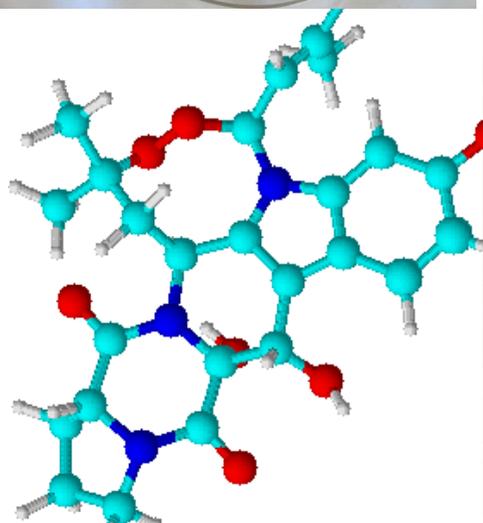


Fungos Endofíticos: Perspectiva de Descoberta e Aplicação de Compostos Bioativos na Agricultura



ISSN 2179-8184

Dezembro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 154

Fungos Endofíticos: Perspectiva de Descoberta e Aplicação de Compostos Bioativos na Agricultura

*Kirley Marques Canuto
Tigressa Helena Soares Rodrigues
Francisca Samara Assunção de Oliveira
Francisco José Teixeira Gonçalves*

Embrapa
Brasília, DF
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.cnpat.embrapa.br
cnpat.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: *Marlon Vagner Valentim Martins*
Secretário-Executivo: *Marcos Antonio Nakayama*
Membros: *José de Arimatéia Duarte de Freitas, Celli Rodrigues Muniz, Renato Manzini Bonfim, Rita de Cassia Costa Cid, Rubens Sonsol Gondim, Fábio Rodrigues de Miranda*

Revisão de texto: *Marcos Antonio Nakayama*
Normalização bibliográfica: *Rita de Cassia Costa Cid*
Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*
Fotos da capa: *Kirley Marques Canuto*

1ª edição (2012): versão eletrônica

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria Tropical

Fungos endofíticos: perspectiva de descoberta e aplicação de compostos bioativos na agricultura / Kirley Marques Canuto... [et al.] – Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

34 p.; 15 cm x 21 cm. – (Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 2179-8184, 154).

1. Fungos endofíticos. 2. Avaliação biológica. 3. Compostos bioativos. 4. Uso - Agrícola. I. Canuto, Kirley Marques. II. Rodrigues, Tigressa Helena Soares. III. Oliveira, Francisca Samara Assunção de. IV. Gonçalves, José Teixeira. V. Série.

CDD 632.952

© Embrapa 2012

Autores

Kirley Marques Canuto

Farmacêutico, D.Sc em Química Orgânica,
pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical,
Fortaleza, CE, kirley.canuto@embrapa.br

Tigressa Helena Soares Rodrigues

Engenheira química, técnica da Embrapa
Agroindústria Tropical, tigressa.rodrigues@embrapa.br

Francisca Samara Assunção de Oliveira

Farmacêutica, técnica da Embrapa Agroindústria
Tropical, samara.oliveira@embrapa.br

Francisco José Teixeira Gonçalves

Agrônomo, doutorando em Micologia, estagiário
da Embrapa Agroindústria Tropical,
goncalvesfj@yahoo.com.br

Apresentação

Os fungos endofíticos são microrganismos não patogênicos que colonizam o interior de tecidos vegetais saudáveis (folhas, caules, raízes, etc.), de onde retiram os nutrientes sem lhes causar danos aparentes. Contudo, em troca, esses fungos ajudam as plantas na adaptação a condições ambientais adversas (seca, frio, salinidade, presença de metais pesados, etc.) e na resistência a ataques de insetos herbívoros ou de fitopatógenos.

Essa relação simbiótica entre fungo e planta favorece o surgimento de novas rotas metabólicas, resultando em uma rica produção de metabólitos bioativos. Por isso, os fungos endofíticos são apontados como uma fonte promissora de compostos químicos de interesse para medicina e agricultura.

Particularmente, na agricultura, as substâncias fúngicas poderão representar uma alternativa sustentável aos pesticidas sintéticos, cujo uso tem sido rejeitado pela sociedade e intensamente controlado pelas autoridades governamentais, devido aos seus efeitos deletérios sobre a saúde humana e ao meioambiente.

Neste trabalho, estudantes, técnicos e pesquisadores de química, de ciências biológicas e agrárias encontrarão informações atuais e concisas sobre as descobertas mais relevantes no que diz respeito ao potencial biológico de compostos produzidos por fungos endofíticos e poderão compreender melhor como essas substâncias poderão se tornar, no futuro, agentes úteis no controle químico de pragas e doenças de plantas.

Vitor Hugo de Oliveira

Chefe-Geral da Embrapa Agroindústria Tropical

Sumário

Introdução.....	8
Fungos de plantas	10
Metabólitos secundários de fungos.....	11
Estudo químico e biológico de fungos	14
Otimização da produção de metabólitos bioativos.....	26
Considerações finais e perspectivas.....	27
Agradecimentos	28
Referências	29

Fungos Endofíticos: Perspectiva de Descoberta e Aplicação de Compostos Bioativos na Agricultura

Kirley Marques Canuto

Tigressa Helena Soares Rodrigues

Francisca Samara Assunção de Oliveira

Francisco José Teixeira Gonçalves

Introdução

Os impactos negativos dos agrotóxicos na saúde e no meio ambiente têm levado os governos de vários países a adotarem legislações mais rigorosas para o registro de novos produtos. Nos Estados Unidos, maior produtor e um dos maiores consumidores de agroquímicos, o estabelecimento de procedimentos mais exigentes para sua regulamentação (Food Quality Protection Act) está gradualmente reduzindo o número de produtos sintéticos disponíveis para uso agrícola (DAYAN et al., 2009). Na Europa, o parlamento aprovou, em 2009, um regulamento que proíbe a utilização de substâncias altamente tóxicas e determina que as nocivas sejam substituídas por alternativas mais seguras. Além disso, estabeleceu um programa para reduzir a dependência dos pesticidas sintéticos (QUÍMICA..., 2010). O Brasil, seguindo uma tendência mundial (e até mesmo como medida para superar possíveis barreiras fitossanitárias), tem restringido ou proibido o uso de alguns pesticidas sintéticos, como a cihexatina, metamidofós e endossulfan (ANVISA, 2012a; 2012b; FORMENTI, 2010). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), órgão responsável por avaliar a toxicidade de pesticidas, está adotando normas mais rigorosas, seguindo padrões internacionais (métodos e parâmetros) recomendados pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial de Saúde (OMS) (AGÊNCIA BRASIL, 2012).

Nesse contexto, a indústria agroquímica está investindo na descoberta de produtos naturais bioativos para o controle de pragas e doenças de plantas, em virtude da biodegradabilidade e baixa toxicidade desse tipo de substância (DAYAN et al., 2009). O mercado mundial de biopesticidas (à base de bactérias, fungos, extratos e compostos fitoquímicos) tem se expandido desde 2005 a uma taxa de crescimento de 9,9% ao ano, e estima-se que movimente cifras superiores a U\$ 1 bilhão, representando 2,5% do market share, enquanto o mercado de pesticidas sintéticos tem encolhido a uma taxa de 1,5%/ano (QUÍMICA..., 2010)

Metabólitos oriundos de plantas e bactérias têm sido empregados com fins fitossanitários e vários deles já são disponíveis comercialmente ou foram utilizados como protótipos para derivados sintéticos, na forma de inseticidas (avermectinas, espinosinas-Entrust™; rotenona, limoneno, azadiractina, piretrinas, etc.), fungicidas (polioxorim-Endorse™; óleos essenciais de alecrim e tomilho-Sporan™ e Promax™), bactericidas (estreptomycina-Agrimycin™) e herbicidas (bialafos, óleos essenciais cravo e capim-limão, etc.) (DAYAN et al., 2009; COPPING; DUKE, 2007).

No tocante ao potencial biológico de fungos, o espectro de ação também é amplo. De 1.500 compostos isolados de fungos entre 1993 e 2001, metade apresentou atividades antifúngica, antibacteriana ou anticâncer (KELLER et al., 2005). Embora a maioria desses estudos seja direcionada para uso clínico, muitas substâncias fúngicas já apresentaram atividades biológicas de interesse para agricultura. No entanto, os fungos têm sido precariamente estudados, quando comparados aos animais e às plantas superiores. Estima-se que as 100.000 espécies de fungos já descritas correspondam a apenas 7% do total (CROUS et al., 2006; HAWKSWORTH, 1991; 2001; HAWKSWORTH; ROSSMAM, 1997).

