



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ISNAELIA GONÇALVES LEITE

**FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE *Bauhinia cheilantha* (BONG.) STEUD.
LEGUMINOSAE, NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

Serra Talhada – PE

2019

ISNAELIA GONÇALVES LEITE

**Fungos endofíticos em *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud. Leguminosae, no
semiárido pernambucano**

Monografia apresentada como requisito
obrigatório para obtenção do grau de
Bacharela em Ciências Biológicas da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra

Orientadora: Profa. Cynthia Maria Carneiro Costa

Serra Talhada-PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada - PE, Brasil.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

184f LEITE, ISNAELIA GONÇALVES
FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE *Bauhinia cheilantha* (BONG.) STEUD. LEGUMINOSAE, NO
SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO / ISNAELIA GONÇALVES LEITE. - 2019.
46 f. : il.

Orientador: CYNTHIA MARIA CARNEIRO COSTA.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2019.

1. Mutualismo. 2. Endófitos. 3. Plantas Medicinais. 4. Atividade Antimicrobiana. 5. Caatinga. I. COSTA,
CYNTHIA MARIA CARNEIRO, orient. II. Título

CDD 574

**Fungos endofíticos em folhas de *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud.
Leguminosae, no semiárido pernambucano**

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada como requisito para a obtenção do grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Cynthia Maria Carneiro Costa (Orientadora)
(UAST/ UFRPE)

Prof. Ana Luiza da Silva (1º Titular)
(UAST/ UFRPE)

Prof. André Laurênio de Melo (2º Titular)
(UAST/ UFRPE)

Serra Talhada- PE

2019

DEDICATÓRIA

A minha família:

O bem mais precioso que alguém pode ter.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, autor e consumidor da minha vida, por sua ajuda e oportunidades concedidas. Fazendo-me acreditar que tudo posso, Naquele que me fortalece.

A minha família, por todo apoio constante. A vocês devo tudo que sou hoje. Nos ensinamentos da vida, foram mais que mestres. Agradeço aos passos apoiados na infância, aos conselhos proferidos na adolescência e aos ensinamentos por toda minha vida.

Ao meu noivo Isaac Lima, que esteve comigo desde o princípio dessa jornada, por todo seu amor e compreensão.

A UFRPE/UAST pela vaga concedida e pela oportunidade da realização desse trabalho, em especial a todos os professores e funcionários que formam essa unidade.

A Eliete Pereira e toda sua família, que me acolheram em sua casa durante um ano ao ingressar na graduação, vocês foram fundamentais para concretização desse sonho, serei eternamente grata por isso.

A professora Virgínia Siqueira que esteve comigo no princípio desse trabalho e durante parte dele, transcendendo à orientação acadêmica, me apoiando nos momentos mais difíceis de minha graduação, onde muitas vezes fez um papel de mãe para mim. Obrigada por tanto.

Aos professores André Lima e Ana Luíza por todo o apoio, por todos os conselhos e pela amizade construída ao decorrer desses anos.

A Ruth Rodrigues por sua paciência em ter me ensinado os primeiros passos no laboratório, por toda ajuda, companheirismo e amizade.

A Andressa Nicácio que sempre me ajudou em tudo, dentro ou fora da universidade, foi como um pilar para a concretização desse curso, sou muito grata por sua amizade.

A todos os meus colegas de turma, especialmente aqueles que construímos uma linda amizade: Aline, Aliny, Amanda, Denilma, Fabiana e Hugo.

A todos que compõe/compuseram o Laboratório de Pesquisa, Ensino e Extensão em Microbiologia (LAPEMI), em especial a Larissa Santos, por toda amizade e apoio durante minha vida acadêmica.

A professora Cynthia Costa por aceitar me orientar após professora Virgínia entrar de licença, por sua paciência e contribuição para que esse trabalho fosse concretizado.

A Francileide, Tainá e Viviane, meninas incríveis a qual tive a oportunidade de compartilhar um pouco de minha vida com elas, convivendo por meses e até mesmo anos sob o mesmo teto. Levarei vocês pra sempre comigo.

Ao PET Biologia/UAST pela bolsa concedida, mas mais do que isso, pela oportunidade de conviver e trabalhar com pessoas incríveis, que me ajudaram a enfrentar meus medos e superar minhas dificuldades. Foram como uma família pra mim durante esses quase três anos que faço parte do grupo. Uma vez Petiana, sempre Petiana!

A todos que colaboraram para realização desse trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

Fungos endofíticos são microrganismos que estão presentes nas plantas podendo colonizar de forma inter ou intracelular vários órgãos, estabelecendo uma relação mutualista com o hospedeiro. Podem se associar a diferentes espécies de plantas, inclusive as medicinais, produzindo metabólitos secundários de interesse biotecnológico como os antibióticos. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi isolar e identificar taxonomicamente os fungos endofíticos presentes em folhas de *Bauhinia cheilantha* (pata-de-vaca, mororó) coletadas no semiárido pernambucano, bem como, avaliar composto com potencial antimicrobiano. Após coleta aleatória das folhas e desinfecção, realizou-se o repique de 140 fragmentos das mesmas, para isolamento dos endofíticos em 20 placas de Petri contendo meio Ágar Sabouraud, destas, 10 placas permaneceram em temperatura ambiente e 10 foram armazenadas em estufa à 30°C durante cinco dias. Em seguida, foram realizados repiques para isolamento em cultura pura durante sete dias. Foram obtidos 30 isolados de fungos endofíticos, dos quais 17 foram submetidos ao teste de atividade antimicrobiana em meio sólido ágar Mueller Hinton frente a bactérias potencialmente patógenas. Não foi observada atividade antimicrobiana nas condições testadas, entretanto, cinco gêneros foram identificados: *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp., *Colletotrichum* sp., *Nigrospora* sp. e *Drecheslera* sp., os quais constituem o primeiro relato, até o momento, de fungos endofíticos presentes em *B. cheilantha* para Semiárido pernambucano.

Palavras-Chaves: Mutualismo, Endófitos, Plantas Medicinais; Atividade Antimicrobiana, Caatinga.

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms that are present in plants and can colonize inter or intracellular various organs, establishing a mutualist relationship with the host. They can be associated with different plant species, including medicinal ones, producing secondary metabolites of biotechnological interest such as antibiotics. Therefore, the objective of this work was to isolate and taxonomically identify the endophytic fungi present in leaves of *Bauhinia cheilantha* (cowpaw, mororó) collected in Pernambuco semiarid, as well as to evaluate compound with antimicrobial potential. After random leaf collection and disinfection, 140 fragments were removed to isolate the endophytes in 20 Petri dishes containing Sabouraud Agar medium. Of these, 10 plates were kept at room temperature and 10 were stored in a greenhouse at 30 ° C for five days. Subsequently, isolation peaks were performed in pure culture for seven days. Thirty isolates of endophytic fungi were obtained, of which 17 were submitted to the antimicrobial activity test in Müller Hinton agar solid medium against potentially pathogenic bacteria. No antimicrobial activity was observed under the tested conditions, however, five genera were identified: *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp., *Colletotrichum* sp., *Nigrospora* sp. and *Drecheslera* sp., which constitute the first report, so far, endophytic fungi present in *B. cheilantha* for Pernambuco semiarid.

Keyword: Mutualism, Endophytes, Medicinal Plants; Antimicrobial Activity, Caatinga.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Procedimento de desinfecção superficial das folhas de <i>Bauhinia cheilantha</i> .	23
Figura 2. Endofíticos semeados em Ágar Sabouraud. As setas indicam o crescimento inicial após 24 horas de incubação.	24
Figura 3. Fungos endofíticos isolados de folhas de <i>Bauhinia cheilantha</i> em Ágar Sabouraud (SAB) no Semiárido, Serra Talhada-PE. (A) 30°C e (B) temperatura ambiente.	26
Figura 4. Cultura de <i>Alternaria</i> sp. em Agar Sabouraud após 7 dias de incubação a 30 °C. (A) Características macroscópicas: crescimento lento, com micélio algodinoso e amarronzado, (B) Características microscópicas: conídio de em forma de clava ou pera invertida, ovoides ou elipsoides, a seta mostra um dos septos longitudinais.	27
Figura 5. Cultura de <i>Bipolaris</i> sp. em Agar Sabouraud após 7 dias de incubação a 30 °C. A) Características macroscópicas: crescimento lento, com micélio algodinoso e amarronzado. B) Características microscópicas: conídio simpodial alongado com células no interior exibindo de três a quatro pseudoseptos perceptíveis.	27
Figura 6. Cultura de <i>Colletotrichum</i> sp. em Agar Sabouraud após 7 dias de incubação a 30 °C. A) Características macroscópicas: crescimento rápido, colônia com gotículas portando micélio algodinoso e embranquiçado. B) Características microscópicas: conídios desagregados em forma ovóide.	28
Figura 7. Cultura de <i>Nigrospora</i> sp. em Agar Sabouraud após 7 dias de incubação a 30 °C. A) Características macroscópicas: crescimento rápido, com micélio algodinoso e castanho. B) Características microscópicas: hifas septadas, conidióforo hialino com conídios globosos.	28
Figura 8. Cultura de <i>Drecheslera</i> sp. em Agar Sabouraud após 7 dias de incubação a 30 °C. (A) Características macroscópicas: crescimento lento, com micélio algodinoso e amarronzado, (B) Características microscópicas: demáceo com hifas septadas castanhas e conídios alongados.	29
Figura 9. Teste antimicrobiano realizado em Ágar Muller Hinton evidenciando ausência de halo de inibição frente às cepas bacterianas testadas: A) <i>Salmonella</i> sp.; B) <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; C) <i>Bacillus subtilis</i> ; D) <i>Escherichia coli</i> .	31

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Exemplos de metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos.	18
Tabela 2. Bactérias utilizadas no teste de Atividade Antimicrobiana.	25

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Fungos endofíticos	15
2.2 Fungos endofíticos e suas aplicações biotecnológicas	16
2.3 Fungos endofíticos de plantas do semiárido pernambucano	19
2.4 Resistência bacteriana a antibióticos	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Isolamento dos endofíticos	23
3.2 Purificação dos isolados	24
3.3 Identificação dos endofíticos	24
3.4 Microrganismos Teste	25
3.5 <i>Screening</i> da atividade antimicrobiana	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 <i>Screening</i> da atividade antimicrobiana	31
5. CONCLUSÕES	34
6. REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

Ultimamente grande relevância vem sendo dada aos microrganismos associados às plantas, principalmente os endofíticos (OLIVEIRA, 2010). Estima-se que cada espécie de planta apresente um ou diversos microrganismos endofíticos ainda não descobertos (SANTOS *et al.*, 2013) e considerando a grande biodiversidade da flora brasileira, parte desses ainda não foram explorados (PEIXOTO-NETO *et al.*, 2002). Fungos endofíticos colonizam intercelularmente tecidos vegetais sadios, durante todo seu ciclo de vida ou parte dele sem causar doença, apresentando assim uma relação mutualista com seu hospedeiro (PETRINI, 1991; SCHULZ & BOYLE, 2005). Podem ser utilizados como mecanismo de defesa contra predadores, estabelecendo uma relação mútua com o processo reprodutivo de algumas espécies vegetais, ou serem sintetizados para desenvolver funções biológicas específicas com a espécie que está associado. Esses metabólitos são essenciais para a regulação, equilíbrio e sobrevivência fúngica (LIMA *et al.*, 2017). A interação entre fungo e hospedeiro é benéfica para ambos, uma vez que, os fungos endofíticos se beneficiam pela nutrição e pela proteção conferidos pelo hospedeiro, proporcionam às plantas tolerância ao estresse biótico (herbivoria, insetos e ataques de outros patógenos) e abiótico (radiação, seca, salinidade, metais pesados e outros) (Aly *et al.* 2011), bem como, estimulam a produção de uma variedade de substâncias bioativas as quais apresentam potencial para o uso na medicina, agricultura e na indústria (AZEVEDO, 1999. Vários desses metabólitos já foram investigados quanto à sua composição química e atividade biológica, sendo encontradas frequentemente novas estruturas com inúmeras atividades biológicas (GUNATILAKA, 2006).

