

Fungos Endofíticos. Potencial para a Produção de Substâncias Bioativas

Endophytic Fungi. Potential for the Production of Bioactive Substances

Ferrara, M. A.

Instituto de Tecnologia em
Fármacos, Far-Manguinhos,
Fundação Oswaldo Cruz, Rua
Sizenando Nabuco, 100,
Manguinhos, 21041-250, Rio
de Janeiro, RJ, Brasil

Correspondência: E-mail:
ferrara@far.fiocruz.br

Unitermos

fungos endofíticos, plantas
medicinais; produtos naturais
bioativos, metabólitos
secundários.

Key words

endophytic fungi, medicinal
plants, bioactive natural
products, secondary
metabolites.

Resumo

Os microrganismos, em especial os fungos têm sido uma fonte significativa de substâncias para uso terapêutico. Os fungos endofíticos, que habitam os tecidos internos de espécies vegetais e apresentam importante interação com o hospedeiro, podem, provavelmente devido ao que parece ser a sua contribuição ao hospedeiro, produzir uma plethora de moléculas a serem explorados em medicamentos. As plantas medicinais têm sido recentemente alvos de investigações relacionadas a seus fungos endofíticos e metabólitos secundários. Além da possibilidade de produzir a mesma substância sintetizada por seus hospedeiros ou análogos bioativos, esses microrganismos são capazes de sintetizar novas moléculas com atividade antibacteriana, antifúngica, anticâncer e imunossupressora, entre outras.

Abstract

Microorganisms, in special fungi, have been a most significant source of drugs for therapeutic use. Endophytic fungi, which reside in the tissues of virtually all living plants and present important interaction with the host, because of what appears to be their contribution to the host plant, may produce a plethora of substances of potential use as medicine. Medicinal plants have been recently subject of investigations related to their endophytic fungi and their secondary metabolites. Besides the possibility of producing the same substance as the host plant or a bioactive analogous, these microorganisms may synthesize novel molecules with antibiotic, antimycotic, immunosuppressant, anticancer, and other activities.

Introdução

Os microrganismos, em especial os fungos, apresentam capacidade metabólica de produzir uma grande diversidade de moléculas bioativas e são atualmente utilizados para produzir inúmeros produtos comerciais com um mercado estimado na casa de bilhões de dólares. A comercialização de produtos terapêuticos microbianos iniciou-se com a descoberta da penicilina há 70 anos. Inicialmente empregados apenas como agentes antibacterianos, esses produtos evoluíram para os mais diferentes usos, nos quais se inclui a inibição da biossíntese de colesterol e terapias tão sofisticadas quanto de imunossupressão em pacientes transplantados (BULL et al., 1992; PEARCE, 1997; CRAGG; NEWMAN, 2001). Este avanço relaciona-se com o isolamento de novas culturas a partir de uma ampla variedade de ambientes e substratos; o atual entendimento de muitas doenças a nível bioquímico e genético, o que torna possível a

busca de metabólitos microbianos com ação direcionada para alvos específicos no metabolismo celular; o avanço recente das técnicas químicas, que tornaram o isolamento e caracterização destes compostos muito mais rápidos. Em adição, existe atualmente uma grande tendência para a produção de drogas por processos fermentativos, alicerçada pelo desenvolvimento da biologia molecular, em função de possíveis vantagens técnicas, econômicas, energéticas e ambientais. A tabela 1 apresenta alguns exemplos de produtos com atividade farmacológica obtidos

por fermentação fúngica.

Apesar da variedade de agentes terapêuticos derivados de fungos, esta é uma área com enorme potencial e em franca expansão, visto que estimativas indicam a existência de 1,5 milhões de espécies de fungos, dos quais somente 5% estão descritos na literatura (HAWKSWORTH, 1991). Mesmo esses últimos ainda não tiveram seu potencial extensivamente explorado.