Este trabalho consiste em um levantamento do estado da arte de fungos encontrados em plantas (em especial, fungos endofíticos) potencialmente úteis para a agricultura, por meio da apresentação de estudos de caracterização química e de avaliação biológica de metabólitos secundários fúngicos. Dessa forma, este documento visa

difundir as possibilidades de aplicação agrícola de produtos naturais obtidos de fungos, bem como estimular pesquisas científicas sobre a biodiversidade local.

Fungos de plantas

Os fungos são organismos eucarióticos, heterotróficos, que obtêm seus nutrientes por absorção. São cosmopolitas, sendo encontrados em praticamente todos os nichos ecológicos do nosso planeta. Os fungos podem ser classificados em quatro filos: Chytridiomycota, Zygomycota, Basidiomycota e Ascomycota com seus anamorfos (ALEXOPOULOS et al., 1996). A maioria dos fungos endofíticos pertence ao filo Ascomycota, incluindo suas formas anamórficas (BILLS, 1996).

Os fungos associados a plantas pertencem ao filo Ascomycota e podem ser agrupados em três tipos: endofíticos, epifíticos e fitopatogênicos. Os fungos endofíticos são microrganismos não patogênicos que colonizam o interior dos tecidos saudáveis (folhas, caules, frutos, raízes, etc.), de onde retiram os nutrientes sem causar-lhes danos aparentes (PETRINI 1991; 1997; GUNATILAKA, 2006). Os endofíticos diferem dos epifíticos, que vivem na superfície dos vegetais, e dos fitopatogênicos, que causam doenças nas plantas. Essas distinções não são absolutas, podendo sofrer sobreposições. Assim, um fungo que vive no interior de plantas como endofítico pode se tornar um patógeno latente dependendo das condições ambientais (AZEVEDO, 1998). Neste trabalho, o foco principal são os fungos endofíticos.

Os fungos endofíticos ajudam as plantas na adaptação aos mais variados ambientes (seca, frio, etc.), bem como induzem a tolerância a fatores de estresse (baixo pH, salinidade, presença de metais pesados) e a resistência ao ataque de insetos herbívoros/fitopatogênicos, por meio da produção de metabólitos funcionais (ZHANG et al., 2006).

Uma evidência de associação bem sucedida é a que envolve fungos produtores de brefeldina A (1), tais como *Aspergillus clavatus* e

Paecilomyces sp. em *Taxus mairei* e *Torreya grandis*, respectivamente (Figura 1). Brefeldina A é um macrolídeo que protege a planta contra infecção bacteriana, ataques de insetos e de animais; no entanto, essa substância atua sobre o sistema secretor da planta, facilitando a absorção de nutrientes da planta hospedeira (GUNATILAKA, 2006). O endófito *Curvularia* sp. conferiu tolerância térmica à gramínea *Dichanthelium lanuginosum* devido à biossíntese de melanina, que possui a propriedade de dissipar o calor ou complexar radicais gerados pelo estresse térmico (REDMAN et al., 2002).

O instigante papel fisiológico desempenhado pelos fungos endofíticos tem estimulado investigações químicas e biológicas para aplicações agrícolas, farmacêuticas e alimentícias (ZHAO et al, 2010).

Schulz et al.(2002) verificaram uma maior proporção de novas moléculas e de compostos bioativos produzidos por fungos endofíticos de plantas do que em outros tipos de fungos.

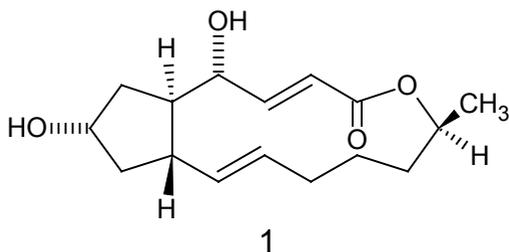


Figura 1. Estrutura química de brefeldina A (1).

Metabólitos secundários de fungos

De um modo geral, o metabolismo do reino Fungi é relativamente semelhante ao encontrado em plantas, tendo sido identificados diversos compostos fitoquímicos em fungos, tais como paclitaxel e vincristina. Entretanto, a maioria dos fungos possui rotas bioquímicas peculiares, resultando em metabólitos característicos ou específicos

de uma determinada espécie, embora a produção desses metabólitos dependa de vários fatores (habitat, condições de crescimento, etc.). Os produtos dessas rotas metabólicas incluem importantes fármacos, tais como penicilina e estatinas, ou substâncias tóxicas como as aflatoxinas (KELLER et al., 2005; TAN; ZOU, 2001).

As substâncias bioativas de fungos são em geral derivadas do metabolismo secundário, por meio do qual são gerados compostos de baixo peso molecular pertencentes a diversas classes químicas, como:

1. **Policetídeos** – é a principal classe de metabólitos fúngicos. Esses compostos são biossintetizados por policetídeo-sintases por meio de sucessivas condensações de moléculas de ácidos graxos de cadeia curta, normalmente acetil-coenzima A ou malonil-coenzima A. Ex.: aflatoxina B1 e lovastatina (hipocolesterêmico).
2. **Alcaloides** – são compostos aminados derivados de aminoácidos. Triptofano é o precursor para alcaloides indólicos. Ex.: ergotamina.
3. **Terpenos** – são substâncias largamente encontradas em plantas, principalmente como constituintes de óleos essenciais; entretanto, os fungos também as produzem com grande variedade. Os terpenos são compostos por duas ou mais unidades isoprênicas, dando origem aos monoterpenos (10 carbonos), sesquiterpenos (15C), diterpenos (20C), triterpenos (30C), além dos carotenoides e esteroides. Ex.: giberelina GA3 e tricoteceno T2.
4. **Peptídios não ribossomais** – a biossíntese desses compostos é catalisada por enzimas denominadas peptídeos não ribossomais sintetases a partir de aminoácidos proteínogênicos ou não proteínogênicos. Ex.: penicilina G, cefalosporina, ciclosporina.

No metabolismo dos fungos endofíticos, existe uma peculiaridade: a relação simbiótica fungo-planta favorece a capacidade do fungo de biossintetizar metabólitos originalmente produzidos pela planta hospedeira. Por exemplo, o paclitaxel (**2**) (Taxol[®]), uma substância isolada de plantas do gênero *Taxus* e utilizada com sucesso na

terapia do câncer de mama e de útero, já foi identificado em vários gêneros de fungos que colonizam espécies vegetais produtoras desse metabólito (ZHOU et al., 2010). Dessa forma, os fungos endofíticos podem alternativamente substituir plantas como fontes de fármacos e produtos agroquímicos, considerando-se as vantagens da produção por via biotecnológica (processo não sujeito à variações por fatores edafoclimáticos, de fácil escalonamento, com possibilidade de maiores rendimentos, além de ser sustentável, permitindo a preservação da espécie botânica produtora). Na Tabela 1 e Figura 2 são mostrados fungos produtores de metabólitos secundários de origem botânica e suas respectivas estruturas químicas.

Tabela 1. Produção de compostos bioativos por fungos endofíticos.

Fungo endofítico	Planta hospedeira	Metabólito bioativo	Rendimento ($\mu\text{g/L}$)
<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Taxus chinensis</i>	Paclitaxel (2)	846,1
<i>Fusarium lateritium</i>	<i>Taxus baccata</i>	paclitaxel	0,13
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Podocarpus</i> sp.	paclitaxel	557,8
<i>Phialocephala fortinii</i>	<i>Sinopodophyllum peltatum</i>	Podofilotoxina (3)	0,5-189
<i>Entrophospora infrequens</i>	<i>Nothapodytes foetida</i>	Camptotecina (4)	49,6
<i>Alternaria</i> sp.	<i>Catharanthus roseus</i>	Vimblastina (5)	ND

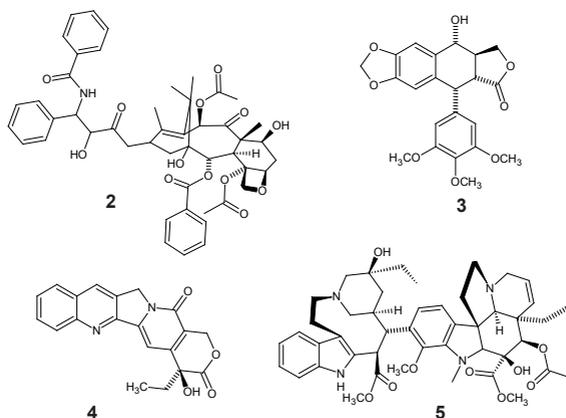


Figura 2. Estruturas químicas de paclitaxel (2), podofilotoxina (3), camptotecina (4) e vimblastina (5).