São diversos os metabólitos de origem fúngica que podem apresentar atividade biológica, destacando-se aqueles com atividade antibacteriana e antifúngica (Li *et al.*, 2001), de extrema importância para a indústria farmacêutica (BRADY *et al.*, 2000). Esses antimicrobianos são metabólitos secundários sintetizados pelos fungos por meio de estímulos em suas células com várias reações bioquímicas, podendo ser vista como uma estratégia para que consigam sobreviver ao meio em que foram expostos (NASCIMENTO *et al.*, 2014). Os metabólitos secundários bioativos de fungos endofíticos têm representado diversas classes químicas, incluindo alcalóides, flavonoides, fenilpropanóides, ligninas, peptídeos, esteroides, xantonas, fenóis,

isocumarinas, quinonas, terpenóides, citocalasinas, compostos alifáticos e clorados (SCHULZ, 2015).

Estudos mostram a aplicabilidade de diversos metabólitos secundários de fungos endofíticos frente a microrganismos patogênicos (GUNATILAKA, 2006). É recorrente o surgimento de bactérias resistentes a fármacos já existentes no mercado, sendo esta uma das principais consequências do uso indiscriminado de antibióticos (VENTOLA, 2015). Portanto, a pesquisa e extração de metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos, como os antimicrobianos, se mostram de grande interesse e importância, não só para a indústria e biotecnologia, mas também para a sociedade em geral. Aproximadamente 80% da população mundial usam plantas como recursos terapêuticos, devido as suas propriedades quanto à produção de compostos naturais diversos, sendo os endofíticos os maiores responsáveis por essa produção (Soares *et al.*, 2017).

Bauhinia cheilantha, conhecida popularmente como mororó ou pata de vaca, é uma leguminosa arbustiva e perene, chegando a atingir aproximadamente 4 m de altura, caule duro, com cascas fibrosas e com ausência de espinhos, possui folhas bilobadas, flores em cachos, e fruto do tipo legume contendo muitas sementes (LORENZI; MATOS, 2008). Suas folhas apresentam algumas propriedades medicinais, como ação antiinflamatória, antiglicêmica, sedativa, antiparasitária, digestiva e expectorante, bem como são comprovadas cientificamente com atividade antioxidante, anticonceptiva e hipoglicemiante (LORENZI; MATOS, 2008). Foram isoladas do extrato etanólico diversas classes de compostos orgânicos de interesse medicinal: alcalóides, antraquinonas, esteróides livres, flavonas, flavonóides e xantonas (folhas, madeira e raízes), fenóis (caule, folha), flavononas (caule, raiz) (LUNA *et al.*, 2005).

Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi isolar, purificar e identificar taxonomicamente os fungos endofíticos presentes em folhas de *Bauhinia cheilantha* coletadas no semiárido pernambucano, bem como, avaliar o seu potencial como fonte de compostos com atividades biológicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fungos endofíticos

Os microrganismos endofíticos são descritos desta forma por colonizarem o interior de tecidos vegetais em pelo menos uma fase do seu ciclo de vida, sem causar nenhum dano ao hospedeiro, estabelecendo uma relação mutualística com o mesmo (PETRINI, 1991). Esta constante interação, associada a fatores abióticos tanto para a planta como para o fungo, resulta na produção de metabólitos em resposta às condições adversas do meio (PUTZTAHELYI *et al.*, 2015). Estes compostos podem ter aplicações biotecnológicas, uma vez que são biologicamente ativos como por exemplo as enzimas (Santos e Varavallo, 2011) aminoácidos, vitaminas, antibióticos, pigmentos (Demain, 1992; Pimentel *et al.*, 2011), agentes antitumorais (Wang *et al.*, 2000), fitohormônios (Alexopoulos, 1996), anti-helmínticos e antifúngicos (CRAGG *et al.*, 2005).

O termo endófitos ou endofíticos foi empregado primeiramente por Bary em 1866 que se referia a qualquer microrganismo que vive nos tecidos vegetais, diferenciando-se dos epifíticos que vivem na sua superfície (RIBEIRO, 2015). Todavia, quando essa interação planta-fungo torna-se desequilibrada podem aparecer alguns sintomas de doenças ou o fungo é excluído pelas reações de defesa da planta (ASSUNÇÃO 2010 apud KOGEL *et al.*, 2006).

Os fungos endofíticos são transmitidos para um hospedeiro de forma horizontal ou vertical. A forma horizontal acontece quando os fungos são transmitidos por meio de esporos presentes no solo ou ar, já a vertical acontece quando os esporos são disseminados de uma planta hospedeira para outra via sementes (HODGSON *et al.*, 2014). Vivem no interior das plantas e podem ser encontrados em diversos locais da mesma, desde a parte aérea como folhas e caules até nas partes radiculares da vegetação (AZEVEDO, 1998). As folhas constituem porta de entrada para os endofíticos, e essa via vai depender da diferenciação do micélio que penetra no tecido por força mecânica (ASSUNÇÃO, 2010). Dentro do hospedeiro eles podem ficar no mesmo lugar da entrada ou disseminarem-se pelo sistema vascular (ASSUNÇÃO, 2010 apud ZINNIEL *et al.*, 2002).

A partir do descobrimento do primeiro endofítico, surgiu muita curiosidade em relação à exploração de substâncias sintetizadas por eles (POLONI, 2014).

Inicialmente existia grande confusão sobre o verdadeiro papel desses microrganismos, acreditava-se que eles causavam sérios prejuízos as plantas e eram considerados patógenos, uma vez que reduziam sua produtividade (MACHADO 2009). Porém, esses fungos não causam nenhum tipo de dano ao hospedeiro, ao contrário, eles os beneficiam, pois combatem microrganismos fitopatogênicos, insetos invasores ou herbívoros (ORLANDELLI *et al.*, 2011). Essa interação simbiótica provoca uma melhoria na morfologia vegetal, pois estimula a produção de metabólitos e antimicrobianos (NUNES *et al.*, 2018). Desta forma, esses microrganismos podem garantir a preservação dos seus hospedeiros, devido ao fato de produzirem vários metabólitos funcionais que podem ser encontrados ou isolados em pequenos tecidos vegetais (PRINCE, 2008).

Os fungos endofíticos se destacam por constituírem uma fonte inestimável para a produção de novas moléculas bioativas, evidenciando aquelas com atividades antimicrobianas (TAN & ZOU, 2001). Souza *et al.* (2004), isolaram 79 linhagens de endofíticos de plantas tóxicas da Amazônia, onde 19 isolados inibiram um ou mais dos microrganismos-teste, dentre os quais: *Colletotrichum* sp., *Guignardia* sp., *Aspergillus niger* e *Trichoderma* sp. apresentaram-se mais eficazes quanto ao seu potencial antimicrobiano.

2.2 Fungos endofíticos e suas aplicações biotecnológicas

O estudo dos fungos endofíticos tem grande relevância devido a sua potencialidade biológica, econômica e ecológica (ASSUNÇÃO, 2010). Os produtos naturais por eles produzidos correspondem a cerca de 80% do total de compostos biologicamente ativos de origem microbiana relatados (SOARES *et al.*, 2017). Por exemplo, os endofíticos podem apontar características de interesse expressas pela produção de antibióticos, antitumorais, hormônios e enzimas (LIMA *et al.*, 2017). Essa produção pode ser influenciada pelas condições ambientais e estado fisiológico do hospedeiro, pois alteram o meio em que os fungos se encontram levando-os a produzirem novos compostos, a fim de se adaptarem ao novo ambiente (WENZEL *et al.*, 2013, apud AZEVEDO *et al.*, 2002). Sabe-se que 80% dos fungos endofíticos produzem metabólitos e essa produção em laboratório pode ser influenciada por

parâmetros de fermentação, tempo, temperatura, pH e nutrientes (SPECIAN *et al.*, 2014).

Esses fungos são capazes de sintetizar vários metabólitos secundários com estruturas químicas altamente diversificadas, e esses compostos não são essenciais para o desenvolvimento dos mesmos, mas ajudam na adaptabilidade vegetal desempenhando papel de defesa ou sinalizações em interações ecológicas (FREIRE *et al.*, 2014). Porém, essas substâncias podem ser altamente tóxicas como as micotoxinas, ou bastante vantajosas devido à utilização como fármacos empregados no tratamento de algumas patologias (SOARES *et al.*, 2015). Esses metabólitos em sua maioria, uma vez isolados e caracterizados possuem potencial tanto na medicina quanto na agricultura e indústria (MOMESSO, 2008).

Algumas espécies que produzem metabólitos secundários, como o diterpenóide taxol possui função anticancerígena, antifúngica e antioxidante (SANTOS *et al.*, 2008 apud SUMMEREL *et al.*, 1998; STROBEL *et al.*, 2002). Com a descoberta que os fungos endófitos sintetizavam o taxol, surgiu à produção desse fármaco em grande escala, pois tornou-se um processo mais eficiente e menos dispendioso (NETO *et al.*, 2003). Podendo sintetizar benzoxazinomas, uma classe de fitoanticipinas que apresentam atividades antibacterianas, antifúngicas e inseticidas (BORGES, 2008). Outra substância produzida por esses microrganismos são os policetídeos, derivados do chiquimato, terpenos, esteroides, alcaloides e peptídeos, normalmente dotados de atividade antimicrobiana e citotóxica (BORGES *et al.*, 2009). Estudos realizados por Sebastianes (2013) comprovam a atividade antimicrobiana do ácido 3-hidroxiopropiônico proveniente do fungo endofítico *Diaporthe phaseolorum* obtidos dos galhos de *Laguncularia racemosa* contra linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhi*.

