

Atividade larvicida de fungos endofíticos: uma revisão**Larvicidal activity of endophytic fungi: a review**

DOI:10.34117/bjdv6n6-205

Recebimento dos originais:08/05/2020

Aceitação para publicação:09/06/2020

Jakeline Bezerra Pinheiro

Especialista em Biotecnologia Ambiental e Bioprocessos pela Universidade Estadual de Maringá - UEM

Instituição: Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia Celular, Genética e Biotecnologia.

Endereço: Av. Colombo 5790, Jd. Universitário, Maringá, PR.

E-mail: jakelinebp@gmail.com

Julio Cesar Polonio

Doutor em Biotecnologia Ambiental pela Universidade Estadual de Maringá - UEM

Instituição: Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia Celular, Genética e Biotecnologia.

Endereço: Av. Colombo 5790, Jd. Universitário, Maringá, PR.

E-mail: julioc_polonio@hotmail.com

Ravelly Casarotti Orlandelli

Doutora em Biologia Comparada pela Universidade Estadual de Maringá - UEM

Instituição: Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia Celular, Genética e Biotecnologia.

Endereço: Av. Colombo 5790, Jd. Universitário, Maringá, PR.

E-mail: ravelycasarotti@gmail.com

João Alencar Pamphile

Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, ESALQ

Instituição: Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia Celular, Genética e Biotecnologia.

Endereço: Av. Colombo 5790, Jd. Universitário, Maringá, PR

E-mail: prof.pamphile@gmail.com

Halison Correia Golias

Doutor em Biologia Comparada pela Universidade Estadual de Maringá - UEM

Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Apucarana. Departamento Acadêmico de Humanidades, Laboratório de Microbiologia.

Endereço: Rua Marcílio Dias, 635. Jd. Paraíso. Apucarana, PR.

E-mail: halisongolias@utfpr.edu.br

RESUMO

O controle de mosquitos vetores de doenças como Dengue, Febre Amarela, Zika, Chikungunya, Malária e Filariose é de extrema importância médica, econômica e social, pois estes ocasionam milhares de mortes anuais e sérios problemas em saúde pública. Os fungos endofíticos são fontes de metabólitos secundários com promissora atividade para o controle das larvas de tais mosquitos, seja a partir de extratos brutos ou da síntese de nanopartículas metálicas. Essa revisão buscou identificar os trabalhos envolvendo os fungos endofíticos com potencial larvicida contra as espécies de mosquitos *Anopheles* sp., *Culex* sp. e *Aedes* sp., publicados entre 2008 e 2020, relacionando os metabólitos isolados e já identificados com essa capacidade. Foram utilizadas para as pesquisas as bases de dados Scielo, Google Acadêmico, PubMed e Medline, resultando em 44 artigos dos quais foram selecionados 31 artigos conforme critérios de exclusão. Os resultados apontaram os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* com maior abrangência de estudos, com testes sobre as três principais espécies de mosquito citadas. Dentre os compostos isolados com potencial larvicida estão Palmarumicina B6, C8, C12, C15, Diepoxinas γ , δ , ζ , Peniciliumolida D e TMC-264, Dehidroaustina e Acetoxidehidroaustina, Hamisonina, Meleina, Esterigmatocistina, Secoesterigmatocistina e 13-hidroxyversicolorina B. Identificou-se também que há a necessidade de ampliação das pesquisas utilizando espécies de fungos endofíticos e de seus metabólitos para o controle destes mosquitos de interesse epidemiológico, haja vista os produtos de controle sintéticos apresentam diversos efeitos adversos ao homem e ao meio ambiente.

Palavras-chave: *Aedes* sp., *Culex* sp., *Anopheles* sp., Culicídeos, Controle biológico, metabólitos secundários.

ABSTRACT

Controlling of mosquito vectors diseases such as Dengue, Yellow Fever, Zika, Chikungunya, Malaria and Filariasis has medical, economic and social importance as they cause thousands of annual deaths and serious public health problems. Endophytic fungi are sources of secondary metabolites with promising activity on these mosquito's larvae control from crude extracts or metallic nanoparticles. This review identified studies involving endophytic fungi with larvicidal potential against mosquito species *Anopheles* sp., *Culex* sp. and *Aedes* sp. published between 2008 and 2020. The metabolites isolated and already identified with this capacity are presented. Scielo, Google Scholar, PubMed and Medline databases were used for the research, resulting in 44 articles of which 31 were selected according to exclusion criteria. *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* are the genera with the greatest scope of studies, with tests on the three main mosquito species mentioned. Among the isolated compounds with larvicidal potential are Palmarumycins B6, C8, C12, C15, Diepoxins γ , δ , ζ , Peniciliumolide D and TMC-264, Dehydroaustin and Acetoxidehydroaustin, Hamisonine, Meleina, Sterigmatocystin, Secosterigmatocystin, 13-hydroxyversicolorin B. This review identified the need to expand researchs on endophytic fungi species considering that synthetic control products have several adverse effects on population and the environment.

Keywords: *Aedes* sp., *Culex* sp., *Anopheles* sp., Culicidae, Biological control, secondary metabolites.

