

Fungos endofíticos associados à
Fridericia platyphylla (Cham.) L.G.Lohmann
(Bignoniaceae): Estudo químico e citotoxicidade
de extratos brutos

Luiza Cheliz Rodrigues

2023

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

Departamento de Botânica

LUIZA CHELIZ RODRIGUES

Fungos endofíticos associados à *Fridericia platyphylla* (Cham.)

**L.G.Lohmann (Bignoniaceae): Estudo químico e citotoxicidade de
extratos brutos**

Endophytic fungi associated with *Fridericia platyphylla* (Cham.)

**L.G.Lohmann (Bignoniaceae): Chemical study and crude extracts
cytotoxicity**

Orientador: Prof. Dr. Marcelo José Pena Ferreira

São Paulo

2023

LUIZA CHELIZ RODRIGUES

**Fungos endofíticos associados à *Fridericia platyphylla* (Cham.)
L.G.Lohmann (Bignoniaceae): Estudo químico e citotoxicidade de
extratos brutos**

**Endophytic fungi associated with *Fridericia platyphylla* (Cham.)
L.G.Lohmann (Bignoniaceae): Chemical study and crude extracts
cytotoxicity**

Versão corrigida

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Botânica

Orientador: Prof. Dr. Marcelo J. Pena Ferreira

São Paulo
2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.
Catalogação na publicação Biblioteca Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a) no formulário: '<https://biblioteca.ib.usp.br/ficha-catalografica/src/ficha.php>'

Cheliz Rodrigues, Luiza

Fungos endofíticos associados à *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G.Lohmann (Bignoniaceae):
Estudo químico e citotoxicidade de extratos brutos /
Cheliz Rodrigues Luiza ; orientador J. Pena
Ferreira Marcelo -- São Paulo, 2023.

91 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo. Ciências
Biológicas (Botânica).

1. Fungos endofíticos. 2. *Fridericia*. 3. Produtos
naturais. 4. Citotoxicidade. I. J. Pena Ferreira,
Marcelo, orient. Título.

Bibliotecária responsável pela
catalogação: Elisabete da Cruz Neves -
CRB - 8/6228

Nome: CHELIZ RODRIGUES, Luiza

Título: Fungos endofíticos associados à *Fridericia platyphylla* (Cham.)
L.G.Lohmann: estudo químico e citotoxicidade de extratos brutos

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Aprovado em:

Banca examinadora

Prof. Dr.

Instituição

Julgamento

Prof^a. Dra.

Instituição

Julgamento

Prof. Dr.

Instituição

Julgamento

RESUMO

Microorganismos representam uma fonte promissora e relevante de compostos bioativos com aplicações farmacológicas e agrícolas. Dentre eles, os fungos endofíticos têm sido alvo de estudos que visam descobrir e explorar novos metabólitos e suas atividades, uma vez que exercem importantes papéis ecológicos e fisiológicos ao interagir com suas plantas hospedeiras durante, pelo menos, uma fase de seu ciclo de vida sem causar doenças. Dentre os critérios para a seleção da espécie hospedeira, destaca-se o uso medicinal. *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohman (Bignoniaceae) apresenta atividade antifúngica, tripanocida, leishmanicida e anti-inflamatória. Tendo isso em vista, este trabalho tem como objetivo obter a diversidade química de endofíticos de *Fridericia platyphylla*, avaliar a citotoxicidade de seus extratos brutos frente a células tumorais de adenocarcinoma de cólon (HCT - 116) e identificar os componentes presentes em seus extratos. Para tal, os fungos endofíticos do indivíduo de *F. platyphylla* foram isolados e, após cultivo em BDA por 21, 28 e 60 dias, seus extratos brutos em acetato de etila foram triados por análise em CLAE, por potencial citotóxico (avaliado por meio do ensaio do MTT) e por rendimento. Diante desses resultados, cinco endófitos foram selecionados e identificados por sequenciamento da região ITS. Eles tiveram parte de seus metabólitos identificados por i) injeção de padrão e ii) por RMN após crescimento em larga escala. A injeção de padrão possibilitou identificar quatro endófitos produtores de alternariol, alternariol-9-metiléter, altenusina descarboxilada e altenusina, sendo dois deles identificados como *Alternaria* sp. A identificação por meio de RMN das substâncias isoladas resultantes do cultivo em larga escala do endófito *Cercospora* sp. relevou a presença de dois policetídeos: novazelandina A e pirenocina A, sendo o primeiro relato da produção dos mesmos pelo gênero.

Palavras-chave: Fungos endofíticos. *Fridericia*. Produtos naturais. Citotoxicidade.

ABSTRACT

Microorganisms represent a promising and relevant source of bioactive compounds with pharmacological and agricultural applications. Among them, endophytic fungi have been the focus of studies aimed at discovering and exploring new metabolites and their activities, as they play important ecological and physiological roles by interacting with their host plants during at least one phase of their life cycle without causing diseases. Among the criteria for selecting the host species, medicinal use stands out. *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohman (Bignoniaceae) exhibits antifungal, trypanocidal, leishmanicidal, and anti-inflammatory activities. With this in mind, this work aims to obtain the chemical diversity of endophytic fungi from *Fridericia platyphylla*, evaluate the cytotoxicity of their crude extracts against colon adenocarcinoma tumor cells (HCT-116), and identify the components present in their extracts. For this purpose, endophytic fungi from the individual *F. platyphylla* were isolated and, after cultivation on PDA for 21, 28, and 60 days, their crude extracts in ethyl acetate were screened through HPLC analysis, potential cytotoxicity (evaluated through the MTT assay), and yield. Based on these results, five endophytes were selected and identified by sequencing the ITS region. Some of their metabolites were identified through i) injection of standards and ii) NMR after large-scale growth. Injection of standardized metabolites allowed the identification of four endophytes producing alternariol, alternariol-9-methyl ether, decarboxylated altenusin, and altenusin, with two of them identified as *Alternaria* sp. Identification through NMR of isolated substances resulting from the large-scale cultivation of the endophyte *Cercospora* sp. revealed the presence of two polyketides: neozelandicin A and pyrenocin A, representing the first report of their production by the genus.

Keywords: Endophytic fungi. *Fridericia*. Natural products. Cytotoxicity.

1. Introdução

1.1 De Bignoniaceae à *Fridericia*

Bignoniaceae está localizada no clado das Superasterídeas, pertencendo à ordem Lamiales. Trata-se de uma família com distribuição pantropical, incluindo 86 gêneros e 852 espécies (CHASE *et al.*, 2016) que podem ser identificadas por apresentarem caracteres diagnósticos característicos da família, como folhas compostas e opostas, flores tubulares e estigma bilamelado (OLMSTEAD *et al.*, 2009) e, para lianas, câmbio descontínuo (ANGYALOSSY *et al.*, 2012). Atualmente, oito tribos compõem a família, sendo que metade dos gêneros e 1/3 das espécies estão em Bignonieae (LOHMANN; TAYLOR, 2014), tribo que reúne arbustos e os principais grupos de lianas das florestas do Novo Mundo, ocorrendo desde áreas secas como savanas, até florestas úmidas.

Cipriani *et al.* (2012) realizaram um estudo em que o perfil químico das tribos de Bignoniaceae foi descrito com base na pesquisa bibliográfica tendo como banco de dados as publicações de 1907 a 2011 do *Chemical Abstract Service* e de 1960 a 2011 do *Biological Abstracts*. Esse levantamento mostrou a ocorrência de setenta e oito artigos que mencionaram a presença de terpenoides, vinte e oito de flavonoides, vinte e sete de derivados aromáticos especiais, dez de quinonas e três de alcaloides, exemplificados na Tabela 1.

Tabela 1 - Classes de substâncias isoladas de espécies vegetais pertencentes à Bignoniaceae.