Tabela 1. Exemplos de produtos fúngicos bioativos

Atividade	Produto	Fungo
Analgésico	paxisterol	<i>Penicillium</i> sp.
Antibacteriano	crisospermina cefalosporina* penicilina* sorrentanona	<i>Apiocrea chrysosperma</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> <i>Penicillium chrysogenum</i>
Antiparasitário	apicidina	<i>Fusarium</i> sp.
Antifúngico	equinocandina* griseofulvina*	<i>Aspergillus nidulans</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>
Antitumoral	taxol calfostina C ácido clavárico rizoxina	<i>Pestalotiopsis microspora</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Hypholoma sublateritium</i> <i>Rhizopus chinensis</i>
Antiviral	isocromofilonas	<i>Penicillium multicolor</i>
Controlador da síntese de colesterol	compactina mevilonina* dihidromevilonina ácido zaragózico	<i>Penicillium brevicompactum</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Aspergillus terreus</i> <i>Leptodontidium elatius</i> , <i>Sporormiella intermedi</i> , <i>Phoma</i> sp.
Estimulador da contração uterina	alcalóides ergot*	<i>Claviceps purpurea</i>
Imunomodulador	FR-901235	<i>Paecilomyces carneus</i>
Imunossupressor	ciclosporina*	<i>Tolypocladium inflatum</i> <i>Trichoderma polysporum</i>
Tratamento de problemas cardiovasculares	estachibocinas RES 1214-1/2	<i>Stachybotrys</i> sp. <i>Pestalotiopsis</i> sp.
Profilático em odontologia	mutasteína*	<i>Aspergillus terreus</i>
Tratamento de diabetes	salfredinas	<i>Crucibulum</i> sp.

* Fármacos já no mercado

Os fungos endofíticos, que habitam o espaço intercelular de espécies vegetais vivas, são relativamente pouco estudados e apresentam um grande potencial para exploração em medicina, agricultura e indústria. O presente trabalho enfoca especialmente os fungos endofíticos de plantas medicinais e seu potencial para a obtenção de produtos naturais com atividade biológica.

Fungos endofíticos

Microrganismos endofíticos são aqueles que, pelo menos durante parte de seu ciclo de vida, colonizam assintomaticamente os tecidos vivos internos de plantas. Estes organismos apresentam importante interação com a

planta hospedeira, podendo conferir-lhe aumento de resistência a herbivoria, a patógenos e a outros estresses abióticos, ou ainda melhorar sua capacidade competitiva. Em contrapartida, os endófitos podem receber proteção e nutrientes do hospedeiro (PETRINI et al., 1992; SAIKKONEN et al., 1998; STROBEL; DAISY, 2003; SELOSSE et al., 2004). Embora existam controvérsias, a definição acima de endofíticos é a mais amplamente aceita atualmente. O significado do termo endofítico tem passado por transformações ao longo das duas últimas décadas. Diversos autores consideram que a distinção entre microrganismos patógenos e mutualistas não é clara e que as interações entre microrganismo e planta hospedeira podem variar entre e dentro de populações e comunidades (PETRINI, 1986; CARROL,

1995; SAIKKONEN et al., 1998; GUNATILAKA, 2006).

Fungos e bactérias, incluindo os actinomicetos, podem existir em plantas como endófitos. Os fungos, entretanto, são os mais freqüentemente isolados (STROBEL; DAISY, 2003). Todos os vegetais superiores estudados até o momento apresentaram microrganismos endofíticos, sendo possível o isolamento de um grande número de espécies a partir de um único hospedeiro. Entretanto, somente algumas, normalmente as espécies e/ou linhagens específicas do hospedeiro, estão presentes em quantidades significativas. As pesquisas desenvolvidas na área têm demonstrado que cada hospedeiro abriga um conjunto característico de endofíticos e que os endofíticos de um dado hospedeiro são geralmente específicos. A composição e freqüência, entretanto, podem ser significativamente afetadas por fatores tais como: grau de umidade ambiental, distribuição geográfica (têm sido observadas diferenças bastante significativas na microbiota endofítica de espécies vegetais fora de seu habitat natural), posição relativa na planta (altura em relação ao solo), idade da planta, órgão da planta, entre outros (PETRINI et al., 1992; CARROL, 1995; RODRIGUES; PETRINI, 1997; SAIKKONEN et al., 1998).