Conforme apresentado anteriormente, as condições de crescimento em laboratório podem influenciar fortemente a produção de metabólitos secundários. Loesgen et al. (2011) observaram que uma determinada cepa de *Phoma* sp. produzia crisofanol (**6**) e hipotemicina (**7**) em culturas de ágar Biomalt, porém (+)-flavipucina (**8**) era o composto majoritário em um meio glicose-maltose. Por outro lado, a adição de acetato de sódio ampliou o perfil metabólico levando à identificação de isômeros de flavipucina (Figura 3).

Outro aspecto a ser considerado é a localização dos metabólitos bioativos. Em alguns casos, os fungos secretam os metabólitos bioativos para o meio extracelular, devendo estes serem extraídos do caldo fermentativo, enquanto certos fungos retêm os metabólitos internamente, exigindo uma extração química dos micélios. Um exemplo disso é o *Epicoccum nigrum* (endófito da cana-de-açúcar), cuja avaliação antifúngica dos seus extratos (caldo e micélio) mostrou que apenas os metabólitos secretados no meio de cultura eram bioativos (FÁVARO et al., 2012).

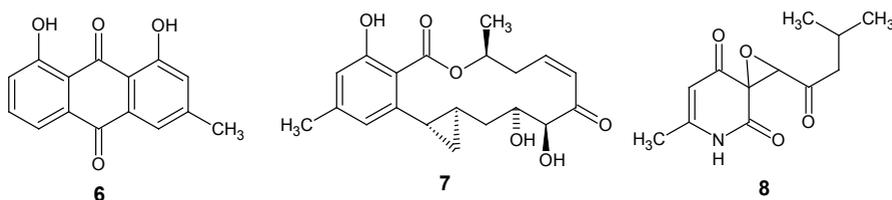


Figura 3. Estruturas químicas de crisofanol (**6**), hipotemicina (**7**) e flavipucina (**8**).

Estudo químico e biológico de fungos

A bioprospecção de metabólitos bioativos de fungos é compreendida por quatro etapas: isolamento do fungo, cultivo do fungo, prospecção química e ensaios biológicos.

- **Isolamento e identificação do fungo** – os fungos são obtidos do material botânico (pedaços de folha, caule ou raiz), previamente

esterilizado por exposição a etanol 70% e NaClO (1% a 3%, dependendo do tipo de tecido), seguida de lavagem em água destilada e autoclavada (ADE). Os fragmentos do tecido vegetal superficialmente esterilizados são dispostos em placas de Petri, contendo Batata Dextrose Ágar (DBA) ou Extrato de Malte Ágar (MEA) adicionados de estreptomicina e incubados a 25 °C. O crescimento das colônias fúngicas requer monitoramento diário. Os diferentes tipos de colônias são transferidos para BDA ou Batata Cenoura Ágar (BCA), para posterior identificação (CROUS et al., 2009). A identificação de fungos endofíticos esporulantes pode ser realizada por meio das características morfométricas de suas estruturas reprodutivas, utilizando microscopia óptica, bem como por meio do auxílio de técnicas de biologia molecular como PCR (Polymerase Chain Reaction) e sequenciamento de regiões de genes (CROUS et al., 2009; ELLIS, 1971; SUTTON, 1980).

- **Cultivo do fungo** – consiste em produzir os fungos isolados em escalas maiores, visando obter maiores rendimentos de extratos fúngicos. O inóculo é repicado em Erlenmeyers (500 mL a 2.000 mL) contendo meio líquido (Extrato de Malte, Czapek, Batata-dextrose, entre outros), utilizando-se discos de micélio fúngico crescido em ágar. A cultura pode ser aerada (agitação mecânica) ou não, acondicionada ou não ao abrigo da luz, e mantida com ou sem controle de temperatura, dependendo das características do fungo. O período de incubação dura entre 2 e 4 semanas (KJER et al., 2010).
- **Prospecção química** – compreende a extração, separação, isolamento, purificação e elucidação estrutural dos metabólitos fúngicos. A extração é feita mediante partições líquido-líquido do caldo (metabólitos extracelulares) e/ou maceração do micélio (metabólitos intracelulares) dependendo do fungo. O extrato fúngico é então submetido a técnicas cromatográficas de separação: convencionais (Sephadex, gel de sílica) ou modernas (cromatografia líquida de alta eficiência, extração por fase sólida). As substâncias isoladas são quimicamente caracterizadas por meio de métodos

físicos (ponto de fusão, rotação óptica) e espectrométricos (ressonância magnética nuclear, espectrometria de massas, espectrometria de infravermelho, espectroscopia de ultravioleta) (KJER et al., 2010).

- **Ensaio biológico** – os extratos fúngicos são submetidos a diferentes testes biológicos *in vitro* ou *in vivo*, dependendo do estágio da pesquisa, para avaliação da toxicidade contra insetos-praga, fitopatógenos (fungos, bactéria e nematoides) e ervas daninhas. Em geral, os ensaios são bioguiados, ou seja, o resultado do teste biológico determina as amostras que serão fracionadas e novamente testadas até que se obtenha uma fração ou substância pura passível de caracterização química. Ao fim desse processo, é possível definir qual(is) composto(s) é(são) responsável(is) pela atividade. Dependendo do modelo experimental escolhido, esse processo pode ser automatizado e envolver centenas de amostras, permitindo uma rápida seleção de extratos e frações bioativos (High Throughput Screening) (KJER et al., 2010).

Ação antifúngica

Criptocina (**9**), um potente alcaloide antifúngico, foi isolado do fungo *Cryptosporiopsis quercina*, presente na casca do caule de *Tripterygium wilfordii* (STROBEL; DAISY, 2003), enquanto quinonas (jesterona-10) isoladas do fungo *Pestalotiopsis jesteri*, encontrado em *Fragaria bodenii*, demonstraram atividade inibidora seletiva contra alguns fitopatógenos. A partir de *P. microspora*, fungo associado à planta *Terminalia morobensis*, foram descobertos os compostos fenólicos pestacina (11) e isopestacina (12), que exibiram significativo efeito antifúngico (ZHANG et al., 2006) (Figura 4).

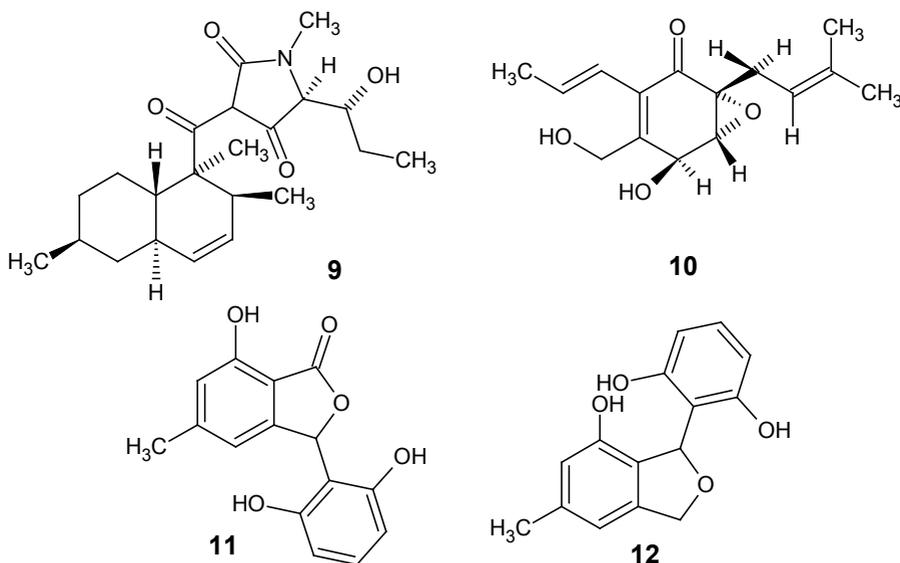


Figura 4. Estruturas químicas de criptocina (9), jesterona (10), pestacina (11) e isopestacina (12).

O extrato AcOEt de *Colletotrichum gloeosporioides*, endófito em *Cryptocarya mandiocana*, exibiu forte efeito antifúngico contra *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*. A ação fungicida foi posteriormente atribuída aos compostos *cis*-4-hidroxi-6-deoxiscitalona (13) e (4*R*)-4,8-dihidroxi- α -tetralona (14) (INÁCIO et al., 2006) (Figura 5).

Fracionamento bioguiado do extrato de *Nigrospora* sp., um endófito presente na raiz da planta medicinal moringa (*Moringa oleifera*), levou à obtenção de griseofulvina (15) (antibiótico comercial de uso clínico), o qual se mostrou ativo contra seis tipos de fungos fitopatogênicos (*Botrytis cinerea*, *Colletotrichum orbiculare*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotium*). O aspecto interessante é que seu análogo não halogenado – desclorogriseofulvina (16) – exibiu fraca atividade no mesmo teste (ZHAO et al., 2012) (Figura 5).