Dessa forma, novos antibióticos, antimicóticos, imunossupressores e compostos anticâncerígenos podem ser desenvolvidos a partir do isolamento e cultivo dos endofíticos individualmente, seguido de purificação e caracterização de alguns dos seus produtos naturais (STROBEL *et al.*, 2004). A vantagem dos metabólitos microbianos é possuir ação direcionada para alvos específicos no metabolismo celular, e com o avanço das tecnologias químicas, isolamento e caracterização destes compostos, esse trabalho ficou muito mais rápido (FERRARA, 2006).

Os fungos endofíticos compõem um dos grupos de organismos menos explorados mesmo apresentando vários metabólitos funcionais com diferentes

aplicações (FREIRE *et al.*, 2014). Alguns dos compostos produzidos, com atividades conhecidas, encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1. Exemplos de metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos.

Metabólito	Endofítico	Planta	Ação do metabólito	Referência
Ácido pilifórmico e 5-carboximeleina	<i>Xylaria adscendens</i>	<i>Gustavia</i> sp.	Citotóxico	ALMEIDA, 2014.
Ácidos graxos	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Gustavia</i> sp.	Citotóxico	ALMEIDA, 2014.
Ácidos fenilacético e 4-metoxifenilacético	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Gustavia</i> sp.	Citotóxico	ALMEIDA, 2014.
Ácidos fusárico e fenilacético	<i>Nectria setofusariae</i>	<i>Gustavia</i> sp.	Citotóxico	ALMEIDA, 2014.
Trichodermina	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Ilex cornuta</i>	Antibiótico	CHEN <i>et al.</i> , 2014.
Ácido 2-hexilideno-3-metilbutanodióico, citocalasina B e D, 7-declorogriseofulvina e griseofulvina	<i>Xylaria</i> sp.	<i>Palicourea arcgravi</i>	Antifúngico	CAFÊU <i>et al.</i> , 2005.
Fomenona	<i>Xylaria</i> sp.	<i>Piper aduncum</i>	Antibiótico	SILVA <i>et al.</i> , 2010.
Álcoois triterpênicos α - e β -amirina	<i>Gignardia mangiferae</i>	<i>Cladocolea micrantha</i>	Antimicrobiano	GUIMARÃES <i>et al.</i> , 2009.
Álcoois triterpênicos α - e β -amirina	<i>Paecilomyces Clavisporus</i>	<i>Cladocolea micrantha</i>	Antimicrobiano	GUIMARÃES <i>et al.</i> , 2009.
Chokols	<i>Epichloe typhina</i>	<i>Phleum pratense</i>	Fungicida	YOSHIHARA <i>et al.</i> , 1985.
Terpenoídicos	<i>Papulospora imersa</i>	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	Citotóxica	GALLO <i>et al.</i> , 2007.
1,6,8-tri-hidroxi-3-hidroximetil-antraquinona	<i>Penicillium janthinellum</i>	<i>Melia azedarach</i>	Antibacteriano	MARINHO <i>et al.</i> , 2005.
3-metil-1-butanolacetato, 1-octen-3-ol, β -cedreno	<i>Penicillium commune</i>	<i>Olea europaea</i>	Antimicrobiano	MALHADAS, 2014.
3-metil-1-butanol e fenil-etil álcool	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Olea europaea</i>	Antimicrobiano	MALHADAS, 2014.
Phomopsi-chalasina	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Salix gracilostyla</i>	Bactericida, Fungicida, Antiviral e Anti-inflamatório	HORN <i>et al.</i> , 1995.
Paclitaxel (taxol)	<i>Taxomyces andreanae</i>	<i>Taxus brevifolia</i>	Anticancerígeno	STIERLE <i>et al.</i> , 1993.

-	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Olea</i> sp.	Antimicrobiano	PEREIRA, 2013.
Ácido Colletotrico	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Artemisia mongolica</i>	Bactericida e Fungicida	ZOU <i>et al.</i> , 2000.

2.3 Fungos endofíticos de plantas do semiárido pernambucano

O semiárido brasileiro é detentor de riqueza de espécies, das quais muitas são endêmicas da região. Apesar de ainda ser pouco explorado, organismos como os fungos endofíticos ganham a atenção dos pesquisadores por produzirem biomoléculas que podem ser utilizadas na biotecnologia (SANTOS, 2012).

Em pesquisa realizada por Silva *et al.*, (2018) testou-se a capacidade antimicrobiana de fungos endofíticos extraídos de 10 plantas do semiárido do estado de Alagoas frente à *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosae* *Staphylococcus aureus*. Foi possível verificar a ação antagônica dos fungos extraídos de *Schinopsis brasiliensis* (Barauna), *Sideroxylon obtusifolium* (Quixabeira), *Maytenus rigida* Mart. (Bonome), *Caesalpinia leiostachya* (Pau-Ferro), *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Pereiro) e *Anadenanthera macrocarpa* (Angico-vermelho). Em outra pesquisa foram testados os efeitos antibióticos de 44 isolados de fungos extraídos de plantas da caatinga dos quais 86,36% apresentaram halos de inibição contra *E. coli* e *S. aureus* (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Considerando que plantas medicinais são fontes promissoras para o desenvolvimento de novos medicamentos, Pádua *et al.*, (2019) analisaram a diversidade de fungos endofíticos presentes nas folhas de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira) nas cidades de Serra Talhada e Triunfo, sendo a primeira de região de caatinga e a segunda um brejo de altitude, no interior de Pernambuco. No total foram isolados 187 endofíticos, com maior diversidade sendo encontrada nas plantas do brejo de altitude (PÁDUA *et al.*, 2019).

Santos (2012) fez um levantamento dos fungos endofíticos presentes em *Combretum leprosum*, planta endêmica do semiárido brasileiro, coletada em cinco estados e avaliou a atividade antimicrobiana dos isolados obtidos. Foram isolados 405 endofíticos sendo 45% obtidos do caule. Todos os isolados foram testados frente aos fitopatógenos *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, e segundo os resultados 159 isolados apresentaram atividade contra pelo menos um dos patógenos testados.

Os fungos endofíticos isolados da família botânica Combretaceae também apresentaram atividade antimicrobiana. Das 32 linhagens fúngicas extraídas 16% apresentaram atividade contra o fungo fitopatogênico *Pythium aphanidermatum*, e 21% inibiu o desenvolvimento de *Staphylococcus equis* (PANSA; MELO; SANTOS, 2013).

2.4 Resistência Bacteriana a Antibióticos

Os antibióticos são compostos naturais ou sintéticos, que apresentam características desejáveis: alvo seletivo, ação bactericida, bacteriostático e antifúngico, espectro de ação que não interfira na microbiota saprófita, baixa toxicidade e elevado nível terapêutico, algumas vias de administração, pouca reação adversa e que não interfira nas defesas imunológicas do hospedeiro ou cause resistência, entre outras (TEIXEIRA *et al.*, 2019).

O primeiro antibiótico, a penicilina, foi descrito por Alexander Fleming em 1929, a partir da espécie *Penicillium notatum*, que havia crescido em uma placa de Petri esquecida (DIAS e MONTEIRO, 2010). Ele observou que o fungo havia inibido o crescimento de uma cultura de *Staphylococcus*. Essa descoberta por acaso resultou em um grande marco na era dos antibióticos, pois foi a partir dela onde começou a diminuição do número de mortes causadas por doenças infecciosas (CALIXTO e CAVALHEIRO, 2012). Porém, o uso demasiado dessa droga durante a Segunda Guerra Mundial acarretou no surgimento das primeiras cepas de bactérias Gram-positivas resistentes a antibióticos penicilínicos (SILVEIRA *et al.*, 2006). O uso indiscriminado de antimicrobianos ocorre desde então, de maneira corriqueira, causando a seletividade de microrganismos patogênicos, uma vez que os mesmos se tornaram resistentes aos fármacos que antes eram administrados com objetivo primordial de exterminá-los (SILVA & AQUINO, 2018).

Entende-se como resistência bacteriana o crescimento da mesma *in vitro* na presença de determinadas concentrações de um antibiótico ou quando se mostram resistentes a outras classes de drogas, por transmissão de material genético ou mutação que interfiram nas suas funções de desenvolvimento, aos quais seriam sensíveis (BAPTISTA, 2013). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2018), esse fenômeno é resultado da pressão seletiva exercida pelo uso de

antibióticos que vem crescendo devido à utilização inadequada dessas drogas resultando em um consumo maior que o necessário.

A resistência bacteriana aos antibióticos é o problema de saúde pública mais relevante, em razão de que muitas bactérias anteriormente susceptíveis a fármacos, hoje deixaram de responder a esses mesmos agentes (DUART *et al.*, 2019). Segundo o Ministério de Saúde (2018), no Brasil mais de 70% das bactérias infecciosas são resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos comumente utilizados para o tratamento dos pacientes. Isso se deve ao uso extensivo de antibióticos, que acelera os mecanismos de defesa das bactérias, fazendo com que o medicamento perca sua eficiência. (PAIVA *et al.*, 2017). As bactérias desenvolvem resistência aos antibióticos numa velocidade maior com que são descobertos e elaborados novos fármacos (SILVA *et al.*, 2017), esse é um fenômeno natural que é resultado do processo evolutivo da adaptação genética dos microrganismos a mudanças no meio ambiente, (SILVEIRA *et al.*, 2016). No caso das bactérias intracelulares, estas reduzem a permeabilidade de sua membrana e dificultam a entrada de fármacos (JÚNIOR, 2019).

A disseminação descontrolada de microrganismos resistentes acarretará em uma era pós-antibiótica, isto é, as opções de tratamento ficarão mais escassas, tornando o controle da doença mais difícil e elevando o custo das terapias (MARTINS *et al.*, 2017).

A resistência pode ser transmitida verticalmente, de geração para geração ou transferida horizontalmente por meio de plasmídeos ou algum material genético móvel como transposons e integrons (RIVERÓN *et al.*, 2003). Além desses, a resistência pode ser disseminada por microrganismos resistentes em uma população predisposta, por um paciente ou objeto inanimado (OLIVEIRA e SILVA, 2008). Essa transferência de resistência se dá mais rapidamente em bactérias Gram-positivas como *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus* (SILVA *et al.*, 2006). Os mecanismos de resistência se dão devido ao fato das bactérias sintetizarem enzimas que tornam as drogas inativas, ou seja, β -lactamases que quebram os anéis β -lactâmicos das penicilinas e cefalosporinas, resultando na perda da função antimicrobiana (OLIVEIRA e SILVA, 2008 apud WRIGHT, 2005).

É notável que os mecanismos de resistência bacteriana superam a descoberta de novos fármacos para controle das mesmas (MESSIAS., 2017). Em um estudo prognóstico realizado em 2014 pelo governo britânico, cerca de 10 milhões de indivíduos morrerão (por ano) até 2050 consequentes de infecções por

microrganismos resistentes (SILVA & AQUINO, 2018). Diante dessa problemática, faz-se indispensável o desenvolvimento de novos estudos visando à descoberta de compostos naturais que minimizem os danos causados por microrganismos resistentes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Microbiologia (LAPEMI) da Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE/UAST), Pernambuco, Brasil.