1 INTRODUÇÃO

Mosquitos vetores são importantes transmissores de doenças infecciosas como Dengue, Febre Amarela, Zika, Chikungunya, Malária, Filariose e outras, que ocasionam mais

de 1 milhão de mortes por ano, e são identificadas atualmente como os maiores problemas de saúde pública em grande parte do mundo. Representam um desafio para o desenvolvimento social e econômico para países em desenvolvimento como o Brasil (ELUMALAI; HEMALATA; KALEENA, 2017; RAGAVENDRAN *et al.*, 2017).

Dengue, Febre Amarela, Zika e Chikungunya são arboviroses que têm como vetor o mosquito do gênero *Aedes*. A Malária é ocasionada pelo protozoário *Plasmodium* sp. cujo vetor é o mosquito *Anopheles*, enquanto a Filariose é ocasionada pelo parasita nematoide *Wuchereria bancrofti* que tem como vetor o mosquito *Culex* sp. (MAO *et al.*, 2017; RAGAVENDRAN; NATARAJAN, 2015; BÜCKER *et al.*, 2013).

Das doenças supracitadas, Filariose e Zika não dispõem de vacina, diferente da Febre Amarela e Dengue. Assim, para essas doenças o controle de larvas e mosquitos é o mecanismo mais eficaz (RAGAVENDRAN *et al.*, 2017; GERIS *et al.*, 2008).

Segundo Seetharaman *et al.* (2017), Ragavendran *et al.* (2017) e Pandi *et al.* (2008) o combate a tais vetores ocorre eficazmente com o apoio de inseticidas sintéticos a base de compostos organofosforados, carbamatos e piretróides, mas que apresentam muitos efeitos adversos e tóxicos ao ambiente, põem em risco a saúde humana, e pelas características residuais provocam resistência por parte dos mosquitos.

Esses problemas enfatizam a necessidade de novas estratégias de combate aos vetores (tanto adultos quanto larvas), por mecanismos menos poluentes, menos tóxicos, com menor risco à saúde humana. Deste modo, diversas pesquisas envolvendo produtos naturais bioativos, provenientes de endófitos, se mostram como alternativas promissoras (TAKAGI *et al.*, 2020).

Microrganismos endofíticos são, principalmente, fungos e bactérias que habitam plantas hospedeiras por todo ou parte do seu ciclo de vida (ABUTAHA *et al.*, 2015). Tian *et al.* (2016) complementam esse conceito indicando que esses microrganismos não causam quaisquer danos aparentes à planta hospedeira.

Conforme Matasyoh *et al.* (2011) os fungos endofíticos além de não causarem efeitos negativos ao hospedeiro, avalizam benefícios a partir dos metabólitos secundários que promovem proteção, regulam o crescimento, combatem bactérias, vírus e fungos e promovem resistência a estresse abiótico, além de efeitos inseticidas. Dentre os exemplares com essas atividades estão *Hyalodendriella* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Cochliobolus spicifer* (Abutaha *et al.*, 2015), *Berkleasium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Penicillium* sp., *Phomopsis oblonga*, *Xylaria* sp. (Bücker, 2008; Bücker *et al.*, 2013), *Pezicula livida*, *Plectophomella* sp., *Cryptosporiopsis malicoticis* e *Geniculosporium* sp. (KENDAGOR *et al.*, 2013).

No presente trabalho objetivou-se realizar uma revisão da literatura dos últimos 12 anos sobre a atividade larvicida dos fungos endofíticos contra mosquitos dos gêneros *Aedes* sp., *Culex* sp. e *Anopheles* sp..

2 MATERIAL E MÉTODOS

Esse artigo foi elaborado a partir de uma revisão da literatura nas bases de dados Scielo, Google Academico, Medline, e PubMed no período de 2008 a 2020. As palavras-chave utilizadas foram “*larvicidal activity endophytic*”, “*larvicidal activity endophytes*”, “*secondary metabolites fungi*”, “*endophytic fungal metabolites*”, “*Aedes aegypti*”, “*Culex quinquefasciatus*”, “*Anopheles* sp.”, “*nanoparticles larval control*” “*endophytic nanoparticles larval control*”. Para a busca em português foram usadas as palavras-chave supracitadas.

Os trabalhos encontrados dentro do período avaliado não relacionados a fungos endofíticos e efeitos larvicidas foram excluídos. Desta forma foram selecionados 31 artigos que atendiam aos critérios estabelecidos.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 METABÓLITOS COM ATIVIDADE LARVICIDA

Os microrganismos endofíticos são fontes de compostos bioativos de interesse para a agricultura, indústria alimentícia, têxtil, de energia, farmacêutica e medicina. Nas últimas décadas, as pesquisas com esses microrganismos têm descoberto compostos como esteroides, xantonas, fenóis, isocumarinas, terpenóides, policetídeos, alcaloides e outros com alguma ou várias aplicações nas áreas mencionadas, demonstrando o potencial desses (SUDHA *et al.*, 2016; RAJAMANIKYAM *et al.*, 2017).