Cordicepsidonas A (**17**) e B (**18**) foram isoladas de *Cordyceps dipterigena*, um fungo endofítico das folhas de *Desmodium incomparabilis*. Ambos os compostos foram eficientes no controle de *Gibberella fujikuroi*, fitopatógeno que afeta gravemente a produtividade de arroz devido à produção excessiva do hormônio de crescimento ácido giberélico (VARUGHESE et al., 2012) (Figura 5).

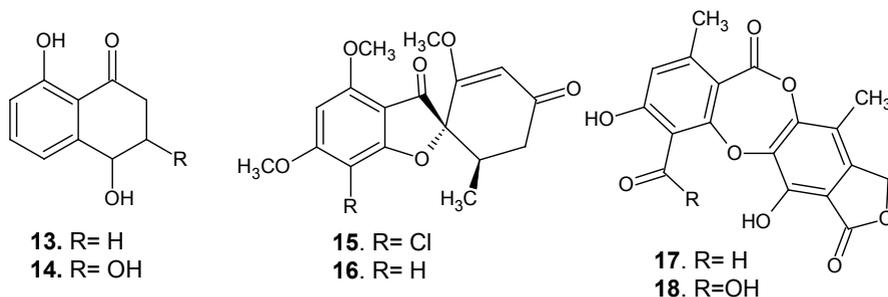


Figura 5. Estruturas químicas de cis-4-hidroxi-6-deoxiscitalona (**13**), (4R)-4,8-dihidroxi- α -tetralona (**14**), griseofulvina (**15**), desclorogriseofulvina (**16**), cordicepsidonas A (**17**) e B (**18**).

Li et al. (2012) isolaram 39 metabólitos de uma cepa de *Aspergillus fumigatus* que coloniza a casca do caule de *Melia azedarach*. Desses, 16 compostos exibiram atividade antifúngica contra os seguintes fitopatógenos: *B. cinerea*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *F. solani* e *Gibberella saubinetii*, sendo que quatro – 12 β -hidroxi-13 α -metoxiverruculogeno (**19**), fumitremorgina B (**20**), verruculogeno (**21**) e ácido helvólico (**22**) – apresentaram efeitos comparáveis aos fungicidas comerciais carbendazim e himexazol (Figura 6). Esse grupo de pesquisadores também identificou 12 metabólitos em *Chaetomium globosum*, um endófito da planta medicinal *Ginkgo biloba* (LI et al., 2011), porém apenas gliotoxina (**23**) exibiu atividade antifúngica. Um aspecto interessante é que o análogo metil-tiogliotoxina (**24**) é inativo, evidenciando a necessidade de uma ponte dissulfeto para atividade antifúngica. Esse fungo foi solado ainda de outra planta medicinal, cúrcuma (*Curcuma wenyujin*), fornecendo um composto antifúngico

com amplo espectro de ação, denominado quetoglobosina X (WANG et al., 2012) (Figura 7).

A partir da planta medicinal *Paeonia delavayi*, foi isolada uma cepa de *Trichoderma* sp., da qual foram obtidos dois novos sequiterpenos e outros 3 compostos já conhecidos. As substâncias isoladas foram testadas contra quatro fungos fitopatogênicos, mas não apresentaram efeito antagônico significativo (WU et al., 2011). Citochalasinas N (25) e H (26) com ação antifúngica contra seis fitopatógenos foram obtidos de uma cepa de *Phomopsis* encontrada nas raízes do algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) (FU et al., 2011) (Figura 7).

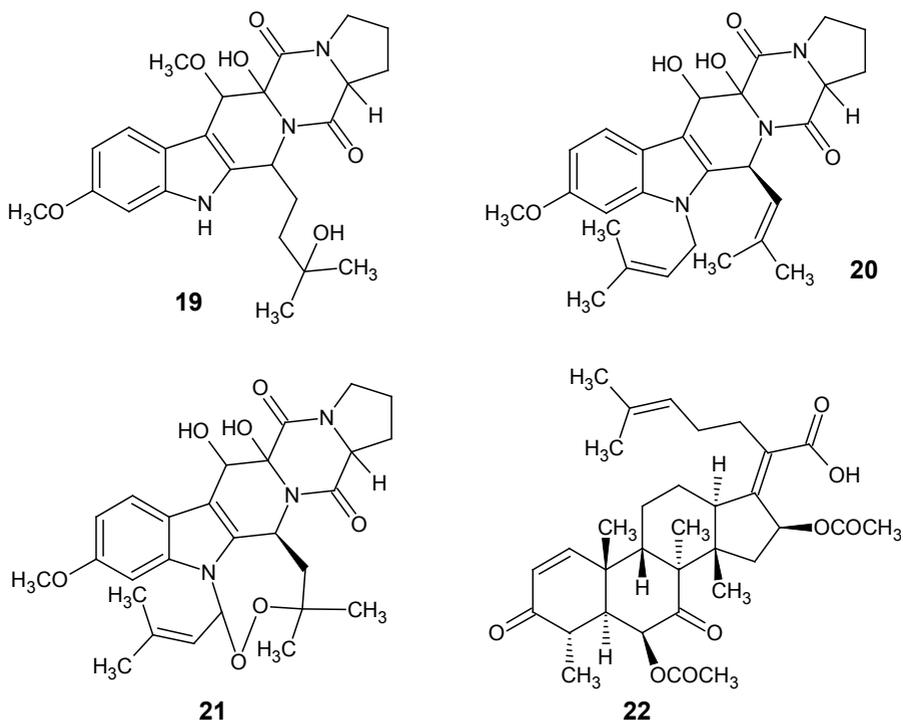


Figura 6. Estruturas químicas de 12β-hidroxi-13α-metoxiverruculogeno (19), fumitremorgina B (20), verruculogeno (21) e ácido helvólico (22).

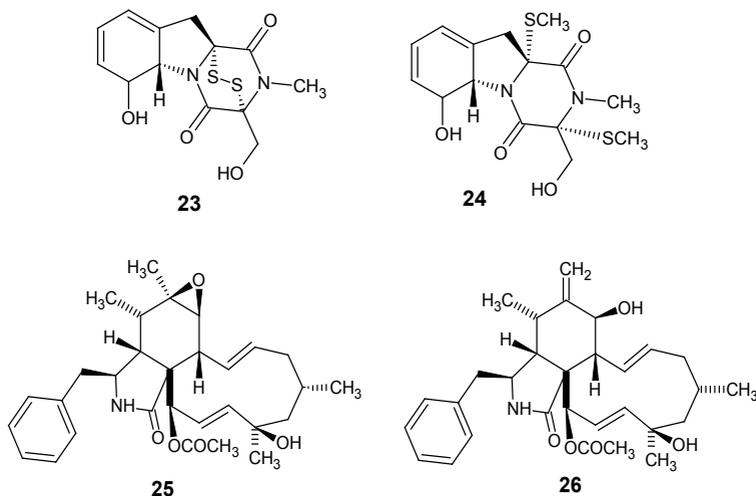


Figura 7. Estruturas químicas de gliotoxina (23), metil-tiogliotoxina (24), citochalasin N (25) e H (26).

A equipe da pesquisadora Barbara Schulz vem há tempos prospectando metabólitos fúngicos com potencial fungicida, bactericida e algicida, tendo já descoberto dezenas de substâncias bioativas. Eis alguns exemplos de alguns compostos com ação antifúngica: as pirenocinas de *Phomopsis* sp. (endófito de *Santolina chamaecyparissus*) denominadas phomopsinonas A-D (27) (HUSSAIN et al., 2012a); pirenocinas J-M (28) de *Phomopsis* sp., endófito de *Cistus salvifolius* (HUSSAIN et al., 2012b); compostos 29 e 30 de *Nodulisporium*, endófito de *Juniperus cedrus* (DAI et al., 2006); nodulisporinas D-F (31-33) de *Nodulisporium* (Figura 8), endófito de *Erica arborea* (DAI et al., 2009); Flavipucina (8) do fungo *Phoma* sp. obtido das folhas de *Salsola oppositifolia* (LOESGEN et al., 2011); as cromonas phomocromona A-B (34-35) e a ciclopentenona phomotenona (36) de cepas de *Phomopsis* sp. isoladas de *Cistus monspeliensis* (AHMED et al., 2011); as cremenonas pestaloteóis E-H (37-38) de um ascomiceto não identificado (provavelmente *Pestalotiopsis* devido à presença de pestaloteóis), endófito de *Arbutus unedo* (QIN et al., 2011) (Figura 9); compostos lactônicos (39-40) de um ascomiceto não identificado, endófito de *Melilotus dentatus* (HUSSAIN et al., 2009) (Figura 10).

