

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 10/07/2025.

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

NuBBE-Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de
Produtos Naturais

MARIA DO CARMO GOMES LUSTOSA

Estudo metabólico e atividades biológicas de extratos
produzidos pelos fungos endofíticos *Preussia* sp. e *Phyllosticta*
sp. isolados de *Platonia insignis* Mart.

Araraquara

2023

MARIA DO CARMO GOMES LUSTOSA

Estudo metabólico e atividades biológicas de extratos produzidos pelos fungos endofíticos *Preussia* sp. e *Phyllosticta* sp. isolados de *Platonia insignis* Mart.

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Angela Regina Araújo

Araraquara

2023

L972e

Lustosa, Maria do Carmo Gomes

Estudo metabólico e atividades biológicas de extratos produzidos pelos fungos endofíticos *Preussia* sp. e *Phyllosticta* sp. isolados de *Platonia insignis* Mart. / Maria do Carmo Gomes Lustosa. -- Araraquara, 2023

112 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara

Orientadora: Angela Regina Araújo

1. Produtos naturais. 2. Compostos orgânicos voláteis. 3. Metabolômica. 4. Metabólitos. 5. Espectrometria de massa. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa apresenta considerável impacto, uma vez que os fungos estudados produziram substâncias com propriedades antiparasitárias. Essas substâncias exibiram atividades promissoras no combate a leishmaniose e a doença de Chagas. O estudo dos compostos orgânicos voláteis produzidos pelos endófitos, possibilitou a avaliação do co-cultivo desses fungos, que na natureza coexistem nas folhas de *Platonia Insignis* Mart (bacuri). Os resultados obtidos reforçam a necessidade de estudos para o aprofundamento de pesquisas realizadas com micro-organismos, pois estes foram isolados de uma planta da biodiversidade brasileira, que apresenta o rico potencial químico e biológico.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The research presents considerable impact, as the studied fungi produced substances with antiparasitic properties. These substances exhibited promising activities in combating leishmaniasis and Chagas disease. The study of volatile organic compounds produced by the endophytes enabled the evaluation of their co-cultivation, as they naturally coexist on the leaves of *Platonia Insignis* Mart (bacuri). The obtained results reinforce the need for further investigation of research conducted with microorganisms, as these were isolated from a plant of the Brazilian biodiversity, which presents rich chemical and biological potential.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Estudo metabólico e atividades biológicas de extratos produzidos pelos fungos endofíticos *Preussia* sp. e *Phyllosticta* sp. isolados de *Platonia insignis* Mart"

AUTORA: MARIA DO CARMO GOMES LUSTOSA

ORIENTADORA: ANGELA REGINA ARAUJO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Química, pela Comissão Examinadora:

Prof.ª Dr.ª ANGELA REGINA ARAUJO (Participação Virtual) 
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. LOURDES CAMPANER DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. GILVANDA SILVA NUNES (Participação Virtual)
Departamento de Tecnologia Química / Centro de Ciências Exatas e Tecnologia - UFMA - São Luís

Profa. Dra. MARIA HELENA SARRAGIOTTO (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Estadual de Maringá - UEM - Maringá

Profa. Dra. MARY ANN FOGLIO (Participação Virtual)
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNICAMP - Campinas

Araraquara, 10 de julho de 2023

Dados curriculares

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Maria do Carmo Gomes Lustosa

Filiação: Francisco de Assis Lustosa e Maria do Carmo Fontenele Gomes

Nome em citações bibliográficas:

Lustosa, M. C. G.;

Lustosa, MARIA, C. G.;

Lustosa, Maria C. G.;

LUSTOSA, M.C.G.

Endereço Profissional:

Universidade Federal do Piauí (UFPI),

CAF- Floriano, PI, Brasil

Curso de Lic. em Ed. do Campo/Ciências da Natureza

Endereço eletrônico: carminhalustosa@ufpi.edu.br:

carminhalustosas@hotmail.com

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2018–2023 **Doutorado em Química**

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, SP, Brasil

Título da tese: “Exploração metabólica dos fungos endofíticos *Preussia* sp e *Phyllosticta* sp isolados das folhas de *Platonia insignis* Mart. na produção de substâncias com atividade biológica.”

Orientador: Prof^a. Dr^a. Angela Regina Araújo

2009 – 2012 **Mestrado em Química**

Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brasil

Título da dissertação: “Análise Palinológica, Investigação da Composição Química de mel, própolis e pólen de *Apis mellifera* da região de Bela Vista-Piauí.”

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Antonia Maria das Graças Lopes Citó

2002 – 2005 **Licenciatura em Química**

Universidade Estadual do Piauí (UESPI), PI, Brasil

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

05/2015 – atual

Atividade de docência

Universidade Federal do Piauí (UFPI), Floriano, PI, Brasil
Servidor Público, Enquadramento Funcional: Professor, Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva.

02/2006 a 04/2015

Atividade de docência

Secretaria de Estado da Educação do Estado do Piauí, Teresina, PI.
Servidor Público, Enquadramento Funcional: Professor, Carga horária: 40h

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

1. CUNHA, C. L.; ANTONIO, P. V. G.; **LUSTOSA, M. C. G.**; CRUZ, A. B.; HOLZBACH, J. C.; PEREIRA, D. H.; NASCIMENTO, I. R. Warmingins A, B and C, Three New Furofuran Lignans from *Aristolochia warmingii* Mast. (Aristolochiaceae). **J. Braz. Chem. Soc**, v.00, n°. 00, 1-7, 2023.
2. LIMA, L. K. F.; **LUSTOSA, M. C. G.**; ALMEIDA, W. S.; ANDRADE, N. C.; RAI, M.; FEITOSA, C. M.; DE LIMA, S. G. Chemical composition and anticholinesterase evaluation of aerial parts of *Crotalaria retusa*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 23, p. 1-11, 2022.
3. BARRETO, H. M.; SILVA FILHO, E. C.; LIMA, E. O.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; TAVARES, C. C. A.; TINTINO, S. R.; REGO, J. V.; DE ABREU, A. P.L.; **LUSTOSA, M. C. G.**; OLIVEIRA, R. W. G.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Industrial Crops and Products**, v.59, p.290 - 294, 2014.

4. LOPES CITÓ, A. M. G.; ARAÚJO, B. Q.; MONÇÃO, N. B. N.; COSTA, L. M.; ARCANJO, D. D. R.; LUSTOSA, M. C. G.; RODRIGUES, K. A. F.; CARVALHO, F. A. A.; COSTA, A. P. Chemical constituents and toxicological studies of leaves from *Mimosa caesalpinifolia* Benth., a Brazilian honey plant. **Pharmacognosy Magazine**.^{JCR}, v.10, p.456 - 462, 2014.

5. SANTOS, F. J. B.; COSTA JÚNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; LUSTOSA, M. C. G.; OLIVEIRA, J. S.; FERREIRA, P. M. P.; FREITAS, R. M. Chemical compounds and some acute toxicological parameters of *Bauhinia platyptala*. **Vedic Research International Phytomedicine**, v.1, p.56 - 63, 2013.

Capítulos de livros

1) CITÓ, A.M.G.L.; RÊGO, I.V.; LIMA JUNIOR, P.S.; LUSTOSA, M.C.G.; LUZ, C.F.P. análise palinológica e composição química de pólen e própolis de *Apis mellifera*. DOI 10.22533/AT.ED.3682001107 IN: JOSÉ MAX BARBOSA OLIVEIRA-JUNIOR, LENIZE BATISTA CALVÃO. (ORG.) A INTERFACE DO CONHECIMENTO SOBRE ABELHAS 2. PONTA GROSSA, PR: ATENA, 2020. ISBN 978-65-5706-436-8.

2) LEAO, E.S.; COSTA, M.F.; SANTOS FILHO, F.C.; LUSTOSA, M.C.G. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ACESSOS DE PIMENTAS (*Capsicum* ssp). In: Ágata Laisa Laremborg Alves Cavalcanti; Mônica Núbia Albuquerque Dias; Jussira Candeira Spíndola Linhares. (Org.). Diálogos em educação do campo: experiências teórico-práticas. 1ed. Parnaíba: Acadêmica Editorial, 2021, p. 49.

Apresentação de trabalho e/ou palestra

- **Apresentação de trabalho (pôster)**

1. Apresentação de poster: MOLECULAR NETWORKING FOR IDENTIFICATION OF CYTOCHALASINS FROM ENDOPHYTIC FUNGUS PREUSSIA SP. 8th Brazilian Conference on Natural Products (BCNP) and XXXIV Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology (RESEM), November 09-12, 2021.

2. Composição química e teor de fenóis e flavonoides de pólen e própolis de Bela Vista-PI. 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Sociedade Brasileira de Química SBQ. São Paulo. 2013.

3. 51º Congresso Brasileiro de Química. Constituintes voláteis de pólen de *Apis Mellifera* da região de Bela Vista (Pi). 2011.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

1. 8th BCNP- Brazilian Conference on Natural Products: *Molecular Networking for Identification of Cytochalasins from Endophytic Fungus Preussia sp.* (trabalho apresentado em congresso), nov. 2021.

2. XXXII Congresso de Iniciação Científica da Unesp, realizado nos dias 20, 21 e 22 de outubro e 24 e 25 de novembro de 2020, na qualidade de Avaliadora dos trabalhos apresentados.

3. 7th Conference on Mass Spectrometry and 4th Proteomics Meeting. Dezembro de 2018.

4. III Jornada Acadêmica, II Mostra de Iniciação Científica Júnior e I Semana de Extensão. 2017. (Congresso). Floriano/PI

5. 54º Congresso Brasileiro de Química, Natal-RN, Brasil, 03 a 07 de novembro de 2014. (Congresso).

- **Supervisões científicas**

1) Elane Leão Rocha Lima, graduanda Lic. em Ed. do Campo/Ciências da Natureza. Projeto: Composição química, determinação de acidez e teor de vitamina C em acessos de *Capsicum* spp. Iniciação Científica desde 2016 a 2017 ICV/UFPI.

2) Daiana Ferreira de Macêdo, graduanda em Licenciatura em Química, EAD/UFPI. Orientação de TCC: A cozinha como um espaço para a descoberta e aplicação da Química, Ano: 2016.

3) João Carlos Galeno Sousa, graduando em Licenciatura em Química, EAD/UFPI. Orientação de TCC: Jogos didáticos no computador aplicados nas aulas de Química do 1º ano do ensino médio. Ano: 2016.

Dedico este trabalho a todos os que me ajudaram e acreditaram em mim ao longo desta caminhada, em especial a minha família, amigos, meus alunos e a minha orientadora professora Angela.

Agradecimentos

À Universidade Federal do Piauí (UFPI) por conceder meu afastamento para capacitação profissional e ao Instituto de Química (UNESP-Araraquara) pela oportunidade de realizar o meu Doutorado.

Ao CNPq e a FAPESP pelos financiamentos de pesquisa no Brasil.

À minha orientadora Profa. Dra. Angela Regina Araujo, pela oportunidade, confiança e ensinamentos compartilhados. Muito obrigada por me inspirar e me apresentar as moléculas produzidas por fungos endofíticos!

À equipe do Prof. Dr. Adriano D. Andricopulo do (LQMC-IFSC-USP) pela parceria nos ensaios biológicos realizados.

Ao Prof. Dr. Alberto Cavalheiro por todo o ensinamento, discussões e questionamentos feitos durante a realização deste trabalho.

Aos professores do Instituto de Química pelos ensinamentos compartilhados. Aos funcionários da biblioteca e da pós-graduação pela competência e por serem sempre prestativos.

Aos doutores Nivaldo Boralle, Juliana Rodrigues e João Bronzel pelo auxílio técnico nas análises realizadas nos laboratórios do NuBBE e pelos ensinamentos sobre as técnicas. Ao Marquinhos pelo sorriso largo e por todo auxílio nos laboratórios.

À Isabella Cristhina Costa por ter me ajudado no manuseio dos fungos e à Natália Vieira por toda a ajuda nas análises de espectrometria de massas;

Ao Adriano dos Santos pela amizade, apoio, parceria e pelas figuras!

À Fernanda pela troca de conhecimento sobre GNPS e quimiometria e principalmente por todo seu apoio, incentivo e amizade.

À Camila Cunha pela sua amizade, apoio e parceria nos ensaios biológicos.

À Ana Zanata pelos conhecimentos compartilhados, pelo apoio e amizade.