O potencial de interesse, foco desse estudo, refere-se à capacidade larvicida de fungos endofíticos para controle de mosquitos transmissores da Dengue, Febre Amarela, Zika, Chikungunya, Malária e Filariose. Com essa finalidade, nos artigos analisados, foram identificados os fungos endofíticos *Aspergillus terreus*, *Berkleasium* sp., *Botryodiplodia theobromae*, *Cladosporium* sp., *Cochliobolus spicifer*, *Fusarium* sp., *Hyalodendriella* sp., *Pezicula livida*, *Phomopsis liquidambaris* e diversas espécies dos gêneros *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Podospora*. Também houve estudos com o endofítico *Chrysosporium tropicum*, mas como adulticida, que não é foco dessa revisão.

Analisando a atividade larvicida de extrato micelial de *Aspergillus terreus*, Ragavendran e Natarajan (2015) observaram que, após 24 horas de exposição, para as espécies

Anopheles stephensis e *Culex quinquefasciatus*, as larvas de 4º estágio são mais suscetíveis aos metabólitos do fungo ($CL_{50} = 8,9 \mu\text{g/mL}$ e $CL_{90} = 195,6 \mu\text{g/mL}$, e $CL_{50} = 67,4 \mu\text{g/mL}$ e $CL_{90} = 237,3 \mu\text{g/mL}$, respectivamente). Para a espécie *Aedes aegypti* são as larvas de 3º estágio as mais suscetíveis ($CL_{50} = 80,4 \mu\text{g/mL}$ e $CL_{90} = 387,9 \mu\text{g/mL}$). Tal fato indica que com o aumento das concentrações os metabólitos podem efetivamente controlar tais populações.

Sathiyathan e Umarajan (2019) também avaliaram o potencial larvicida de metabólitos de *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Os extratos em concentrações 1,25, 2,25, 5, 10 e 20 ppm indicaram que, com o aumento da concentração, aumenta o percentual de mortalidade das larvas. A maior atividade foi observada nas espécies de *Aspergillus* e *Fusarium* isolados das folhas de *Vitex negundo*, que apresentaram 90,47 e 85,71% de mortalidade à 20 ppm respectivamente. *Fusarium* sp. isolado de folhas de *Azadirachta indica* e *Penicillium* sp. isolado das folhas de *Tagetes erecta* também mostraram maior mortalidade em 20 ppm com 83,33 e 72,22%, respectivamente. Os fungos isolados de *Ocimum sanctum* tiveram atividade moderada.

Vários trabalhos têm sido realizados utilizando fungos do gênero *Penicillium*. Geris *et al.* (2008) avaliaram 7 diferentes meroterpenóides produzidos pelo fungo contra larvas de 3º estágio de *A. aegypti*. Os compostos dehidroaustina e acetoxidehidroaustina exibiram atividade larvicida *in vitro* de 100 a 70% após 24h de exposição. Exibiram CL_{50} de 2.9 ppm e 7.3 ppm respectivamente. O composto dehidroaustina é o mais ativo (morte em menos de 10 min.). A atividade larvicida deve estar relacionada ao sistema d-espirolactona. A presença de grupo acetoxi (AcO) no composto acetoxidehidroaustina reduz sua atividade larvicida e de um anel adicional de furano nos compostos Neoaustina e Austina influenciam a atividade. Os compostos Preaustinoide A, Preaustinoide B e Preaustinoide A2 não demonstram efeito larvicida e Austina baixa atividade.

O extrato fúngico da espécie *Penicillium oxalicum* foi testado por Seetharaman *et al.* (2017), contra larvas de 3º e 4º estágio de mosquito *C. quinquefasciatus*. Os autores isolaram o composto limonóide hamisonina e verificaram dano larval após 24 h de exposição. Os resultados apontaram dose-dependência, com mortalidade de 36% à concentração de 1,25 ppm e 97% à 20 ppm em larvas de 3º estágio e 30 e 88% nas mesmas condições para o 4º estágio. Os compostos atingem os receptores intestinais com danos em células epiteliais, membrana basal, conteúdo do intestino médio e vazamento na região anal. Larvas tratadas com o composto puro (5 ppm) demonstram alteração morfológica e comportamental.

Danagoudar *et al.* (2017) avaliaram a espécie *Penicillium citrinum*, além de *Cladosporium* sp. e *Cryptendoxyla hypophloia*, sobre larvas de 3º estágio de *C. quinquefasciatus*. Os extratos foram nomeados como EF1 (*P. citrinum* CGJ C1) EF2 (*P. citrinum* CGJ C2), EF3 (*Cladosporium* sp. CGJ D1) e EF4 (*C. hypophloia* CGJ D2) e mostraram níveis diferentes de ação, sendo todos ativos à concentração de 100 ppm. Em 500 ppm a mortalidade foi de 100%. Com EF1 e EF3 todas as larvas estavam mortas (ou quase mortas, ou seja, com corpo escurecido e pouco movimento) após 12h de tratamento. EF3 mostrou significativa atividade larvicida com valores de CL₅₀ e CL₉₀ de 4,25 e 47,990 ppm (24 h), respectivamente.

O fungo (entomopatogênico) *Beauveria bassiana* tem sido usado com frequência para o controle biológico de pragas, com alto potencial larvicida e pupicida para culicídeos, mas não é foco dessa discussão (RAGAVENDRAN *et al.*, 2017).