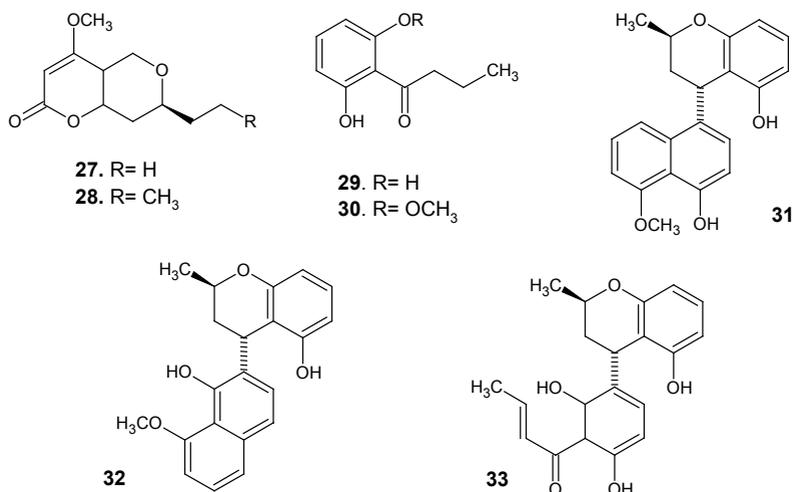


Figura 8. Estruturas químicas de phomopsinona A (**27**), pirenocinas J (**28**), compostos **29** e **30**, nodulisporinas D-F (**31-33**)

A julgar pelo número de compostos bioativos, pirenocinas representam uma classe promissora de compostos fungicidas, enquanto o gênero *Phomopsis* desponta como uma das principais fontes de substâncias antifúngicas. As nodulisporinas são compostos formados pelo acoplamento de anéis cromano e naftaleno formando um esqueleto inédito na literatura.

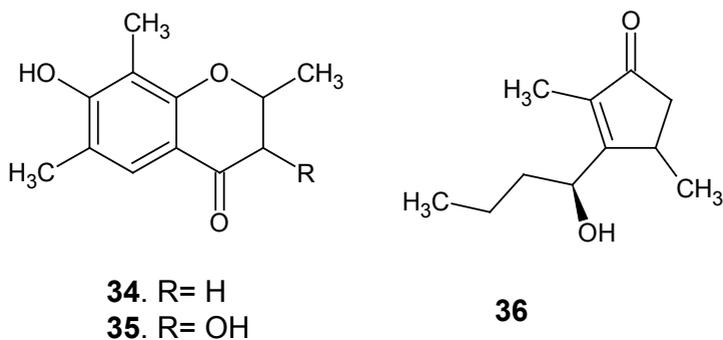


Figura 9. Estruturas químicas de phomocromona A-B (**34-35**) e phomotenona (**36**).

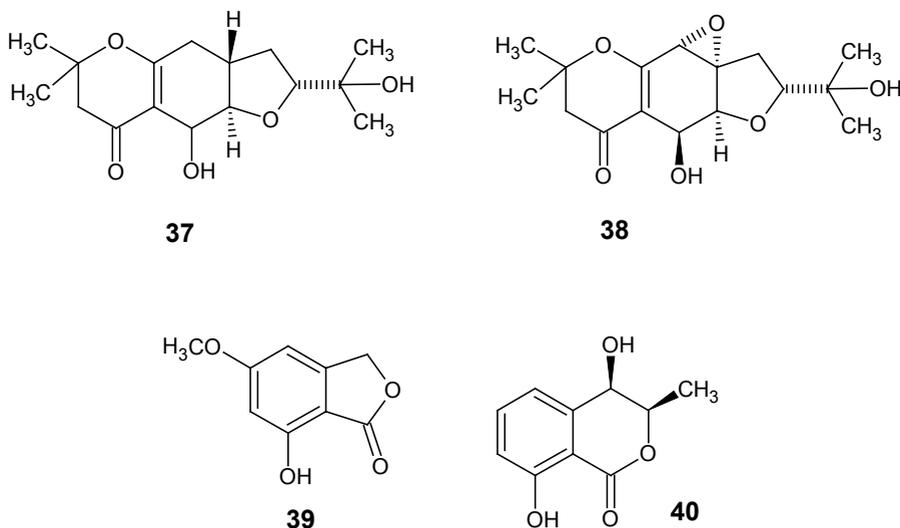


Figura 10. Estruturas químicas de pestaloteois E e F (37-38), lactonas (39-40) de um endófito de *Melilotus dentatus* (39-40).

Ação inseticida

Ácidos nodulispóricos (41) são uma classe de diterpenos indólicos isolados de fungos do gênero *Nodulisporium*. Esses compostos foram descobertos por pesquisadores da indústria química Merck Sharp & Dohme, que verificaram significativa atividade *in vitro* e *in vivo* contra pulgas, atoxicidade para vertebrados, porém potência e propriedades farmacocinéticas limitadas para justificarem o uso deles como inseticida. O mecanismo de ação dos ácidos nodulispóricos é semelhante ao das avermectinas, ou seja, modulam os canais de cloreto por meio de receptores de glutamato (SINGH et al., 2004) (Figura 11).

Os compostos 42-45 foram os componentes majoritários de três endófitos isolados de *Picea rubens*, cujos extratos mostraram toxicidade frente a larvas de *Choristoneura fumiferana*, atuando como inibidores do apetite (*antifeedant*). Os dois derivados do anidrido maleico são constituintes de um patógeno de insetos (SUMARAH et al., 2010) (Figura 11).

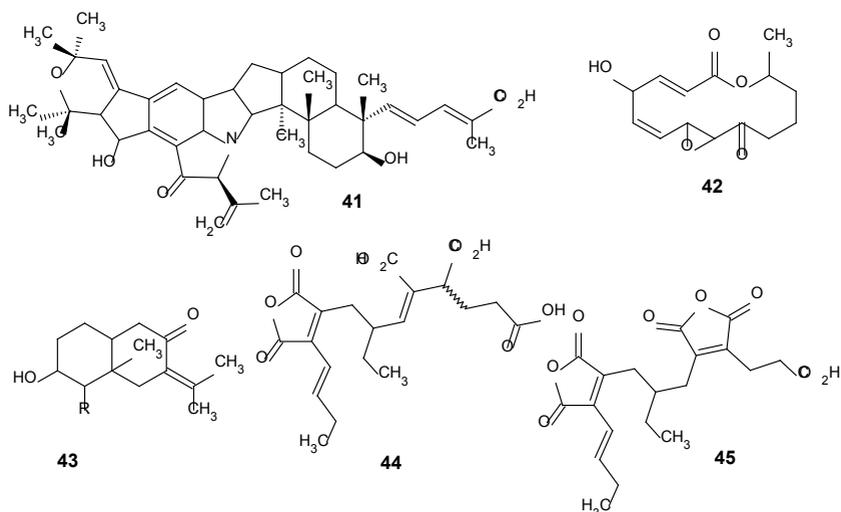


Figura 11. Estruturas químicas de ácido nodulisporico A (41) e componentes majoritários de três endófitos isolados de *Picea rubens* (42-45).

No estudo de avaliação do potencial biológico de metabólitos de *Aspergillus fumigatus* isolado de *Melia azedarach*, Li et al. (2012) descobriram dois alcaloides indólicos, fumitremorgina (20) e verruculogeno (21), com considerável ação inibidora do apetite para larvas de lagartas (*Mythimna separata*) (Figura 6).

Dois benzofuranos (46-47) foram isolados de um fungo endófito não identificado presente nas folhas de *Gaultheria procumbens*. O potencial inseticida desses compostos foi evidenciado por meio de ensaios de toxicidade contra células e larvas da lagarta *Choristoneura fumiferana* (FINDLAY et al., 1997) (Figura 12).

Kusari et al. (2012) relataram o isolamento de azadiractinas A (48) e B (49) de *Eupenicillium parvum*, um fungo endófito existente no nim (*Azadirachta indica*). Azadiractinas são os tetranortriterpenoides responsáveis pelas propriedades inseticidas do nim. A ação inibidora de apetite é atribuída ao fragmento acetal dihidrofurano, enquanto o fragmento de decalina exerce efeito sobre a regulação do crescimento do inseto. Nessa mesma linha, Hu et al. (2005) identificaram a

presença de rotenona (**50**) no extrato CHCl_3 de *Penicillium* sp., um endófito isolado das raízes de *Derris elliptica* (Figura 12). Rotenona (**50**) e substâncias análogas são encontradas em espécies do gênero *Derris*, sendo disponíveis comercialmente para o controle de pragas. Frações obtidas por cromatografia em gel de sílica, contendo rotenona, exibiram forte atividade inibidora do apetite para larvas de *Plutella xylostella* e toxicidade para afídeos *Lipaphis erysimi* (HU et al., 2005).