3.1 Isolamento dos endofíticos

As folhas de *Bauhinia cheilantha* foram coletadas no campus da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no período matutino, no mês de fevereiro de 2019. As folhas foram aleatoriamente selecionadas e acondicionadas em sacola plástica e levadas ao laboratório.

Cada folha foi lavada em água corrente, para retirada do excesso de impurezas e para eliminação da microbiota epifítica residente, submetidas ao processo de desinfecção superficial descrito por Siqueira *et al.*, (2011). Para tal, foram imersas em etanol 70% por 60 segundos, lavadas em água destilada esterilizada, depois imersas por 180 segundos em solução de hipoclorito de sódio (teor de cloro ativo a 1%) e, logo após, foram imersas em água destilada esterilizada durante 60 segundos, para retirar todo o excesso do hipoclorito, por duas vezes (SOUZA *et al.*, 2004) (Figura 1).



Figura 2- Procedimento de desinfecção superficial das folhas de *Bauhinia cheilantha*.

Após o excesso de água ser retirado das folhas, foram cortados fragmentos das mesmas com auxílio de uma tesoura e pinça esterilizadas, sendo transferidos sete fragmentos para cada placa de Petri contendo 20 mL de meio Agar Sabouraud

Dextrose (SAB) (Figura 2). Um total de 140 fragmentos foram colocados na superfície do meio de cultura, sendo que das 20 placas de Petri, dez foram incubadas em estufa à 30°C e dez em temperatura ambiente durante 5 dias.

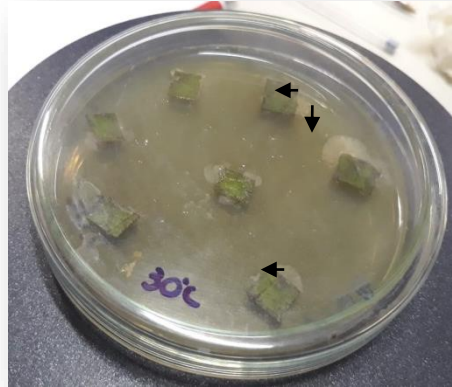


Figura 2. Endofíticos semeados em Ágar Sabouraud. As setas indicam o crescimento inicial após 24 horas de incubação.

3.2 Purificação dos isolados

Após cinco dias de incubação (30°C) foram realizados pequenos repiques de colônias selecionadas para crescimento em meio SAB, 15 placas foram mantidas em estufa a 30°C e 15 em temperatura ambiente. Posteriormente, após sete dias foi possível obter culturas puras dos isolados.

3.3 Identificação dos endofíticos

Para identificação foram observadas características macroscópicas das colônias (coloração do micélio no verso, a forma da borda da colônia, a presença de esporos e o crescimento do fungo no meio de cultura) e estruturas microscópicas visualizados por meio da técnica de microcultivo (RIDDELL, 1950), que se fundamenta no cultivo do fungo em pequenos pedaços de meio de cultura, entre lâmina e lamínula, onde o crescimento do fungo se expande e fixa na porção inferior da lamínula, que quando retirada com cuidado, mantém intactas as estruturas importantes para a taxonomia, possibilitando sua visualização. Concomitantemente utilizou-se literatura clássica específica (BUTTON 1980; BARNETT & HUNTER 1987).

3.4 Microrganismos Teste

Para a realização dos testes de atividade antimicrobiana foram utilizadas quatro bactérias (uma bactéria Gram-positiva e três bactérias Gram-negativas) (Tabela 2).

As bactérias teste foram adquiridas da Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Recife, Brasil. As linhagens bacterianas foram mantidas em meio de cultura Agar Nutriente (NA, contendo g/L: Peptona 10; Extrato de carne 1; Ágar 15).

Tabela 2. Bactérias utilizadas no teste de Atividade Antimicrobiana

Bactérias	Micromorfologia	Meio de cultura
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacilo Gram-positivo	NA*
<i>Escherichia coli</i>	Bacilo Gram-negativo	NA
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacilo Gram-negativo	NA
<i>Salmonella</i> sp.	Bacilo Gram-negativo	NA

*NA= Ágar Nutriente

3.5 Screening da Atividade Antimicrobiana

O teste de atividade antimicrobiana dos fungos endofíticos em meio sólido, foi realizado seguindo a metodologia de Ichikawa *et al.*, (1971). Inicialmente os fungos foram cultivados em placas de Petri com meio SAB durante sete dias a temperatura ambiente. Após esse período, discos das colônias foram cortados (15 mm de diâmetro) e transferidos para superfície do meio de cultura Ágar Muller Hinton (contendo g/L: Peptona 3,0; Peptona de caseína 17,5; Ágar 25; Mg²⁺ 10-12,5; pH 7,4) em placas de Petri previamente semeadas com as bactérias teste.

A atividade antibacteriana dos fungos foi realizada em triplicata, a qual foi determinada a partir da presença ou ausência do halo de inibição. A leitura do halo foi verificada com o auxílio de uma régua milimétrica, após 24 horas de incubação a 30°C.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após crescimento em laboratório, 30 isolados foram selecionados para repique e obtenção de cultura pura (Figura 3), desse total, apenas cinco isolados foram identificados: *Alternaria* sp. (Figura 5), *Bipolaris* sp. (Figura 6), *Colletotrichum* sp. (Figura 7), *Nigrospora* sp. (Figura 8) e *Drecheslera* sp. (Figura 9). Os demais isolados não desenvolveram estruturas reprodutivas que permitissem identificação. Os cinco gêneros acima citados pertencem ao filo Ascomycota e este fato está de acordo com a literatura quando afirma que espécies de fungos endofíticos isolados em regiões tropicais pertencem ao filo Ascomycota, por sua vez, representantes de Basidiomycota e Zygomycota se apresentam em menor número (SCHULZ; BOYLE, 2005).

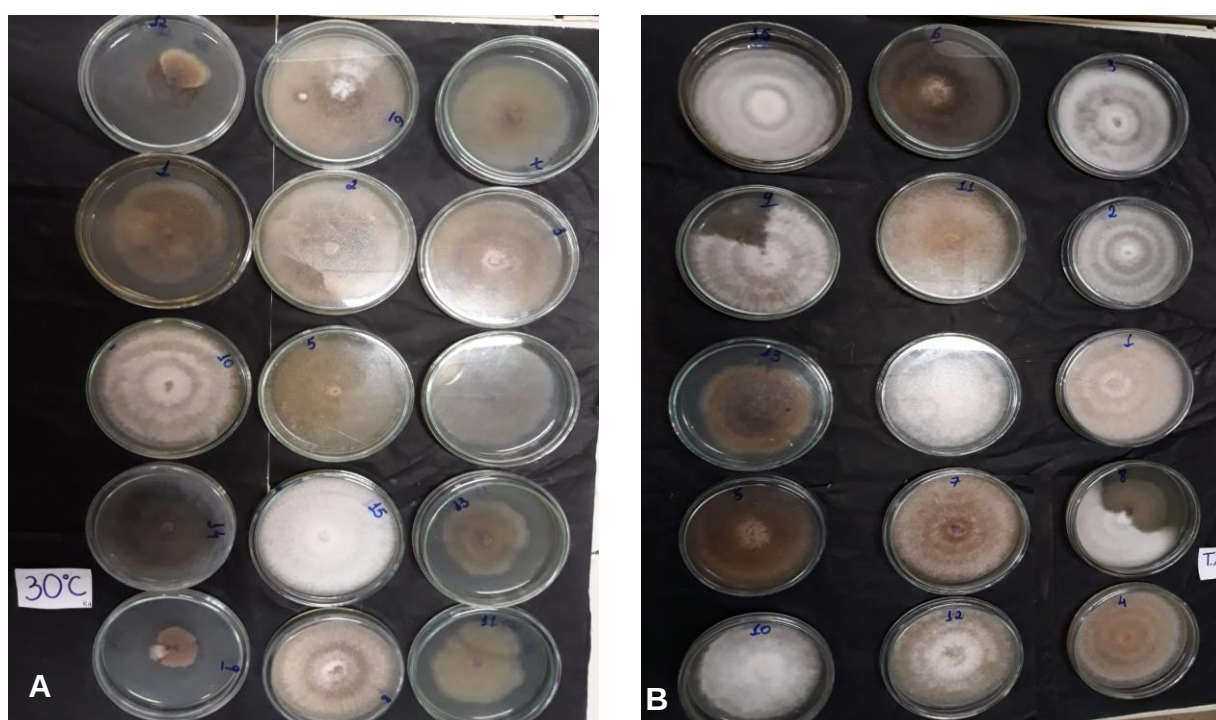


Figura 3- Fungos endofíticos isolados de folhas de *Bauhinia cheilantha* em Ágar Sabouraud (SAB) no Semiárido, Serra Talhada- PE. (A) 30°C e (B) temperatura ambiente.

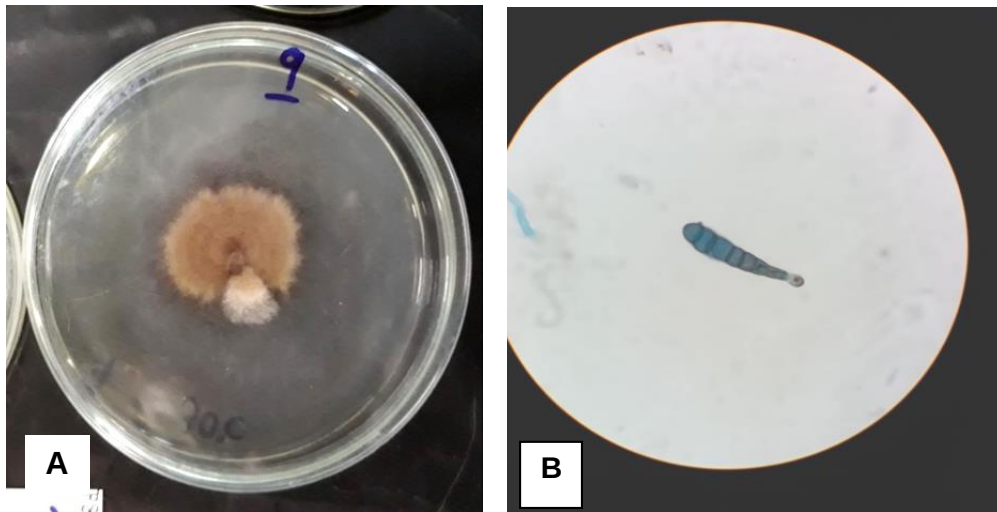


Figura 4. Cultura de *Alternaria* sp. em Ágar Sabouraud após sete dias de incubação a 30 °C. **(A)** Características macroscópicas: micélio algodoso e amarronzado, **(B)** Característica microscópica 400x: conídio em forma de clava ou pera invertida, septos longitudinais.