Classe	Espécie vegetal	Substância descrita
Terpenoides ¹	<i>Cuspidaria pulchra</i>	Ácido ursólico
Flavonoides ²	<i>Fridericia chica</i>	Luteolina
Derivados aromáticos especiais ³	<i>Pseudocalymma elegans</i>	Coniferol
Alcaloides ⁴	<i>Martinella iquitosensis</i>	Ácido martinélico
Quinonas ⁵	<i>Bignonia unguisat</i>	Lapachol

¹ BRANDÃO *et al.* (2013)

² TAKEMURA *et al.* (1995)

³ WAHID *et al.* (2017)

⁴ WITHERUP *et al.* (1995)

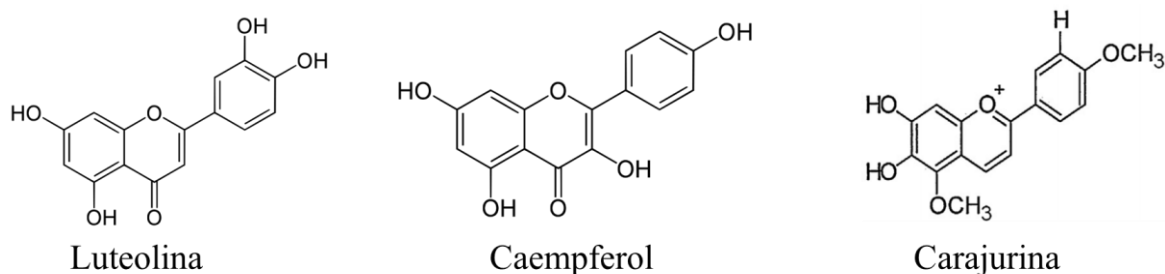
⁵ JOSHI; SINGH; SHARMA (1985)

1.1.1 Aspectos biológicos e químicos do gênero *Fridericia*

Fridericia é o segundo maior gênero em Bignoniaceae, com 60 espécies reconhecidas (KAEHLER; MICHELANGELI; LOHMANN, 2019) ocorrendo tanto em ambientes secos como o cerrado e a caatinga, quanto em ambientes úmidos como a floresta Amazônica e Atlântica. As espécies do gênero são encontradas desde o México até a Argentina (LOHMANN; TAYLOR, 2014), e no Brasil estão descritas 54 espécies de *Fridericia* localizadas por todo território brasileiro, das quais 23 são endêmicas (FLORA DO BRASIL, 2020). As plantas do gênero apresentam elevada diversidade e tem hábitos, normalmente, arbustivo ou lianescente. Dentre as espécies do gênero, apenas sete apresentam estudos fitoquímicos realizados e descritos: *F. chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann, *F. formosa* (Bureau) L.G.Lohmann, *F. patellifera* (Schltdl.) L.G.Lohmann, *F. platyphylla* (Cham.) L.G.Lohmann, *F. prancei* (A.H.Gentry) L.G. Lohmann, *F. samyoides* (Cham.) L.G.Lohmann e *F. triplinervia* (Mart. ex DC.) L.G.Lohmann.

A espécie do gênero que apresenta maior número de estudos publicados é a *Fridericia chica*, conhecida no Brasil como crajiru, pariri ou cipó-cruz. Esta espécie é popular na Amazônia brasileira, devido as suas propriedades medicinais, sendo utilizada para tratar anemia, inflamação, cólicas intestinais, hemorragia, hepatite e infecções de pele (GEMELLI *et al.*, 2015). Tais propriedades foram investigadas através de estudos fitoquímicos da espécie que demonstraram a presença de diversos componentes (Figura 1). Entre eles, fenólicos como a luteolina (TAKEMURA *et al.*, 1995) e caempferol (BARBOSA *et al.*, 2008), além de antocianidinas, como a carajurina (DEVIA *et al.*, 2002; ZORN *et al.*, 2001) responsáveis pela cor avermelhada dos extratos.

Figura 1 - Estruturas químicas de componentes isolados de *Fridericia chica*



Para a espécie *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohmann, conhecida popularmente como “tinteiro” ou “cipó-una”, flavonoides metoxilados (Figura 2) foram isolados da superfície foliar da planta e apresentaram atividade antifúngica (ALCERITO *et al.*, 2002).

Além disso, recentemente, flavonoides diméricos (Figura 3) inéditos em literatura foram obtidos das raízes, revelando elevada atividade gastroprotetora, tripanocida, leishmanicida e anti-inflamatória (DA ROCHA *et al.*, 2017; DA ROCHA *et al.*, 2014; ROCHA *et al.*, 2019; SALGADO *et al.*, 2020). Posteriormente, tais componentes também foram isolados das flores de *Fridericia platyphylla*, se mostrando fortes aliados no combate de cepas da bactéria *Staphylococcus aureus* Rosenbach resistentes aos antibióticos de largo espectro, uma vez que inibem o mecanismo de resistência a diversas drogas (DE SOUSA ANDRADE *et al.*, 2020). Triterpenoides com atividade anti-inflamatória também foram isolados dessa planta (Figura 4) (ROCHA *et al.*, 2015).

Figura 2 - Exemplos de flavonoides metoxilados de *Fridericia platyphylla*

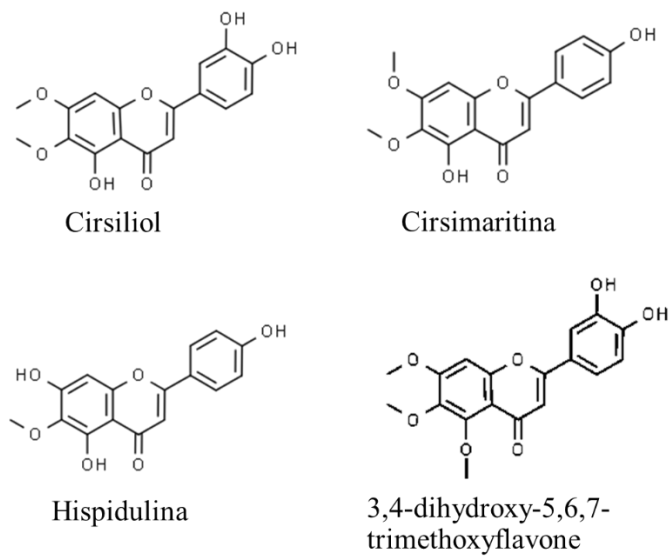


Figura 3 - Exemplos de flavonoides diméricos de *Fridericia platyphylla*

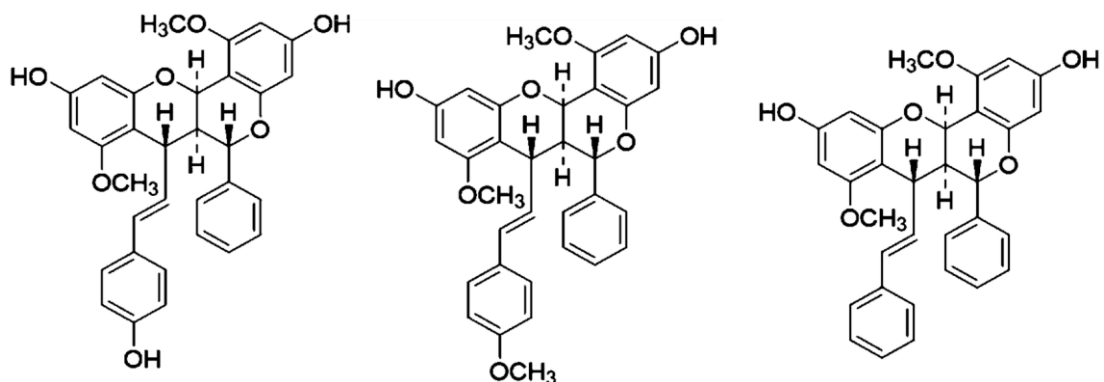
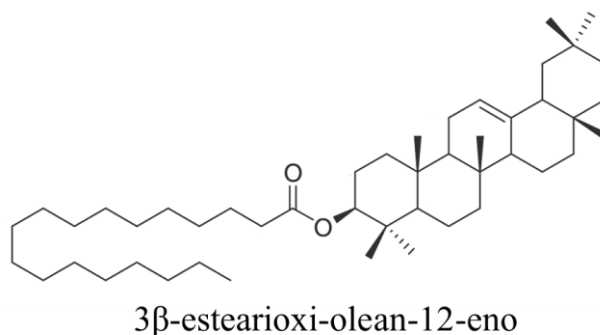
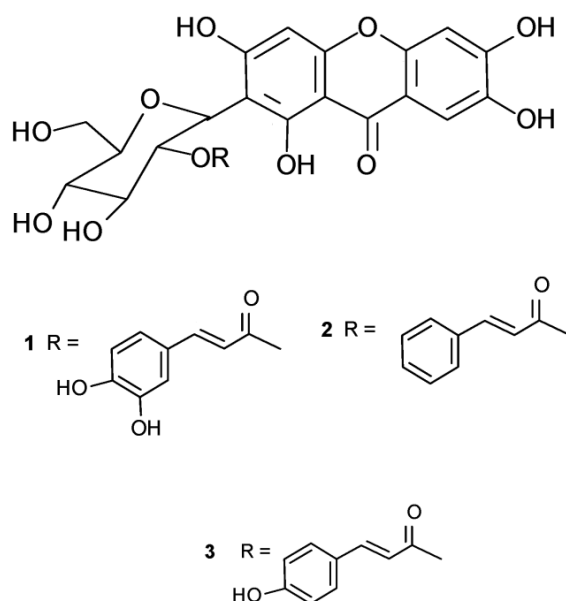


Figura 4 - Exemplo de triterpenoide de *Fridericia platyphylla*

A espécie *F. samydoides*, em seus estudos fitoquímicos, apresentou produção de flavonas, triterpenos e esteroides com atividade antioxidante, antitumoral e antioxidante (PAULETTI; BOLZANI; YOUNG, 2003), além de xantonas inéditas em literatura (Figura 5) com atividade antioxidante (PAULETTI *et al.*, 2003).