Tian *et al.* (2016) isolaram compostos bioativos do fungo endofítico *Berkleasmium* sp., denominados espirobisnaftalenos, e testaram contra larvas de mosquitos *Aedes albopictus*. O extrato micelial apresentou CL₅₀ de 67,13 µg/mL. Do seu fracionamento e purificação, verificou-se a presença de palmarumicina B₆, palmarumicina C₈ e palmarumicina C₁₂ que obtiveram 100% de mortalidade. As 3 diepoxinas purificadas (γ, δ, ζ) obtiveram 40% de mortalidade assim como a palmarumicina C₁₅. Na relação estrutura/atividade a presença do anel 2,3-epóxi aparentemente inativa os compostos.

A avaliação realizada por Pandi *et al.* (2008) do extrato de *Botryodiplodia theobromae*, contra larvas de 2º estágio de *C. quinquefasciatus*, demonstrou mortalidade de 68% em 24 h com CL₅₀ de 368 ppm. Em 48 h houve aumento para 80% de mortalidade e redução de CL₅₀ para 343 ppm. Ao avaliar o extrato de *Pestalotiopsis uivocla* (Speg.) contra o mesmo tipo de larva, obteve 100% de mortalidade (24 h) com CL₅₀ de 294 ppm e redução de CL₅₀ para 261 ppm (48 h).

O endofítico *Pestalotiopsis virgulata* teve sua atividade larvicida comparada com a espécie *Pycnoporus sanguineus* (Basidiomiceto), contra larvas de 3º estágio de *Aedes aegypti* e *Anopheles nuneztovari* por Bücken (2008) e Bücken *et al.* (2013). Nos estudos foram comparados os resultados dos extratos micelial, do meio líquido e do extrato aquoso, nas concentrações de 100 a 500 ppm, em 24, 48 e 72 h. Para ambos os fungos os extratos micelial apresentaram melhores resultados como se observa a seguir. Em ambos os estudos, as CL₅₀ de *P. virgulata* para *A. aegypti* foram de 101,8 ppm. Para *P. sanguineus*, foram 153,6 e 156,8 ppm. Quando avaliaram os extratos contra larvas de *A. nuneztovari* as CL₅₀ foram de 11,9 e

16,3 ppm para *P. virgulata* e para o fungo *P. sanguineus* em ambos os estudos a CL₅₀ foi de 87,2 ppm. O extrato aquoso não apresentou mortalidade significativa.

O fungo *Cochliobolus spicifer* teve a atividade larvicida avaliada e seus efeitos sobre o sistema digestório em larvas de 3º estágio de *Aedes caspius* e *Culex pipiens*. A fração F1A do extrato (compostos não identificados) demonstrou mortalidade de 73% para *Aedes caspius* e 80% para *Culex pipiens* (200 ppm) após 24 h. A CL₅₀ foi de 170,33 µg/mL contra *Aedes* e CL₅₀ 133,39 µg/mL contra *Culex* (24 h) e 108,18 µg/mL e 84,73 µg/mL, respectivamente em 48 h. Os autores identificaram alterações no intestino médio com destruição celular, vacuolização de células epiteliais, desorganização tecidual e ruptura, acúmulo de grânulos no citoplasma, núcleos fracos ou ausentes e falta de bordas citoplasmáticas. Os mesmos ensaios foram realizados com o peixe-zebra sem que este fosse afetado (ABUTAHA *et al.*, 2015).

O fungo *Hyalodendriella* sp. foi avaliado por Lai *et al.* (2016) e por Mao *et al.* (2017). Lai *et al.* (2016) isolaram 6 tipos de Hialodendrielinas (A-F) que apresentaram atividade contra larvas de 4º estágio de *Aedes aegypti*. O composto C teve atividade moderada (CL₅₀ de 117,52 µg/mL). Mao *et al.* (2017) identificaram e isolaram os compostos mais promissores (peniciliumolida D e TMC-264) que apresentaram maior efeito inibitório com IC₅₀ de 7,21 µg/mL e 11,32 µg/mL, respectivamente. Compostos com cloro são ativos, indicando o papel deste halogênio na toxicidade.

Kendagor *et al.* (2013) pesquisaram o fungo *Pezizula livida* identificando o composto meleina com propriedade larvicida contra *Aedes aegypti*. Os ensaios com larvas de 3º e início do 4º estágio demonstraram que o extrato bruto ocasiona 100% de mortalidade na concentração de 20 ppm após 2 h. O valor de CL₅₀ e CL₉₀ foram respectivamente, 3 ppm e 59 ppm. Já o composto isolado apresentou CL₅₀ e CL₉₀ de 1,1 e 4,3ppm, respectivamente.

O fungo do gênero *Podospora* sp. foi investigado por Matasyoh *et al.* (2011), sobre larvas de 3º estágio de *Anopheles gambiae*, expostas por 24 h às xantonas e antraquinona isoladas do fungo. Os autores isolaram esterigmatocistina, secoesterigmatocistina e 13-hidroxiwersicolorina B. O primeiro apresentou maior atividade larvicida com CL₅₀ de 13,3 ppm e CL₉₀ de 73,5 ppm. Na concentração de 100 ppm a mortalidade foi de 95%. Secosterigmatocistina apresentou fraca ou nenhuma atividade larvicida e 13-hidroxisamicolorina B foi menos potente com CL₅₀ de 294,5 ppm e CL₉₀ de 719,9 ppm, para esse composto o percentual de 96% de mortalidade só foi observada na concentração 1.000 ppm.

