, 2007.

MAGALHÃES, W.C.S., MISSAGIA, R.V., COSTA, F.A.F., COSTA, M.C.M. Diversidade de fungos endofíticos em candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish. **Cerne**, v. 14, n.3, p. 267 – 273, 2008.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: D&Z, 2004. 413p.

MARIANO, R.L.R.; LIRA, R.V.F.; SILVEIRA, E.B.; MENEZES, M. Levantamento de fungos endofíticos e epifíticos em folhas de coqueiro no Nordeste do Brasil. I. Frequência da população fúngica e efeito da hospedeira. **Agrotrópica**, v. 9, n.3, p. 127 – 134, 1997.

MARINHO, A.M.R.; RODRIGUES-FILHO, E.; MOTTINHO, M.L.R.; SANTOS, L.S. Biologically active polyketides produced by *Penicillium janthinellum* isolated as an endophytic fungus from fruits of *Melia azedarach*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 2, p. 280 - 283, 2005.

MITTERMEIER, R.A.; MEYERS, N.; GIL, P.R.; MITTERMEIER, C.G. **Hotspots: earth's biologically richest and most endangered ecoregions**. Toppan Printing Co., Japan, 1999.

NITHYA, K.; MUTHUMARY, J. Bioactive metabolite produced by *Phomopsis* sp. an endophytic fungus in *Allamandra cathartica* Linn. **Recent Research in Science and Technology**, v. 3, n.3, p. 44 – 48, 2011.

## *Ciências Agrárias*

PETRINI, O.; FISHER, P.J. Fungal endophytes in *Salicornia perennis*. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 86, n.4, p. 647-651, 1986.

PANDI, M.; KUMARAN, R.S.; CHOI, Y-K., KIM, H.J.; MUTHUMARY, J. Isolation and detection of taxol, an anticancer drug produced from *Lasiodiplodia theobromae*, an endophytic fungus of the medicinal plant *Morinda citrifolia*. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n.8, p. 1428-1435, 2011.

QIN, J-C.; ZHANG, Y-M.; GAO, J-M.; BAI, M-S.; YANG, S-X.; LAATSCH, H.; ZHANG, A-L. Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v.19, p.1572-1574, 2009.

SCHULZ, B.; WANKE, U.; DRAEGER, S.; AUST., H.-J. Endophytes from herbaceous plants and shrubs: effectiveness of surface sterilization methods. **Mycological Research**, v. 97, 1447-1450, 1993.

SILVA, R.L.O., LUZ, J.S., SILVEIRA, E.B., CAVALCANTE, U.M.T. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n.3, p. 649- 655, 2006.

SOUZA, A.Q.L., SOUZA, A.D.L., ASTOLFI FILHO, S., BELÉM PINHEIRO, M.L., SARQUIS, M.I.M., PEREIRA, J.O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Benthham. **Acta Amazonica**, v. 34, n.2, p. 185-195, 2004.

STIERLE, A.; STROBEL, G.A.; STIERLE, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. **Science**, v. 260, 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, p.1315–1324, 1995.

STROBEL, G. A. Microbial gifts from rain forests. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 24, p. 14-20, 2002a.

STROBEL, G. A. Rainforest endophytes and bioactive products. **Critical Review in Biotechnology**, v. 22, p. 315-333, 2002b.

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

TAKAHASHI, J.A.; LUCAS, E.M.F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1807 – 1813, 2008.

TEZUKA, Y.; HUANG, Q.; KIKUCHI, T.; NISHI, A.; TUBAKI, K. Studies on the metabolites of mycoparasitic fungi I- metabolites of *Cladobotryum varium*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n.12, p. 2612 - 2617, 1994.

VERMA, V.C.; LOBKOVSKY, E.; GANGE, A.C.; SINGH, S.K.; PRAKASH, S. Piperine production by endophytic fungus *Periconia* sp.isolated from *Piper longum* L. **The Journal of Antibiotics**, v. 64, p. 427–431, 2011.

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 Microbiological Letters**, v. 193, p.249-253, 2000.

## *Ciências Agrárias*

WILSON, D. Endophyte – the evolution of a term, and clarification of its use and definition. **Oikos**, v. 73, p. 274-276, 1995.

ZIKMUNDOVÁ, M.; DRANDAROV, K.; BIGLER, L.; HESSE, M.; WERNER, C. (2002). Biotransformation of 2-Benzoxazolinone and 2-Hydroxy-1,4-Benzoxazin-3-one by endophytic fungi isolated from *Aphelandra tetragona*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68: 4863–4870

ZHANG, J-Y.; TAO, L-Y.; LIANG, Y-J.; CHEN, L-M.; MI, Y-J.; ZHENG, L-S.; WANG, F.; SHE, Z-G.; LIN, Y-C.; KIN, K.; TO, W.; FU, L-W. Anthracenedione derivatives as anticancer agents isolated from secondary metabolites of the mangrove endophytic fungi. **Marine Drugs**, v. 8, p. 1469-1481, 2010.

ZHOU, X.; ZHU, H.; LIU, L.; LIN, J.; TANG, K. A review: recent advances and future prospects of taxol-producing endophytic fungi. **Applied Microbiological Biotechnology**, v. 86, p. 1707-1717, 2010.