Figura 5 - Xantonas isoladas de *Fridericia samydoides*

1: 2-(2'-O-*trans*-cafeoil)-C-β-D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxixantona

2: 2-(2'-O-*trans*-cinamoil)-C-β-D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxixantona

3: 2-(2'-O-*trans*-cumaroil)-C-β-D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxixantona

Esta planta também teve seus endófitos estudados, sendo a única do gênero com esse relato em literatura. Lisboa *et al.* (2013) isolaram o fungo do gênero *Xylaria* Hill ex Schrank e avaliaram seu extrato como um produtor de esterases, sendo capaz de realizar a biotransformação de ésteres de cadeia curta.

Como apresentado acima, o gênero *Fridericia*, assim como Bignoniaceae, apresenta variados estudos acerca dos metabólitos referentes à planta. Por outro lado, são raros os artigos que analisam a microbiota associada e seus metabólitos, apesar de sua grande importância.

1.2 Endofitismo

Microorganismos ocupam diversos nichos terrestres, incluindo o Ártico, a Antártida, regiões alpinas, desertos, sedimentos de rochas profundas e ambientes marinhos. Eles, cultiváveis ou não, quando isolados de tecidos internos de um hospedeiro sem causar danos aparentes ao mesmo, são designados de microrganismos endofíticos (ZHANG; SONG; TAN, 2006).

1.2.1 Histórico do endofitismo

O primeiro cientista a descrever endófitos foi Heinrich Friedrich, em 1809, quando o termo “*Entophytae*” se referia a um grupo específico de fungos fitopatógenos (LINK, 1809)⁶. Esse conceito permaneceu vigente durante todo o século XIX, reforçando a ideia de que para que fossem saudáveis, as plantas deveriam ser estéreis.

Foi ao final do século XIX e início do XX, porém, que os primeiros estudos acerca da relação benéfica entre microrganismos internos e plantas surgiram: foram relatados fungos vivendo entre as raízes de árvores (FRANK, 1885)⁶ e bactérias vivendo em nódulos de raízes de plantas leguminosas fixando nitrogênio atmosférico (BEIJERINCK, 1888; FRANK, 1889; HELLRIEGEL; WILFARTH, 1888)⁶. Foi em 1991, que Petrini (1991) definiu endófitos como “todos organismos habitando órgãos de plantas que, em algum momento durante seu ciclo de vida, pode colonizar tecidos internos das plantas sem causar dano aparente a seu hospedeiro”. Essa definição deu sequência a diversas outras, fundamentais na diferenciação de endófitos e fitopatógenos.

1.2.2 Origem e evolução da relação planta-fungos

Entre os endófitos, os fungos apresentam lugar de destaque e podem viver parte, ou todo o ciclo de vida no interior dos tecidos de organismos hospedeiros saudáveis (TAN; ZOU, 2001). Essa relação simbiótica e assintomática pode conferir a ambos os organismos diversas vantagens adaptativas, como o aumento da absorção de nutrientes, aumento da tolerância ao

⁶ apud HARDOIM; VAN OVERBEEK; BERG; PIRTILÄ *et al.* (2015)

estresse, a herbivoria, ao calor, a salinidade e a seca (DAVITT; CHEN; RUDGERS, 2011; RODRIGUEZ; REDMAN, 2008).

A simbiose planta-fungo é conhecida por ter ocorrido durante o início da colonização terrestre pelas plantas. Em 2000, a análise do fóssil do grupo *Glomeromycota* no período Ordoviciano, o tornou o primeiro e mais antigo registro da interação entre fungo e planta (REDECKER; KODNER; GRAHAM, 2000). Por outro lado, em 2002, o grupo *Mucoromycotina* também foi especulado como um registro dessa relação no período Devoniano (TAYLOR *et al.*, 1995).

Como um reflexo da forte interação entre fungos e plantas, a hipótese do antagonismo balanceado (SCHULZ; BOYLE, 2005) associa a patogenicidade dos endófitos a comunicação entre eles e os hospedeiros. O fato de que alguns fungos endofíticos de raiz terem sua proliferação condicionada à morte celular da planta, para então iniciarem sua relação endofítica com o hospedeiro indica que fungos fitopatogênicos teriam dado origem aos endofíticos (DESHMUKH *et al.*, 2006; KOGEL; FRANKEN; HÜCKELHOVEN, 2006). Dessa forma, quando a planta está sob estresse, seja por alterações bióticas ou abióticas, há mudanças genéticas e metabólicas (WANI *et al.*, 2015) que podem ser determinantes na definição da relação ecológica estabelecida.

Os mecanismos de ação dos endófitos acerca dos metabólitos se baseiam na produção de espécies reativas de oxigênio, fitormônios, compostos orgânicos voláteis, entre outros. No caso das espécies reativas de oxigênio, ocorre o estímulo da produção de metabólitos antioxidantes por seu hospedeiro, o que tem como consequência a proteção do estresse oxidativo, como demonstrado por Qawasmeh *et al.* (2012) em seu estudo em que as cepas do endófito *Epichloe festucae* var. *lolii* (Latch, M.J. Chr. & Samuels) C.W. Bacon & Schardl na planta hospedeira *Lolium perenne* (L.), causam alterações nos resultados do potencial de sequestro de radicais livres. Em outro estudo, endófitos isolados da raiz da planta de arroz (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante se mostraram promotores do crescimento de raízes, constatado pela extração de seu micélio que apresentou giberilinas e ácido indol-3-acético (AIA) (WAQAS; KHAN; LEE, 2014).

As plantas, ao perceberem a presença dos metabólitos de seus endófitos por meio da quimiopercepção (BOLLER, 1995), dão início a mecanismos de ação baseados na alteração ou indução de expressões gênicas que, por serem bastante similares aos da interação planta-

patógeno, são bastante conhecidos, podendo causar alterações locais ou sistêmicas tendo o ácido salicílico como aliado (HEIL; BOSTOCK, 2002).

Essa relação vai além de estudos laboratoriais: estudos de campo têm demonstrado que espécies de plantas selvagens necessitam de microrganismos endofíticos para sobrevivência e tolerância ao estresse. Rodriguez e Redman (2008) estudaram tanto a relação com o estresse abiótico, quanto com o biótico. Para o primeiro caso, relataram que a presença de cepas específicas de endófitos isolados de *Leumus mollis* (Trin.) Pilger, quando inoculados em tomateiros (*Solanum lycopersicum* L.) conferiam à planta, resistência à salinidade e a seca, sendo variável a depender da cepa analisada. A relação com o estresse biótico foi estudada utilizando-se cultivares de melancia e pepino expostos à fitopatógenos (*Colletotrichum magnum* (S.F. Jenkins & Winstead) Rossman & W.C. Allen, *Gloeosporium orbiculare* (Berk.) Berk. e *Fusarium oxysporum* Schltdl). Com isso, verificaram que os cultivares com endófito inoculado, apresentavam queda de 100 a 70% na taxa de mortalidade.

A competição pela sobrevivência e pressões ambientais pode impulsionar uma evolução no modo de ataque, defesa e diversidade de sinalizações que, por sua vez, dão origem a uma variedade de substâncias que apresentam grande diversidade química e biológica, as quais podem ser exploradas na descoberta de novos fármacos (ALY; DEBBAB; PROKSCH, 2013; ALY *et al.* 2010; CHANDRA, 2012; SINGH; MACDONALD, 2010; WEISS *et al.*, 2011) Aproximadamente um quarto de todos os produtos naturais bioativos é produzido por fungos (HENKEL *et al.*, 1999).

1.3 Microrganismos e metabólitos bioativos

Os microrganismos representam uma fonte prolífica de metabólitos bioativos que podem apresentar amplas aplicações como agentes agrotóxicos, antibióticos, imunossuppressores, antiparasitários, antitumorais, entre outros.

Um exemplo da grande importância dos metabólitos microbianos foi a descoberta feita por Alexander Fleming, em 1928, da Penicilina G (Figura 6), produzida por *Penicillium chrysogenum* Thom. Bull. A descoberta revolucionou o curso da medicina e da humanidade, uma vez que foi amplamente utilizada, como primeiro antibiótico, no tratamento dos feridos da Segunda Guerra Mundial a partir de 1943 (GAYNES, 2017).