Aos amigos do IQ UNESP em especial ao Bruno, Aninha, João Carlos e Larissa.
Obrigada pelos risos e conversas!

Aos amigos e colegas do NuBBE pela amizade e convivência, em especial a Carol Rabal, Julia, Givaldo, Edelson, Lucas, Rafael Viera, Ana Letícia, Weslei, Tony, Tiago, Rafael, Marcus, Wellington, Helena, Isabel, Gleize pelo companheirismo e ajuda. Perdão se esqueci de alguém!

À minha família, em especial meus pais, irmãos, sobrinhas (Heloíse e Sophia) e minhas tias que sempre me apoiaram e incentivaram a prosseguir nos estudos.

“No coração da ciência existe um equilíbrio essencial entre duas atitudes aparentemente contraditórias: uma abertura para ideias novas, por mais bizarras ou contrárias à intuição que sejam, e o exame cético mais implacável de todas as ideias, antigas e novas. É assim que verdades profundas são separadas de disparates profundos.”

(Carl Sagan)

*“Recomece, se refaça,
relembre o que foi bom,
reconstrua cada sonho,
redescubra algum dom,
reaprenda quando errar,
rebole quando dançar,
e se um dia, lá na frente, a vida der uma ré,
recupere sua fé e RECOMECE novamente.”*

(Bráulio Bessa)

RESUMO

O estudo dos fungos endofíticos (FE) isolados das folhas de *Platonia insignis* Mart, popularmente conhecida como bacuri, o que resultou, entre outros, no isolamento dos FE *Phyllosticta* sp e *Preussia* sp. Estes foram cultivados em diferentes meios e os extratos obtidos, avaliados quanto ao perfil químico e biológico (ensaios antiglicante, antileishmania, tripanocida e citotóxico) a fim de direcionar o isolamento e a identificação de substâncias bioativas. No estudo realizado por GC-MS com os extratos do fungo *Preussia* sp. foram anotadas duas dicetopiperazinas. A desrepliação dos extratos de *Preussia* sp. foi realizada pelo uso da plataforma GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking), utilizando dados espectrais obtidos por UPLC-Q-TOF-MS/MS. Relatou-se a anotação putativa do cluster de citocalasinas: citocalasina J, citocalasina B e ascocalasina no extrato de Czapek. Os extratos e frações foram testados contra o protozoário *Leishmania infantum* sendo que os extratos de *Preussia* sp. de Czapek (76%) e frações F6 (91%) e F7 (70%) do extrato PDB apresentaram alta porcentagem de inibição comparáveis ao controle positivo miltefosina (98%). Os extratos e frações dos fungos estudados apresentaram substâncias com propriedades antiparasitárias, destacando as substâncias ferricrocina e ferricrisina isoladas do fungo *Phyllosticta* sp. que mostram potencial para atividade antileishmania, com IC₅₀ entre 5,31 – 8,51, respectivamente. Realizou-se também, estudo de compostos orgânicos voláteis microbianos (mCOVs), visto que é uma área de pesquisa recente em desenvolvimento com impacto nas áreas: agrícola, médica e biotecnológica. Assim, estudamos os COVs produzidos pelos dois FE (*Phyllosticta* sp e *Preussia* sp.) e seu co-cultivo em duas condições de luminosidade (com e sem luminosidade) e tempo de cultivo (10 e 20 dias), que foram avaliados por microextração em fase sólida (HS-SPME-GC-MS). Os dados de GC-MS foram analisados por ferramentas estatísticas uni e multivariadas, como análise de componentes principais (PCA), análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e abordagem metabolômica para identificar os COVs produzidos pelos dois fungos em culturas axênicas e co-cultivo. O conjunto de dados obtido foi analisado combinando a rede molecular gerada a partir dos dados de GC-MS com uma análise multivariada não-alvo, a fim de identificar as variações metabólicas ocorridas no perfil dos COVs. Identificou-se 23 COVs, como: álcoois 26%, hidrocarbonetos alifáticos 26%, ésteres 21,8%, cetonas 17,5% e outras classes 8,7%. O 3-metilbutan-1-ol e o álcool 2-feniletílico foram emitidos em todas as culturas axênicas (*Phyllosticta* sp. e *Preussia* sp.) e co-cultivo dos fungos.

O éster 2-etil-hexanoato de metila foi identificado com composto majoritário do co-cultivo produzido por *Phyllosticta* sp. Uma análise multivariada dos dados foi realizada para visualizar tendências de agrupamento entre amostras e possíveis variáveis dispersas que pudessem distinguir entre culturas axênicas e co-cultivo. Deste modo, O gráfico de PCA indicou que não houve separação entre os COVs emitidos por F3 (*Phyllosticta* sp.) na cultura axênica e durante o co-cultivo, indicando semelhanças entre os COVs produzidos por esses grupos. Conforme os dados apresentados pelas variáveis VIP os voláteis que mais contribuíram para a descrição dos grupos foram as variáveis: 2-etil-hexanoato de etila, 3-metil-but-2-enoato de etila, nona-2-ona e undecan-2-ona. Os dados deste estudo contribuem para o conhecimento dos perfis metabólicos e biológicos de fungos endofíticos bem como suas interações com a planta hospedeira.

Palavras-chave: Fungos endofíticos. Citocalasinas. Sideróforos. Compostos Orgânicos Voláteis. GNPS.

ABSTRACT

The study of endophytic fungi (EF) isolated from the leaves of *Platonia insignis* Mart, commonly referred to as bacuri, which resulted, among others, in the isolation of EF *Phyllosticta* sp. and *Preussia* sp. These were cultivated in different media and the extracts obtained were evaluated for their chemical and biological profile (antiglycant, antileishmanial, trypanocidal and cytotoxic assays) in order to direct the isolation and identification of bioactive substances. In the study conducted using GC-MS with extracts of the fungus *Preussia* sp., two diketopiperazines were identified. The dereplication of *Preussia* sp. extracts was carried out using the GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking) platform, employing spectral data obtained by UPLC-Q-TOF-MS/MS. Putative annotation of the cytochalasin cluster was reported: cytochalasin J, cytochalasin B and ascochalasin in the czapek extract. The extracts and fractions were tested against the protozoan *Leishmania infantum*, with *Preussia* sp. extracts from czapek (76%) and fractions F6 (91%) and F7 (70%) of the PDB extract showing high inhibition percentages comparable to the positive control miltefosine (98%). The extracts and fractions of the studied fungi presented substances with antiparasitic properties, with particular emphasis on the compounds ferricrocin and ferrichrysin isolated from the fungus *Phyllosticta* sp. These compounds demonstrated potential antileishmanial activity, with IC₅₀ values ranging from 5.31 - 8.51, respectively. In addition, a study of microbial volatile organic compounds (mVOCs) was conducted, as it represents a recent and developing research area with implications in agricultural, medical, and biotechnological fields. Therefore, we investigated the VOCs produced by the two endophytic fungi (*Phyllosticta* sp. and *Preussia* sp.) and their co-culture under two lighting conditions (with and without luminosity) and different cultivation times (10 and 20 days). The evaluation was performed using solid-phase microextraction (HS-SPME-GC-MS). The GC-MS data were analyzed using both univariate and multivariate statistical tools, such as Principal Component Analysis (PCA), Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA), and a metabolomics approach, to identify the VOCs produced by the two fungi in axenic cultures and co-culture conditions. The dataset obtained was analyzed by combining the molecular network generated from the GC-MS data with a non-targeted multivariate analysis to identify the metabolic variations occurring in the VOCs profile. A total of 23 VOCs were identified, including alcohols (26%), aliphatic hydrocarbons (26%), esters (21.8%), ketones (17.5%), and other classes (8.7%). The compounds 3-methylbutan-1-ol and 2-phenylethanol were emitted in all axenic cultures (*Phyllosticta* sp. and *Preussia* sp.) and

during the co-cultivation of the fungi. The 2-ethylhexanoate methyl ester was identified as the major compound in the co-culture produced by *Phyllosticta* sp. A multivariate analysis of the data was conducted to visualize clustering trends among samples and identify potential dispersed variables that could distinguish between axenic cultures and co-cultivation. Thus, the PCA plot indicated that there was no clear separation between the emitted VOCs by F3 (*Phyllosticta* sp.) in the axenic culture and during co-cultivation, suggesting similarities between the VOCs produced by these groups. According to the Variable Importance in Projection (VIP) analysis, the volatiles that most contributed to the grouping description were the variables: ethyl 2-ethylhexanoate, ethyl 3-methyl-2-butenate, nonan-2-one, and undecan-2-one. The data from this study contribute to the understanding of the metabolic and biological profiles of endophytic fungi, as well as their interactions with the host plant.

Key words: Endophytic fungi. Cytochalasins. Siderophores. Volatile Organic Compounds. GNPS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Exemplos de substâncias bioativas isoladas de fungos.....	27
Figura 2-Espécie vegetal hospedeira: <i>Platonia insignis</i> Mart. e o fruto bacuri	29
Figura 3- <i>Preussia</i> sp. cultivados em PDA, parte superior e inferior da placa, respectivamente	30
Figura 4-Exemplos de alguns metabólitos secundários encontrados no gênero <i>Preussia</i>	32
Figura 5- <i>Phyllosticta</i> sp. cultivados em PDA, parte superior e inferior da placa, respectivamente	33
Figura 6-Exemplos de alguns metabólitos secundários encontrados no gênero <i>Phyllosticta</i> ..	34
Figura 7-Co-cultivo dos endófitos <i>Preussia</i> sp. (fungo claro) e <i>Phyllosticta</i> sp. (fungo escuro) cultivados em PDA, parte superior e inferior da placa, respectivamente	38
Figura 8-Cultivo e obtenção dos extratos brutos em PDB e Czapek.....	46
Figura 9-Fracionamento do extrato bruto PDB de <i>Preussia</i> sp.....	47
Figura 10-Cultivo e fracionamento do extrato bruto do <i>Phyllosticta</i> sp.....	48
Figura 11-Isolamento das substâncias da fração XADF3, produzidas por <i>Phyllosticta</i> sp.....	48
Figura 12-Metodologia utilizada para aquisição e processamento dos dados.....	55
Figura 13-Alinhamento do DNA do fungo PI-F3 (<i>Phyllosticta</i> sp.)	58
Figura 14-Fita consenso para o fungo PI-F3 (<i>Phyllosticta</i> sp.).....	58
Figura 15-Alinhamento do DNA do fungo PI-F4 (<i>Preussia</i> sp.)	59
Figura 16-Fita de consenso para o fungo PI-F4 (<i>Preussia</i> sp.).....	59
Figura 17-Cromatogramas do pico base (BPI) do extrato metanólico (A), do extrato PDB (B), do extrato czapek (C) e da fração acetoneitrila (D) do endófito <i>Preussia</i> sp., obtidos por UPLC-ESI-Q-TOF-MS no modo positivo	60
Figura 18-Cromatogramas do pico base (BPI) do extrato metanólico (A) e da fração XADF3 (B) do endófito <i>Phyllosticta</i> sp., obtidos por UPLC-ESI-Q-TOF-MS no modo positivo	61
Figura 19-Espectros de RMN de ¹ H dos extratos brutos de <i>Preussia</i> sp. nos diferentes meios de cultivo estudados, em DMSO-d ₆ e 600 MHz	62
Figura 20-Espectros de RMN de ¹ H da fração acetoneitrila e da fração XAD de <i>Phyllosticta</i> sp. em CD ₃ OD e 600 MHz	63
Figura 21-Cromatogramas de Íons Totais (TIC) para o extrato PDB do fungo <i>Preussia</i> sp ...	64
Figura 22-Cluster de Citocalasinas anotadas no extrato de Czapek de <i>Preussia</i> sp.	67
Figura 23-Percentual de inibição dos extratos de <i>Phyllosticta</i> sp. na formação de produtos finais da glicação (AGEs).....	69