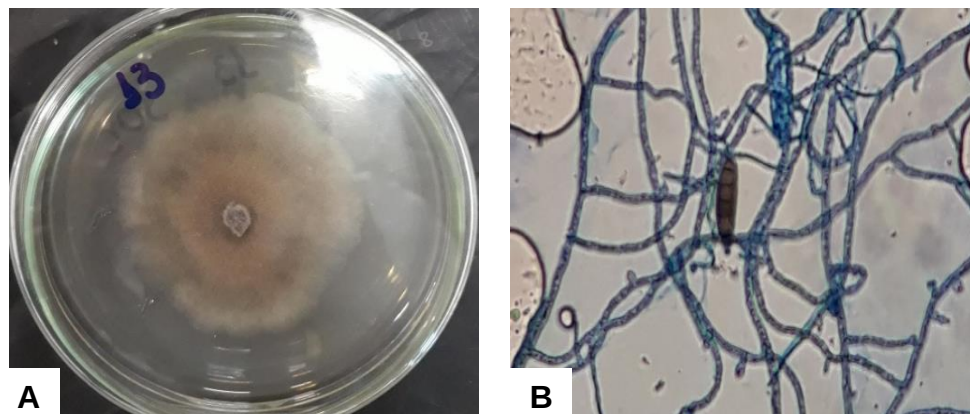


Figura 5. Cultura de *Bipolaris* sp. em Agar Sabouraud após sete dias de incubação a 30 °C. **(A)** Características macroscópicas: micélio algodoso e amarronzado, **(B)** Características microscópicas 400x: hifas septadas, conídio simpodial alongado com células no interior exibindo de três a quatro pseudosseptos perceptíveis.

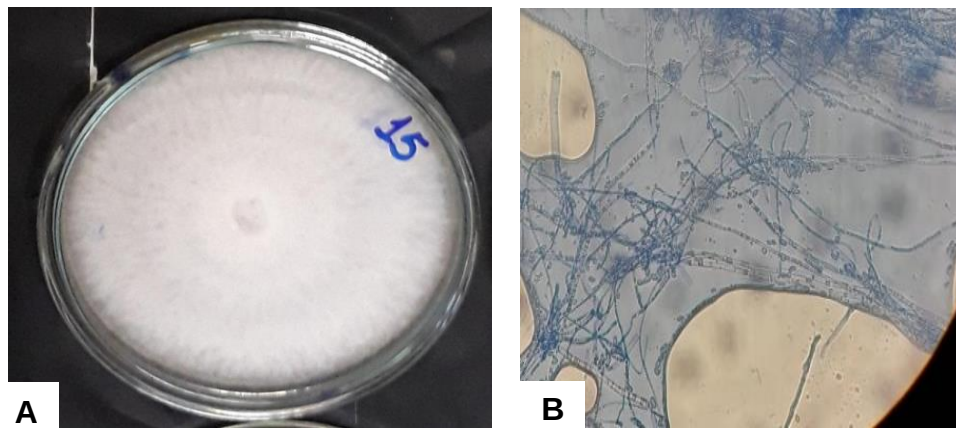


Figura 6. Cultura de *Colletotrichum* sp. em Agar Sabouraud após sete dias de incubação a 30 °C, **(A)** Características macroscópicas: micélio abundante algodoso e embranquiçado com gotículas, **(B)** Características microscópicas: hifas hialinas, conídios desagregados em forma ovóide.

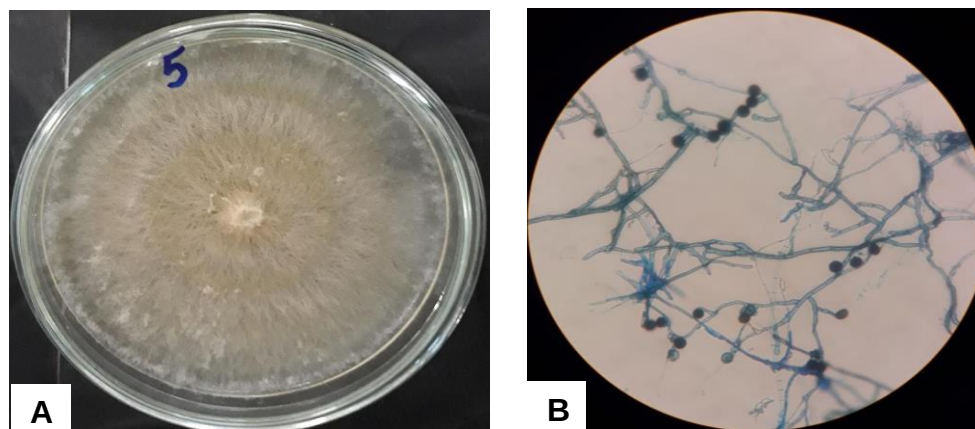


Figura 7. Cultura de *Nigrospora* sp. em Agar Sabouraud após sete dias de incubação a 30 °C. A) Características macroscópicas: micélio algodoso e castanho. B) Características microscópicas: hifas septadas, conidióforo hialino com conídios globosos demáceos.

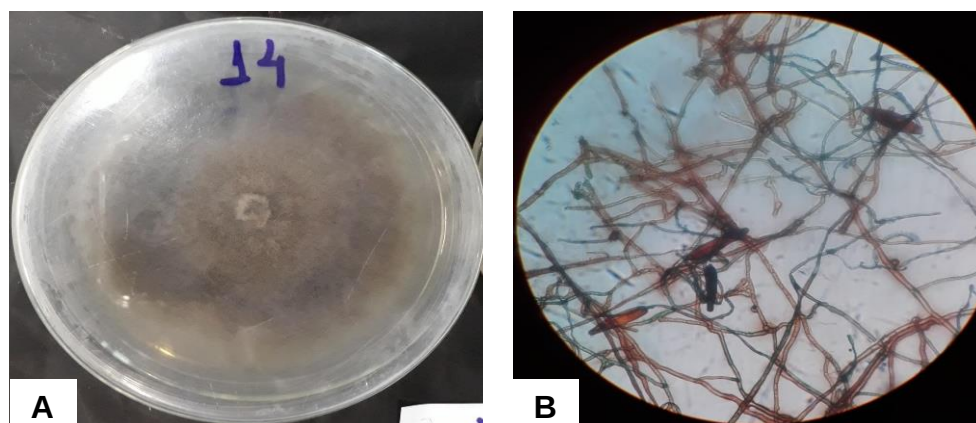


Figura 8. Cultura de *Drechslera* sp. em Agar Sabouraud após sete dias de incubação a 30 °C, (A) Características macroscópicas micélio algodonoso e amarronzado, (B) Características microscópicas: micélio com hifas demácease conídios alongados.

O isolamento dos fungos endofíticos em folhas de *Bauhinia cheilantha* mostrou a presença de vários outros fungos filamentosos e esta diversidade macro e microscópica sugere a presença de diferentes espécies.

Alternaria sp. foi isolado das folhas de *Bauhinia cheliantha* na condição de endofítico, entretanto, espécies do mesmo gênero estão presentes em diversos tipos de substratos, como sementes, plantas, produtos agrícolas, solo, entre outros (LOGRIECO et al., 2009). A maioria é saprófita encontrado no solo, decompondo matéria orgânica e são amplamente associados a doenças em plantas (RIVAS e MÜHLHAUSER, 2014; ROZO et al., 2014).

A ação de *Alternaria* com potencial bioativo já foi descrita com ação bacteriostática frente a *S. aureus* (CARNEIRO, 2016). O mesmo gênero isolado de *Sapindus saponaria* L., apresentou resultados positivos contra o fungo *Glomerella* sp., inibindo o crescimento do fitopatógeno (GARCIA et al., 2018).

Bipolaris encontrados neste trabalho também na condição de endofítico são dematiáceos e de distribuição cosmopolita (Stolte, 2006). Algumas espécies deste gênero são causadores de sérias infecções nas plantas em todos os estádios de desenvolvimento, sendo que a germinação dos conídios é favorecida por condições de alta umidade e temperatura (IFTIKHAR et al., 2009). Reproduzem-se normalmente de forma assexuada através de conídios, cilíndricos, escuros, grandes e multicelulares (GAVA et al., 2018).

Outro gênero encontrado foi *Colletotrichum*, é muito conhecido por ser considerado fitoparasita, no entanto, existem algumas espécies que são encontradas vivendo simbioticamente em plantas (NASCIMENTO, 2014), pois alguns fungos podem parcialmente apresentar ciclo de vida como endófito (BERNARDI-WENZEL *et al.*, 2012). No presente estudo comprova-se essa condição de simbiose, uma vez que, o mesmo gênero foi isolado na condição de endofítico. Resultado semelhante também foi relatado por Pinheiro *et al.* (2017) que isolaram este gênero de *Bauhinia guianensis* na Caatinga. Outros achados também foram citados por Gonçalves *et al.*, (2013) estudando *Cordia oncocalyx* (pau branco) considerada endêmica na caatinga e por Souza *et al.*, (2018) em *Cereus jamacaru* (mandacaru) presentes em regiões semiáridas da Paraíba. O trabalho de Silva (2016) mostrou uma diversidade fungos endofíticos de classes de Ascomicetos incluindo o gênero *Colletotrichum* Isolados de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) nos períodos de pré e pós-floração em cultivos nos municípios de Goiana e Serra Talhada, PE.

Nigrospora é composto por fungos dematiáceos filamentosos, possuem conídiosporos elípticos, pequenos, castanho escuro, superfície psilada e espessa com um esporo característico (CANCELLI *et al.*, 2011), apresentam hifas septadas e hialinas, os conidióforos também são hialinos, inflados e com formato de ampola levemente pigmentados (KANIA, 2004). É facilmente identificado por ser unicelular, preto, brilhante, com esporos assexuais (conídios) achatados e muitas vezes em uma linha equatorial incolor (TONADO, 2015).

Os representantes de *Nigrospora* podem ser encontrados em regiões quentes, onde ocorrem como fungos de solos de florestas, pastagens, manguezais e solos arenosos (CANCELLI *et al.*, 2011). São encontrados principalmente em países tropicais, subtropicais e em regiões temperadas (DELGADO; SANTO-PIETRO, 2006). As culturas apresentam-se geralmente com micélio branco que ao passar do tempo adquirem uma coloração cinza com áreas escuras, essa mudança de coloração ocorre à proporção que a esporulação acontece quando incubados (TONADO, 2015). Resultados semelhantes foram obtidos nesse estudo, quando foram submetidos em estufa a 30°C, apresentaram a mesma coloração, característica do gênero.

4.2 Screening da Atividade Antimicrobiana

Foram selecionados 17 isolados endofíticos para o teste de atividade antimicrobiana frente à *Salmonella* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*. Entretanto, não foi observado formação do halo de inibição em relação a estas bactérias (Figura 9).