Além de fungos produtores de antibióticos, as bactérias também têm papel importante na produção de antibióticos. É o caso, por exemplo, da produção de vancomicina (Figura 6) pela

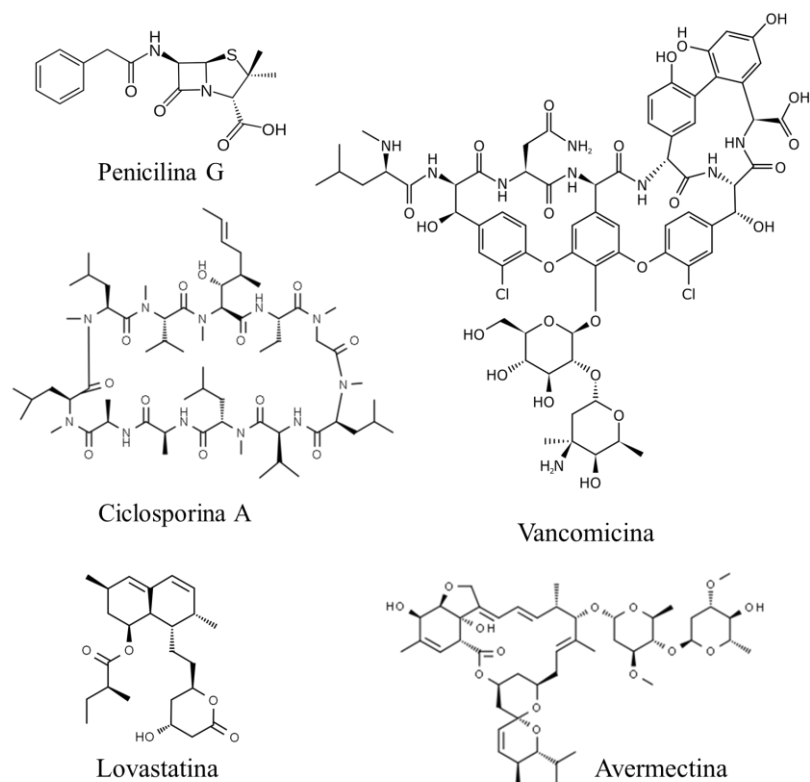
bactéria *Amycolatopsis orientalis* Pittenger and Brigham, isolada, inicialmente, de amostras do solo de Bornéu. Esse antibiótico foi utilizado amplamente na década de 50 com o aumento da resistência de *Staphylococcus aureus* à antibióticos utilizados na época (GRIFFITH, 1984).

O uso dos metabólitos de microrganismos vai além do combate a doenças e agentes causadores. A descoberta do efeito imunossupressivo da ciclosporina A (Figura 6), produzida pelo fungo *Tolypocladium inflatum* W. Gams inicialmente descrita como antifúngica, possibilitou o seu uso para transplantes de coração, fígado e rim, resultando no sucesso da área de transplante de órgãos (BOREL *et al.*, 1994). Outra propriedade descrita para metabólitos fúngicos foi o efeito na redução de colesterol proporcionado pela lovastatina (Figura 6) produzida por culturas dos fungos *Monascus ruber* Tiegh (ENDO, 1979) e *Aspergillus terreus* Thom (ALBERTS *et al.*, 1980). A substância inibe a produção de colesterol no fígado, fonte principal do colesterol sanguíneo.

Os produtos naturais de microrganismos não têm aplicação restrita apenas em humanos. É o caso do desenvolvimento do agente antiparasitário avermectina (Figura 6), inicialmente produzido pela bactéria *Streptomyces avermitilis* Burg., a substância é ativa contra parasitas nemátodas e antrópodas em ovelhas, gados, cães, cavalos e suínos (STAPLEY; WOODRUFF, 1982)⁷. Com auxílio da indústria farmacêutica, derivados semissintéticos foram desenvolvidos visando aumentar sua atividade e ampliar seu espectro de uso, podendo ser, também, aplicado em humanos.

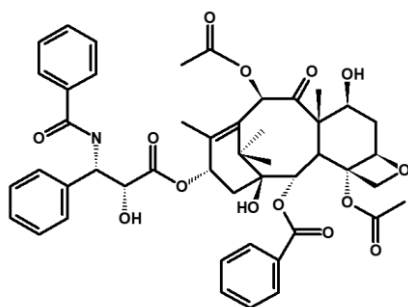
Figura 6 - Exemplos de produtos naturais provenientes de microrganismos

⁷ apud DEMAIN (1999).

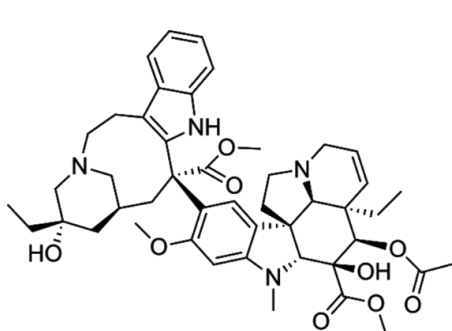


1.3.1 Fungos endofíticos e metabólitos bioativos

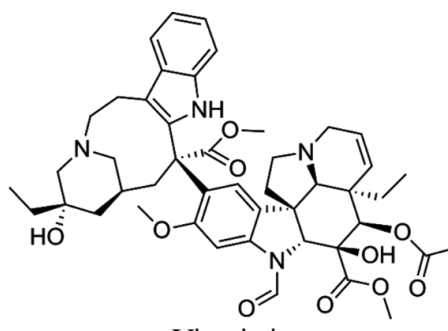
O potencial metabólico de microrganismos também ocorre em fungos endofíticos, que são capazes de sequestrar ou sintetizar os metabólitos produzidos pelos hospedeiros e utilizá-los como defesa química ou, por outro lado, podem produzir outros componentes em resposta à pressão exercida por fatores abióticos ou bióticos como, por exemplo, outros endófitos, fitopatógenos ou predadores (ALY; DEBBAB; PROKSCH, 2013; ALY *et al.*, 2010; CHANDRA, 2012; WEISS *et al.*, 2011). É o caso, por exemplo, do taxol (Figura 7), substância com propriedade antitumoral, inicialmente extraída da casca do Teixo (*Taxus brevifolia* (Nutt.)) e posteriormente descoberta como um produto do fungo *Taxomyces andreanae* Strobel, A. Stierle, D. Stierle & W.M. Hess isolado da planta, (STIERLE; STROBEL; STIERLE, 1993). O mesmo ocorre para as substâncias, também com propriedades antitumorais, vincristina e vimblastina (Figura 8), que foram descritas como metabólito não apenas da planta *Catharanthus roseus* (L.) G. Don., mas também do endófito *Fusarium oxysporum* Schldl. (KUMAR *et al.*, 2013).

Figura 7 - Estrutura química do taxol, substância antitumoral

Taxol

Figura 8 - Estrutura química da vimblastina e vincristina, substâncias antitumorais

Vimblastina



Vincristina

Os fungos endófitos foram encontrados em todos os órgãos e tecidos das espécies vegetais já examinadas. No entanto, a diversidade e quantidade desses microrganismos variam de acordo com a espécie. Alguns endófitos apresentam alta especificidade de hospedeiros, sendo encontrados com maior frequência em espécies de um grupo taxonômico particular ou, até mesmo, são limitados a um único hospedeiro. É o caso, por exemplo, do fungo *Phomopsis casuarinae* (Tassi) Died., relatado como endófito específico do gênero *Casuarina* L. (BOSE, 1947) e do fungo *Rhodocline parkeri* Sherwood, J.K. Stone & G.C. Carroll, encontrado unicamente no pinheiro *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (SHERWOOD-PIKE; STONE; CARROLL, 1986).

No entanto, apesar de haver especificidade de hospedeiro, o estudo realizado por Arnold e Lutzoni (2007) mostra que, a incidência, diversidade e amplitude de hospedeiros é maior a medida que se aproxima dos trópicos, mostrando que, apesar dos endófitos tropicais apresentarem estratégias mais generalistas, as folhas das árvores tropicais representam um *hotspot* de diversidade fúngica.

Por outro lado, a especificidade tecidual foi relatada por ocorrer tanto em área tropicais quanto em temperadas. A diversidade de espécies entre os tecidos vegetais pode ser explicada

pela habilidade de cada microrganismo em usar diferentes substratos no seu metabolismo (RODRIGUES, 1994). A proliferação de endofíticos em tecidos especializados tem sido considerada uma estratégia para melhor utilização dos recursos encontrados no vegetal. Conseqüentemente, esse comportamento reduz a concorrência entre eles e impede o crescimento excessivo da população desses microrganismos em determinados órgãos (GIMENEZ *et al.*, 2007).