Importância dos fungos endofíticos

Embora o primeiro endofítico tenha sido descoberto em 1904, os estudos sobre este grupo de microrganismos intensificaram-se a partir da década de 80, tornando cada vez mais evidente sua relevância ecológica e seu potencial para a obtenção de metabólitos com estruturas e funções biológicas diversificadas. Entre as aplicações vislumbradas para os microrganismos endofíticos, destaca-se a sua utilização como agentes no controle biológico de pragas e de ervas daninhas; a utilização como vetores para a introdução de genes de interesse em espécies de plantas economicamente importantes; produção de enzimas; e obtenção de metabólitos secundários com potencial terapêutico (PEARCE, 1997; STROBEL; LONG, 1998; GUNATILAKA, 2006).

A produção de substâncias biologicamente ativas por fungos endofíticos está relacionada à sua capacidade de sobrevivência e colonização de um micro ambiente distinto, sujeito às constantes interações metabólicas e ambientais, esta freqüentemente hostil. Nas últimas duas décadas, mais de 100 microrganismos endofíticos foram cultivados e investigados, levando à caracte-

rização química e avaliação da ação biológica de um grande número de produtos naturais, muitos dos quais apresentaram novas estruturas e interessantes atividades biológicas (GUNATILAKA, 2006).

Fungos endofíticos, biodiversidade e produtos bioativos

Dos inumeráveis ecossistemas do planeta, aqueles com maior biodiversidade são também os que têm apresentado endofíticos em maior quantidade e com maior diversidade, o que significa, em última instância, maior diversidade química. Muitos micologistas concordam que a diversidade fúngica apresenta seu ápice nas florestas tropicais (ARNOLD et al., 2000). Com relação às substâncias bioativas produzidas pelos fungos, especialmente os endofíticos, a localização geográfica parece ser também relevante. Estudos estatísticos realizados por BILLS et al. (2002) indicaram que os endofíticos de regiões tropicais provêm um número maior de moléculas ativas do que os endofíticos de clima temperado. O estudo apontou também que fungos endofíticos de regiões tropicais produzem um número maior de metabólitos secundários ativos em relação a fungos isolados de outros habitats tropicais. Algumas estratégias vêm sendo empregadas para racionalizar a busca de endofíticos interessantes em meio à miríade de plantas. Assim, as espécies vegetais para estudo têm sido selecionadas com base nos seguintes critérios: plantas de ambientes peculiares, especialmente aquelas com biologia e com estratégias de sobrevivência incomuns; plantas com histórico etnobotânico, isto é, aquelas utilizadas tradicionalmente como medicamento; plantas endêmicas, com longevidades incomuns ou então localizadas em ambientes ancestrais; plantas de ambientes com grande diversidade (STROBEL, 2002; STROBEL; DAISY, 2003).

Isolamento e identificação de microrganismos endofíticos

O isolamento de microrganismos endofíticos envolve uma etapa inicial de esterilização da superfície do tecido do hospedeiro, que tem como objetivo a eliminação da comunidade externa (epifítica) da amostra vegetal, mantendo viável a comunidade interna. Nesta etapa normalmente são utilizados produtos químicos, como etanol 70% e hipoclorito de sódio 3%, podendo ainda ser utilizados métodos físicos, como flambagem e irradiação com luz ultravioleta. Em seguida, com auxílio

de uma lâmina estéril, os tecidos externos são removidos da amostra e os tecidos internos são fragmentados e aplicados sobre meios de cultura gelificados em placas. Após incubação, as colônias microbianas são transferidas para outros meios visando a obtenção de culturas puras para posterior identificação (BACON, 1988; ARAUJO et al., 2002; STROBEL; DAISY, 2003). A identificação de fungos filamentosos baseia-se principalmente nas características morfológicas das estruturas reprodutivas sexual e assexual; podendo também se empregar técnicas de biologia molecular, como seqüenciamento de regiões espaçadoras do DNA ribossomal e comparação com uma base de dados (ARAUJO et al., 2002).