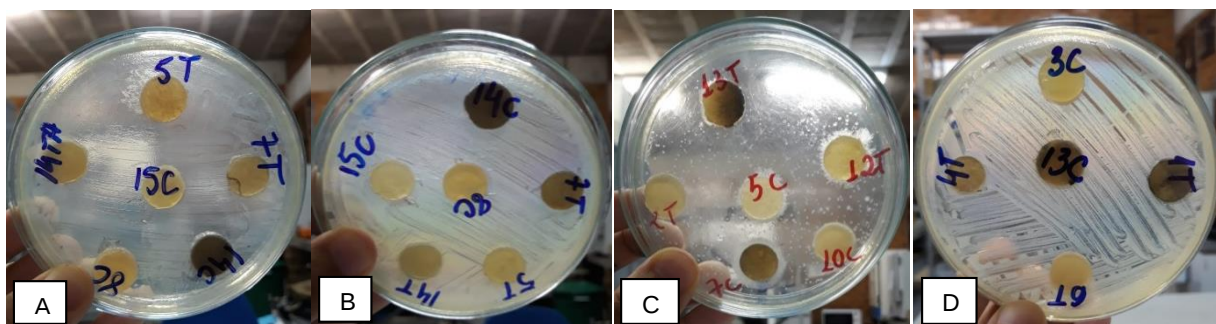


Figura 9. Teste antimicrobiano realizado em Ágar Müller Hilton evidenciando ausência de halo de inibição frente às cepas bacterianas testadas: A) *Salmonella* sp.; B) *Klebsiella pneumoniae*; C) *Bacillus subtilis*; D) *Escherichia coli*.

Registros da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados do gênero *Bauhinia* foram descrito por Bezerra *et al.* (2015) que descreveram 95 fungos pertencentes a 28 espécies a partir de folhas, sépalas, caules e sementes. Ao realizar teste de atividade antimicrobiana, os autores encontraram 11 isolados capazes de inibir uma ou mais bactérias, sendo que as bactérias Gram-positivas foram mais sensíveis que as gram-negativas. Pinheiro *et al.* (2017) também comprovaram a capacidade inibitória de *Colletotrichum* sp., isolado de *Bauhinia forficata* frente à *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*.

Embora, os resultados desse trabalho quanto ao teste de atividade antimicrobiana sejam contrários aos citados na literatura, algumas hipóteses podem ser levantadas. Para a produção sintética de metabólitos fúngicos bioativos, alguns parâmetros podem ser analisados, como a composição do meio de cultivo, pois as características nutricionais do meio de crescimento utilizado pode não ter favorecido a produção de metabólitos secundários dos endofíticos, ou seja, a diversificação metabólica pode ser modificada a partir desse fator (LIMA *et al.*, 2017). Outro fator que limita essa produção pelos endofíticos é a diferença de características que eles apresentam quando crescem *in vivo* e *in vitro* (FLORINDO, 2019). O fungo endofítico quando está em interação com a planta hospedeira pode ser estimulado a produzir

metabólitos secundários específicos, seja para defesa ou proteção da mesma, mecanismo esse que pode não acontecer após repiques sucessivos do fungo (YOUNG *et al.* 2006). Bem como, quando esses endofíticos são cultivados com outros microrganismos, sendo endofíticos ou não, essa simbiose favorece a produção de metabólitos secundários (YOUNG *et al.* 2006). Schulz *et al.* (2015) ao analisar sobre variações antagonistas dos endofíticos, observaram que quando a maioria foram cultivados com outros microrganismos, havia a produção de novos metabólitos que não foram produzidos em monocultura.

Outro fator importante a se considerar é que, todas as bactérias testadas são Gram negativas, exceto *B. subtilis*, que apresenta estrutura de parede celular diferenciada tendo maior quantidade de peptídeoglicano. Como a estrutura molecular dessas paredes são distintas os compostos antibacterianos agem de forma diferente sobre elas, levando a resultados diferentes quando comparadas (GOODMAN & GILMAN'S, 2008, TORTORA *et al.*, 2012).

O potencial dos fungos endofíticos é comprovado em vários estudos. Orlandelli *et al.*, (2011) testaram diferentes metabólitos que apresentaram halo médio de inibição de 12,42 mm contra *S. aureus*. Santos *et al.*, (2010) submeteram isolados de *Colletotrichum* ao teste de atividade antimicrobiana frente as bactérias *B. subtilis*, *E. coli*, *Salmonella* sp. e *K. pneumoniae*, assim como este trabalho, e observaram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos teste, com média do halo de inibição entre 11 e 35 mm de diâmetro. Esse mesmo gênero, quando isolado de *Artemisia annua*, mostrou-se eficaz na produção de metabólito bioativo contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* e *Pseudomonas* sp. (QUEIROZ *et al.*, 2009). O mesmo comportamento antimicrobiano, também foi constatado nos resultados descritos por ZOU *et al.*, 2000; HONG LU *et al.*, 2000. Entretanto, os resultados desse presente estudo foram contrários aos acima citados, mesmo tendo sido isolado o mesmo gênero de endofítico, este não apresentou atividade antimicrobiana. O que pode ser explicado por meio das condições *in vitro* testadas que não proporcionou ao fungo nenhum tipo de estresse para que ele pudesse liberar ou induzir algum composto antimicrobiano.

Nigrospora sp. também isolado como endofítico se destaca por apresentar compostos com atividades biológicas, como fitotoxicidade e atividade antibacteriana (SANTOS, 2015). Estudos realizados por Arumugam *et al.*, (2014), mostraram que esse gênero apresentou ação bactericida e bacteriostática frente a bactérias Gram

positivas e Gram negativas. No presente trabalho embora o mesmo gênero tenha sido isolado, este não evidenciou potencial antimicrobiano, este fato pode ser um indicativo da baixa produção de compostos metabólitos produzidos pelo endofítico.

O isolamento de fungos endofíticos é de extrema importância, pois os mesmos são relatados como agentes precursores com potencial de atividades biotecnológicas, na produção de antibióticos, compactuando na minimização de doenças causadas por cepas bacterianas potencialmente patogênicas.

Os resultados desse trabalho nos permite conhecer a micobiota endofítica presente em folhas *Bahuinia cheilantha*, pois esta pesquisa compreende o primeiro relato de endofíticos para essa espécie vegetal no Semiárido pernambucano. Porém, novos estudos são necessários com o propósito de isolar e caracterizar moléculas responsáveis pelo potencial antagônico dos mesmos, proporcionando a utilização em diversas áreas da biotecnologia.

5. CONCLUSÕES

- ✓ Obteve-se 30 isolados purificados de endofíticos compondo a micobiota das folhas de *Bauhinia cheilantha*, dos quais, cinco foram identificados como *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp., *Colletotrichum* sp., *Nigrospora* sp. e *Drecheslera* sp., e constituem o primeiro relato para o semiárido pernambucano.
- ✓ Os endofíticos isolados não apresentam atividade antimicrobiana frente à *Bacillus subtilis*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Salmonella* sp..

6. REFERÊNCIAS

- ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W.. Introductory Mycology. 4th edition. John Wiley & Sons INC, USA. p.869.1996.
- ALMEIDA, M. F. O. Estudos químicos de fungos endofíticos de *Gustavia sp.* Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-graduação em Química, Manaus, 2014.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Ministério da Saúde. Higienização das mãos em serviços de saúde. Ministério da Saúde, p. 1-49, 2007.
- ARNOLD *et al.* Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. Proceedings of the National Academy of Sciences. Washington, v. 26, 2003.
- ARUMUGAM, G.K. SRINIVASAN, S.K. JOSHI, G. GOPAL, D. RAMALINGAM, K. 2014. Production and characterization of bioactive metabolites from piezotolerant deep sea fungus *Nigrospora sp.* in submerged fermentation. Journal of Applied Microbiology. 118: 99-111, 2014.
- ASSUNÇÃO, M. M. C. Fungos endofíticos isolados de folhas de bananeira (*Musa spp.*) e seleção de antagonistas e fitopatógenos dessa cultura. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2010.
- AZEVEDO FM. Microrganismos multirresistentes. In: Oliveira AC. Infecções hospitalares: epidemiologia, prevenção e controle. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 341-47, 2005.
- AZEVEDO, J. L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? Revista Brasileira de Botânica, v. 22, n. 2, p. 225-229, 1999.
- AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Goiás (UFGO), Goiânia, 1998.
- AZEVEDO, J.L.; BARROS, N.M.; SERAFINI, L.A. Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria. Caxias do Sul: EDUCS, Caxias do Sul, Brasil, 2002.
- BAPTISTA, Maria Galvão de Figueiredo Mendes *et al.* Mecanismos de resistência aos antibióticos. Dissertação de Mestrado, Lisboa, 2013.

- BARNETT HL, HUNTER BB (1987) Illustrated genera of Imperfect Fungi. 4th Edition. APS Press. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- BATISTA, A. M. V.; AMORIM, G. L.; NASCIMENTO, M. DO S. B. Forrageiras. In: SAMPAIO, E. V. S. B. *et al.* Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2005. p. 331.
- BATISTA, B. N.; RAPOSO, N. V. M.; SILVA, I. R. Isolamento e avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de açaizeiro. *Revista Fitos*. Rio de Janeiro, 12(2): 161-174, 2018.
- BERNARDI WENZEL, J. Isolamento e atividade antagonística de fungos endofíticos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, [S.l.], v. 7, n. 3, dez. 2012. ISSN 1980-0002.
- BEZERRA, J.D.P.; NASCIMENTO, C.C.F.; BARBISA, R.N. SILVA, D.C.V.; SVEDESE, V.M.; SILVA-NOGUEIRA, E.B.; GOMES, B.S.; PAIVA, L.M.; SOUZA-MOTTA, C.M. Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: diversity and biotechnological potential. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2015.
- BORGES *et al.* Endophytic Fungi: Natural Products, Enzymes and Biotransformation Reactions. *Current Organic Chemistry*, v. 13, p. 1137-1163, 2009.
- BORGES, W. S. Estudo de fungos endofíticos associados a plantas da família Asteraceae como fonte de metabólitos secundários e em processos de biotransformações. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2008.
- BOTREL PP, PINTO JEBP, FERRAZ V, BERTOLUCCI SKV, FIGUEIREDO FC. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* EPL., Lamiaceae em função da sazonalidade. *Acta Scientiarum Agronomy*. Maringá, 32 (3): 533-538. 2010.
- BUTTON CB (1980) The Coelomycetes Fungi Imperfect with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth, Survey, England.