Figura 24- Porcentagem de inibição dos extratos de <i>Preussia</i> sp. na formação de produtos finais da glicação (AGEs).....	69
Figura 25- Porcentagem de inibição dos extratos e frações do endófito <i>Phyllosticta</i> sp. frente a <i>Leishmania infantum</i> ITMAP263	71
Figura 26- Porcentagem de inibição dos extratos e frações do endófito <i>Preussia</i> sp. frente a <i>Leishmania infantum</i> ITMAP263	72
Figura 27- Cromatogramas do extrato bruto de PDB de <i>Preussia</i> sp., $\lambda = 254$ nm	74
Figura 28- Cromatogramas da fração 5 (70% H ₂ O:MeOH) da coluna do ext. PDB de <i>Preussia</i> sp. a $\lambda = 254$ nm.....	74
Figura 29- Estrutura da substância 1 (Genisteína).....	75
Figura 30- Espectro de RMN de ¹ H da substância 1(CD ₃ OD, 600 MHz)	76
Figura 31- Mapa de contorno de COSY da substância 1(CD ₃ OD, 600 MHz).....	77
Figura 32- Espectro de massas para a substância 1	77
Figura 33- Espectros de massas para as substâncias XADF3-1(A) e XADF-3 (B).....	79
Figura 34- Espectros de massas MS/MS para as substâncias Ferricrocina (A) e Ferricrisina (B)	80
Figura 35- Gráficos de Pareto obtidos a partir do estudo das variáveis avaliadas durante o planejamento fatorial. A (tempo de extração), B (temperatura de dessorção) e C (tempo de dessorção)	81
Figura 36- Mapa das redes moleculares geradas pelo GNPS para os COVs emitidos pelas culturas axênicas e durante o co-cultivo. Na rede molecular, o tamanho do nodo é proporcional à abundância relativa de íons.	83
Figura 37- Diagrama de Venn mostrando os metabólitos anotados por GC-MS de cultura axênica ou co-cultivo de <i>Phyllosticta</i> sp e <i>Preussia</i> sp. Os números indicam os metabólitos descritos na Tabela 11	84
Figura 38- Gráfico da Análise de Componentes Principais (PCA)	86
Figura 39- Análise multivariada dos dados de GC-MS. (A) Gráfico de pontuação da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e (B) Gráfico de VIP escores	88
Figura 40- Gráfico do tipo boxplot (diagrama de caixa) referente aos COVs discriminantes analisados, utilizando o conjunto de dados de GC-MS.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Atividade biológica de alguns metabólitos isolados do gênero <i>Preussia</i>	31
Tabela 2-Atividade biológica de alguns metabólitos isolados do gênero <i>Phyllosticta</i>	34
Tabela 3-Meios de cultura utilizados para o cultivo dos endófitos <i>Phyllosticta</i> sp. e <i>Preussia</i> sp	41
Tabela 4-Parâmetros Experimentais aplicados ao planejamento fatorial para otimização das condições de análises dos COVs extraídos por HS-SPME-GC-MS.....	56
Tabela 5-Massas obtidas dos extratos nos meios de cultivos utilizados.....	60
Tabela 6-Metabólitos anotados por GC-MS para <i>Preussia</i> sp. em diferentes meios de cultivo	65
Tabela 7-Metabólitos identificados através da rede de interações moleculares (GNPS) para extratos de <i>Preussia</i> sp., analisados em modo positivo em diferentes meios de cultivo.....	66
Tabela 8-Percentual de inibição na triagem frente a <i>Trypanosoma cruzi</i>	70
Tabela 9-Atividade antileishmania de substâncias isoladas e citotoxicidade para (THP-1)....	73
Tabela 10-Dados de RMN de ¹ H, (CD ₃ OD, 600 MHz), δ em ppm e <i>J</i> em Hz.....	76
Tabela 11-COVs anotados em culturas axênicas e durante o co-cultivo de <i>Phyllosticta</i> sp e <i>Preussia</i> sp.	85

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGEs	Acrônimo, em inglês para <i>Advanced Glycation End-Products</i>
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis
C18	Sílica gel de fase reversa tipo Octadecil silano
CC	Cromatografia em Coluna
DDA	Data-dependent acquisition
d.i.	Diâmetro interno
GC-MS	Gas chromatography coupled mass spectrometry
ESI	<i>Electrospray ionization</i> (Ionização por <i>electrospray</i>)
EtOH	Etanol
Grad.	Gradiente
GNPS	<i>Global Natural Products Social Molecular Networking</i>
HS-SPME-GC-MS	<i>Headspace Solid-Phase Microextraction/Gas Chromatography with Mass Spectrometry detection</i>
HPLC-PDA	<i>High Performance Liquid Chromatography - Photodiode Array Detector</i> (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de Fotodiodos)
m/z	Relação massa carga
MeOH	Metanol
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massas)
MS/MS	<i>Tandem mass spectrometry</i>
PLS-DA	<i>Partial least squares-discriminant analysis</i>
Ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Rpm	Rotações por minuto
®	Marca registrada
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Extração em fase sólida)
t_R	Tempo de retenção
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
1. 1 Fungos endofíticos	25
1. 2 Metabólitos bioativos	26
1. 3 Espécie vegetal hospedeira: <i>Platonia Insignis</i> Mart.....	28
1. 4 Gêneros: <i>Preussia</i> e <i>Phyllosticta</i>	29
1. 5 Compostos Orgânicos Voláteis: COVs	35
1. 6 Gêneros: Co-cultivo	37
1. 7 Desreplicação por LC-MS	38
2. Objetivos	40
3. Parte experimentalL	41
3. 1 Meios de cultivo.....	41
3. 2 Solventes e reagentes	41
3. 3 Equipamentos	42
3. 4 Metodologia.....	44
3.4.1 Obtenção da linhagem fúngica	44
3.4.2 Obtenção dos extratos brutos dos endófitos em PDB e Czapek	45
3.4.3 Fracionamento do extrato bruto de PDB do endófito <i>Preussia</i> sp.	46
3.4.4 Obtenção dos extratos brutos dos endófitos cultivados em meio sólido de milho.....	47
3.4.5 Derivatização de extratos fúngicos de <i>Preussia</i> sp. para análise em GC-MS	49
3.4.6 Análises por LC-MS.....	50
3.4.7 Processamento dos dados e construção das redes moleculares	51
3. 5 Ensaio biológico	52
3.5.1 Avaliação da atividade antiglicante	52

3.5.2 Avaliação in vitro da atividade anti-trypanosoma ¹	52
3.5.3 Avaliação in vitro da atividade antileishmania ¹	53
3.6 Determinação dos compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por <i>Phyllosticta</i> sp. e <i>Preussia</i> sp	54
3.6.1 Condições da análise HS-SPME-GC-MS	55
3.6.2 Processamento de dados e construção das redes moleculares (molecular Networking GC-MS workflow).....	56
4. Resultados e discussões.....	58
4.1 Identificação genética dos fungos endofíticos.....	58
4.2 Produção dos extratos fúngicos	59
4.3 Perfil cromatográfico dos extratos brutos	60
4.4 Perfil químico (RMN de ¹ H) dos extratos brutos	61
4.5 Estudos dos metabólitos produzidos pelo endófito <i>Preussia</i> sp.....	63
4.6 Análises das Redes Moleculares-Molecular Networking (GNPS).....	65
4.7 Ensaio Biológicos.....	68
4.7.1 Avaliação da atividade antiglicante	68
4.7.2 Avaliação in vitro da atividade antitrypanosoma ¹	70
4.7.3 Avaliação in vitro da atividade antileishmania ¹	70
4.8 Identificação estrutural das substâncias produzidas pelos endófitos <i>Preussia</i> sp. e <i>Phyllosticta</i> sp.....	74
4.8.1 Identificação estrutural da substância produzida pelo endófito <i>Preussia</i> sp.	75
4.8.2 Identificação estrutural das substâncias produzidas pelo endófito <i>Phyllosticta</i> sp.	78
4.9 Estudo compostos orgânicos voláteis (COVs)	80
4.9.1 Triagem das variáveis.....	81
4.9.2 Identificação dos compostos orgânicos voláteis de <i>Phyllosticta</i> sp. e <i>Preussia</i> sp.	82

5. conclusões.....	92
REFERÊNCIAS	94

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade tem-se usado produtos naturais como fonte de medicamentos para o tratamento de doenças. Plantas medicinais, micro-organismos, dentre outros organismos representam uma matriz prolífera de moléculas bioativas no processo de descoberta de fármacos (NEWMAN; CRAGG, 2020; NEWMAN, 2022).

No Brasil, a pesquisa de produtos naturais concentra-se em explorar as plantas como fonte de biomoléculas, seguida pelo estudo de micro-organismos, principalmente fungos (BERLINCK *et al.*, 2017).

Metabólitos secundários são compostos de baixa massa molecular, com funções específicas, produzidos por plantas e/ou micro-organismos como uma forma de adaptação aos estresses biótico e abiótico. Esses metabólitos desempenham papel importante na sinalização, defesa, regulação da simbiose entre a planta e o micro-organismo (NISA *et al.*, 2015). Os produtos do metabolismo secundário exercem função significativa na complexa interação molecular entre plantas e micro-organismos, a qual abrange sinalização química positiva, neutra e negativa entre indivíduos da mesma espécie e de espécies diferentes. Alguns micro-organismos interagem positivamente com as plantas, como por exemplo, as micorrizas e os endófitos, entre outros. Essas interações fornecem benefícios a ambas as espécies como promoção do crescimento e disponibilidade de nutrientes para plantas, além de proteção e nutrientes para micróbios (CHAGAS *et al.*, 2018).

Os metabólitos secundários produzidos por fungos apresentam ampla diversidade estrutural química e de aplicações biológicas (XU *et al.*, 2023). Esses metabólitos pertencem a diversas classes químicas, tais como peptídeos, alcaloides, terpenos, esteroides, policetídeos, além de outras classes com uma variedade de atividades biológicas (hormonais, antibióticas, antitumorais, antifúngicas, citotóxicas, antivirais, imunossupressoras, antiparasitárias, etc) (KELLER, 2019; ZHENG *et al.*, 2021).

A descoberta da penicilina produzida pelo fungo *Penicillium crysogenum*, antibiótico que revolucionou o século XX, foi um marco na pesquisa de fungos. Baseada na estrutura molecular desse importante metabólito, a indústria farmacêutica desenvolveu novos antibióticos como ampicilina, amoxicilina e metecilina. Além da penicilina, outros metabólitos fúngicos como por exemplo, estatinas, ciclosporina e ácido micofenólico, têm sido usados desde o século passado para prolongar a vida humana (TAKAHASHI *et al.*, 2017; KELLER,

2019). Atualmente, estudos preliminares realizados com psilocibina demonstraram que este metabólito fúngico atua no combate a depressão (GUKASYAN *et al.*, 2022).

A necessidade de novos antibióticos, agentes quimioterápicos e agroquímicos para tratar infecções e doenças relacionadas a resistência de patógenos fomentou o interesse pela pesquisa sobre a química dos fungos endofíticos. Desse modo, a bioprospecção de fungos endofíticos tem atraído a atenção de pesquisadores, pois oferece a possibilidade de encontrar metabólitos secundários biologicamente ativos (MARTINEZ-KLIMOVA; RODRÍGUEZ-PEÑA, 2017; NEWMAN; CRAGG, 2020; NISA *et al.*, 2015).

Dessa maneira, realizar estudos químicos de fungos associados/isolados de plantas medicinais tem se tornando objeto de pesquisa e contribuído para o conhecimento da biodiversidade e do potencial biossintético de endofíticos como fonte de biomoléculas de interesse farmacêutico (MARTINEZ-KLIMOVA; RODRÍGUEZ-PEÑA, 2017).

1. 1 Fungos endofíticos

O termo endofíticos refere-se a micro-organismos, comumente fungos e bactérias, que vivem em órgãos, tecidos internos e espaços intercelulares sem causar sintomas de doenças em um período da vida do hospedeiro (MARTINEZ-KLIMOVA; RODRÍGUEZ-PEÑA, 2017; ZHANG; SONG; TAN, 2006; ZHENG *et al.*, 2021).

Os fungos endofíticos podem ser isolados de diferentes tecidos vegetais, como folhas, galhos, frutos e raízes presentes em todas as famílias de plantas e ecossistemas do planeta (MARTINEZ-KLIMOVA; RODRÍGUEZ-PEÑA, 2017; ZHENG *et al.*, 2021).