Microrganismos endofíticos de plantas medicinais

A busca por endofíticos e seus metabólitos secundários bioativos tem focado ativamente as plantas medicinais, por diversos motivos. É razoável supor que a atividade farmacológica de algumas espécies vegetais poderia estar relacionada a substâncias produzidas por fungos endofíticos ou pela planta em resposta à infecção fúngica. Desta forma, a época de colheita da planta ou o cultivo fora de seu habitat natural poderiam causar interferências em sua atividade farmacológica. Pode-se ainda inferir que plantas medicinais contenham microrganismos que mimetizem a química do hospedeiro e que sejam capazes de produzir o mesmo produto natural bioativo ou, até mesmo, derivados com maior bioatividade (STROBEL et al., 2002; STROBEL; LONG, 1998). Esta possibilidade permitiria a obtenção destes compostos por processos fermentativos, em contraposição aos processos extrativos tradicionais, com vantagens relacionadas à regularidade e uniformidade de produção e aos ganhos ambientais.

Neste contexto, é importante mencionar o taxol, a primeira droga anticâncer a alcançar um mercado mundial de um bilhão de dólares, encontrada em quantidades extremamente pequenas na casca interna de espécies de *Taxus*, árvore de crescimento lento de regiões do noroeste do Pacífico. Foram isolados, a partir dessas espécies vegetais, fungos endofíticos capazes de produzir o taxol, abrindo a possibilidade de sua obtenção por via fermentativa, com custos mais baixos e maior disponibilidade (LI et al., 1996; LI et al., 1998; STROBEL et al., 1996a,b). Posteriormente, foram descobertos outros

fungos endofíticos, isolados de plantas que não *Taxus* sp., capazes de produzir o taxol, sugerindo que esta substância, que é um fungicida, teria a função de proteger a planta hospedeira de patógenos como os fungos aquáticos oomicetos (LI et al., 1996; LI et al., 1998; STROBEL et al., 1996a,b). Outro exemplo de substância bioativa extraída de plantas e que pode ser obtida por cultivo de fungo endofítico é a podofilotoxina, sintetizada pelas espécies vegetais em extinção *Podophyllum* spp. e com aplicação como anticâncer, antiviral, antibacteriano, imunoestimulador e antireumático. Esta substância apresenta grande demanda mundial devido ao seu uso na síntese de inibidores da topoisomerase. Recentemente, foi reportado o isolamento do fungo endofítico *Trametes hirsuta* a partir de *P. hexandrum*; espécie esta que produz podofilotoxina e outras lignanas biologicamente ativas, com propriedades antioxidante, anticâncer e radioprotetora (PURI et al., 2006). São também conhecidos medicamentos tradicionais de uso popular cuja atividade é proveniente de substâncias produzidas por fungos associados a plantas, como os alcalóides "ergot", que atuam como estimuladores da contração uterina, produzidos pelo fungo *Claviceps purpurea* (BACON, 1988). Finalmente, os fungos endofíticos de plantas medicinais são, por si só, uma fonte potencial de novas substâncias para uso como agentes terapêuticos.

A consulta ao serviço de busca *Pubmed* leva a cerca de 450 artigos publicados sobre fungos endofíticos, dos quais cerca de 30% abordam os metabólitos fúngicos com respeito a sua atividade biológica. Muitos desses trabalhos enfocam especificamente a atividade biológica de metabólitos produzidos por fungos endofíticos isolados de plantas medicinais. A Tabela 2 apresenta alguns exemplos recentes. É interessante notar que grande parte dessas substâncias apresenta atividade antimicrobiana. Este comportamento, que tem sido observado também para metabólitos de endofíticos isolados de plantas não medicinais, pode estar relacionado à proteção do hospedeiro contra microrganismos fitopatogênicos (GUNATILAKA et al., 2006). A ação antitumoral também tem sido detectada com freqüência.