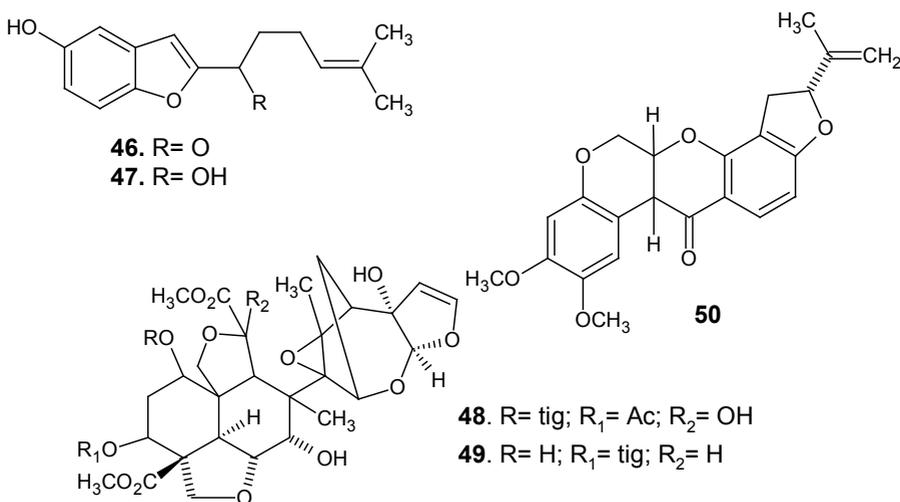


Figura 12. Estruturas químicas de benzofuranos (**46** e **47**) isolados de um endófito não identificado de *G. procumbens*, azadiractinas A (**48**) e B (**49**), rotenona (**50**).

Ação herbicida

O pesquisador italiano Antonio Evidente (Universidade de Nápoles) e sua equipe têm tido grande êxito na descoberta de vários compostos fúngicos com potencial herbicida, utilizando como estratégia a identificação de metabólitos tóxicos extraídos de fitopatógenos de ervas daninhas, tais como *Cirsium arvense*, e testando-os contra a própria planta hospedeira e outras ervas daninhas, além da cultura de importância econômica. Dessa forma, é possível determinar a seletividade e especificidade da ação fitotóxica. Nessa triagem, foram identificadas as seguintes fitotoxinas: Ofiobolina A (**51**) de *Drechslera*

gigantea, um fitopatógeno de *Digitaria sanguinalis* (EVIDENTE et al., 2006); drazepinona (**52**) de *D. siccans*, um fitopatógeno de *Lolium perenne* (EVIDENTE et al., 2005); ascaulitina (**53**) e *trans*-4-amino-prolina (**54**) de *Ascochyta caulina*, fitopatógeno de *Chenopodium album* (VURRO et al., 2012). O táxon *Drechslera* é reconhecidamente pródigo em fitotoxinas, visto que Kenfield e colaboradores já haviam identificado outros compostos com ação fitotóxica em fungos desse gênero: gigantenona (**55**), curvulina (**56**) e ácido O-metil-curvulínico (**57**) (KENFIELD et al., 1989ab) (Figura 13). Em um estudo de relação estrutura/atividade, foi observado que filostictinas, oxazatricicloalquenonas isoladas de *Phyllosticta cirsii* perdem atividade quando o anel macrocíclico sofre modificações de tamanho ou conformacionais (EVIDENTE et al., 2008).

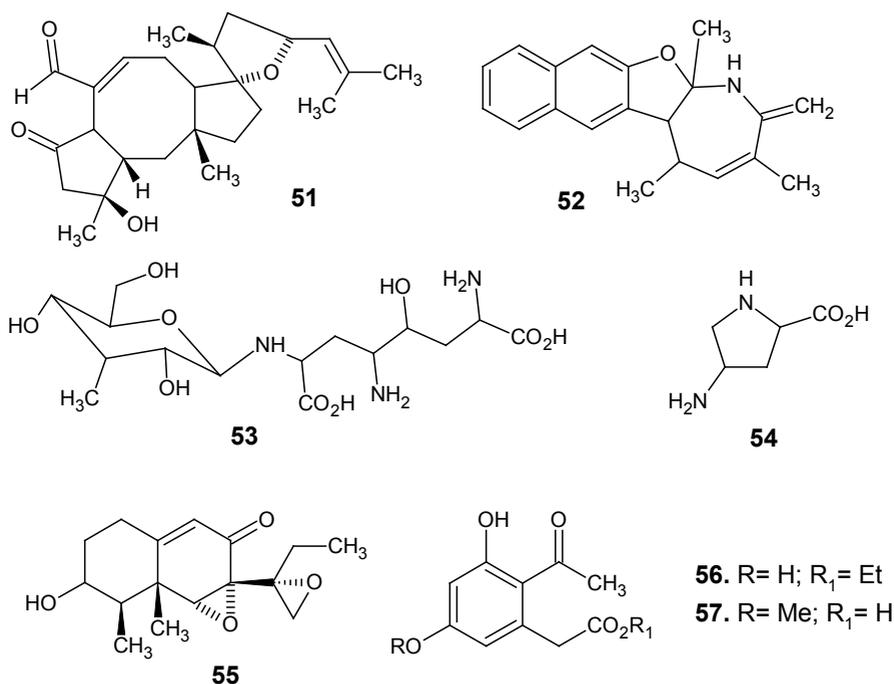


Figura 13. Estruturas químicas de ofiobolina A (**51**), drazepinona (**52**), ascaulitina (**53**), *trans*-4-amino-prolina (**54**), gigantenona (**55**), curvulina (**56**) e ácido O-metil-curvulínico (**57**).

Seguindo essa mesma linha de pesquisa, Yuzikhin e colaboradores isolaram o composto **58**, denominado estagonolídeo, a partir do fitopatógeno *Stagonospora cirsii*. O estagonolídeo exibiu efeitos fitotóxicos nas folhas e de inibição do crescimento da raiz de *C. arvensis* (YUZIKHIN et al., 2007). A antraquinona **59** de *Phoma herbarum*, fitopatógeno comumente encontrado em espécies de *Parthenium* sp., foi eficiente no controle de várias ervas daninhas (QUERESHI et al., 2011) (Figura 14).

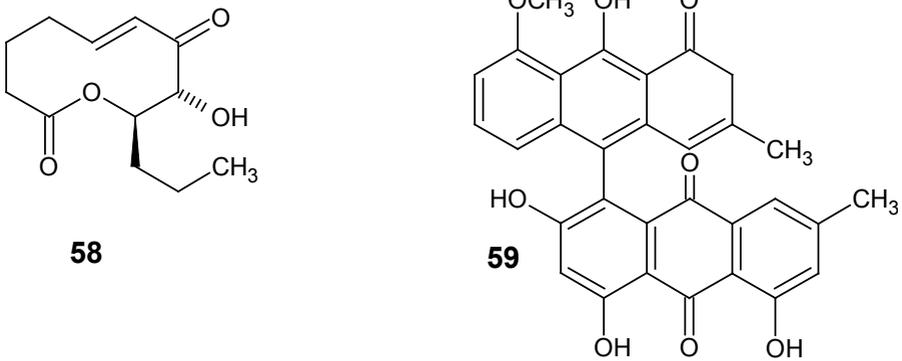


Figura 14. Estruturas químicas de estagonolídeo (**58**) e antraquinona de *Phoma herbarum* (**59**).

Otimização da produção de metabólitos bioativos

Em geral, os metabólitos bioativos encontram-se em baixíssimas concentrações nos fungos endofíticos, implicando a necessidade de otimização do processo fermentativo para viabilização de uma possível produção comercial desses compostos. Dessa forma, o escalonamento da produção se faz com ajustes de parâmetros tais como: composição química e pH do meio de cultura, temperatura, agitação, etc.

Em um estudo de otimização de substâncias herbicidas – ascaulitoxinas-heterosídeo e aglicona (**53**), além de *trans*-amino-prolina (**54**) (Figura 13) – produzidas por *Ascochyta caulina* (fitopatógeno

de *Chenopodium*), Vurro et al. (2012) testaram três concentrações de inóculo (10^6 , 10^7 e 10^8), submetidas a duas velocidades de agitação (80 e 120 rpm), em dois períodos de cultivo (5 e 10 dias), utilizando-se 2 tipos de surfactantes (Tween 80 e glicerol), 13 formulações diferentes de meio de cultura, além de produções em dois fermentadores (15 e 30 L). O rendimento máximo de toxinas obtido foi de 230 mg/L, utilizando-se as condições destacadas acima (em negrito) e extrato de levedura como meio de cultura. Por outro lado, a adição de surfactantes não influenciou o rendimento.