1.3.1.1 Fungos endofíticos isolados de espécies de Bignoniaceae e bioatividades

Na literatura, tem sido relatada a diversidade de fungos endofíticos associados às espécies de Bignoniaceae, e suas bioatividades. O endófito *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not. isolado da espécie vegetal *Kigelia africana* (Lam.) Benth., foi descrito como produtor de substâncias imunomodulatórias (KATOCH *et al.*, 2015). Outras duas plantas, *Markhamia tomentosa* (Benth.) K. Schum. Ex Engl. e *Tabebuia argentea* Bur. & K. Sch. tiveram dois endófitos isolados com extratos ativos para testes antiproliferativos e antifúngicos, e antimicrobianos, antioxidantes e antitumorais, respectivamente (IBRAHIM *et al.*, 2017; SADANANDA *et al.*, 2011).

A planta *Tabebuia pentaphylla* Hemsl. apresentou o endófito *Pestalotiopsis pauciseta* (Sacc.) Y.X. Chen como produtor de taxol (VENNILA; KAMALRAJ; MUTHUMARY, 2012), previamente descrito com atividade antitumoral. Dentro da tribo Bignoniae, apenas um estudo descreve a bioatividade relacionada aos endófitos. A planta *Adenocalymma alliaceum* Miers. teve doze endófitos testados para atividade antibacteriana contra 5 linhagens de bactérias patogênicas humanas. Desses, nove tiveram seus extratos com atividade contra, pelo menos, uma linhagem testada (KHARWAR *et al.*, 2011). A relação dessas espécies vegetais e fúngicas, assim como seus extratos e bioatividades está descrita na Tabela 2.

Tabela 2 - Atividades biológicas de extratos ou substâncias isoladas de fungos endofíticos associados a Bignoniaceae

Espécie vegetal	Espécie fúngica	Substâncias ou Extratos	Bioatividade
<i>Kigelia africana</i> ⁸	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Extrato	Imunomodulatória
<i>Markhamia tomentosa</i> ⁹	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Extrato	Antiproliferativo, Antifúngico

⁸ KATOCH *et al.*, (2015)

⁹ IBRAHIM *et al.* (2017)

	<i>Syncephalastrum racemosum</i>		
<i>Tabebuia argentea</i> ¹⁰	<i>Aspergillus niger</i>	Saponinas, fenólicos, antraquinonas, esteroides, taninos, naftoquinona (lapachol)	Antimicrobiana, antioxidante e antitumoral
	<i>Alternaria alternata</i>		
<i>Tabebuia pentaphylla</i> ¹¹	<i>Pestalotiopsis pauciseta</i>	Taxol	Antitumoral
	<i>Alternaria alternata</i>		
	<i>Aspergillus niger</i>		
	<i>Aspergillus fumigatus</i>		
	<i>Chaetomium globosum</i>		
<i>Adenocalymma alliaceum</i> ¹²	<i>Curvularia lunata</i>	Extrato	Antibacteriano
	<i>Fusarium oxysporum</i>		
	<i>Fusarium roseum</i>		
	<i>Penicillium sp.</i>		
	<i>Trichoderma sp.</i>		

Entretanto, entre as espécies de *Fridericia*, gênero com uso medicinal no Brasil, não há artigos que relatem bioatividades relacionadas, apenas um estudo que descreve o isolamento do fungo *Xylaria sp.* de *Fridericia samydoides* (LISBOA *et al.*, 2013).

1.4 *Fridericia platyphylla*: Potência e relevância de seus fungos endofíticos

Apesar da produção de metabólitos especiais bioativos e do fornecimento de ampla variedade de estruturas químicas oriundas de diversas vias biossintéticas, tais microrganismos ainda são pouco explorados (ALY *et al.*, 2010; ALY; DEBBAB; PROKSCH, 2011; CHANDRA, 2012; KHARWAR *et al.*, 2011; ZHANG; SONG; TAN, 2006).

¹⁰ SADANANDA *et al.* (2011)

¹¹ VENNILA; KAMALRAJ; MUTHUMARY (2012)

¹² KHARWAR *et al.* (2011)

Esse fato é especialmente verdadeiro no Brasil, que pouco tem explorado seus recursos microbianos, tanto que, Ióca, Allard e Berlinck (2014) apresentam um panorama da subdesenvolvida área de produtos naturais de microrganismos no país. No artigo são descritos os 280 metabólitos isolados de fontes microbianas no Brasil, dos quais 84% são originados por fungos e 66% produzidos por bactérias e fungos endofíticos associados a espécies vegetais. Considerando que o Brasil é um dos países megadiversos do mundo, consideráveis esforços devem ser aplicados e subsidiados para a descrição e utilização da biodiversidade e quimiodiversidade de microrganismos.

Dado o grande número e a diversidade de espécies presentes na flora mundial, tem sido sugerido que as espécies medicinais, as plantas de inimitáveis nichos ecológicos, especialmente aqueles com uma morfologia incomum ou que as espécies possuam estratégias incomuns para a sobrevivência, e as espécies endêmicas ou ameaçadas de extinção são muito adequadas para o estudo de seus endofíticos (KUSARI; SPITELLER, 2011). Nesse sentido, se enquadra a espécie *Fridericia platyphylla* que cresce no Cerrado brasileiro, área extremamente ameaçada e que apresenta uma expressiva diversidade de microambientes, um alto grau de endemismo e elevado número de novas espécies, configurando locais com espécies de importância ecológica e de valor extremo (LE SAOUT *et al.*, 2013).

Desta forma, o isolamento dos fungos endofíticos associados a *Fridericia platyphylla* e a investigação da bioatividade dos seus respectivos extratos brutos pode aumentar a identificação de novos constituintes químicos com propriedade citotóxica ou a caracterização dos metabólitos bioativos, sendo esse um dos objetivos e uma das principais contribuições desse trabalho. Dessa forma, esse trabalho permitirá conhecer a diversidade química de extratos obtidos de microrganismos endofíticos associados à espécie *F. platyphylla*, contribuindo com a diminuição dessa lacuna do conhecimento e com o desenvolvimento da área de produtos naturais de microrganismos no país.

5. Conclusões

O presente estudo contribuiu para o conhecimento acerca da quimiodiversidade e potencial bioativo dos fungos endofíticos associados à *Fridericia platyphylla*, uma planta que ocorre no território brasileiro e que apresenta uso medicinal. Por meio de identificação molecular, foi possível descrever a ocorrência de dois gêneros endofíticos (*Alternaria* e *Cercospora*) assim como sua produção de metabólitos e a atividade citotóxica dos mesmos diante da linhagem de células tumorais HCT-116.

Os isolados de *Alternaria* sp. (688 e 721), além dos isolados 682 e 716 (a serem identificados) foram produtores de derivados de alternariol como altenusina-9-metiléter, altenusina, alternariol e alternariol-9-metiléter. Além disso, uma outra substância isolada produzida pelo endófito 682 será, em futuras oportunidades, submetida à RMN para sua posterior identificação.

O isolado 693, identificado como *Cercospora* sp. teve diversos componentes isolados, sendo dois deles identificados como nova-zelandina A e pirenocina A. Dessa maneira, este é o primeiro estudo a relatar a produção das mesmas pelo gênero. As demais substâncias isoladas serão submetidas à RMN para sua posterior identificação.

Os diferentes tempos de cultivos (21, 28 e 60 dias) dos endófitos também reforçou a abordagem OSMAC - “*one strain many compounds*”, uma vez que foi possível observar diferentes cromatogramas em cada período de crescimento.

Este trabalho também deixa oportunidades para aprofundar os estudos diante da capacidade citotóxica dos compostos presentes, sugerindo a possível investigação do impacto desses extratos em outras linhagens de células cancerígenas. Além disso, a biodiversidade dos fungos associados à *Fridericia platyphylla* ainda permanece uma área aberta para exploração.

A preservação de 59 endófitos viabiliza futuras investigações, com destaque para a possibilidade de aplicação de novos procedimentos e primers distintos para a identificação precisa dessas espécies.

Dessa forma, este trabalho reforça a importância de explorar o potencial de plantas medicinais presentes em biomas pouco estudados como reservatório de fungos endofíticos produtores de metabólitos bioativos que podem ter aplicações diversas e servirem de fonte para descoberta de novos metabólitos.