Pelo exposto acima, fica evidente a importância do estudo de fungos endofíticos de plantas medicinais. Especialmente para o Brasil, detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta e de vasto conhecimento etnobotânico, este é um campo

estratégico a ser explorado, pois além de contribuir para o conhecimento e o domínio da biodiversidade brasileira no que tange à sua microbiota, apresenta enorme potencial de geração de novos produtos de uso terapêutico.

As pesquisas sobre microrganismos endofíticos no Brasil foram iniciadas no começo da década de 90, no Departamento de Genética da ESALQ/USP, pelo Prof. João Lucio de Azevedo, o qual é responsável pela formação de grande parte dos pesquisadores que atuam na área no país. O Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil/Plataforma Lattes/CNPq aponta 27 grupos que desenvolvem pesquisas relacionadas a microrganismos endofíticos. Estudos voltados para substâncias bioativas com potencial

terapêutico oriundas desses microrganismos são desenvolvidos na Universidade Federal do Amazonas, Universidade Federal de São Carlos, Universidade Estadual Paulista-Araraquara, Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/RJ, Centro de Pesquisa René Rachou – FIOCRUZ/MG, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Universidade Federal da Bahia, Universidade de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo-Ribeirão Preto, Universidade Federal do Pará e Universidade Federal Fluminense; entre outros. Por tratar-se de área relativamente recém implantada, essencialmente interdisciplinar, o desenvolvimento de novos produtos sem dúvida se beneficiará de colaborações entre especialistas nas áreas de microbiologia, processos microbianos, química de produtos naturais e farmacologia aplicada.

Tabela 2 – Exemplos de bioatividade de metabólitos produzidos por fungos endofíticos isolados de plantas medicinais.

Planta Medicinal		Fungo Endofítico		Referência
Nome	Uso descrito	Nome	Bioatividade	
<i>Artemisia annua</i>	antimalárico	<i>Colletotrichum</i> sp.	antibacteriano e antifúngico	LU et al., 2000
<i>Cassia spectabilis</i>	antigripal, purgativo e laxativo	<i>Phomopsis cassiae</i>	antifúngico e antitumoral	SILVA et al., 2005
<i>Cephalataxus fortunei</i>	antileucêmico	N.I. <i>Paecilomyces</i> sp.	anticâncer antifúngico	HUANG et al., 2001
<i>Cladocolea micrantha</i>	antiinflamatório e anticâncer	<i>Guignardia</i> sp.	antibacteriano	GUIMARÃES et al., 2004
<i>Copaifera multijuga</i>	antituberculose	N.I.	antituberculose	CARVALHO et al., 2005
<i>Crassocephalum crepidioides</i>	Anti-hepatite	<i>Geotrichum</i> sp.	antimalárico	KONGSAEREE et al., 2003
<i>Cynodon dactylon</i>	antihepatite	<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>Aspergillus fumigatus</i>	anti <i>Helicobacter pylori</i> antifúngico	Ma et al., 2004 Liu et al., 2004
<i>Erythrina crista-galli</i>	antiinflamatório e neuroléptico	<i>Phomopsis</i> sp.	antiinflamatório e antimicrobiano	WEBER et al., 2004
<i>Lippia sidoides</i> ,	antimicrobiano e anti-helmíntico	<i>Alternaria alternata</i> <i>Alternaria</i> sp. <i>Glomerella</i> sp.	antibacteriano antimicrobiano antimicrobiano	ARAGÃO et al., 2002a,b
<i>Melia azedarach</i>	antiviral	<i>Penicillium janthinellum</i>	antibacteriano	MARINHO et al., 2005
<i>Palicourea</i> sp.	antitumoral	N.I.	antitumoral	ROSA et al., 2005
<i>Phoradendron</i> sp.	antitumoral	<i>Pestalotopsis</i> sp.	antibacteriano	ARAGÃO et al., 2002a
<i>Podophyllum</i> sp.	anticâncer, antiviral, antibacteriano, imunostimulador e anti-reumático	<i>Trametes hirsuta</i>	antioxidante, anticâncer e radioprotetor	PURI et al., 2006
<i>Spondias mombin</i>	antimicrobiano	<i>Guignardia</i> sp. <i>Phomopsis</i> sp. <i>Pestalotiopsis guepinii</i>	antibacterianoantifúngico	RODRIGUES et al., 2000
<i>Taxus mairei</i>	anticâncer	<i>Paecilomyces</i> sp. <i>Cephalosporium</i> sp.	anticâncer antifúngico	HUANG et al., 2001
<i>Torreya grandis</i>	antiancilostrômiase	<i>Paecilomyces</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.	anticâncer antifúngico	HUANG et al., 2001
<i>Tripterygium wilfordii</i>	imunossupressor	<i>Fusarium subglutinans</i>	imunossupressor	LEE et al., 1995
<i>Tripterygium wilfordii</i>	imunossupressor	<i>Cryptosporiopsis cf. quercina</i>	antifúngico	STROBEL et al., 1999
<i>Tripterygium wilfordii</i>	imunossupressor	<i>Rhinocladiella</i> sp.	antitumoral	WAGENAAR et al., 2000
<i>Trixis vauthieri</i>	tripanocida	N.I.	tripanocida	PEREIRA et al., 2005