Endófitos apresentam relações mutualísticas com seus hospedeiros, como por exemplo, protegendo-os contra ataques de herbívoros, insetos ou outros patógenos invasores; em troca, a planta disponibiliza nutrientes. Fungos endofíticos interagem com outros micro-organismos colonizadores dos tecidos de plantas e exercem uma função importante mediando interações ecológicas (KUSARI; HERTWECK; SPITELLER, 2012; ZHANG; SONG; TAN, 2006). Micro-organismos secretam moléculas que funcionam como sinalizadores químicos, realizando a comunicação entre espécies, fenômeno conhecido como *Quorum sensing* (QS), observado entre fungos, plantas e bactérias (CHAGAS *et al.*, 2018). Algumas leveduras secretam tirosol e farnesol como moléculas de sinalização QS, porém para os fungos filamentosos esse mecanismo ainda não está demonstrado quimicamente (CHAGAS *et al.*, 2018; MARTINEZ-KLIMOVA; RODRÍGUEZ-PEÑA, 2017).

MARTINEZ-KLIMOVA e colaboradores (2017) destacam a importância das pesquisas de propriedades antibióticas dos extratos orgânicos obtidos de diferentes fungos endofíticos como uma perspectiva de encontrar micro-organismos produtores de novos compostos bioativos, verificando uma variedade de extratos com valores de CIM (concentração inibitória mínima) adequados para justificar novos estudos.

1. 2 Metabólitos bioativos

A diversidade de espécies de fungos, bem como a diversificação dos *clusters* gênicos biossintético, ressaltam o potencial metabólico desses micro-organismos como fonte de moléculas bioativas (BILLS; GLOER, 2016). Os metabólitos secundários exercem um importante papel ecológico no desenvolvimento, na defesa e na guerra entre os micro-organismos (KELLER, 2019). Algumas moléculas, embora não sejam produzidas a partir de rotas do metabolismo secundário exercem função no metabolismo fúngico. Dentre essas moléculas, podemos citar o tirosol, produzido pelo micro-organismo *Candida albicans*, que atua como uma molécula de detecção de *quorum-sensing* estimulando a conversão da levedura em hifa (BILLS; GLOER, 2016).

O ácido kójico, um dos primeiros metabólitos fúngicos caracterizados, tem seu papel ainda desconhecido no ciclo de vida fúngico. Tal metabólito apresenta atividade antioxidante e inibidora da tirosinase, sendo usado na indústria de cosméticos para o tratamento de hiperpigmentação da pele (BILLS; GLOER, 2016).

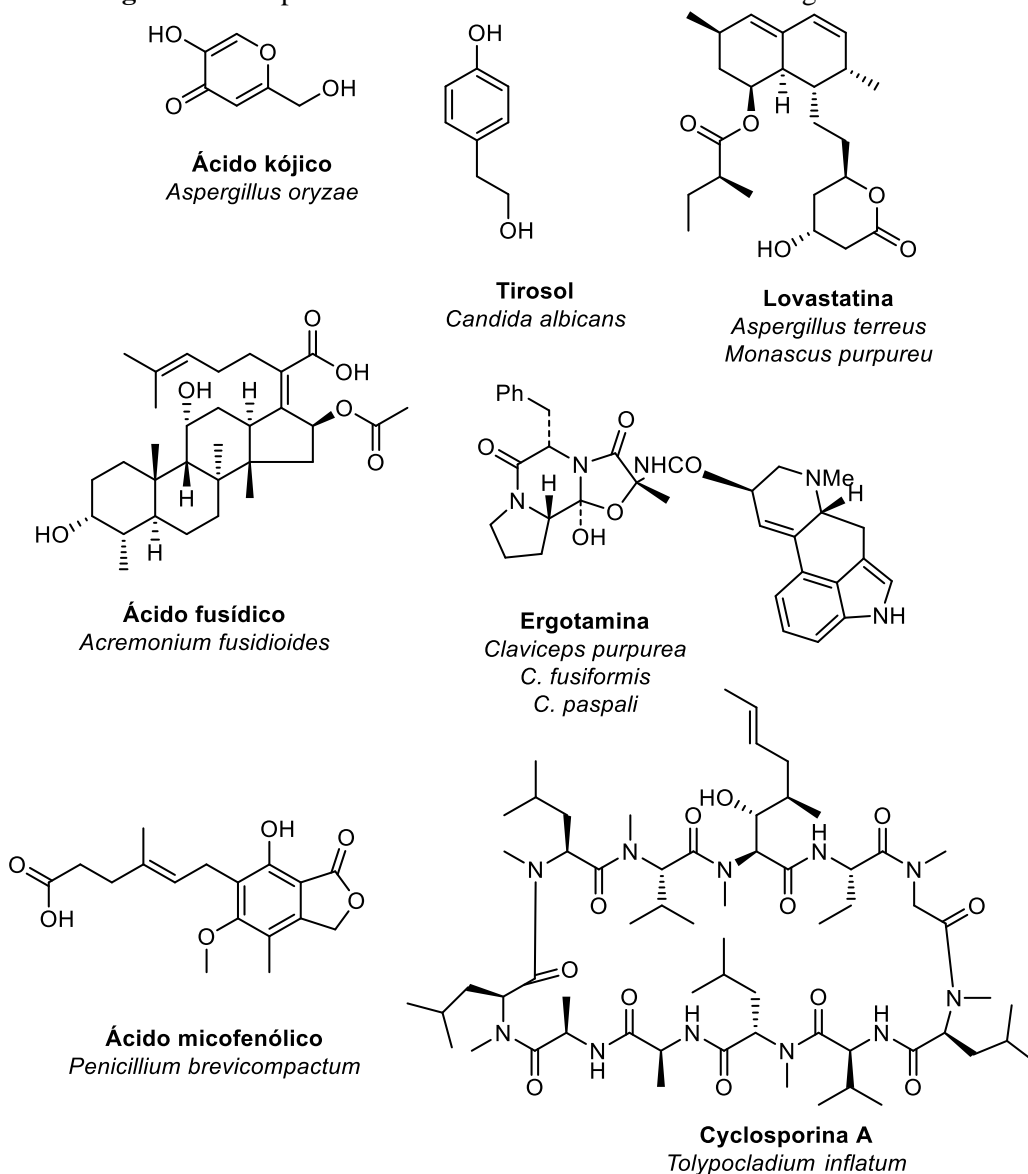
Algumas moléculas fúngicas, como por exemplo as micotoxinas, são conhecidas por contaminar alimentos e ambientes, enquanto outras possuem atividades biológicas que foram aplicadas na agricultura, na medicina e na indústria de alimentos (BILLS; GLOER, 2016; WANG *et al.*, 2017). Os fungos produzem um vasto número de metabólitos secundários que podem ser agrupados em diversas classes, incluindo alcaloides, policetídeos, terpenoides, esteroides, quinonas, fenilpropanoides, ésteres, entre outras (LI *et al.*, 2018; ZHANG; SONG; TAN, 2006).

Os policetídeos constituem a classe mais abrangente e diversificada de metabólitos secundários fúngicos. Esses metabólitos são biossintetizados a partir de um grande número de enzimas multifuncionais, conhecidas como policetídeo sintases (PKSs).

A Figura 1 ilustra importantes metabólitos produzidos por fungos. A lovastatina, usada no tratamento da hipercolesterolemia, é um exemplo de policetídeo, sendo comercializada

como Mevacor[®], Sinvastatin[®], dentre outras denominações. Um clássico exemplo de alcaloides produzidos por endófitos são os alcaloides do *ergot*, que estão associados às gramíneas e algumas espécies de *Convolvulaceae* conferindo às plantas resistência aos herbívoros. Esses alcaloides são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Claviceps*, a partir da prenilação do triptofano. A ergotamina, vendida comercialmente como tartrato de ergotamina (Ergomar[®], Migril[®], etc.) tem sido usada como vasoconstritor no tratamento de enxaqueca (BILLS; GLOER, 2016; KELLER; TURNER; BENNETT, 2005).

Figura 1-Exemplos de substâncias bioativas isoladas de fungos



Fonte: ilustração elaborada pela autora.

* Todas as figuras foram elaboradas utilizando o *software* chemdraw versão 2020.

Fungos pertencentes aos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* são prolíferos produtores de terpenoides. Ácido fusídico, produzido pelo fungo *Acremonium fusidioides*, apresenta esqueleto do tipo fusidano, tem sido usado como antibiótico no tratamento de infecções com bactérias Gram-positivas, sendo vendido com os nomes comerciais Usidin[®], Fucidin[®], entre outros (BILLS; GLOER, 2016). O ácido micofenólico, meroterpenoide sintetizado por alguns fungos do gênero *Penicillium*, tem sido empregado na produção de micofenolato de sódio (nome comercial: Myfortic[®]), e utilizado como medicamento para prevenir a rejeição após transplantes (BILLS; GLOER, 2016).

A ciclosporina A, um decapeptídeo sintetizado pelo fungo *Tolypocladium inflatum* via peptídeo sintetases não ribossomais (NRPS), é um importante fármaco usado no combate à rejeição de órgãos e tecidos, devido à sua atividade imunossupressora (BILLS; GLOER, 2016; KELLER, 2019).

1. 3 Espécie vegetal hospedeira: *Platonia Insignis* Mart

A espécie vegetal *Platonia insignis* Mart. é uma árvore frutífera e madeireira, originária da Amazônia Oriental Brasileira, encontrada em todos os estados da Região Norte do Brasil, além dos estados do Mato Grosso, Maranhão e Piauí. Pertence à família Clusiaceae, à subfamília Clusioideae e ao gênero *Platonia*. Também conhecida como bacuri, Figura 2, essa árvore tem o fruto bastante consumido no Nordeste brasileiro. Além do consumo do fruto, a sua utilização etnofarmacológica está associada ao uso de suas sementes no tratamento de doenças dermatológicas. A manteiga produzida a partir de sementes do fruto do bacuri é utilizada na produção de fitoterápicos e cosméticos (SOEIRO, VERGOTEN, BAILLY, 2022). Vários compostos fenólicos e xantonas têm sido isolados do fruto do bacuri, dos quais se destacam as garcinielliptonas FC. Essas substâncias foram isoladas tanto de sementes quanto dos frutos e apresentam uma variedade de atividades biológicas (SOEIRO, VERGOTEN, BAILLY, 2022). Diversos estudos foram realizados utilizando extratos (hexânico, etanólico e metanólico) do bacuri, nos quais foram identificadas várias atividades biológicas significativas. Entre essas atividades, destacam-se as propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, cicatrizantes, antileishmania e antiproliferativas (SANTOS *et al.*, 2013; YAMAGUCHI *et al.*, 2014; SOEIRO, VERGOTEN, BAILLY, 2022).

Figura 2-Espécie vegetal hospedeira: *Platonia insignis* Mart. e o fruto bacuri



Fonte: autora; Carolina-MA

1. 4 Gêneros: *Preussia* e *Phyllosticta*

Após uma revisão bibliográfica prévia, não foram encontrados estudos relacionados a endófitos de *Platonia insignis* Mart. Como resultado, a Dra. Isabella Cristhina G. Costa, membro do grupo de pesquisa Núcleo de Pesquisa sobre Bioensaio, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais (NuBBE), iniciou uma investigação para isolar e identificar fungos endofíticos provenientes de *Platonia insignis* Mart. Durante essa investigação, foram isoladas 18 linhagens puras de fungos endofíticos. Para o presente estudo, foram selecionados os fungos endofíticos pertencentes aos gêneros *Preussia* sp. e *Phyllosticta* sp., que foram isolados das folhas do bacurizeiro. Essa escolha foi baseada em resultados obtidos a partir da avaliação da atividade antibiofilme desses endófitos.

Os fungos pertencentes ao gênero *Preussia*, que são organismos filamentosos, foram isolados como fungos endofíticos em nosso grupo de pesquisa. Esses fungos foram encontrados associados à planta hospedeira *Casearia sylvestris* (SOMENSI, 2016). A Figura 3 ilustra o fungo *Preussia* sp. cultivado em PDA.