Referências

- ALBERTS, A.; CHEN, J.; KURON, G.; HUNT, V. *et al.* Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 77, n. 7, p. 3957-3961, 1980.
- ALCERITO, T.; BARBO, F. E.; NEGRI, G.; SANTOS, D. Y. *et al.* Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: flavonoids and antifungal activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 7, p. 677-683, 2002.
- ALY, A. H.; DEBBAB, A.; KJER, J.; PROKSCH, P. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. **Fungal diversity**, v. 41, n. 1, p. 1-16, 2010.
- ALY, A. H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 90, n. 6, p. 1829-1845, 2011.
- ALY, A.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. Fungal endophytes—secret producers of bioactive plant metabolites. **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, n. 7, p. 499-505, 2013.
- AMAGATA, T.; MINOURA, K.; NUMATA, A. Cytotoxic metabolites produced by a fungal strain from a *Sargassum* alga. **The Journal of Antibiotics**, v. 51, p. 432-434, 1998.
- ANDERSEN, B.; KRØGER, E.; ROBERTS, R. G. Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-groups. **Mycological research**, v. 106, n. 2, p. 170-182, 2002.
- ANGYALOSSY, V.; ANGELES, G.; PACE, M. R.; LIMA, A. C. *et al.* An overview of the anatomy, development and evolution of the vascular system of lianas. **Plant Ecology & Diversity**, v. 5, n. 2, p. 167-182, 2012.
- ARNOLD, A. E.; LUTZONI, F. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? **Ecology**, v. 88, n. 3, p. 541-549, 2007.
- ARNOLD, M. *et al.* Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. **Gut**, v. 66, n. 4, p. 683-691, 2017.
- BARBOSA, W. L. R.; PINTO, L. d. N.; QUIGNARD, E.; VIEIRA, J. M. d. S. *et al.* *Arrabidaea chica* (HBK) Verlot: phytochemical approach, antifungal and trypanocidal activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 544-548, 2008.
- BECKMAN, P. M. *et al.* Cultural techniques and conditions influencing growth and sporulation of *Cercospora zae-maydis* and lesion development in corn. **Phytopathology**, v. 73, n. 2, p. 286-289, 1983.

BEIJERINCK, M. Cultur des Bacillus radicola aus den Knöllchen. **Bot Ztg**, v. 46, p. 740-750, 1888.

BENSASSI, F. *et al.* Combined effects of alternariols mixture on human colon carcinoma cells. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 25, n. 1, p. 56-62, 2015.

BENSON, D. A.; KARSCH-MIZRACHI, I.; LIPMAN, D. J.; OSTELL, J. *et al.* GenBank. **Nucleic acids research**, v. 39, p. D32, 2011.

BODE, H. B.; BETHE, B.; HÖFS, R.; ZEECK, A. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. **ChemBioChem**, v. 3, n. 7, p. 619-627, 2002.

BOLLER, T. Chemoperception of microbial signals in plant cells. **Annual review of plant biology**, v. 46, n. 1, p. 189-214, 1995.

BOREL, J. F.; FEURER, C.; GUBLER, H.; STÄHELIN, H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. **Agents and actions**, v. 43, n. 4, p. 179-186, 1994.

BOSE, S. Hereditary (seed-borne) symbiosis in *Casuarina equisetifolia* Forst. **Nature**, v. 159, n. 4041, p. 512-514, 1947.

BRANDÃO, G. C.; KROON, E. G.; SOUZA, D. E.; JOSÉ FILHO, D. S. *et al.* Chemistry and antiviral activity of *Arrabidaea pulchra* (Bignoniaceae). **Molecules**, v. 18, n. 8, p. 9919-9932, 2013.

CASELLA, T.M.; EPARVIER, V.; MANDAVID, H.; BENDELAC, A.; ODONNE, G.; DAYAN, L.; DUPLAIS, C.; ESPINDOLA, L.S.; STEIN, D. Antimicrobial and cytotoxic secondary metabolites from tropical leaf endophytes: Isolation of antibacterial agent pyrrocidine C from *Lewia infectoria* SNB-GTC2402. **Phytochemistry** v. 96, p. 370-377, 2013

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

CHASE, M. W.; CHRISTENHUSZ, M.; FAY, M.; BYNG, J. *et al.* An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.

CHRISTENSEN, K.B.; KLINK, J.W.V.; WEAVERS, R.T.; LARSEN, T.O.; ANDERSEN, B.; PHIPPS, R.K. Novel chemotaxonomic markers of the *Alternaria infectoria* species-group. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 53, p. 9431-9435, 2005

CIPRIANI, F. A.; FIGUEIREDO, M. R.; SOARES, G. L. G.; KAPLAN, M. A. C. Implicações químicas na sistemática e filogenia de Bignoniaceae. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2125-2131, 2012.

CROUS, P. W. *et al.* An online database of names and descriptions as an alternative to registration. **Mycological Research**, v. 108, n. 11, p. 1236-1238, 2004.

DA ROCHA, C. Q.; QUEIROZ, E. F.; MEIRA, C. s. S.; MOREIRA, D. R. M. e. *et al.* Dimeric flavonoids from *Arrabidaea brachypoda* and assessment of their anti-Trypanosoma cruzi activity. **Journal of natural products**, v.77, n. 6, p. 1345-1350, 2014.

DA ROCHA, C. Q.; DE-FARIA, F. M.; MARCOURT, L.; EBRAHIMI, S. N. *et al.* Gastroprotective effects of hydroethanolic root extract of *Arrabidaea brachypoda*: Evidences of cytoprotection and isolation of unusual glycosylated polyphenols. **Phytochemistry**, v. 135, p. 93-105, 2017.

ROCHA, V. P.; QUINTINO DA ROCHA, C.; FERREIRA QUEIROZ, E.; MARCOURT, L. *et al.* Antileishmanial Activity of Dimeric Flavonoids Isolated from *Arrabidaea brachypoda*. **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 1, 2019.

DAVITT, A. J.; CHEN, C.; RUDGERS, J. A. Understanding context-dependency in plant-microbe symbiosis: the influence of abiotic and biotic contexts on host fitness and the rate of symbiont transmission. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 137-145, 2011.

DE SOUSA ANDRADE, L. M.; DE OLIVEIRA, A. B. M.; LEAL, A. L. A. B.; DE ALCÂNTARA OLIVEIRA, F. A. *et al.* Antimicrobial activity and inhibition of the NorA efflux pump of *Staphylococcus aureus* by extract and isolated compounds from *Arrabidaea brachypoda*. **Microbial Pathogenesis**, v. 140, p. 103935, 2020.

DEMAIN, A. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 52, n. 4, p. 455-463, 1999.

DESHMUKH, S.; HÜCKELHOVEN, R.; SCHÄFER, P.; IMANI, J. *et al.* The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 49, p. 18450-18457, 2006.

DEVIA, B.; LLABRES, G.; WOUTERS, J.; DUPONT, L. *et al.* New 3-deoxyanthocyanidins from leaves of *Arrabidaea chica*. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 13, n. 2, p. 114-120, 2002.

ENDO, A. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. **The Journal of antibiotics**, v. 32, n. 8, p. 852-854, 1979.

FARNAES, L.; LA CLAIR, J.; FENICAL, W. Napyradiomycins CNQ525. 510B and A80915C target the Hsp90 paralogue Grp94. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 12, n. 3, p. 418-423, 2014.

FERLAY, J. *et al.* Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International journal of cancer**, v. 149, n. 4, p. 778-789, 2021.

FLORA DO BRASIL, *Fridericia* em construção. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2020. Disponível em: <<http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB113348>>. Acesso em: 27 mai. 2020

FRANK, B. Nutrition of trees based on root symbiosis by subterranean trees **Pilze**, 1885.

FRANK, B. Fungal symbiosis in legumes. **Ber. d. deut. bot. Gesellsch.**, v. 7, p. 338, 1889.

GAYNES, R. The discovery of penicillin—new insights after more than 75 years of clinical use. **Emerging infectious diseases**, v. 23, n. 5, p. 849, 2017.

GEMELLI, T. F.; PRADO, L. d. S.; SANTOS, F. S.; DE SOUZA, A. P. *et al.* Evaluation of safety of *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoniaceae), a plant with healing properties. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 78, n. 18, p. 1170-1180, 2015.

GIMENEZ, C.; CABRERA, R.; REINA, M.; GONZALEZ-COLOMA, A. Fungal endophytes and their role in plant protection. **Current Organic Chemistry**, v. 11, n. 8, p. 707-720, 2007.

GRIFFITH, R. S. Vancomycin use—an historical review. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 14, p. 1-5, 1984.

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; BERG, G.; PIRTILÄ, A. M. *et al.* The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 79, n. 3, p. 293-320, 2015.