N.I. = Não Identificado.

Referências

1. ARAGÃO, T.V.G.; FREITAS, A.; FERRARA, M.A.; SIANI, A.C.; BEHRENS, M.D. Atividade antimicrobiana de metabólitos obtidos por fermentação de fungos endofíticos de *Lippia sidoides* e *Phoradendron* sp. *Anais da III Bial de Pesquisa da FIOCRUZ*,

Fundação Oswaldo Cruz. p.301, 2002a.

2. ARAGÃO, T.V.G.; FREITAS, A.; FERRARA, M.A.; SIANI, A.C. Isolamento de microrganismos endofíticos de *Lippia sidoides* e avaliação da atividade antimicrobiana de metabólitos obtidos por fermentação. XVII Simpósio Brasileiro de Plantas Medicinais.

Universidade de Mato Grosso, 2002b.

3. ARAÚJO, W.L.; LIMA, A.O.S.; AZEVEDO, J.L.; MARCON, J.; SOBRAL, J.K.; LAÇAVA, P.T. *Manual: Isolamento de microrganismos endofíticos*. Departamento de Genética, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, Piracicaba, SP, 86 p., 2002.
4. ARNOLD, A.E.; MAYNARD, Z.; GILBERT, G.S.; COLEY, P.D.; KURSAR, T.A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters* v.3, n.4, p.267-274, 2000.
5. BACON, C. W. Procedure for isolating endophytic from tall fescue and screening isolates for ergot alkaloids. *Applied and Environmental Microbiology* v.54, n.11, p.2615-2618, 1988.
6. BILLS, G.; DOMBROWSKI, A.; PELAEZ, F.; POLISHOOK, J.; AN, Z. Recent and future discoveries of pharmacologically active metabolites from tropical fungi. In: WATLING, R.; FRANKLAND, J. C.; AINSWORTH, A. M.; ISSAC, S.; ROBINSON, C. H. (ed.) *Tropical Mycology: Micromycetes*, vol. 2. CABI Publishing, New York, p.165-194, 2002 apud *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v.67, n.4, p.491–502, 2003.
7. BULL, A. T.; GOODFELLOW, M.; SLATER, J.H. Biodiversity as a source in innovation in biotechnology. *Annual Review of Microbiology*, v.46, p.219-258, 1992.
8. CARROL, G. Forest endophytic: Pattern and process. *Canadian journal of Botanic.* v.73, n.1, p.1316-1324, 1995.
9. CARVALHO, C.M.; SALEM, J.I.; ASTOLFI FILHO, S. Bioativos com antagonismo para *Mycobacterium tuberculosis* em microrganismos endofíticos da Amazônia. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2005.
10. CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J. Medicinals for the millennia: the historical record. *Annals of the New York Academy of Science*, v.953, p.3-25, 2001.
11. GUIMARÃES, A.C., SARKIS, M.I, AMARAL, A.C.F., SIANI A.C., KUSTER, R.M. Isolamento de fungos endofíticos das espécies vegetais da Amazônia *Cladocolea micrantha* e *Anacardium occidentale*. IV Congresso Brasileiro de Micologia. Ouro Preto, MG, Livro de Resumos AGR 031, 2004.
12. GUNATILAKA, A.A.L. Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of Natural Products*, v.69, p.509-526, 2006.
13. HAWKSWORTH, D.L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycology Research* v.95, p. 641-655, 1991.
14. HUANG, Y.; WANG, J.; LI, G.; ZHENG, Z.; SU, W. Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v.31, n.2, p.163-7, 2001.