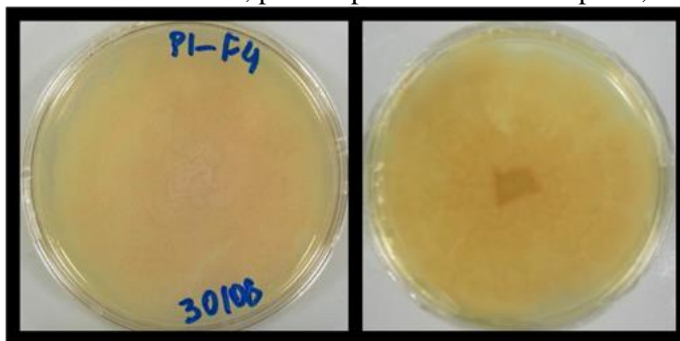
O gênero *Preussia*, descrito por Fuckel em 1866, pertence à família de fungos Sporormiaceae, amplamente distribuída e encontrada em esterco de animal, podendo ser isolados do solo, madeira, resto de plantas, sendo isolado ocasionalmente endófitos (GONZALEZ-MENENDEZ *et al.*, 2017; MAPPERSON *et al.*, 2014). A família Sporormiaceae compreende aproximadamente 100 espécies, divididas em dez gêneros, incluindo os gêneros

Forliomyces, *Sparticola*, *Chaetopreussia*, *Pleophragmia*, *Preussia*, *Pycnidiophora*, *Sporormia*, *Sporormiella*, *Spororminula* e *Westerdykella*, todos recentemente descritos. Os gêneros *Sporormiella* e *Preussia* são bastante ricos em espécies (GONZALEZ-MENENDEZ et al., 2017).

Os fungos do gênero *Preussia* têm sido relatados como endófitos de plantas coletadas em zonas áridas e desérticas. Mapperson e colaboradores (2014) identificaram várias espécies de *Preussia*, tais como *P. africana*, *P. australis*, *P. mínimos*, *P. cylindrica* e *P. funiculata*, tendo sido estas isoladas de folhas de plantas tropicais da Austrália (MAPPERSON et al., 2014). Um estudo realizado por González-Menéndez e colaboradores (2018), mediante isolamento de fungos encontrados em plantas de uma região árida da Espanha (Andalusia), resultou na identificação dos gêneros *Neocamarosporium* e *Preussia* como sendo os mais frequentes encontrados nas 63 espécies de plantas coletadas. Estudos realizados com amostras de caule e espinhos do cacto *Melocactus ernestii*, espécie nativa da Caatinga, resultou no isolamento dos fungos *Preussia* sp. e *Preussia minimoides* (FERREIRA-SILVA et al., 2021).

O gênero *Preussia* é conhecido por ser produtor de policetídeos bioativos, incluindo depsidonas. A espécie *Preussia similis* foi considerada uma rica fonte de compostos antifúngicos, como as similinas A e B e a preussomerina A (NOUMEUR et al., 2017).

Figura 3-*Preussia* sp. cultivados em PDA, parte superior e inferior da placa, respectivamente



Fonte: autora.

Os metabólitos secundários aurantinas, australifungina, ácido zaragózico B, terezinas e esporminarinas são conhecidos por serem produzidos exclusivamente por *Preussia* sp., enquanto que hialopirona, leptosina, cissetina, microsphaeropsona A podem ser produzidos por *Preussia* e por outros gêneros. Alguns compostos, como citocalasina, globosuxantona A e

brevianamida F, são produzidos somente pelas cepas *Australis*, *Intermedia* e *Minima* (GONZALEZ-MENENDEZ *et al.*, 2017).

Foram isolados da espécie *Preussia similis* novos policetídeos bicíclicos que apresentam atividade antiproliferativa, identificados como preussilidas A–F; da espécie *Preussia minimoides* foram identificados dois policetídeos, inibidores da enzima α -glicosidase, chamados de minimoidiones A e B, da espécie *Preussia sp.*, dois dibenzofuranos, possuindo atividades antiplasmodial e citotóxica, denominados preussiafuranos A e B; da espécie *Preussia africana*, o composto preussocromona A, com atividade citotóxica, e da *Preussia isomera*, seis biscetais aromáticos, conhecidos como preussomerinas A-F, que apresentam atividades antifúngica e antibacteriana (XU *et al.*, 2019).

A Figura 4 e a Tabela 1 apresentam um panorama do estudo químico e biológico realizado nos fungos do gênero *Preussia*.

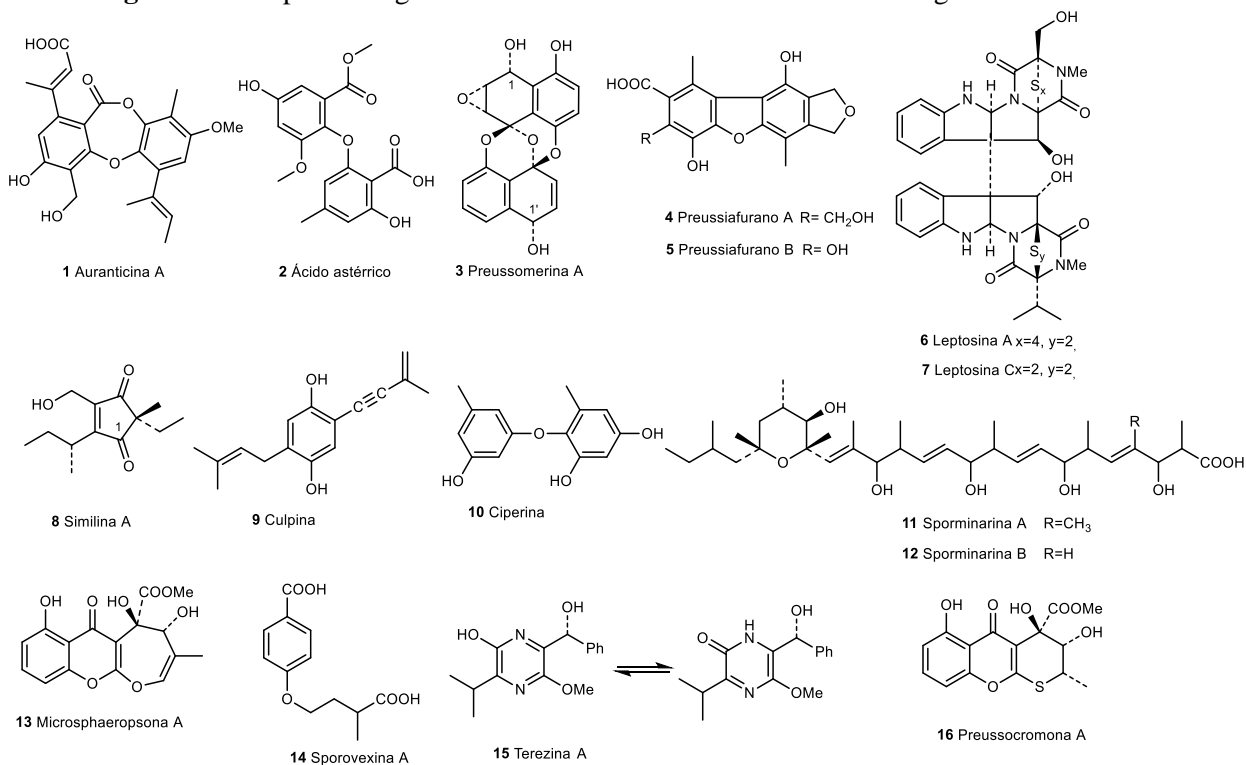
Tabela 1-Atividade biológica de alguns metabólitos isolados do gênero *Preussia*

Metabólitos	Espécie	Atividade biológica	Referências
1	<i>P. aurantiaca</i>	antifúngica e antibacteriana	GONZALEZ-MENENDEZ <i>et al.</i> , 2017
2	<i>Preussia sp.</i>	antiplasmodial	TALONTSI <i>et al.</i> , 2014
3	<i>P. isomera</i>	antifúngica e antibacteriana	GONZALEZ-MENENDEZ <i>et al.</i> , 2017
4,5	<i>Preussia sp.</i>	citotóxica	TALONTSI <i>et al.</i> , 2014
6,7	<i>P. typharum</i>	citotóxica	DU <i>et al.</i> , 2014
8	<i>P. similis</i>	antifúngica	GONZALEZ-MENENDEZ <i>et al.</i> , 2017
9	<i>Preussia sp.</i>	antifúngica e antibacteriana	GONZALEZ-MENENDEZ <i>et al.</i> , 2017
10	<i>P. fleischhakii</i>	fitotóxica	GONZALEZ-MENENDEZ <i>et al.</i> , 2017
11,12	<i>P. minimoides</i>	antifúngica	GONZALEZ-MENENDEZ <i>et al.</i> , 2017
13	<i>P. minima</i>	antifúngica	XIONG <i>et al.</i> , 2014
14	<i>P. vexans</i>	antifúngica e antibacteriana	SOMAN <i>et al.</i> , 1999
15	<i>P. teretispora</i>	antifúngica e antibacteriana	WANG <i>et al.</i> , 1995
16	<i>P. africana</i>	citotóxica	ZHANG <i>et al.</i> , 2012

Fonte: autora.

Em um estudo conduzido por Gonzalez-Menendez et al. (2017), foram identificados quatro metabólitos por meio da análise de bancos de dados de produtos naturais contendo compostos conhecidos. Esses resultados sugerem que o potencial do gênero *Preussia* para a descoberta de novos produtos naturais ainda não foi completamente explorado. Assim, destaca-se a grande diversidade e potencialidade de investigações químicas e biológica para este gênero.

Figura 4-Exemplos de alguns metabólitos secundários encontrados no gênero *Preussia*



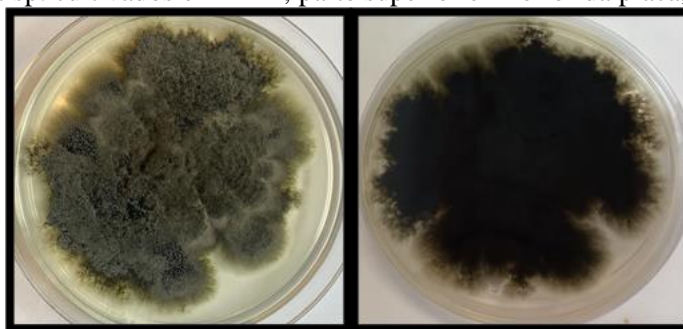
Fonte: ilustração elaborada pela autora.

Outro fungo estudado neste trabalho de doutorado pertence ao gênero *Phyllosticta*, forma sexuada *Guignardia*. Esse gênero pertence à família Phyllostictaceae e à ordem *Botryosphaeriales*, tendo sido introduzido por Persoon (1818). Algumas espécies de *Phyllosticta* têm sido reportadas como endófitos e sapróbios, enquanto que outras são patógenos associados às manchas foliares de várias espécies de plantas (WIKKEE et al., 2013; WULANDARI, 2013). Geralmente, algumas espécies de *Phyllosticta* são patógenos que se encontram associados a doenças de grande impacto econômico, como por exemplo, a *P. citricarpa*, que provoca a mancha preta em cítricos, *P. ampellicida*, causadora da podridão negra em videiras, e *P. musarum* que provoca a doença da sarda da banana (WIKKEE et al., 2013;

WANG *et al.*, 2020).

Algumas espécies de *Phyllosticta* têm sido descritas como endofíticas. Exemplos destas são: *P. bifrenariae*, *P. brazilianiae*, *P. capitalensis*, *P. ilicina*, *P. spinarum* e *Phyllosticta* sp., sendo isoladas de folhas, galhos e frutos de uma gama de espécies vegetais (WIKEE *et al.*, 2011). A espécie *P. capitalensis* tem sido isolada como endófito associado a *Citrus*; *P. bifrenariae*, de folhas e bulbos de plantas do gênero *Orchidaceae*, e a *P. brazilianiae*, de folhas e frutos de *Anacardiaceae* (WANG *et al.*, 2012; WIKEE *et al.*, 2011). A Figura 5 ilustra o fungo *Phyllosticta* sp., cultivado em PDA.