3.2 USO DE NANOPARTÍCULAS PARA CONTROLE DE LARVAS DE MOSQUITOS

A Nanotecnologia Verde utiliza microrganismos para a síntese de nanopartículas (NPs), que podem ser sintetizadas por fungos, bactérias, leveduras, algas, cianobactérias, actinomicetos, plantas e invertebrados. As NPs são uma subclasse de partículas ultrafinas com dimensões de 1 a 100 nm, cujas propriedades não são compartilhadas por partículas não nanométricas com mesma composição química (ATHANASSIOU *et al.*, 2018; ALGHUTHAYMI *et al.*, 2015; SONI PRAKASH, 2012a). Constituídas por dezenas ou centenas de milhares de átomos podem ter tamanho e formas variadas, o que influencia suas propriedades úteis, e exibem propriedades químicas, físicas e biológicas distintas dos seus materiais constituintes (SALUNKE *et al.*, 2016).

Segundo Zhao *et al.* (2017); Durairaj *et al.* (2014) e Dhanasekaran e Thangaraj (2013) os fungos apresentam o melhor método biológico de síntese de NPs, porque produzem maior quantidade de proteínas (que contribui para alta produtividade e estabilidade das partículas), suportam ambientes severos em biorreatores e câmaras, são fáceis de manusear e fabricar no processo a jusante (Downstream) e por terem a capacidade de produzi-las tanto intra quanto extracelular, o que facilita serem purificadas.

As NPs sintetizada por fungos têm sido investigadas contra mosquitos vetores de maior importância médica, como *Culex sp.*, *Aedes sp.* e *Anopheles sp.*, entre outros. A maioria das pesquisas tem utilizado NPs de prata, mas há relatos de síntese e avaliação de NPs de ouro e cobalto (PRIYA; SANTHI, 2014).

Seetharaman *et al.* (2018) avaliaram nanopartículas de prata (AgNPs) do fungo endofítico *Phomopsis liquidambaris* contra larvas de 2º e 4º estágio de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*. Obteram 100% de mortalidade a 10 ppm (concentração máxima analisada) após 24 h de exposição.

Soni e Prakash (2012a, 2012b, 2013) analisaram NPs dos fungos *Aspergillus niger* (AuNPs), *Fusarium oxysporum* e *Chrysosporium tropicum* (AgNPs e AuNPs). Os autores identificaram que, em praticamente todas as espécies de mosquito, o primeiro estágio larval é muito suscetível às NPs de ouro dos fungos avaliados, com 100% de mortalidade, exceto *Anopheles stephensi*, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela. 1. Comparação da atividade larvicida (CL₅₀) de NPs de prata e de ouro dos fungos *Chrysosporium tropicum*, *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporium* em 3 espécies de mosquitos vetores.

Fungo	Estádio larval	<i>Anopheles stephensi</i>		<i>Culex quinquefasciatus</i>		<i>Aedes aegypti</i>		Referência
		AgNPs	AuNPs	AgNPs	AuNPs	AgNPs	AuNPs	
<i>Chrysosporium tropicum</i>	1°					3.46	**	Soni;
	2°	n/a	n/a	n/a	n/a	**	12	Prakash
	3°	n/a	n/a	n/a	n/a	4	12	(2012a)
	4°					2	36.30	
<i>Aspergillus niger</i>	1°		**		**			Soni;
	2°	n/a	1.65	n/a	**	n/a	n/a	Prakash
	3°		1.69		24			(2012b)
	4°		12		30			
<i>Fusarium oxysporium</i>	1°	1.77		**	**	8	**	Soni;
	2°	2	s/e	**	**	6	18	Prakash
	3°	6		6	12.58	**	**	(2013)
	4°	4		10	30	4	6	

Fonte: Adaptado de SONI e PRAKASH (2012a; 2012b; 2013); ** - 100% de mortalidade; n/a - não avaliado; s/e- sem efetividade

Salunkhe *et al.* (2011) avaliaram AgNPs do fungo *Cochliobolus lunatus* contra larvas de 2° a 4° estágio de *A. aegypti* e *A. stephensi*, com mortalidade de 100% das larvas nas concentrações 10 e 5 ppm. O estudo mostrou que a mortalidade é dose-dependente. As CL₅₀ após 24h de exposição foram 1,29, 1,48 e 1,58ppm (*A. aegypti*) e 1,17, 1,30 e 1,41ppm (*A. stephensi*) para 2°, 3° e 4° estádios, respectivamente.

Durairaj *et al.* (2014) avaliaram AgNPs de *Penicillium notatum* contra larvas de 2° e 3° estágio de *C. quinquefasciatus* e observaram 76,4% de mortalidade em larvas de 2° estágio a 0,5 ppm com aumento para 89,7% com tratamento de 1,3 ppm. CL₅₀ e CL₉₀ foram de 0,44 e 1,13 ppm, respectivamente. Para 3° estágio as concentrações utilizadas foram de 1, 2, 3, 4 e 5 ppm, com mortalidade em 40% a 1 ppm e 92% a 5 ppm. A toxicidade é dose-dependente. Os autores avaliaram também os efeitos bioquímicos das nanopartículas nas larvas, identificando alterações no teor de proteínas, carboidratos e lipídeos.