15. KONGSAEREE, P.; PRABPAI, S.; SRIUBOLMAS, N.; VONGVEIN, C.; WIYAKRUTTA, S. Antimalarial dihydroisocoumarins produced by *Geotrichum* sp., an endophytic fungus of *Crassocephalum crepidioides*. *Journal of Natural Products*, v.66, p.709-711, 2003.
16. LEE, J.; LOBKOVSKY, E.; PLIAM, N.B.; STROBEL, G.A.; CLARDY, J. Subglutinols A and B: immunosuppressive compounds from the endophytic fungus *Fusarium subglutinans*. *Journal of Organic Chemistry*, v.60, p.7076-7077, 1995.
17. LI, J.Y.; STROBEL, G.; SIDHU, R.S.; HESS, W.M.; FORD, E.J. Endophytic taxol producing fungi from bald cypress, *Taxodium distichum*. *Microbiology*, v.142, p.2223-2226, 1996.
18. LI, J.Y.; SIDHU, R.S.; BOLLON, A. STROBEL, G. Stimulation of taxol production in liquid cultures of *Pestalotiopsis microspora*. *Mycology Research*, v.102, n.4, p.461-464, 1998.
19. LIU, J.Y.; SONG, Y.C.; ZHANG, Z.; WANG, L.; GUO, Z.J.; ZOU, W.X.; TAN, R.X. *Aspergillus fumigatus* CY018, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon* as a versatile producer of new and bioactive metabolites. *Journal of Biotechnology*, v.114, n.3, p.279-287, 2004.
20. LU, H; ZOU, WX; MENG, J.C.; HU, J.; TAN, R.X. New antibiotic metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science*, v.151, p.67-73, 2000
21. MA, Y.M.; LI, Y.; LIU, J.Y.; SONG, Y.C.; TAN, R.X. Anti-*Helicobacter pylori* metabolites from *Rhizoctonia* sp. Cy064, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon*. *Fitoterapia*, v.75, n.5, p.451-456, 2004.
22. MARINHO, A.M.R.; RODRIGUES-FILHO, E.; MOITINHO, M.L.R.; SANTOS, L.S. Biologically active polyketides produced by *Penicillium janthinellum* isolated as an endophytic fungus from fruits of *Melia azedarach*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.16, n.2, p.280-283, 2005.
23. PEARCE, C. Biologically active fungal metabolites. *Advances in Applied Microbiology*, v.44, p.1-80, 1997.
24. PEREIRA, N.O.; ROSA, L.H.; TEIXEIRA, L.C.R.S.; ALVES, T.M.A.; ZANI, C.L.; ROSA, C.A. Fungos endofíticos associados a planta *Trixis vauthieri* (Asteraceae) produtores de substâncias tripanosomicidas. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2005.
25. PETRINI, O. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. In *Microbiology of the Phyllosphere*. Fokkema, N. J. & Van den Heuvel (eds.), Cambridge University Press, 1986.
26. PETRINI, O.; SIEBER, T.N.; TOTI, L.; VIRET, O. Ecology, metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins*, v.1, p.185-196, 1992.
27. PURI, S.C.; NAZIR, A. CHAWLA, R.; ARORA, R.; RIYAZ-UL-HASAN, S.; AMNA, T.; AHMED, B.; VERMA, V.; SINGH, SHIKHA.; SAGAR, R.; SHARMA, A.; KUMAR, R.; SHARMA, R.K.; QAZI, G.N. The endophytic fungus *Trametes hirsuta* as a novel alternative source of podophyllotoxin and related aryl tetralin lignans. *Journal of Biotechnology*, 2006. Em publicação. (disponível em <http://www.sciencedirect.com/>)
28. RODRIGUES, K.F.; PETRINI, O. Biodiversity of endophytic fungi in tropical regions. In: *Diversity of tropical microfungi*. Hyde, K. D. (ed.), University of Hong Kong press. p.57-69, 1997.
29. RODRIGUES, K.F.; HESSE, M.E WERNER, C. Antimicrobial