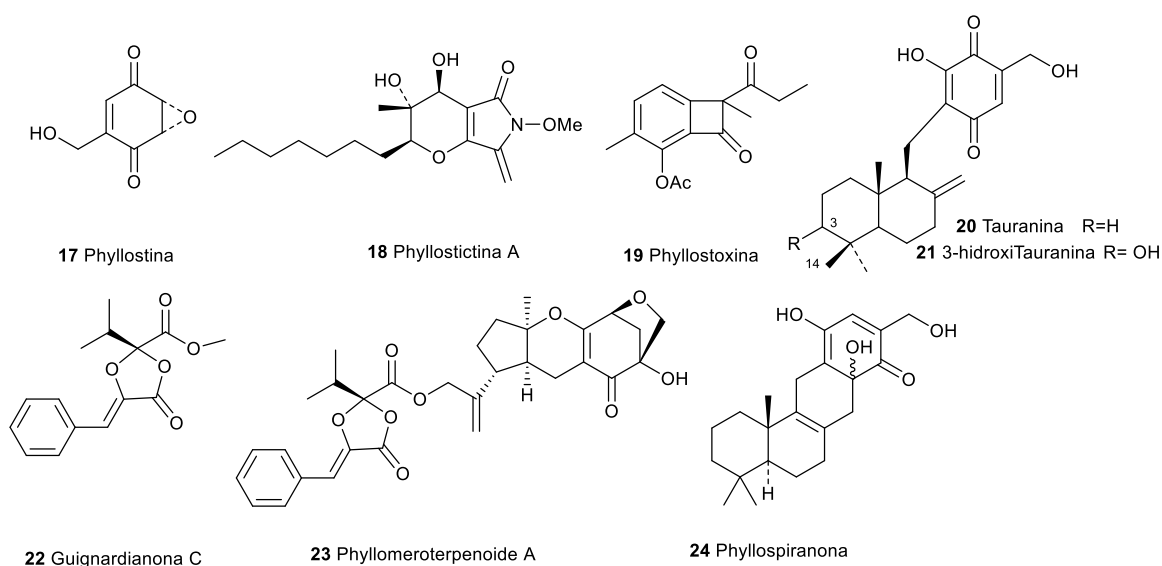
Figura 5-*Phyllosticta* sp. cultivados em PDA, parte superior e inferior da placa, respectivamente



Fonte: autora.

Investigações químicas realizadas para o gênero *Phyllosticta* indicam uma diversidade de classes de metabólitos secundários, tais como alcaloides, terpenos, meroterpenoides, policetídeos, benzofenonas, entre outros (MA *et al.*, 2019). Por exemplo, a produção de taxol por *P. dioscoreae* isolado de *Hibiscus rosa-sinensis* foi registrada por Wikee e colaboradores (2011). Um estudo realizado por Ma e colaboradores (2019) com o endófito *P. capitalensis* resultou na identificação de vinte meroterpenoides, tendo o guignardiona C apresentado atividade fitotóxica. Também foram isoladas moléculas com o esqueleto do tipo meroterpenoides, phyllomeroterpenoides A-C que apresentaram atividade antimicrobiana (YANG *et al.*, 2017).

Alguns metabólitos secundários produzidos pelo gênero *Phyllosticta* estão representados na Figura 6 e Tabela 2.

Figura 6-Exemplos de alguns metabólitos secundários encontrados no gênero *Phyllosticta*

Fonte: autora.

As espécies de *Phyllosticta* têm potencial para serem utilizadas como agentes de biocontrole de espécies invasoras. Como exemplo, tem-se o fungo *Phyllosticta cirsii*, que produz o grupo de moléculas das phyllostictina A-D que apresentam atividade herbicida contra a erva daninha *Cirsium arvense* (EVIDENTE *et al.*, 2008; WIKKEE *et al.*, 2011).

Tabela 2-Atividade biológica de alguns metabólitos isolados do gênero *Phyllosticta*

Metabólitos	Espécie	Atividade biológica	Referências
17	<i>P. cirsii</i>	antimicrobiana	EVIDENTE <i>et al.</i> , 2008; WIKKEE <i>et al.</i> , 2011; WANG <i>et al.</i> , 2020
18	<i>P. cirsii</i>	antimicrobiana, anticâncer, herbicida	EVIDENTE <i>et al.</i> , 2008; LE CALVÉ <i>et al.</i> , 2011
19	<i>P. cirsii</i>	herbicida	EVIDENTE <i>et al.</i> , 2008; WIKKEE <i>et al.</i> , 2011
20 e 21	<i>P. spinarum</i>	anticâncer	WIJERATNE <i>et al.</i> , 2008
22	<i>P. capitalensi</i>	fitotóxica	MA <i>et al.</i> , 2019
23	<i>Phyllosticta sp.</i>	antimicrobiana	YANG <i>et al.</i> , 2017
24	<i>P. spinarum</i>	inibição da proliferação celular	WIJERATNE <i>et al.</i> , 2008

Fonte: autora.

O potencial metabólico dos fungos endofíticos (*Preussia sp.* e *Phyllosticta sp.*) motivou o desenvolvimento de pesquisas envolvendo os compostos orgânicos voláteis emitidos pelas cepas, objetivando compreender a relação entre os endófitos, visto que ambos foram isolados da folha da espécie hospedeira.

1. 5 Compostos Orgânicos Voláteis: COVs

Micro-organismos (bactérias, arqueias, fungos e protistas) fabricam e excretam metabólitos com diferentes funções biológicas, além de liberarem também compostos orgânicos voláteis (COVs). Esses compostos podem se difundir nas fases gasosa e aquosa, sinalizando interações químicas rápidas. O estudo de compostos orgânicos voláteis microbianos (mCOVs) é uma linha de pesquisa recente em desenvolvimento, com impacto nas áreas agrícola, médica e biotecnológica. Os mCOVs são moléculas quimicamente diversas com papéis importantes e diversificados nas interações entre as comunidades microbianas e o ambiente. Apesar de estarem presentes em todos os habitats do planeta, existem poucas informações na literatura, sobre o papel biológico e ecológico dos mCOVs. Dos mCOVs identificados menos de 10% estão associados a alguma função biológica, ficando atrás em relação aos COVs de plantas e animais (LEMFACK *et al.*, 2018; WEISSKOPF; SCHULZ; GARBEVA, 2021).

Os aromas típicos de alguns tipos de queijos e de vinhos, o odor característico de cogumelos, bem como o cheiro de terra e lama, são produzidos e liberados por micro-organismos. Vários estudos têm estabelecido uma correlação entre os COVs identificados na respiração de pacientes com tuberculose e os COVs presentes nas culturas *in vitro* de *Mycobacterium tuberculosis*. Um exemplo é o nicotinato de metila, que é emitido tanto pela bactéria encontrada nos pulmões humanos quanto nas culturas em laboratório. Essa correlação tem implicações significativas para o desenvolvimento futuro de um método de diagnóstico não invasivo para a tuberculose (DU PREEZ; LUIES; LOOTS, 2019). Além disso, COVs emitidos por micro-organismos que crescem em ambientes fechados também são indicadores de contaminações que eventualmente podem causar danos à saúde humana (KORPI; JÄRNBERG; PASANEN, 2009). O COV 3-metilfurano, produzido por fungos, pode ser usado como um marcador de crescimento de micro-organismos em ambientes fechados e úmidos, já que tal composto contribui também para irritações nas vias respiratórias (WÄLINDER *et al.*, 2005).

Entre os COVs produzidos por fungos, o etanol ocupa posição de destaque, pois é produzido por leveduras durante a fermentação alcoólica. O COV produzido mais comumente produzido pelos fungos filamentosos é o oct-1-en-3-ol, gerado a partir da quebra do ácido linoleico (MARTINEZ; BENNETT, 2021).

Os voláteis microbianos são compostos de massa molecular menor que 300 Da, de baixa polaridade e de alta pressão de vapor, podendo ser liberados na atmosfera ou no solo. As

funções biológicas e ecológicas do mCOVs são diversas, e entre elas destacam-se a influência de processos fisiológicos em organismos alvo, a bioconversão, a produção de compostos de defesa, o papel no *quorum sensing* e também a atuação como sinais em comunicação química (PIECHULLA; LEMFACK, 2016).

Alguns COVs emitidos por fungos apresentam-se como semioquímicos que podem atrair ou afastar insetos e outros invertebrados. Além disso, na agricultura, COVs fúngicos têm sido usados no controle biológico, impedindo o crescimento de patógenos vegetais (MORATH; HUNG; BENNETT, 2012). Estudos realizados com os COVs investigaram o efeito desses metabólitos na promoção de crescimento de plantas (CAMARENA-POZOS *et al.*, 2021). Na indústria alimentícia, utiliza-se também uma mistura de COVs para impedir o crescimento de outros micro-organismos pós-colheita, processo chamado de micofumigação. Atualmente, os COVs de fungos são considerados como potencial fonte de biocombustíveis, conhecido como micodiesel (AQUINO MORAES; FERNANDES FERRAZ; MARA CHAPLA, 2020; MORATH; HUNG; BENNETT, 2012).

Os COVs fúngicos também podem ser aplicados na quimiotaxonomia. Como exemplo, tem-se o estudo de Larsen e Frisvald (1995), que comprovou que muitas substâncias voláteis podem ser utilizadas para promover a distinção entre membros do gênero *Penicillium* em nível de espécie (HUNG; LEE; BENNETT, 2015).

O oct-1-en-3-ol, conhecido como álcool de cogumelo, é um dos COVs emitidos por fungos mais relatados na literatura, e apresenta diferentes funções, como por exemplo o efeito fitotóxico em *Arabidopsis*, aumentando a resistência de plantas ao patógeno *Botrytis cineregand* (LEE *et al.*, 2015; PIECHULLA; LEMFACK, 2016).

Os fungos possuem um metabolismo muito versátil, o que permite sintetizar uma grande diversidade de classes de metabólitos, os quais são importantes não só para suas interações ecológicas como para sua sobrevivência (CALLA-QUISPE *et al.*, 2020). Os compostos orgânicos voláteis produzidos e liberados por fungos filamentosos são constituídos por uma mistura complexa de diferentes classes de metabólitos, tais como hidrocarbonetos simples, álcoois, aldeídos, cetonas, sesquiterpenos, lactonas, ésteres, terpenos, compostos aromáticos, tiois, dentre outros. Devido à natureza volátil, esses metabólitos atuam promovendo a auto-sinalização e na interação com outros organismos, como plantas e micróbios (AQUINO MORAES; FERNANDES FERRAZ; MARA CHAPLA, 2020; KLUGER *et al.*, 2013).

Os COVs microbianos podem ser formados durante os metabolismos primário e secundário, a partir da oxidação da glicose e de vários precursores, como acetato, aminoácidos,

ácidos graxos e cetoácidos. O metabolismo primário envolve uma série de reações químicas catalisadas por enzimas, que compreende a síntese de DNA, de aminoácidos e de ácidos graxos, enquanto que o metabolismo secundário baseia-se nas reações dos metabólitos primários. (KORPI; JÄRNBERG; PASANEN, 2009).

Mudanças no estado nutricional da cultura podem promover a expressão do metabolismo secundário ou desencadear a produção de compostos voláteis microbianos. Tem-se sugerido que a produção de alguns mCOVs fúngicos está associada à produção de micotoxina, como por exemplo, entre sesquiterpenos e aflatoxinas (KORPI; JÄRNBERG; PASANEN, 2009).

O estudo dos COVs fúngicos é importante para a compreensão das interações ecológicas. Com o objetivo de investigar a produção de COVs, Azzollini e colaboradores (2018b) desenvolveram uma estratégia para triagem de indução de COVs e metabólitos não voláteis em um co-cultivo fúngico empregando dois fungos causadores de doença em videiras (*Eutypa lata* e *Botryosphaeria obtusa*). Os autores empregaram a técnica de pré-concentração em *headspace*, seguida de análise por GC-MS para identificação dos COVs mediante a comparação de espectros de massas e dos índices obtidos com os dos padrões cromatográficos.

Lemfack e colaboradores (2018) disponibilizaram na *Web* um banco de dados chamado de mVOC 2.0, disponível no seguinte sítio: <https://bioinformatics.charite.de/mvoc/>. A base de dados mVOC 3.0, mais atualizada, contém cerca de 2.000 compostos de quase 1.000 espécies de micro-organismos. A coleção de compostos foi aumentada com dados sobre os efeitos mediados por mCOVs em plantas, fungos, bactérias e invertebrados. Tal banco de dados apresenta um localizador de espectros de massas, permitindo uma comparação rápida dos espectros obtidos a partir das culturas de micro-organismos, a fim de identificar os COVs. Essa ferramenta, além de agregar dados e refinar informações disponíveis, fornece uma plataforma abrangente e informativa sobre voláteis microbianos (LEMFACK *et al.*, 2018).