Kaur (1995) observou aumento da biossíntese de solanapironas A-C (60-62), fitoxinas produzidas por *Ascochyta rabiei*, em meios de cultura contendo extratos da planta hospedeira grão-de-bico (*Cicer arietinum*) (Figura 15).

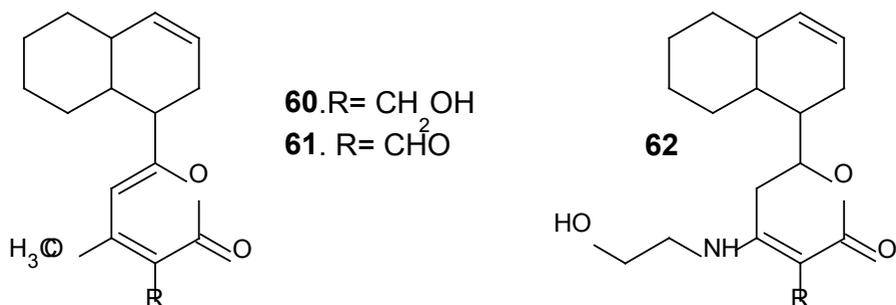


Figura 15. Estruturas químicas de solanapironas A-C (60-62).

Considerações finais e perspectivas

A partir desta revisão bibliográfica, torna-se nítido que a pesquisa científica de moléculas bioativas oriundas de fungos endofíticos tem avançado consideravelmente na década de 2000, principalmente no que tange à investigação do potencial biológico desses produtos naturais para fins agrícolas. Esses estudos têm certamente subsidiado a indústria agroquímica de informações, as quais deverão nortear a política de investimento de P&D desse setor nos próximos anos,

tendo em vista a necessidade de o segmento industrial se adequar a novos paradigmas mercadológicos e de sustentabilidade (legislações mais restritivas, produtores preocupados com barreiras fitossanitárias e, principalmente, consumidores mais conscientes dos impactos socioambientais dos pesticidas).

Dessa forma, antevendo os novos rumos do mercado de produtos para controle fitossanitário e vislumbrando nos fungos uma alternativa sustentável, a equipe da Embrapa Agroindústria Tropical, liderada pelo pesquisador Francisco das Chagas Oliveira Freire, está desenvolvendo um projeto de pesquisa (financiado pelo Banco do Nordeste do Brasil) para a descoberta de metabólitos bioativos de fungos endofíticos de plantas da Caatinga. Em razão das singularidades dessa vegetação (endemismo e sujeita a estresse físico-térmico e hídrico), acredita-se na possibilidade de descoberta de novas moléculas e de produtos eficazes contra os alvos biológicos selecionados neste projeto: insetos-pragas e fungos fitopatogênicos do meloeiro e do cajueiro, duas culturas de importância econômica para a região Nordeste. Até o momento, foram realizadas três expedições de coleta, perpassadas por 15 municípios cearenses, resultando na obtenção de aproximadamente 500 isolados fúngicos extraídos de quase 20 plantas da Caatinga. Cepas de *Fusicoccum* e *Lasiodiplodae*, isoladas de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva*), estão sendo investigadas quimicamente.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao Banco do Nordeste pelo apoio financeiro concedido ao projeto “Obtenção de metabólitos de fungos endofíticos associados a plantas da Caatinga cearense, com possível aplicação agrícola”.

Referências

AGÊNCIA BRASIL. **Anvisa publica novos critérios para registro de agrotóxicos**. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/noticia/2012-01-23/anvisa-publica-novos-criterios-para-registro-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 20 mar. 2012.

ANVISA. **Agrotóxicos à base de cihexatina serão banidos do Brasil**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/170609_1.htm>. Acesso em 20 mar. 2012a.

ANVISA. Sala de Imprensa. **Agrotóxico metamidofós não pode mais ser vendido no Brasil**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu+-+noticias+anos/2012+noticias/agrotoxico+metamidofos+nao+pode+mais+ser+vendido+no+brasil>>. Acesso em: 01 out. 2012b.

AHMED, I.; HUSSAIN, H.; SCHULZ, B.; DRAEGER S.; PADULA, D.; PESCIPELLI, G.; VAN REE, T.; KROHN, K. Three new antimicrobial metabolites from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. **European Journal of Organic Chemistry**. Weinheim, v. 2011, n. 15, p. 2867-2873, 2011. DOI: 10.1002/ejoc.201100158.

AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998. p.117-137.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACHWELL, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 869 p.

BILLS, G. F. Isolation and analysis of endophytic fungal communities from woody plants. In: REDLIN, S. C. ; CARRIS, L. M. (Ed.). **Endophytic fungi in grasses and wood plants: systematics, ecology, and evolution**. St Paul : American Phytopathological Society, 1996. p. 31-66.

COPPING, L.G.; DUKE, S.O.; Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science**, Sussex, v. 63, n.6, p. 524-554, 2007.

CROUS, P. W.; VERKLEIJ, G. J. M.; GROENEWALD, J. Z.; SAMSON, R. A. **Fungal biodiversity**. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2009. 270 p. (CBS. Laboratory manual series 1).

CROUS, P. W.; RONG, I. H.; WOOD, A.; LEE, S.; GLEN, H.; BOTHA, W.; SLIPPERS, B.; BEER, W. Z. de.; WINGFIELD, M.J.; HAWKSWORTH, D. L. How many species of fungi are there at the tip of Africa? **Studies in Mycology**, Bethesda, v. 55, p. 13-33, 2006.

DAI, J.; KROHN, K.; DRAEGER S.; SCHULZ, B. New naphthalen-chroman coupling products from the endophytic fungus *Nodulisporium* sp. from *Erica arborea*. **European Journal of Organic Chemistry**, Weinheim, v. 2009, n. 10, p.1564-1569, 2009.

DAI, J.; KROHN, K.; FLORKE, U.; DRAEGER S.; SCHULZ, B; KISS-SZIKSZAI, A.; ANTUS, S.; KURTÁN, T.; VAN REE, T. Metabolites from endophytic fungus *Nodulisporium* sp. from *Juniperus cedre*. **European Journal of Organic Chemistry**, Weinheim, v. 2006, n.15, p. 3498-3506, 2006.

DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Wallingford: CAB International, 1971. 608 p.

EVIDENTE, A.; CIMMINO, A.; ANDOLFI, A.; VURRO, M.; ZONNO, M.C.; CANTRELL, C. L.; MOTTA, A. Phyllostictines A-D, oxazatricycloalkenones produced by *Phyllosticta cirsii*, a potential mycoherbicide for *Cirsium arvense* biocontrol. **Tetrahedron**, 64, n. 8, p. 1612-1619, 2008.

EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A.; CIMMINO, A.; VURRO, M.; FRACCHIOLLA, M.; CHARUDATTAN, R. Herbicidal potential of ophiobolins produced by *Drechslera gigantea*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 5, p. 1779-1783, 2006.

EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A.; VURRO, M.; FRACCHIOLLA, M.; ZONNO, M.C.; MOTTA, A. Drazepinone, a trissubstituted tetrahydronaphtofurazepinone with herbicidal activity produced by *Drechslera siccans*. **Phytochemistry**, New York, v. 66, n. 6, p. 715-721, 2005.

FORMENTI, L. **Agrotóxico endosulfan será banido no Brasil em 2013: demora é criticada**. O Estado de S. Paulo, São Paulo, 15 jul. 2010. Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/noticias/impresso,agrotoxico-endosulfan-sera-banido-no-brasil-em-2013-demora-e-criticada,581365,0.htm>>. Acesso em: 01 out. 2012.

FAVARO, L. C. L.; SEBASTIANES, F. L. S.; ARAÚJO, W. L. *Epicoccum nigrum* P16, a

sugarcane endophyte, produces antifungal compounds and induces root growth. **Plos One**, v. 7 n. 6, p. 1-10, 2012.

FINDLAY, J. A.; BUTHELEZI, S.; LI, G.; SEVECK, M. Insect toxins from an endophytic fungus from wintergreen. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 60, n. 11, p. 1214-1215, 1997.

FU, J.; ZHOU, Y; LI, H-F; YE, Y-H; GUO, J-H. Antifungal metabolites from *Phomopsis* sp. By254, an endophytic fungus in *Gossypium hirsutum*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 10, p. 1231-1236, 2011.

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

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, n. 6, p. 641-655, 1991.

HAWKSWORTH, D. L.; ROSSMAN, A.Y. Where are all the undescribed fungi? **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 9, p. 888-891, 1997.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, Cambridge, v.105, n.12, p.1422-1431, 2001.