HEIL, M.; BOSTOCK, R. M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of botany**, v. 89, n. 5, p. 503-512, 2002.

HELLRIEGEL, H.; WILFARTH, H. Investigations on the nitrogen nutrition of gramineae and legumes. **Zimmer-Strasse**, v. 94, 1888.

HENKEL, T.; BRUNNE, R. M.; MÜLLER, H.; REICHEL, F. Statistical investigation into the structural complementarity of natural products and synthetic compounds. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 38, n. 5, p. 643-647, 1999.

IBRAHIM, M.; KAUSHIK, N.; SOWEMIMO, A.; CHHIPA, H. *et al.* Antifungal and antiproliferative activities of endophytic fungi isolated from the leaves of *Markhamia tomentosa*. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 590-595, 2017.

IÓCA, L. P.; ALLARD, P.-M.; BERLINCK, R. G. Thinking big about small beings—the (yet) underdeveloped microbial natural products chemistry in Brazil. **Natural product reports**, v. 31, n. 5, p. 646-675, 2014.

ISLAM, M. T. *et al.* An updated overview of anticancer effects of alternariol and its derivatives: underlying molecular mechanisms. **Frontiers in pharmacology**, v. 14, p. 1099380, 2023.

JOSHI, K. C.; SINGH, P.; SHARMA, M. C. Quinones and other constituents of *Markhamia platycalyx* and *Bignonia unguiscati*. **Journal of Natural Products**, v. 48, n. 1, p. 145-145, 1985.

KAEHLER, M.; MICHELANGELI, F. A.; LOHMANN, L. G. Fine tuning the circumscription of *Fridericia* (Bignoniaceae, Bignoniaceae). **Taxon**, v. 68, n. 4, p. 751-770, 2019.

KATOCH, M.; KHAJURIA, A.; SHARMA, P.; SAXENA, A. K. Immunosuppressive potential of *Botryosphaeria dothidea*, an endophyte isolated from *Kigelia africana*. **Pharmaceutical biology**, v. 53, n. 1, p. 85-91, 2015.

KAWAFUNE, Eunizinis. **Metabolômica de fungos endofíticos associados à *Baccharis oxydonta* DC.(Asteraceae): da quimioidiversidade à citotoxicidade**. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. doi:10.11606/D.41.2019.tde-05032020-094343. Acesso em: 2023-06-19.

KEARSE, M. *et al.* Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 12, p. 1647-1649, 2012.

KHARWAR, R. N.; MISHRA, A.; GOND, S. K.; STIERLE, A. *et al.* Anticancer compounds derived from fungal endophytes: their importance and future challenges. **Natural product reports**, v. 28, n. 7, p. 1208-1228, 2011.

KHARWAR, R. N. *et al.* Assessment of diversity, distribution and antibacterial activity of endophytic fungi isolated from a medicinal plant *Adenocalymma alliaceum* Miers. **Symbiosis**, v. 55, n. 1, p. 39-46, 2011.

KIM, J.-C.; CHOI, G.J.; KIM, H.T.; KIM, H.-J.; CHO, K.Y. Pathogenicity and pyrenocine production of *Curvularia inaequalis* isolated from *Zoysia grass*. **Plant Disease** v. 84, p. 684-688, 2000.

KOGEL, K.-H.; FRANKEN, P.; HÜCKELHOVEN, R. Endophyte or parasite—what decides? **Current opinion in plant biology**, v. 9, n. 4, p. 358-363, 2006.

KROHN, K.; SOHRAB, M.H.; DRAEGER, S.; SCHULZ, B. New pyrenocines from an endophytic fungus. *Nat. Prod. Commun.* 3: 1689-1692, 2008.

KUMAR, A.; PATIL, D.; RAJAMOCHANAN, P. R.; AHMAD, A. Isolation, purification and characterization of vinblastine and vincristine from endophytic fungus *Fusarium oxysporum* isolated from *Catharanthus roseus*. **PloS one**, v. 8, n. 9, 2013.

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

LAI, D. *et al.* Bioactive dibenzo- α -pyrone derivatives from the endophytic fungus *Rhizopycnis vagum* Nitaf22. **Journal of natural products**, v. 79, n. 8, p. 2022-2031, 2016.

LE SAOUT, S.; HOFFMANN, M.; SHI, Y.; HUGHES, A. *et al.* Protected areas and effective biodiversity conservation. **Science**, v. 342, n. 6160, p. 803-805, 2013.

LI, X. *et al.* A new biphenyl derivative from the mangrove endophytic fungus *Phomopsis longicolla* HL-2232. **Natural product research**, v. 31, n. 19, p. 2264-2267, 2017.

LINK, H. F. Observations on the natural orders of plants. Dissertation. **Mag Ges Naturf Freunde Berlin**, v. 3, p. 3-42, 1809.

LISBOA, H. C. F.; BIASETTO, C. R.; MEDEIROS, J. B. d.; ARAÚJO, Â. R. *et al.* Endophytic fungi producing of esterases: evaluation in vitro of the enzymatic activity using pH indicator. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 923-926, 2013.

LOHMANN, L. G.; TAYLOR, C. M. A new generic classification of tribe Bignonieae (Bignoniaceae) 1. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 99, n. 3, p. 348-489, 2014.

METWALY, A.M.; FRONCZEK, F.R.; MA, G.; KADRY, H.A.; EL-HELA, A.A.; MOHAMMAD, A.-E.; CUTLER, S.J.; ROSS, S.A. Antileukemic α -pyrone derivatives from the endophytic fungus *Alternaria phragmospora*. **Tetrahedron Letters**. v. 55, p. 3478-3481, 2014.

MOMESSO, L. d. S.; KAWANO, C. Y.; RIBEIRO, P. H.; NOMIZO, A. *et al.* Chaetoglobosinas produzidas por *Chaetomium globosum*, fungo endofítico associado a *Viguiera robusta* Gardn.(Asteraceae). **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1680-1685, 2008.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NILANONTA, C.; ISAKA, M.; KITTAKOOP, P.; SAENBOONRUENG, J.; RUKACHAISIRIKUL, V.; KONGSAEREE, P.; THEBTARANONTH, Y. New diketopiperazines from the entomopathogenic fungus *Verticillium hemipterigenum* BCC 1449. **The Journal of Antibiotics**, v. 56, p. 647-651, 2003.

NILSSON, R. H.; KRISTIANSOON, E.; RYBERG, M.; HALLENBERG, N. *et al.* Intraspecific ITS variability in the kingdom Fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification. **Evolutionary bioinformatics**, v. 4, p. 653, 2008.

NUNES, H. L.; TUTTIS, K.; SERPELONI, J. M.; NASCIMENTO, J. R. D. *et al.* Characterization of the in vitro cytotoxic effects of brachydins isolated from *Fridericia platyphylla* in a prostate cancer cell line. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 83, n. 15-16, p. 547-558, 2020.

OLMSTEAD, R. G.; ZJHRA, M. L.; LOHMANN, L. G.; GROSE, S. O. *et al.* A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American journal of botany**, v. 96, n. 9, p. 1731-1743, 2009.

ORFALI, R. S.; EBRAHIM, Weam; EL-SHAFAE, Azza M. Secondary metabolites from *Alternaria* sp., a fungal endophyte isolated from the seeds of *Ziziphus jujuba*. **Chemistry of natural compounds**, v. 53, p. 1031-1034, 2017.