1. 6 Gêneros: Co-cultivo

O co-cultivo de micro-organismos é uma estratégia usada em metabolômica para induzir a produção de metabólitos fúngicos, podendo ser realizada em meios de cultivos sólidos ou líquidos (BERTRAND *et al.*, 2014). O co-cultivo é uma técnica baseada na fermentação mista

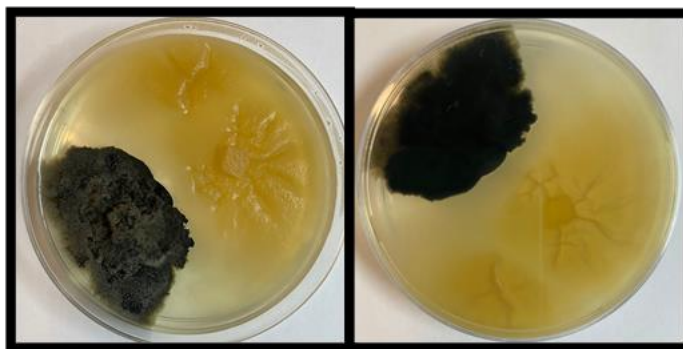
de duas ou mais cepas inoculadas juntas para imitar as interações entre os micro-organismos (CAUDAL; TAPISSIER-BONTEMPS; EDRADA-EBEL, 2022).

A Figura 7 apresenta fotos do co-cultivo dos endófitos *Preussia* sp e *Phyllosticta* sp. O co-cultivo com os endófitos foi realizado para acompanhar a emissão dos COVs produzidos pelos fungos, pois ambos foram isolados das folhas de *Platonia insignis* Mart., (COSTA, 2019).

Estudos realizados por Azzollini e colaboradores (2018) para investigar a emissão de compostos voláteis e não voláteis produzidos em co-cultivo fúngico de *Eutypa lata* e *Botryosphaeria obtusa* demonstraram que o COV nonan-2-ona possui atividade antifúngica.

A complexidade química dos extratos fúngicos requer métodos analíticos sofisticados e sensíveis, como por exemplo a espectrometria de massas, para a identificação de metabólitos em extratos (AZZOLLINI *et al.*, 2018; BERTRAND *et al.*, 2014).

Figura 7-Co-cultivo dos endófitos *Preussia* sp. (fungo claro) e *Phyllosticta* sp. (fungo escuro) cultivados em PDA, parte superior e inferior da placa, respectivamente



Fonte: autora.

1. 7 Desrepliação por LC-MS

A fim de observar a variação metabólica dos extratos, em função da variação dos meios de cultivo, foi realizada nesse trabalho a desrepliação por Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) das culturas dos fungos *Phyllosticta* sp e *Preussia* sp. Com o auxílio da base de dados criada para os fungos em questão,

a partir de compostos descritos na literatura e com espectros de massas obtidos pela técnica de LC-MS/MS foram verificados os perfis dos extratos fúngicos e identificados os COVs.

A partir da plataforma do GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*), disponível no sítio <http://gnps.ucsd.edu>) é possível gerar o *molecular networking*, uma abordagem de rede molecular, para obter informações químicas de um ou vários extratos. Essa plataforma associa os espectros MS/MS com base em perfil de fragmentação de massas similares baseada no conceito subjacente de que moléculas estruturalmente relacionadas se fragmentarão de maneiras semelhantes para dar padrões análogos (NAMAN *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2016a). Assim, a triagem de bioensaios combinado à rede molecular usando dados de LC-MS/MS constitui-se uma ferramenta de descoberta que agiliza o isolamento direcionado de um metabólito novo, pois associa com famílias estruturais específicas e com uma atividade biológica desejada (NAMAN *et al.*, 2017).

5. CONCLUSÕES

A exploração dos perfis metabólitos produzidos pelo endofíticos *Phyllosticta* sp. e *Preussia* sp. destacam a importância de estudos desenvolvidos na prospecção química de moléculas bioativas, visto vez que existem poucos trabalhos na literatura para os gêneros estudados.

A análise dos extratos derivatizados por GC-MS e a abordagem de redes moleculares (molecular networking) possibilitou a anotação de metabólitos secundários presentes nos extratos por comparação com dados da literatura e da biblioteca GNPS baseados na similaridade e no padrão de fragmentação dos espectros. A ferramenta GNPS é útil para analisar o perfil metabólico de extratos complexos. No estudo realizado por GC-MS para os extratos do fungo *Preussia* sp. foram anotadas duas dicetopiperazinas. O estudo das redes moleculares permitiu anotar *cluster* de citocalasinas que em conjunto com resultados obtidos dos ensaios antiparasitários sugerem esse micro-organismo como uma fonte prolífera de substâncias bioativas e apontam para a continuidade de estudos químicos para esse gênero de endófito.

O isolamento de metabólitos a partir de fungos endofíticos escolhidos com base na atividade biológica oferece um direcionamento sustentável para a busca de novas moléculas bioativas. Neste trabalho foram realizados ensaios de triagem para doenças negligenciadas, a leishmaniose e a doença de Chagas, justificando a contribuição científica e correlacionado com décimo terceiro objetivo do desenvolvimento sustentável (ODS) propostos pela ONU

. Os dois fungos estudados apresentaram substâncias com propriedades antiparasitárias, destacando as substâncias isoladas do fungo *Phyllosticta* sp. (ferricrocina e ferricrisina) que mostram potencial, com IC₅₀ entre 5,31 – 8,51, respectivamente.

O estudo dos COVs produzidos pelos endófitos estudados, a partir de um planejamento fatorial permitiu avaliar o co-cultivo desses fungos que na natureza coexistem nas folhas de *Platonia Insignis* Mart. e procurou entender o papel ecológico de moléculas voláteis. Deste modo, este trabalho contribui para o conhecimento dos COVs produzidos por fungos endofíticos, visto que o conhecimento das interações que esses metabólitos causam no seu habitat ainda não está elucidado e existem poucos relatos na literatura para os gêneros estudados. O perfil de COVs foi bastante diverso e associado as redes moleculares a biblioteca NIST, permitiu anotar as principais moléculas produzidas, com destaque a produção de ésteres, que ainda não tem o papel ecológico esclarecido.

Os resultados obtidos neste trabalho, reforçam a necessidade de estudos para o aprofundamento de pesquisas realizadas com micro-organismos, pois foram isolados de uma

planta da biodiversidade brasileira, que apresenta o rico potencial químico e biológico. Adicionalmente, esta pesquisa fornece subsídios para uma melhor compreensão das interações dos endófitos com a espécie hospedeira e contribui para o desenvolvimento da pesquisa na área de produtos naturais e fungos endófitos.

REFERÊNCIAS

- TAKAHASHI, A. J.; DA S. LIMA, G.; F. DOS SANTOS, G.; H. LYRA, F.; F. DA SILVA-HUGHES, A.; A. G. GONÇALVES, F. Filamentous Fungi and Chemistry: Old Friends, New Allies. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 6, p. 2351–2382, 2017.
- AKSENOV, A. A. *et al.* Auto-deconvolution and molecular networking of gas chromatography–mass spectrometry data. **Nature Biotechnology**, v. 39, n. 2, p. 169–173, 2021.
- AKSENOV, A.; LAPONOGOV, I.; ZHANG, Z.; DORAN, S.; BELLUOMO, I.; VESELKOV, D.; BITTREMIEUX, W.; NOTHIAS, L. F.; NOTHIAS-ESPOSITO, M.; MALONEY, K. N. Algorithmic Learning for Auto-deconvolution of GC-MS Data to Enable Molecular Networking within GNPS. **bioRxiv**, 2020.
- AL-HOSNI, K.; SHAHZAD, R.; LATIF KHAN, A.; IMRAN, Q. M.; AL HARRASI, A.; AL RAWAHI, A.; ASAF, S.; KANG, S.-M.; YUN, B.-W.; LEE, I.-J. *Preussia* sp. BSL-10 producing nitric oxide, gibberellins, and indole acetic acid and improving rice plant growth. 2018. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tjpi20>>. Acesso em: 8 out. 2018.
- ANISHA, C.; RADHAKRISHNAN, E. K. Metabolite analysis of endophytic fungi from cultivars of *Zingiber officinale* Rosc. identifies myriad of bioactive compounds including tyrosol. **3 Biotech**, v. 7, n. 2, 1 jun. 2017.
- AQUINO MORAES, G. K.; FERNANDES FERRAZ, L.; MARA CHAPLA, V. Volatile Organic Compounds of Endophytic Fungi and Biotechnological Applications. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 6, 2020.
- AZZOLLINI, A.; BOGGIA, L.; BOCCARD, J.; SGORBINI, B.; LECOULTRE, N.; ALLARD, P. M.; RUBIOLO, P.; RUDAZ, S.; GINDRO, K.; BICCHI, C.; WOLFENDER, J. L. Dynamics of metabolite induction in fungal co-cultures by metabolomics at both volatile and non-volatile levels. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. FEB, p. 1–12, 2018.
- BELINATO, J. R.; BAZIOLI, J. M.; SUSSULINI, A.; AUGUSTO, F.; FILLA, T. P. Microbial metabolomics: Innovations and applications. **Química Nova**. Sociedade Brasileira de Química, 2019. Acesso em: 30 abr. 2020.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. de P.; MACHADO, B. da C. Sideróforos: uma resposta dos microorganismos. **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1155–1164, 2002.
- BERLINCK, R. G. S.; DE BORGES, W. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. A Química de Produtos Naturais do Brasil do Século XXI. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706–710, 1 jul. 2017. Acesso em: 24 fev. 2020.
- BERTRAND, S.; AZZOLLINI, A.; SCHUMPP, O.; BOHNI, N.; SCHRENZEL, J.; MONOD, M.; GINDRO, K.; WOLFENDER, J. L. Multi-well fungal co-culture for de novo

metabolite-induction in time-series studies based on untargeted metabolomics. **Molecular BioSystems**, v. 10, n. 9, p. 2289–2298, 2014.

BIASETTO, C. R. Fungos endofíticos em *Eugenia brasiliensis*: prospecção química, biológica, enzimática e avaliação do co-cultivo e epigenética em *Xylaria cubensis*, *Diaporthe* sp. e *Colletotrichum* sp. **Tese (doutorado)** – Universidade Estadual Paulista, Araraquara: [s.n.], 2016, 225 f.

BILLS, G. F.; GLOER, J. B. Biologically Active Secondary Metabolites from the Fungi. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 6, 2016. Disponível em: <<http://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.FUNK-0009-2016>>.

CALLA-QUISPE, E.; FUENTES-RIVERA, H. L.; RAMÍREZ, P.; MARTEL, C.; IBAÑEZ, A. J. Mass spectrometry: A rosetta stone to learn how fungi interact and talk. **Life**, v. 10, n. 6, p. 1–22, 2020.

CAMARENA-POZOS, D. A.; FLORES-NÚÑEZ, V. M.; LÓPEZ, M. G.; PARTIDA-MARTÍNEZ, L. P. Fungal volatiles emitted by members of the microbiome of desert plants are diverse and capable of promoting plant growth. **Environmental Microbiology**, v. 23, n. 4, p. 2215–2229, 2021.

CAUDAL, F.; TAPISSIER-BONTEMPS, N.; EDRADA-EBEL, R. A. Impact of Co-Culture on the Metabolism of Marine. **Microorganisms Marine Drugs**. MDPI, 1 fev. 2022.

CHAGAS, F. O.; PESSOTTI, R. de C.; CARABALLO-RODRÍGUEZ, A. M.; PUPO, M. T. Chemical signaling involved in plant–microbe interactions. **Chemical Society Reviews**, 2018. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C7CS00343A>>.

CHONG, J.; WISHART, D. S.; XIA, J. Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 68, n. 1, p. 1–128, 2019.

COSTA, I. C. G. Fungos endofíticos associados à *Platonia insignis* Mart.: estudo dos metabólitos voláteis e não voláteis de *Diaporthe hongkongensis* e *Phyllosticta elongate*. **Tese (doutorado)** – Universidade Estadual Paulista, Araraquara: [s.n.], 2019, 251 f.

DE JESUS BENEVIDES, C. M.; DE ALMEIDA BEZERRA, M.; PEREIRA, P. A. P.; DE ANDRADE, J. B. HS-SPME/GC-MS Analysis of VOC and Multivariate Techniques Applied to the Discrimination of Brazilian Varieties of Mango. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 05, n. 03, p. 157–164, 2014.

SOEIRO, M.N.C.; VERGOTEN, G.; BAILLY, C. Pharmacological Profile of Garcinielliptone FC from *Platonia insignis*. [s.d.] Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s43450-022-00248-8>>.