Dhanasekaran e Thangaraj (2013) avaliaram o fungo *Penicillium* sp. contra larvas de 4° estágio de *C. quinquefasciatus*. No experimento utilizaram concentrações entre 100 e 500 ppm sobre 5 exemplares que após 24 h de exposição apresentaram 100% de mortalidade.

A tabela 2 resume os fungos com atividade larvicida analisados na presente revisão bibliográfica.

Tabela 2. Fungos endofíticos com atividade larvicida a partir de extratos brutos e/ou nanopartículas metálicas.

Mosquito Alvo		Fungo	Extrato ou Composto Testado	Concentração (estádio larval)	Tempo exposição	Referência	
Gênero	Espécie						
<i>Aedes</i>	<i>A. aegypti</i>	<i>Pestalotiopsis virgulata</i>	Extrato Micelial 2	101,8 ppm (3°)	72 h	Bucker (2008)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Penicillium</i> sp.	Dehidroaustina Acetoxiddehidroaustina	2,9 ppm (3°) 7,3 ppm (3°)	24 h	Geris <i>et al.</i> (2008)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Cochliobolus lunatus</i>	AgNPs	10 e 5 ppm (2°, 3° e 4°)*	24 h	Salunkhe <i>et al.</i> (2011)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>P. virgulata</i>	Extrato Micelial	101,8 ppm (3°)	24 h	Bucker <i>et al.</i> (2013)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Pezicula livida</i>	Extrato Bruto Meleina	20 ppm (3° e início do 4°) 1,1 ppm (3° e início do 4°)	2 h	Kendagor <i>et al.</i> (2013)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Aspergillus terreus</i>	Extrato Micelial	83,54 ppm (1°) 84,41 ppm (2°) 80,40 ppm (3°) 95,92 ppm (4°)	24 h	Ragavendran; Natarajan (2015)	
	<i>A. caspius</i>	<i>Cochliobolus spicifer</i>	Extrato Bruto	170,33 ppm (3°) 108,18 ppm (3°)	24 h 48 h	Abutaha <i>et al.</i> (2015)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Hyalodendriella</i> sp	Hialodendriolina C	117,52 ppm (4°)	-	Lai <i>et al.</i> (2016)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Hyalodendriella</i> sp	Hyalodendrins A Hyalodendrins B	10,31 ppm (4°) 5,93 ppm (4°)		Mao <i>et al.</i> (2020)	
	<i>A. albopictus</i>	<i>Berkleasium</i> sp.	Palmarumicina B6 Palmarumicina C8 Extrato Micelial	11,51 ppm (4°) 8,83 ppm (4°) 67,13 ppm (4°)	24 h 24 h 24 h	Tian <i>et al.</i> (2016)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Hyalodendriella</i> sp	Peniciliumolida D TMC-264	7,21 ppm (4°) 11,32 ppm (4°)	24 h 24 h	Mao <i>et al.</i> (2017)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Phomopsis liquidambaris</i>	AgNPs	10 ppm (2° e 4°)*	24 h	Seetharaman <i>et al.</i> (2018)	
	<i>A. aegypti</i>	<i>Aspergillus</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp.	Extrato Bruto	20 ppm (1° a 4°)	24 h	Sathiyathana; Umarajan (2019)	
	<i>Anopheles</i>	<i>A. nuneztovari</i>	<i>Pestalotiopsis virgulata</i>	Extrato Micelial 2	11,9 ppm (3°)	72 h	Bucker (2008)
		<i>A. gambiae</i>	<i>Podospora</i> sp	Esterigmatocistina 13- hidroxiversicolirina B	13,3 ppm (3°) 294,5 ppm (3°)	24 h 24 h	Matasyoh <i>et al.</i> (2011)
		<i>Cochliobolus lunatus</i>	AgNPs	10 e 5 ppm (2°, 3° e 4°)*	24 h	Salunkhe <i>et al.</i> (2011)	
<i>A. nuneztovari</i>		<i>P. virgulata</i>	Extrato Micelial	16,3 ppm (3°)	24 h	Bucker <i>et al.</i> (2013)	
<i>A. stephensi</i>		<i>Aspergillus terreus</i>	Extrato Micelial	97,41 ppm (1°) 102,55 ppm (2°) 29,80 ppm (3°) 8,90 ppm (4°)	24 h	Ragavendran; Natarajan (2015)	
<i>Culex</i>	<i>C. quinquefasciatus</i>	<i>Botryodiplodia theobromae</i> <i>Pestalotiopsis uivocla</i>	Extrato Bruto Extrato Bruto	368 ppm (2°) 341 ppm (2°) 294 ppm (2°) 261 ppm (2°)	24 h 48 h 24 h 48 h	Pandi <i>et al.</i> (2008)	
	<i>C. quinquefasciatus</i>	<i>Penicillium</i> sp.	AgNPs	100 a 500 ppm (4°)*	24 h	Dhanasekara; Thangaraj (2013)	
	<i>C. quinquefasciatus</i>	<i>Penicillium notatum</i>	AgNPs	0,44 ppm (2°) 2,3 ppm (3°)	24 h 24 h	Durairaj <i>et al.</i> (2014)	
	<i>C. quinquefasciatus</i>	<i>A. terreus</i>	Extrato Micelial	89,58 ppm (1°) 74,68 ppm (2°) 68,26 ppm (3°) 67,40 ppm (4°)	24 h	Ragavendran; Natarajan (2015)	
	<i>C. pipiens</i>	<i>C. spicifer</i>	Extrato Bruto	133,39 ppm (3°) 84,73 ppm (3°)	24 h	Abutaha <i>et al.</i> (2015)	