activities of secondary metabolites produced by endophytic fungi from *Spondias monbin*. *Journal of Basic Microbiology*, v.40, p.261-267, 2000.

30. ROSA, L.H.; VAZ, A.B.M.; ALVES, T.M.A.; ROMANHA, A.J.; RABELLO, A.L.T.; ROSA, C.A.; ZANI, C. L. Atividade tripanosomicida de fungos endofíticos da planta *Palicourea* sp. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2005.

31. SAIKKONEN, K.; FAETH, S.H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T.J. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.29, p.319-345, 1998.

32. SELOSSE, M.-A.; BAUDOIN, E.; VANDENKOORNHUYSE, P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *Comptes Rendus Biologies* v.327, p.639-648, 2004.

33. SILVA, G.H.; TELES, H.L.; TREVISAN, H.C.; YOUNG, M.C.M.; PFENNING, L.H.; EBERLIN, M.N.; HADDAD, R.; BOLZANI, V.S.; ARAÚJO, A.R. Antifungal metabolites produced by the endophytic fungus *Phomopsis cassia* isolated from *Cassia spectabilis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.16, n.6B, p.1463-1466, 2005

34. STROBEL, G.; HESS, W. M.; FORD, E.; SIDHU, R. S.; E YANG, X. Taxol from fungal endophytes and the issue of biodiversity. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v.17, n.5-6, p.417-424, 1996a.

35. STROBEL, G.; YANG, X. SEARS, J. KRAMER, R.; SIDHU, R. S. E HESS, W. M. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallachiana*. *Microbiology*, v.142, p.435-440, 1996b.

36. STROBEL, G.; LONG, D. M. Endophytic microbes embody pharmaceutical potencial. *ASM News*, v.64, n.5, p.263-268, 1998.

37. STROBEL, G.A; MILLER, R.V.; MARTINEZ-MILLER, C.; CONDRON, M.M.; TEPLow, D.B.; HESS, W.M. Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Microbiology*, v.145, p.1919-26, 1999.

38. STROBEL, G.A. Rainforest endophytes and bioactive products. *Critical Reviews in Biotechnology*, v.22, n.4, p.315-333, 2002.

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

40. WAGENAAR, M.M; CORWIN, J.; STROBEL, G.; CLARDY, J. Three new cytochalasins produced by an endophytic fungus in the genus *Rhinochadiella*. *Journal of Natural Products* v.63, n.12, p.1692-1695, 2000.

WEBER, D.; STERNER, O.; ANKE, T.; GORZALCZANCY, S.; MARTINO, V.; ACEVEDO, C. Phomol, a new antiinflammatory metabolite from an endophyte of the medicinal plant *Erythrina crista-galli*. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, v.57, n.9, p.559-563, 2004.