HU, M.Y.; ZHONG, G. H.; SUN, Z. T.; LIU, H. M.; LIU, X. Q. Insecticidal activities of secondary metabolites of endophytic *Penicillium* sp. in *Derris elliptica* Benth. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 129, n. 8, 413-417, 2005.

HUSSAIN, H.; AHMED, I.; SCHULZ, B.; DRAEGER, S.; KROHN, K. Pyrenocines J-M: four new pyrenocines from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. **Fitoterapia**, Milano, v. 83, n. 3, p. 523-526, 2012a.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMED, I.; DRAEGER, S.; SCHULZ, B.; DI PIETRO, S.; PESCIPELLI, G. Phomopsinones A-D: four new pyrenocines from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. **European Journal of Organic Chemistry**, Weinheim, v. 2012, n. 9, p. 1783-1789, 2012b.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; DRAEGER S.; MEIER, K.; SCHULZ, B. Bioactive chemical constituents of a sterile endophytic fungus from *Melilotus dentatus*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 3, n. 2, p.114-117, 2009.

INÁCIO, M. L.; SILVA, G. H.; LOPES, H. T. ; TREVISAN, H. C. ; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; PFENNING, L. H.; ARAÚJO, A. R. Antifungal

metabolites from *Colletotrichum gloeosporioides*, and endophytic fungus in *Cryptocarya mandiocana* Nees (Lauraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 34, n.11, p. 822-824, 2006.

KAUR, S. Phytotoxicity of solanapyrones produced by the fungus *Ascochyta rabiei* and their possible role in blight of chickpea (*Cicer arietinum*). **Plant Science**, Limerick, 109, n.1, p. 23-29, 1995.

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

KENFIELD, D.; HALLOCK, Y.; CLARDY, J.; STROBEL., G. Curvulin and O-Methylcurvulinic acid: Phytotoxic metabolites of *Drechslera indica* which cause necroses on purslane and spiny amaranth. **Plant Science**, Limerick, v. 60, n.1, p. 123-127, 1989a.

KENFIELD, D.; BUNKERS. G.; WU, Y. U.; STROBEL, G.; SUGAWARA, F.; HALLOCK, Y.; CLARDY, J. Gigantenone, a novel sesquiterpene phytohormone mimic. **Experientia**, Basel, v. 45, n. 9, p. 900-902, 1989b.

KJER, J.; DEBBAB, A.; ALY, A.H.; PRSCH, P. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. **Nature Protocols**, v. 5, n. 3, p. 479-490, 2010.

KUSARI, S.; VERMA, V.C.; LAMSHOEFT, M.; SPITELLER, M. An endophytic fungus from *Azadirachta indica* A. Juss. that produces azadirachtin. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 28, n.3, p.1287-1294, 2012.

LI, X-J.; ZHANG, Q.; ZHANG, A-L; GAO, J-M. Metabolites from *Aspergillus fumigates*, an endophytic fungus associated with *Melia azedarach*, and their antifungal, antifeedant and toxic activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 13, p. 3424-3431, 2012.

LI, H-Q; LI, X-J.; WANG, Y-L.; ZHANG, Q.; ZHANG, A-L; GAO, J-M; Zhang, X-C. Antifungal metabolites from *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus in *Ginkgo biloba*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 39, n. 4, p. 876-879, 2011.

LOESGEN, S.; BRUHN, T.; MEINDL, K.; DIX, I.; SCHULZ, B.; ZEECK, A.; BRINGMANN, G. (+)-Flavipucine, the missing member of the pyridione epoxide family of fungal antibiotics. **European Journal of Organic Chemistry**, Weinheim, v. 2011, n. 26, p. 5156-5162, 2011.

PETRINI, O. Fungal endophytes in tree leaves. In: ANDREWS, J.; HIRANO, S. (Ed.). **Microbial ecology of leaves**. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 179-197.

PETRINI, O. Ecological and physiological aspects of host specificity in endophytic fungi. In: REDLIN, S.C.; CARRIS, L.M. (Ed.). **Endophytic fungi in grasses and woody plants: systematic, ecology and evolution**. St. Paul: APS Press, 1997. p. 87-100.

QUÍMICA verde no Brasil: 2010-2030. ed. rev. e atual. Brasília, DF: Centro de Gestão Estudos Estratégicos, 2010, 438 p.

QUERESHI, S.; KHAN, N. A.; PANDEY, A.K. Anthraquinone pigment with herbicidal potential from *Phoma herbarum* FGCC#54. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 47, n. 4, p. 521-523, 2011.

QIN, S.; KROHN, K.; HUSSAIN, H.; SCHULZ, B.; DRAEGER, S. Pestalothecols E-H: antibacterial metabolites from an endophytic fungus isolated from the tree *Arbutus unedo*. **European Journal of Organic Chemistry**, Weinheim, v. 2011, n. 26, p. 5163-5166, 2011.

REDMAN, R. S.; SHEEHAN, K. B.; STOUT, R. G.; RODRIGUEZ, R. J.; HENSON, J. M. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. **Science**, v. 298, n. 5598, p. 1581, 2002.

SCHULZ, B.; BOYLE, C.; DRAEGER, S.; RÖMMERT, A-K.; KROHN, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, Cambridge, v.106, n. 9, p. 996-1004, 2002.

SINGH, S. B.; ONDEYKA, J. G.; JAYASURIYA, H.; ZINK, D. L.; HA, S. N.; DAHL-ROSHAK, A.; GREENE, KIM, J. A.; SMITH, M. M.; SHOOP, W.; TKACZ, J. S. Nodulisporic acids D-F: structure, biological activities, and biogenetic relationships. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 67, n. 9, p. 1496-1506, 2004.

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

SUMARAH, M. W.; PUNIANI, E.; SORENSEN, D.; BLACKWELL, B. A.; MILLER, J. D. Secondary metabolites from anti-insects of endophytic fungi isolated from *Picea rubens*. **Phytochemistry**, New York, v. 71, n. 7, p. 760-765, 2010.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes: fungi imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata**. Slough: CMI, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1980. 696 p.

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

VARUGHESE, T.; RIOS, N.; HIGGINBOTHAM, S.; ARNOLD, A. E.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A.; GERWICK, W. H.; RIOS, L. C. Antifungal depsidone metabolites

from *Cordyceps dipetrigena*, an endophytic fungus antagonistic to the phytopathogen *Gibberella fujikuroi*. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 53, n.13 p. 1624-1626, 2012.

VURRO, M.; ANDOLFI, A.; BOARI, A.; ZONNO, M.C.; CARETTO, S.; AVOLIO, F.; EVIDENTE, A.; Optimization of the production of herbicidal toxins by the fungus *Ascochyta caulina*. **Biological Control**, Orlando, v. 60, n. 2. p. 192-198, 2012.

WANG, Y.; XU, L.; REN, W.; ZHAO, D.; ZHU, Y.; WU, X. Bioactive metabolites from *Chaetomium globosum* L18, an endophytic fungus in the medicinal plant *Curcuma wenyujin*. **Phytomedicine**, Jena, v. 19, n. 3/4, p. 364-368, 2012.

WU, S-H.; ZHAO, L-X.; CHEN, Y-W.; HUANG, R.; MIAO, C-P.; WANG, J. Sesquiterpenoids from the endophytic fungus *Trichoderma* sp. Pr-35 of *Paeonia delavayi*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, n.9, p. 1717-1723, 2011.

YUZHICHIN, O.; MITINA, G.; BERESTETSKIY, A. Herbicidal potential of stagonolide, a new phytotoxic nonenolide from *Stagonospora cirsii*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n.19, p. 7707-7711, 2007.

ZHAO, J.; ZHOU, L.; WANG, J.; SHAN, T.; ZHONG, L.; LIU, X.; GAO, X. Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. In: MENDEZ-VILAS, A. (Ed.). **Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology**. Badajoz: Formatex Research Center, 2010. p. 567-576. v. 1. (Microbiological bo series, 2).

ZHAO, J. H.; ZHANG, Y. L.; WANG, L. W.; WANG, J. Y.; ZHANG, C. L. Bioactive secondary metabolites from *Nigrospora* sp. LLGLM003, an endophytic fungus of the medicinal plant. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n.5, p. 2107-2112, 2012.

ZHANG, H. W.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. Biology and chemistry of endophytes. **Natural Product Report**, New York, v. 23, n. 5, p. 753-771, 2006.

ZHOU, X.; ZHU, H.; LIN, J.; TANG, K. A review: recent advances and future prospects of taxol-producing endophytic fungi. **Applied Microbiological Biotechnology**, v. 86, n. 6, p. 1707-1717, 2010.



Agroindústria Tropical

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