<i>C. quinquefasciatus</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	Extrato Bruto 1	14,84 ppm (3°)	24 h	Danagoudar <i>et al.</i> (2017)
	<i>Cladosporium</i> sp.	Extrato Bruto 2	12,91 ppm (3°)		
	<i>Cryptendoxyla hypophloia</i>	Extrato Bruto	4,25 ppm (3°)		
		Extrato Bruto	158,06 ppm (3°)		
<i>C. quinquefasciatus</i>	<i>Penicillium oxalicum</i>	Hamisonina	1,77 ppm (3°)	24 h	Seetharaman <i>et al.</i> (2017)
			3,03 ppm (4°)		
<i>C. quinquefasciatus</i>	<i>Phomopsis liquidambaris</i>	AgNPs	10 ppm (2° e 4°)*	24 h	Seetharaman <i>et al.</i> (2018)

* - 100% de mortalidade das larvas ao serem expostas às concentrações testadas; AgNPs – Nanopartículas de prata; AuNPs – Nanopartículas de Ouro

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fungos endofíticos apresentam promissoras atividades larvicidas naturais que podem auxiliar no controle de mosquitos da família Culicidae, vetores de doenças de importância médica como *Aedes* sp., *Culex* sp. e *Anopheles* sp. A grande maioria dos estudos sobre o efeito larvicida dos fungos endofíticos sobre espécies tem ocorrido na Índia e China.

O gênero mais estudado foi o *Penicillium*, do qual identificou-se com atividade larvicida as substâncias Hamisonina, Dehidroaustina e Acetoxidehidroaustina. Os estudos com a substância Dehidroaustina revelaram alto potencial larvicida, com morte quase que instantânea em concentrações muito pequenas, mostrando alto potencial biotecnológico. Outros princípios ativos isolados e identificados, com alto potencial larvicida são a Meleina (fungo *Pezizula* sp.) e peniciliumolida D (fungo *Hyalodendriella* sp.).

As nanopartículas associadas ao extrato bruto, também se mostraram promissoras no controle larval da família Culicidae, como testes realizados com fungos do gênero *Fusarium* e *Penicillium*.

Na maioria dos estudos o princípio ativo não foi identificado e isolado, indicando necessidade de maior investigação e aprofundamento para aquele gênero/espécie, visando elucidá-lo, de modo a compreender-se o mecanismo de ação, sua estrutura química, seus efeitos em outras espécies (não-alvo), sua genotoxicidade, entre outros.

A ampliação das pesquisas é importante para identificar novas espécies de fungos endofíticos com potencial larvicida e seus metabólitos, para que se reduza o perigo do uso dos pesticidas/inseticidas sintéticos e se tenha o mecanismo seguro para o controle de vetores de alta relevância para nosso país.

REFERÊNCIAS

- ABUTAHA, N. *et al.* Larvicidal activity of endophytic fungal extract of *Cochliobolus spicifer* (Pleosporales: Pleosporaceae) on *Aedes caspius* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 50, n. 3, p. 405 – 414, 2015.
- ALGHUTHAYMI, A. *et al.* Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 29, n. 2, p. 221 – 236, 2015.
- ATHANASSIOU, C.G. *et al.* Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 1 – 15, 2018.
- BÜCKER, A. **Atividade larvicida de fungos da Amazônia brasileira para o controle de mosquitos vetores de doenças**. 2008. 87f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2008.
- BÜCKER, A. *et al.* Larvicidal effects of endophytic and basidiomycete fungus extracts on *Aedes* and *Anopheles* larvae (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 4, p. 411 – 419, 2013.
- DANAGOUDAR, A. *et al.* Antimicrobial and larvicidal potential of endophytic fungi isolated from *Tragia involucrata* Linn. **Annals of Plant Science**, v. 6, n. 1, p. 1494 – 1498, 2017.
- DHANASEKARAN, D; THANGARAJ, R. Evaluation of larvicidal activity of biogenic nanoparticles against filariasis causing *Culex* mosquito vector. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 3, n. 3, p. 174 – 179, 2013.
- DURAIRAJ, B.; MUTHU, S.; SHANTHI, P. Larvicidal potential of fungi based silver nanoparticles against *Culex quinquefasciatus* larvae (II and III Instar). **Research and Reviews: Journal of Pharmacology and Toxicological Studies**, v. 2, n. 4, p. 42 – 49, 2014.
- ELUMALAI, D.; HEMALATHA, P.; KALEENA P. K. Larvicidal activity and GC–MS analysis of *Leucas aspera* against *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 4, p. 306 – 313, 2017.
- GERIS, R. *et al.* Larvicidal effects of fungal meroterpenoids in the control of *Aedes aegypti* L., the main vector of dengue and yellow fever. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 2, p. 341 – 345, 2008.