- PATRIARCA, A. *et al.* Secondary metabolite profiles of small-spored *Alternaria* support the new phylogenetic organization of the genus. **International Journal of Food Microbiology**, v. 291, p. 135-143, 2019.
- PAULETTI, P. M.; BOLZANI, V. d. S.; YOUNG, M. C. M. Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 641-643, 2003.
- PAULETTI, P. M.; CASTRO-GAMBOA, I.; SIQUEIRA SILVA, D. H.; YOUNG, M. C. M. *et al.* New antioxidant C-glucosylxanthones from the stems of *Arrabidaea samydoides*. **Journal of natural products**, v. 66, n. 10, p. 1384-1387, 2003.
- PAVÓN, M. Á., LUNA, A., DE LA CRUZ, S., GONZÁLEZ, I., MARTÍN, R., & GARCÍA, T. PCR-based assay for the detection of *Alternaria* species and correlation with HPLC determination of altenuene, alternariol and alternariol monomethyl ether production in tomato products. **Food Control**, v. 25, n. 1, p. 45-52, 2012.
- PAVÓN, M. Á. *et al.* Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. **Nutrición Hospitalaria**, v. 27, n. 6, p. 1772-1781, 2012.
- PETRINI, O. Fungal endophytes of tree leaves. **Microbial ecology of leaves**: Springer, 1991. p. 179-197.
- QAWASMEH, A.; OBIED, H. K.; RAMAN, A.; WHEATLEY, W. Influence of fungal endophyte infection on phenolic content and antioxidant activity in grasses: interaction between *Lolium perenne* and different strains of *Neotyphodium lolii*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 13, p. 3381-3388, 2012.
- RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). **Molecular ecology notes**, v. 7, n. 3, p. 355-364, 2007.
- REDECKER, D.; KODNER, R.; GRAHAM, L. E. Glomalean fungi from the *Ordovician*. **Science**, v. 289, n. 5486, p. 1920-1921, 2000.
- ROCHA, C. Q. d.; VILELA, F. C.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; CAVALCANTE, G. P. *et al.* Oleanane-type triterpenoid: an anti-inflammatory compound of the roots *Arrabidaea brachypoda*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 3, p. 228-232, 2015.
- ROCHA, V. P.; QUINTINO DA ROCHA, C.; FERREIRA QUEIROZ, E.; MARCOURT, L. *et al.* Antileishmanial Activity of Dimeric Flavonoids Isolated from *Arrabidaea brachypoda*. **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 1, 2019.
- RODRIGUES, K. F. The foliar fungal endophytes of the Amazonian palm *Euterpe oleracea*. **Mycologia**, v. 86, n. 3, p. 376-385, 1994.

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

RUKACHAISIRIKUL, V.; KAEOBAMRUNG, J.; PANWIRIYARAT, W.; SAITAI, P.; SUKPONDMA, Y.; PHONGPAICHT, S.; SAKAYAROJ, J. A new pyrone derivative from the endophytic fungus *Penicillium paxilli* PSU-A71. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, p. 1383-1384, 2007.

SADANANDA, T.; NIRUPAMA, R.; CHAITHRA, K.; GOVINDAPPA, M. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of endophytes from *Tabebuia argentea* and identification of anticancer agent (lapachol). **J Med Plants Res**, v. 5, n. 16, p. 3643-3652, 2011.

SAIF, M. W.; SHAH, M. M.; SHAH, A. R. Fluoropyrimidine-associated cardiotoxicity: revisited. **Expert opinion on drug safety**, v. 8, n. 2, p. 191-202, 2009.

SALGADO, C.; MORIN, H.; CORIOLANO, N.; NEFF, L. *et al.* In Vitro Anti-Inflammatory Activity in Arthritic Synoviocytes of *A. brachypoda* Root Extracts and Its Unusual Dimeric Flavonoids. **Molecules**, v. 25, n.21, p. 5219, 2020.

SATO, H.; KONOMA, K.; SAKAMURA, S.; FURUSAKI, A.; MATSUMOTO, T.; MATSUZAKI, T. X-Ray crystal structure of pyrenocine A, a phytotoxin from *Pyrenochaeta terrestris*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 45, p. 795-797, 1981.

SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V. *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. **Mycological research**, v. 109, n. 6, p. 661-686, 2005.

SHERWOOD-PIKE, M.; STONE, J. K.; CARROLL, G. C. *Rhabdocline parkeri*, a ubiquitous foliar endophyte of Douglas-fir. **Canadian Journal of Botany**, v. 64, n. 9, p. 1849-1855, 1986.

SINGH, B. K.; MACDONALD, C. A. Drug discovery from uncultivable microorganisms. **Drug discovery today**, v. 15, n. 17-18, p. 792-799, 2010.

SPARACE, S.A.; REELEDER, R.D.; KHANIZADEH, S. Antibiotic activity of the pyrenocines. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 327-330, 1987.

STAPLEY, E. O.; WOODRUFF, H. B. Avermectins, antiparasitic lactones produced by *Streptomyces avermitilis* isolated from a soil in Japan. **Trends in antibiotic research. Japan Antibiotic Research Association, Tokyo**, p. 154-170, 1982.

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

TAKEMURA, O. S.; IINUMA, M.; TOSA, H.; MIGUEL, O. G. *et al.* A flavone from leaves of *Arrabidaea chica* f. *cuprea*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1299-1300, 1995.

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

TAYLOR, T. N.; REMY, W.; HASS, H.; KERP, H. Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian. **Mycologia**, v. 87, n. 4, p. 560-573, 1995.

TOLEDO, T.R.; DEJANI, N.N.; MONNAZZI, L.G.S.; KOSSUGA, M.H.; BERLINCK, R.G.S.; SETTE, L.D.; MEDEIROS, A.I. Potent anti-inflammatory activity of pyrenocine A isolated from the marine-derived fungus *Penicillium paxilli* Ma(G)K. **Med. Inflamm**, v. 767061, 2014.

TRZOSS, L. *et al.* Seriniquinone, a selective anticancer agent, induces cell death by autophagocytosis, targeting the cancer-protective protein dermcidin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 41, p. 14687-14692, 2014.

UNTERSEHER, M.; SCHNITTLER, M. Species richness analysis and ITS rDNA phylogeny revealed the majority of cultivable foliar endophytes from beech (*Fagus sylvatica*). **Fungal Ecology**, v. 3, n. 4, p. 366-378, 2010.

UPPALA, S. S. *et al.* Plant-based culture media for improved growth and sporulation of *Cercospora janseana*. **Plant disease**, v. 103, n. 3, p. 504-508, 2019.

VELASCO-ALAZATE, K. Y. *et al.* Marine bacteria from Rocas Atoll as a rich source of pharmacologically active compounds. **Marine Drugs**, v. 17(12), n. 671, 2019.

VENNILA, R.; KAMALRAJ, S.; MUTHUMARY, J. In vitro studies on anticancer activity of fungal taxol against human breast cancer cell line MCF-7 cells. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 2, n. 1, p. 16-18, 2012.

WAHID, S.; VERSIANI, M. A.; JAHANGIR, S.; JAWAID, K. *et al.* Phytochemical and Biological Activities of *Pseudocalymma elegans*: A False Garlic. **Chemistry & biodiversity**, v.14, n. 10, p. e1700222, 2017.

WANG, F. *et al.* Secondary metabolites from *Colletotrichum capsici*, an endophytic fungus derived from *Siegesbeckia pubescens* Makino. **Natural Product Research**, v. 31, n. 16, p. 1849-1854, 2017.

WANG, Y.; ISLAM, M. A.; DAVIS, R. A.; MCALPINE, S. R. The fungal natural product (1S, 3S)-austrocortirubin induces DNA damage in HCT116 cells via a mechanism unique from other DNA damaging agents. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 2, p. 249-253, 2015.

WANI, Z. A.; ASHRAF, N.; MOHIUDDIN, T.; RIYAZ-UL-HASSAN, S. Plant-endophyte symbiosis, an ecological perspective. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 7, p. 2955-2965, 2015.

WAQAS, M.; KHAN, A. L.; LEE, I.-J. Bioactive chemical constituents produced by endophytes and effects on rice plant growth. **Journal of plant interactions**, v. 9, n. 1, p. 478-487, 2014.

WEISS, M.; SÝKOROVÁ, Z.; GARNICA, S.; RIESS, K. *et al.* Sebacinale everywhere: previously overlooked ubiquitous fungal endophytes. **PloS one**, v. 6, n. 2, 2011.

WITHERUP, K. M.; RANSOM, R. W.; GRAHAM, A. C.; BERNARD, A. M. *et al.* Martinelline and martinellie acid, novel G-protein linked receptor antagonists from the tropical plant *Martinella iquitosensis* (Bignoniaceae). **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 25, p. 6682-6685, 1995.

YANG, Z.; BAO, L.X.; YIN, Y.; DING, G.; GE, M.; CHEN, D.; QIAN, X. Pyrenocines N-O: Two novel pyrones from *Colletotrichum* sp. HCCB03289. **The Journal of Antibiotics**, v. 67, p. 791-793, 2014.

ZHANG, H.; MAO, L.-L.; QIAN, P.-T.; SHAN, W.-G.; WANG, J.-D.; BAI, H. Two new metabolites from a soil fungus *Curvularia affinis* strain HS-FG-196. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 14, p. 1078-1083, 2012.

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

ZHANG, Z.; SCHWARTZ, S.; WAGNER, L.; MILLER, W. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. **Journal of Computational biology**, v. 7, n. 1-2, p. 203-214, 2000.

ZHAO, Y. *et al.* Isocoumarin derivatives from the sponge-associated fungus *Peyronella glomerata* with antioxidant activities. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 9, p. 1186-1193, 2016.

ZORN, B.; GARCÍA-PIÑERES, A. J.; CASTRO, V.; MURILLO, R. *et al.* 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 8, p. 831-835, 2001.