- CAFÊU, *et al.* SUBSTÂNCIAS ANTIFÚNGICAS DE *Xylaria* sp., UM FUNGO ENDOFÍTICO ISOLADO DE *Palicourea marcgravii* (RUBIACEAE). *Quim. Nova*, v. 28(6), 991-995, 2005.
- CALIXTO, C. M. F.; CAVALHEIRO, E. T. G. Penicilina: Efeito do Acaso e Momento Histórico no Desenvolvimento Científico. *Química e Sociedade*, v. 34(3), p. 118-123, 2012.
- CANCELLI, R.R.; SOUZA, P.A.; NEVES, P.C. Fungos, criptógamas e outros palinómorfs holocênicos da planície costeira sul-catarinense, Brasil. *Acta botanica brasílica*, São Paulo. Vol. 26, n. 1, p. 20-37. 2012.
- CARNEIRO, J.R., *et al.* Bioprospecção de fungos endofíticos associados à *Lippia origanoides* Kunt. com atividade antimicrobiana. Universidade Estadual de Feira de Santana. 2016.
- CHEN *et al.* Lumazine Peptides Penilumamides B-D and the Cyclic Pentapeptide Asperpeptide A from a Gorgonian-Derived *Aspergillus* sp. Fungus. *Journal of Natural Products*, 2014.
- COSTA, A. L. P.; JÚNIOR, A. C. S. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*, Macapá, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.
- CRAGG, M. G., NEWMAN, D.J. (2005). Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. *Pure and Applied Chemistry*. 77: 7-24
- DELGADO, G.; SANTO-PIETRO, K.A. Microbial Volatile Organic Compounds. *Environmental Reporter*, v. 4, 2006.
- DEMAIN, A. L 1992. Microbial Secondary Metabolism: a New Opportunity for Industry. *Ciba Foundation Symposium*. 3-23.
- DIAS, M.; MONTEIRO, M. S. ANTIBIÓTICOS E RESISTÊNCIA BACTERIANA, VELHAS QUESTÕES, NOVOS DESAFIOS. *Clínica Farmacológica*, 2010.
- DUART, S.M.S. *et al.* Revisão Sistemática da Resistência e Farmacodinâmica de Antibióticos. *Brazilian Journal of Development*, v.5 (10), p. 21476-21489, 2019.
- FERRARA, M. A. Fungos Endofíticos. Potencial para a Produção de Substâncias Bioativas. *Revista Fitos*, v. 2(1), 2006.
- FIO, F. S. D.; FILHO, T. R. M.; GROppo, F. C. Resistência bacteriana. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 57(10), p. 1129-1140, 2000.
- FLORINDO, R.H.S. Bioprospecção de metabólitos secundários bioativos produzidos por fungos endofíticos associados à *Piper* sp. coletada no Parque Estadual do

- Rio Doce, Minas Gerais. Universidade Federal de Ouro Preto. Dissertação de Mestrado. 2019.
- FREIRE, F. C. O.; VASCONCELOS F. R.; COUTINHO, I. B. L. Fungos endofíticos: uma fonte de produtos bioativos de importância para a humanidade. *Essentia*, Sobral, v. 16(1), p. 61-102, 2014.
- GALLO *et al.* Atividade Citotóxica de Extratos de Fungos Endofíticos Isolados de *Smallanthus sonchifolius*. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, p. 402-404, 2007.
- GARCIA, A., *et al.* Capacidade antagonista do fungo endofítico *Alternaria* sp. isolado de *Sapindus saponária* L. contra o fitopatógeno *Glomerella* sp. Centro Universitário Cesumar. 2018.
- Gava A, Casa RT. *Claviceps purpurea* e *Bipolaris* sp. como causa de ergotismo em bovinos no estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.* 38(5):875-82. 2018.
- GONÇALVES, F.J.T. *et al.* FUNGOS ENDOFÍTICOS E SEU POTENCIAL COMO PRODUTORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS. *Essentia*, Sobral, vol. 15, nº1, p. 71-92, jun./nov.2013.
- GOODMAN & GILMAN'S. (2008). *Manual of Pharmacology and Therapeutics*. Nova Iorque: McGraw Hill.
- GUIMARÃES *et al.* Investigação preliminar da composição micelial e potencial antimicrobiano de fungos endofíticos da erva-de-passarinho amazônica *Cladocolea micrantha* (Eichler) Kuijt (Loranthaceae). *Revista Fitos*, v. 4(2), 2009.
- GUNATILAKA, A. A. L. Natural products from plants-associated microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity, and applications of their occurrence. *Journal of Natural Products*, v. 69, p. 509-526, 2006.
- HART C. A. La resistencia a los antibióticos. ¿Un problema creciente? *Br Med J*, Ed Latinoam, 6:147-8, 1998.
- HODGSON, S.; CATES, C. DE; HODGSON, J.; MORLEY, N. J.; SUTTON, B. C.; 20 GANGE, A. C. Vertical transmission of fungal endophytes is widespread in forbs. *Ecology and Evolution*, Estados Unidos, v. 4, n. 8, p. 1199–1208, 2014.
- HORN, W. S. *et al.* *Phomopsis chalsin*, a novel antimicrobial agent from an endophytic *Phomopsis* sp. *Tetrahedron*, 51, 3969–3978. 1995.

- IFTIKHAR, S.; ASAD, S.; MUNIR, A.; SULTAN, A.; AHMAD, I. Hosts o *Bipolaris sorokiniana* , the major pathogen os spot blotch of wheat in Pakistan. Pakistan Journal of Botany, Karachi, v. 41, p. 1433-1436, 2009.
- JAYANTHI, G. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of the endophytic fungus *Nigrosphora* sp. isolated from *Mesua ferrea*. International Journal of Current Science, v. 1, p. 85-90, 2011.
- JÚNIOR, A.M.M. Multirresistência bacteriana e a consequência do uso irracional dos antibióticos. Scire Salutis, v.9, n.2, 2019.
- KADOSAKI, L. L.; SOUSA, S. F.; BORGES, J. C. M. Análise do uso e da resistência bacteriana aos antimicrobianos em nível hospitalar. Rev. Bras. Farm. 93(2): 128-135, 2012.
- KANIA, C.E. Isolamento e identificação de fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) produzido por sistema orgânico e convencional da variedade IAPAR59. 2004.
- KOGEL, K. H.; FRANKEN, P.; HUCKELHOVEN, R. Endophyte of parasite-what decides? Current Opinion in Plant Biology, 9(4): 358-363, 2006.
- LEAL IR, TABARELLI M, SILVA JMC, LARCHER TE. Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of Northeastern Brazil. Conservation Biology 19:701-706. 2005.
- LOGRIECO, A.; MORETTI A.; SOLFRIZZO M. Alternaria toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. World Mycotoxin Journal. 1;2 (2):129-40. 2009.
- LÓPEZ, R.E.S.; SANTOS, B.C. *Bahuinia forficata* Link (Fabaceae). Revista Fitos, v. 9, n. 3, p. 161-252, 2015.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002, 368p.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e exóticas. 2.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008, 544 p.
- LOUREIRO, *et al.* O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. Rev port saúde pública, 34(1): 77–84, 2016.
- LUNA, J. DE S. *et al.* A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. Journal of Ethnopharmacology, v. 97, n. 2, p. 199-206, fev. 2005.

- LY, A. H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. Fungal endophytes: Unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, New York, v.90, n.6, p.1829-845, 2011.
- MACHADO, M. A. B. L. Isolamento, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae-Caesalpinioideae). Universidade Federal de Alagoas, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB), Alagoas 2009.
- MAKI, C. S. Diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos de cacau (*Theobroma cacao* L.). Universidade de São Paulo, Tese apresentada na área de Genética e Melhoramento de Plantas, Piracicaba, 2006.
- MALHADAS, C. Composição volátil e atividade antimicrobiana de fungos endofíticos da oliveira. Instituto Politécnico de Bragança, Universidade de Salamanca, Bragança, 2014.
- MAMEDE, A.L.C.P. *et al.* Atividade biológica do fungo *Pisolithus microcarpus*. 2015.
- MARINHO, *et al.* 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.
- MARTINS, G.S. Drogas antibacterianas: antibióticos. In: Martins MA. Manual de infecção hospitalar: epidemiologia, prevenção e controle. 2ª ed. Belo Horizonte, Medsi, p. 451-72, 2001.
- MARTINS, G.S; MANGIAVACCHI, B. M.; BORGES, F.V.; LIMA, N.B. Uso indiscriminado de antibióticos pela população de São José do Calçado (ES) e o perigo das superbactérias. *Acta Biomédica Brasiliensia*, vol.6, nº 2, 2017.
- MESSIAS, M. D. G. Atividade antimicrobiana de crotamina e crotamina-simile proveniente de veneno de serpentes do gênero *Crotallus*. Dissertação de Mestrado, São Paulo, 2017.
- MOMESSO, L. S. Estudo químico-biológico dos fungos endofíticos *Cladosporium sphaerospermum*, *Pestalotiopsis guepini* e *Chaetomium globosum*. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2008.
- MONTILA *et al.* Resistência antimicrobiana de bactérias do gênero *Listeria* spp. isoladas de carne moída bovina. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 45(2), p. 116-121, 2014.

- NASCIMENTO, R.F.Q.; SOUSA B.L.P.; BEZERRA, R.M.S.; CAVALCANTI, R.M.F.; SILVA, R.B.; QUEIROZ, J.C.F. Prospecção de fungos da caatinga produtores de antibióticos. *Revista Saúde e Ciência On line*, v.3, n.3, p. 76-85, 2014.
- NASCIMENTO, T.L. Diversidade de fungos endofíticos de aceloreira, potencial antagônico frente ao agente da antracnose e caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum* spp. Universidade Federal de Pernambuco. 2014.
- NETO, P. *et al.* Microrganismos endofíticos. Interação com plantas e potencial biotecnológico. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 5 (29); 2003.
- OLIVEIRA, A. C; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, 10(1): 189-197, 2008.
- OLIVEIRA, R.L. Avaliação do Potencial Biotecnológico de Fungos Endofíticos de *Piper hispidum*. 2010. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia) Universidade do Estado do Amazonas, Amazonas, 2010.
- Organização Mundial de Saúde (OMS). Vencendo a resistência microbiana. *World Health Report on Infections Disease*, 2018.
- ORLANDELLI *et al.* Ação antibacteriana de metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos isolados de *Piper hispidum* Sw.contra *Micrococcus luteus*. VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, CESUMAR – Centro Universitário de Maringá, Maringá, 2011.
- PÁDUA, A.P.S.L.; FREIRE, K.T.L.S.; OLIVEIRA, T.G.L.; SILVA, L.F.; ARAÚJO-MAGALHÃES, G.R.; AGAMEZ-MONTALVO, G.S.; SILVA, I.R.; BEZERRA, J.D.P.; SOUZA-MOTTA, C.M. Fungal endophyte diversity in the leaves of the medical plant *Myracrodruon urundeuva* in a brazilian dry tropical forest and their capacity to produce L-asparaginase. *Acta Botânica Brasílica*, v.33, n.1, p. 39-49, 2019.
- PAIVA, C. L., ZANI, L. B., DUARTE, I. D., & JONIS-SILVA, M. D. A. Uso Indiscriminado de Antibióticos e Superbactérias KPC: Temas CTS Controverso no Ensino de Biologia. *Revista Eletrônica Debates em Educação Científica e Tecnológica*. v.03, n.01, p. 32-40, 2017.
- PANSA, C.C.; MELO, I.S.; SANTOS, S.N. Atividade antimicrobiana de compostos obtidos de fungos endofíticos de plantas da família Combretaceae do