KENDAGOR, A.C *et al.* Larvicidal activity of mellein from cultures of an ascomycete *Pezizula livida* against *Aedes aegypti*. **International Journal of Life Science and Pharma Research**, v. 2, n. 3, p. 70 – 80, 2013.

LAI, D. *et al.* Hyalodendriellins A-F, new 14-membered resorcylic acid lactones from the endophytic fungus *Hyalodendriella* sp. Ponipodef12. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 6, n. 110, p. 108989-109000.

MAO, Z. *et al.* Dibenzo- α -pyrones: a new class of larvicidal metabolites against *Aedes aegypti* from the endophytic fungus *Hyalodendriella* sp. Ponipodef12. **Pest Management Science**, v. 73, n. 7, p. 1478 – 1485, 2017.

MAO, Z. *et al.* Hyalodendrins A and B, New Decalin-Type Tetramic Acid Larvicides from the Endophytic Fungus *Hyalodendriella* sp. Ponipodef12. **Molecules**. v.25, n.114, 2020.

MATASYOH, J. C. *et al.* Larvicidal activity of metabolites from the endophytic *Podospora* sp. against the malaria vector *Anopheles gambiae*. **Parasitology Research**, v. 108, n. 3, p. 561 – 566, 2011.

PANDI, M. *et al.* Larvicidal activity of two extracts of endophytic fungi isolated from *Pongamia pinata* (L) Pierre. **Indian Journal of Applied Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 34 – 36, 2008.

PRIYA, S; SANTHI S. A review on nanoparticles in mosquito control – a green revolution in future. **International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology**, v. 2, n. 12, p. 378 – 387, 2014.

RAGAVENDRAN, C.; NATARAJAN, D. Insecticidal potency of *Aspergillus terreus* against larvae and pupae of three mosquito species *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus*, and *Aedes aegypti*. **Environmental Science Pollution Research**, v. 22, n. 21, p. 17224 – 17237, 2015.

RAGAVENDRAN, C. *et al.* *Beauveria bassiana* (Clavicipitaceae): a potente fungal agent for controlling mosquito vectors of *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 7, n. 7, p. 3838 – 3851, 2017.

RAJAMANIKYAM, M. *et al.* Endophytic fungi as novel resources of natural therapeutics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 60, e17160542, 2017.

SALUNKHE, R.B. *et al.* Larvicidal potential of silver nanoparticles synthesized using fungus *Cochliobolus lunatus* against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Anopheles stephensi* Liston (Diptera; Culicidae) **Parasitology Research**, v. 109, n. 3, p. 823 – 831, 2011.

- SALUNKE, B. K. *et al.* Microorganisms as efficient biosystem for the synthesis of metalnanoparticles: current scenario and future possibilities. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 88, p. 1-16, 2016.
- SATHIYANATHAN, M.; UMARAJAN, K. M. Larvicidal activity of endophytic fungi isolated from selected medicinal plants on *Aedes aegypti*. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 2, p. 247 – 253, 2019.
- SEETHARAMAN, P. *et al.* Isolation of limonoid compound (Hamisonine) from endophytic fungi *Penicillium oxalicum* LA-1 (KX622790) of *Limonia acidissima* L. for its larvicidal efficacy against LF vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Environmental Science Pollution Research**, v. 24, n. 26, p. 21272 – 21282, 2017.
- SEETHARAMAN, P. *et al.* Antimicrobial and larvicidal activity of eco-friendly silver nanoparticles synthesized from endophytic fungi *Phomopsis liquidambaris*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, p. 22 – 30, 2018.
- SONI, N.; PRAKASH, S. Efficacy of fungus mediated silver and gold nanoparticles against *Aedes aegypti* larvae. **Parasitology Research**, v. 110, n. 1, p. 175 – 184, 2012a.
- SONI, N.; PRAKASH, S. Synthesis of gold nanoparticles by the fungus *Aspergillus niger* and its efficacy against mosquito larvae. **Reports in Parasitology**, v. 2, p. 1 – 7, 2012b.
- SONI, N.; PRAKASH, S. Fungus generated novel nanoparticles: a new prospective for mosquito control. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 4, n. 10, p. 1481 – 1487, 2013.
- SUDHA, V. *et al.* Biological properties of endophytic fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 59, e16150436, 2016.
- TAKAGI, B. A. *et al.* Larvicidal and ovocidal effects of *Crotalaria pallida* extracts on the vector *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n.5, p. 23060-23074, 2020
- TIAN, J. *et al.* Larvicidal spirobisnaphthalenes from the endophytic fungus *Berkleasmium* sp. against *Aedes albopictus*. **Pest Management Science**, v. 72, n. 5, p. 961-965, 2016.
- ZHAO, X. *et al.* Fungal silver nanoparticles: synthesis, application and challenges. **Critical Reviews In Biotechnology**, v. 38, n. 6, p. 817 – 835, 2017.