- semiárido brasileiro. In: VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, 2013, Anais, Campinas, 2013.
- PEREIRA, A. S. M. V. M. Produção e caracterização de compostos bioativos utilizando fungos endófitos. Departamento de Engenharia Química e Biológica, Coimbra, 2013.
- PETRINI, O. Fungal endophytes in tree leaves. In: ANDREWS, J.; HIRANO, S. (Ed.). Microbial ecology of leaves. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 179-197.
- PETRINI, O. Fungal endophytes in tree leaves. In: ANDREWS, J.; HIRANO, S. (Ed.). Microbial ecology of leaves. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 179-197.
- PIMENTEL, M. R., MOLINA, G., DIONÍSIO, A. P., MARÓSTICA Jr, M. R., PASTORE, G. M., The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. Biotechnology Research International, 2011.
- PINHEIRO, E.A.A.; PINA, J.R.S.; FEITOSA, A.O.; CARVALHO, J.M.; BORGES, F.C.; MARINHO, P.S.B.; MARINHO, A.M.R. Bioprospecting of antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi from *Bauhinia guianensis*. Revista Argentina de Microbiología, v. 49, n. 1, p.3-6, 2016.
- POLONI, M. M. Estudo da produção de substâncias bioativas por fungos endofíticos do mangue. Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas, 2014.
- PONGCHAROEN, et al. Metabolites from the endophytic fungus *Xylaria* sp. PSU-D14. Phytochemistry, v.69, p.1900-1902, 2008.
- PRINCE, K.A. Determinação da atividade anti – *Mycobacterium tuberculosis* de metabólitos bioativos de fungos endofíticos empregando a técnica do MABA. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Dissertação de Mestrado. 2008.
- PUSZTAHELYI T, HOLB IJ AND PÓCSI I (2015) Secondary metabolites in fungus-plant interactions. Front. Plant Sci. 6:573. doi: 10.3389/fpls.00573
- QUEIROZ, L. P. DE et al. Leguminosae. In: GIULIETTI, A. M. et al. (Org.), Co-editora: Universidade Estadual de Feira de Santana. Plantas Raras do Brasil, Belo Horizonte, MG: Conservação Internacional, p. 212-237, 2009.
- RIBEIRO, S. F. L. BIOPROSPECÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS BRUTOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA ESPÉCIE *Oryctanthus alveolatus* (Kunth) Kuijt. Universidade Federal do Amazonas,

- Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia Para Recursos Amazônicos-PPGCTRA.
- RIDDELL, R.W. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. *Mycologia*, v. 42, p. 265–270, 1950.
- RIVAS, L.M.; MUHLHAUSER, M. Retrato microbiológico de *Alternaria* sp. *Revista Chilena de Infectologia*. 31(5): 605-6. 2014.
- RIVERÓN, *et al.* RESISTENCIA BACTERIANA. *Rev Cubana Med Milit*, 32 (1): 44-8, 2003.
- SANTOS A, PADUAN RH, GAZIN ZC, JACOMASSI E, OLIVEIRA OS, CORTEZ DAG, CORTEZ LER. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19 (2A): 436-441.2009.
- SANTOS *et al.* POTENCIAL HERBICIDA DA BIOMASSA E DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS PRODUZIDAS PELO FUNGO ENDOFÍTICO *Pestalotiopsis guepinii*. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 26(3), p. 539-548, 2008.
- SANTOS, I. P. (2015) Isolamento e caracterização dos metabólitos produzidos pelo fungo *Nigrospora sphaerica* (Sacc.) Mason endofítico de *Indigofera suffruticosa* Mill. E avaliação do potencial biotecnológico. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco.
- SANTOS, I.P.; SILVA, A.P.S.; SILVA, L.C.N.; ARAÚJO, J.M.; CAVALCANTI, M. S.; LIMA. V.L.M. Atividade Antibacteriana do fungo endofítico *Colletotrichum gloeosporioides* isolados da planta *Indigofera suffruticosa* Mill. 62ª Reunião Anual da SBPC (Sociedade Brasileira para o progresso da Ciência) UFRN/ RN, jul. de 2010.
- SANTOS, S.N. Bioprospecção de biomoléculas isoladas de fungos endofíticos de *Combretum leprosum* do bioma caatinga. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- SANTOS, T. T., & Varavallo, M. A. (2011). Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 32(2), 199-212.
- Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*, Macapá, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

- SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. *Mycological Research*. Cambridge, v. 109, p. 661-686, 2005.
- SCHULZ, B.; HAAS, S.; JUNKER, C.; ANDRÉE, N.; SCHOBERT, M. Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. *Current Science*, Bangalore, v. 109, n. 1, p. 39–45, 2015.
- SEBASTIANES, *et al.* Species diversity of culturable endophytic fungi from Brazilian mangrove forests. *Current Genet*, n. 59, p. 153-166, 2013.
- SILVA *et al.* INTERVENÇÕES DOS BETA-LACTAMICOS FRENTE AO MECANISMO DE RESISTÊNCIA BACTERIANA. Centro Universitário Católica de Quixadá (UNICATÓLICA), 2006.
- SILVA, D. N. D. R., GALATO, D., & ALANO, G. M. Análise do Conhecimento e opinião da população sobre a atual regulamentação para a venda de antibióticos no Brasil. *Cadernos Acadêmicos*. v.4, n.2, p.218-221, 2017.
- SILVA, *et al.* CITOCALASINAS PRODUZIDAS POR *Xylaria* sp., UM FUNGO ENDOFÍTICO DE *Piper aduncum* (PIPERACEAE). *Quim. Nova*, v. 33(10), 2038-2041, 2010.
- SILVA, L.R.; CANABARRO, A.M.C.A.; NASCIMENTO, M.M.B.; JESUS, E.V.O.; SANTOS, T.M.C.; MELO, I.L.; ALMEIDA, A.C.P.S.; SILVA, J.M. Bioativos antimicrobianos produzidos por fungos endofíticos associados a plantas do semiárido. *Ciência Agrícola*, v. 16, p. 5-7, 2018.
- SILVA, R. R.; COELHO, G. D. FUNGOS PRINCIPAIS GRUPOS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS. Instituto de Botânica, Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, São Paulo, 2006.
- SILVA, R.M.F. Diversidade de fungos endofíticos filamentosos em folhas de *Sorghum bicolor* (L.) Moench em Pernambuco, Brasil. Universidade Federal de Pernambuco. 2016.
- SILVA, S., AQUINO, M.O. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. *Santa Cruz do Sul*, v.8, n.4, 2019.
- SILVEIRA, *et al.* ESTRATÉGIAS UTILIZADAS NO COMBATE A RESISTÊNCIA BACTERIANA. *Quim. Nova*, v. 29(4), 844-855, 2016.
- SIQUEIRA, V. M.; CONTI R.; Araújo, J.M.; Souza-Motta, C.M. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. *Symbiosis* 53:89-95, 2011.

- SOARES *et al.* A review of bioactive compounds produced by endophytic fungi associated with medicinal plants., v.12, n3,p.331-352, 2017.
- SOARES *et al.* Detecção de compostos voláteis com atividade antibacteriana por fungos endofíticos associados à *Costus spiralis*. J. Bioen. Food Sci., v. 2(4), p.156-159, 2015.
- SOUZA, A.Q.L. *et al.* Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. Acta Amazônica, v.34, n.2, p. 185-95, 2004.
- SOUZA, J.T.A. *et al.* Endophytic Fungi Associated with the Crown-of-thorns Cactus (*Melocactus zehntneri* Britton & Rose) in the Semiarid Region of Brazil. Journal of Experimental Agriculture International. 26 (2);1-5, 2018.
- SPECIAN, *et al.* Metabólitos secundários de interesse farmacêutico produzidos por fungos endofíticos. Cien Ciênc Biol Saúde,16(4):345-51, 2014.
- STIERLE, A.; STROBEL, G.; STIERLE, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of pacific yew. Science, v.260, p.214-216,1993.
- STOLTE, ROSEANA EDA. Sensibilidade de *Bipolaris sorokiniana* e de *Drechslera tritici* a fungicidas in vitro. 2006.
- STROBEL, *et al.* Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiopsis microspora*, possessing antifungal and antioxidant activities. Phytochemistry, v. 60, p. 179-183, 2002.
- STROBEL, *et al.* Nature products from endophytic microorganisms. Journal of Natural Productis, 67, 257-268, 2004.
- SUMMERELL, *et al.*, *Pestalotiopsis guepinii*, a Taxolproducing Endophyte of the Wollemi Pine, *Wollemia nobilis*. Austr. J. Bot., v. 45, n. 6, p. 1073-1082, 1998.
- TAN, R. X.; ZOU, W.X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. Natural Productus Reports, v.18, p. 448-459,2001.
- TEIXEIRA, A. R., FIGUEIREDO, A.F.C., FRANÇA, R.F. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. Revista Saúde em Foco. n. 11, p 853-869, 2019.
- TONADO, D. Seleção de fungos filamentosos para produção de ácidos graxos poli-insaturados. Universidade Federal de Santa Maria. Dissertação de Mestrado. 2015.

- VENTOLA, C.L. 2015. The Antibiotic Resistance Crisis. Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4): 277–283.
- WANG, J.; LI, G.; LU, H.; ZHENG, Z.; HUANG, Y.; SU, W. 2000. Taxol from *Tubercularia* sp. strain TF5, an endophytic fungus of *Taxus mairei*. *FEMS-Microbiology Letters*, 193: 249-253.
- WENZEL, *et al.* Atividade Enzimática e Antimicrobiana De Fungos.
- WENZEL, J. B. *et al.* ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE SOJA. *Biol. & Saúde, Campos dos Goytacazes*, 9(3), p. 01-15, 2013.
- World Health Organization. Containing antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: WHO, WHO Policy Perspectives on Medicines; 10, 2005.
- WRIGHT G. D. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev.* 57(10):1451-70, 2005.
- YOSHIHARA, *et al.* Three fungitoxic cyclopentanoid sesquiterpenes from stromata of *Epichloe typhina*. *Tetrahedron Letters*, v.26, p.5551-5554, 1985.
- YOUNG, C. A.; FELITTI, S.; SHIELDS, K.; SPANGENBERG, G.; JOHNSON, R. D.; BRYAN, G. T.; SAIKIA, S.; SCOTT, B. A complex gene cluster for indole-diterpene biosynthesis in the grass endophyte *Neotyphodium lolii*. *Fungal Genetics and Biology*, San Diego, v. 43, n. 10, p. 679–693, 2006.
- ZALAMEA PC, SARMIENTO C, STEVENSON PR, RODRIGUEZ M, NICOLINI E, HEURET P. Effect of rainfall seasonality on the growth of *Cecropia sciadophylla*: intra annual variation in leaf production and node length. *Journal of Tropical Ecology* 29:361-365. 2013.
- ZANARDI, L. M. *et al.* Sesquiterpenoides produzidos pelo fungo *Phomopsis cassiae* com atividade antifúngica e inibidora de acetilcolinesterase. *Química Nova*, v.35, n. 11, p. 233-2236, 2012.
- ZINNIEL *et al.* Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Applied and Environmental Microbiology* 68(5): 2198-2208, 2002.
- ZOU, *et al.* Metabolites of *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus in *Artemisia mongolica*. *Journal of Natural Products*, v.63. n.11, p.1529-1530, 2000.