DE SOUZA, M. L.; DE OLIVEIRA REZENDE JUNIOR, C.; FERREIRA, R. S.; ESPINOZA CHÁVEZ, R. M.; FERREIRA, L. L. G.; SLAFER, B. W.; MAGALHÃES, L. G.; KROGH, R.; OLIVA, G.; CRUZ, F. C.; DIAS, L. C.; ANDRICOPULO, A. D. Discovery of Potent, Reversible, and Competitive Cruzain Inhibitors with Trypanocidal Activity: A Structure-

Based Drug Design Approach. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 2, p. 1028–1041, 2020.

DICKSCHAT, J. S. **Fungal volatiles-a survey from edible mushrooms to moulds** **Natural Product Reports** Royal Society of Chemistry, 1 mar. 2017.

DU PREEZ, I.; LUIES, L.; LOOTS, D. T. The application of metabolomics toward pulmonary tuberculosis research. **Tuberculosis**, v. 115, n. February, p. 126–139, 2019.

EBERT, E. B.; HALBFELD, C.; M. BLANK, L. Exploration and Exploitation of the Yeast Volatilome. **Current Metabolomics**, v. 5, n. 2, 31 ago. 2016.

ESSÉN, S. A.; BYLUND, D.; HOLMSTRÖM, S. J. M.; MOBERG, M.; LUNDSTRÖM, U. S. Quantification of hydroxamate siderophores in soil solutions of podzolic soil profiles in Sweden. **BioMetals**, v. 19, n. 3, p. 269–282, jun. 2006.

EVIDENTE, A.; CIMMINO, A.; ANDOLFI, A.; VURRO, M.; ZONNO, M. C.; MOTTA, A. Phyllostoxin and phyllostin, bioactive metabolites produced by *phyllosticta cirsii*, a potential mycoherbicide for *cirsium arvense* biocontrol. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3., 2008, [...]. 2008. v. 56, p. 884–888.

FERREIRA, L. L. G.; DE MORAES, J.; ANDRICOPULO, A. D. Approaches to advance drug discovery for neglected tropical diseases. **Drug Discovery Today**, v. 27, n. 8, p. 2278–2287, 1 ago. 2022.

FERREIRA-SILVA, A.; MENDES HUGHES, F.; ROSA, C. A.; LUIZ, & ROSA, H. Higher turnover of endophytic fungal assemblages in the tissues of globose cactus *Melocactus ernestii* from Brazilian semi-arid biome. [s.d.] Disponível em: <www.mycobank.org>.

FRAIGE, K.; DAMETTO, A. C.; ZERAIK, M. L.; DE FREITAS, L.; SARAIVA, A. C.; MEDEIROS, A. I.; CASTRO-GAMBOA, I.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S.; LOPES, N. P.; BOLZANI, V. S. Dereplication by HPLC-DAD-ESI-MS/MS and Screening for Biological Activities of *Byrsonima* Species (Malpighiaceae). **Phytochemical Analysis**, v. 29, n. 2, p. 196–204, 2018.

FRANCISCO, V.; ALMEIDA, L.; BOGUSZ JUNIOR, S.; OIANO NETO, J.; NASSU, R. OPTIMIZATION OF EXTRACTION CONDITIONS OF VOLATILE COMPOUNDS OF ROASTED BEEF BY SOLID-PHASE MICROEXTRACTION. **Química Nova**, v. 43, n. 4, p. 435–441, 2020. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=8061&nomeArquivo=AR20190430.pdf>.

GONZALEZ-MENENDEZ, V.; MARTIN, J.; SILES, J. A.; GONZALEZ-TEJERO, M. R.; REYES, F.; PLATAS, G.; TORMO, J. R.; GENILLOUD, O. Biodiversity and chemotaxonomy of *Preussia* isolates from the Iberian Peninsula. **Mycological Progress**, v. 16, n. 7, p. 713–728, 18 jul. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11557-017-1305-1>>. Acesso em: 5 nov. 2018.

GUKASYAN, N.; DAVIS, A. K.; BARRETT, F. S.; COSIMANO, M. P.; SEPEDA, N. D.; JOHNSON, M. W.; GRIFFITHS, R. R. Efficacy and safety of psilocybin-assisted treatment

- for major depressive disorder: Prospective 12-month follow-up. **Journal of Psychopharmacology**, v. 36, n. 2, p. 151–158, 1 fev. 2022.
- HARVEY, D. J.; VOUIROS, P. Mass spectrometric fragmentation of trimethylsilyl and related alkylsilyl derivatives. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 39, n. 1–2, p. 105–211, 1 mar. 2020.
- HIDER, R. C.; KONG, X. Chemistry and biology of siderophores. **Natural Product Reports**. 2010, 27, 637-657.
- HUANG, X.; ZHOU, D.; LIANG, Y.; LIU, X.; CAO, F.; QIN, Y.; MO, T.; XU, Z.; LI, J.; YANG, R. Cytochalasins from endophytic Diaporthe sp. GDG-118. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1700504>>.
- HUNG, R.; LEE, S.; BENNETT, J. W. Fungal volatile organic compounds and their role in ecosystems. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 8, p. 3395–3405, 2015.
- INAMDAR, A. A.; MORATH, S.; BENNETT, J. W. **Annual Review of Microbiology**. Fungal Volatile Organic Compounds: More Than Just a Funky Smell? 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-012420->>.
- JENNER, M.; HAI, Y.; NGUYEN, H. H.; PASSMORE, M.; SKYRUD, W.; KIM, J.; GARG, N. K.; ZHANG, W.; OGORZALEK LOO, R. R.; TANG, Y. Elucidating the molecular programming of a nonlinear non-ribosomal peptide synthetase responsible for fungal siderophore biosynthesis. **Nature communications**, v. 14, n. 1, p. 2832, 1 dez. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.17632/c3ymyp3yx4.1>>. Acesso em: 22 jun. 2023.
- KALANSURIYA, P.; QUEZADA, M.; ESPÓSITO, B. P.; CAPON, R. J. Talarazines A-E: Noncytotoxic Iron (III) Chelators from an Australian Mud Dauber Wasp-Associated Fungus, *Talaromyces* sp. (CMB-W045). **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 3, p. 609–615, 2017.
- KELLER, N. P. Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery Nature. **Reviews Microbiology**. Nature Publishing Group, 1 mar. 2019.
- KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. Fungal secondary metabolism - From biochemistry to genomics. **Nature Reviews Microbiolog**, 2005.
- KHAN, A. L.; AL-HARRASI, A.; AL-RAWAHI, A.; AL-FARSI, Z.; AL-MAMARI, A.; WAQAS, M.; ASAF, S.; ELYASSI, A.; MABOOD, F.; SHIN, J. H.; LEE, I. J. Endophytic fungi from frankincense tree improves host growth and produces extracellular enzymes and indole acetic acid. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, 1 jun. 2016. Acesso em: 17 out. 2019.
- KLUGER, B.; ZEILINGER, S.; WIESENBERGER, G.; SCHÖFBECK, D. Laboratory Protocols in Fungal Biology. **Laboratory Protocols in Fungal Biology**, p. 455–465, 2013.
- KORPI, A.; JÄRNBERG, J.; PASANEN, A. L. Microbial volatile organic compounds. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 39, n. 2, p. 139–193, 2009.
- KUSARI, S.; HERTWECK, C.; SPITELLER, M. Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. **Chemistry & Biology**, v. 19, n. 7, p. 792–798, 27 jul. 2012. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552112001998>>. Acesso em: 12 jun. 2018.

LEE, S.; HUNG, R.; YAP, M.; BENNETT, J. W. Age matters: the effects of volatile organic compounds emitted by *Trichoderma atroviride* on plant growth. **Archives of Microbiology**, v. 197, n. 5, p. 723–727, 2015.

LEMFACK, M. C.; GOHLKE, B. O.; TOGUEM, S. M. T.; PREISSNER, S.; PIECHULLA, B.; PREISSNER, R. MVOC 2.0: A database of microbial volatiles. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. D1, p. D1261–D1265, 2018.

LI, S.-J.; ZHANG, X.; WANG, X.-H.; ZHAO, C.-Q. Novel natural compounds from endophytic fungi with anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 156, p. 316–343, 5 ago. 2018. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523418305713?via%3Dihub#fig3>>. Acesso em: 9 out. 2018.

MA, K. L.; WEI, W. J.; LI, H. Y.; SONG, Q. Y.; DONG, S. H.; GAO, K. Meroterpenoids with diverse ring systems and dioxolanone-type secondary metabolites from *Phyllosticta capitalensis* and their phytotoxic activity. **Tetrahedron**, v. 75, n. 33, p. 4611–4619, 16 ago. 2019. Acesso em: 26 abr. 2020.

MAPPERSON, R. R.; KOTIW, M.; DAVIS, R. A.; DEARNALEY, J. D. W. The Diversity and Antimicrobial Activity of *Preussia* sp. **Endophytes Isolated from Australian Dry Rainforests**. [s.d.] Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00284-013-0415-5.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2018.

MARTINEZ, A.; BENNETT, J. W. Fungal volatile organic compounds. **Encyclopedia of Mycology**, v. 1, p. 239–245, 2021.

MARTINEZ-KLIMOVA, E.; RODRÍGUEZ-PEÑA, K. Endophytes as sources of antibiotics. **Biochemical Pharmacology**, v. 134, p. 1–17, 15 jun. 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295216303793>>. Acesso em: 1 maio. 2018.

MATYSIK, S.; HERBARTH, O.; MUELLER, A. Determination of volatile metabolites originating from mould growth on wall paper and synthetic media. **Journal of Microbiological Methods**, v. 75, n. 2, p. 182–187, out. 2008.

MENEGATTI, C.; LOURENZON, V. B.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, D.; DA PAIXÃO MELO, W. G.; FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D.; DO NASCIMENTO, F. S.; PUPO, M. T. Meliponamycins: Antimicrobials from Stingless Bee-Associated *Streptomyces* sp. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 610–616, 2020.

MOLDOVEANU, C. S.; DAVID, V. Derivatization Methods in GC and GC/MS. *In: Gas Chromatography - Derivatization, Sample Preparation, Application* [s.l.] IntechOpen, 2018.

MORATH, S. U.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. **Fungal Biology Reviews**, v. 26, n. 2–3, p. 73–83, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbr.2012.07.001>>.

NAMAN, C. B.; RATTAN, R.; NIKOULINA, S. E.; LEE, J.; MILLER, B. W.; MOSS, N. A.; ARMSTRONG, L.; BOUDREAU, P. D.; DEBONSI, H. M.; VALERIOTE, F. A.; DORRESTEIN, P. C.; GERWICK, W. H. Integrating Molecular Networking and Biological Assays To Target the Isolation of a Cytotoxic Cyclic Octapeptide, Samoamide A, from an American Samoan Marine Cyanobacterium. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 3, p. 625–633, 24 mar. 2017.

NEWMAN, D. J. Natural products and drug discovery. **National Science Review**, v. 9, n. 11, 1 nov. 2022.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

NISA, H.; KAMILI, A. N.; NAWCHOO, I. A.; SHAFI, S.; SHAMEEM, N.; BANDH, S. A. Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review. **Microbial Pathogenesis**, v. 82, p. 50–59, 1 maio 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401015000601?via%3Dihub>>. Acesso em: 7 maio. 2018.

NOUMEUR, S. R.; HELALY, S. E.; JANSEN, R.; GEREKE, M.; STRADAL, T. E. B.; HARZALLAH, D.; STADLER, M. Preussilides A–F, Bicyclic Polyketides from the Endophytic Fungus *Preussia similis* with Antiproliferative Activity. v. 80, p. 53, 2017. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/sharingguidelines>>. Acesso em: 8 out. 2018.

PANG, Z.; CHONG, J.; ZHOU, G.; DE LIMA MORAIS, D. A.; CHANG, L.; BARRETTE, M.; GAUTHIER, C.; JACQUES, P. É.; LI, S.; XIA, J. MetaboAnalyst 5.0: Narrowing the gap between raw spectra and functional insights. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W388–W396, 2021.

PIECHULLA, B.; LEMFACK, M. C. Microbial volatiles and their biotechnological applications. **Plant Specialized Metabolism**, p. 239–256, 2016.

PILON, A. C.; SELEGATO, D. M.; FERNANDES, R. P.; BUENO, P. C. P.; PINHO, D. R.; NETO, F. C.; FREIRE, R. T.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI B E, V. S.; LOPES, N. P. METABOLÔMICA DE PLANTAS: MÉTODOS E DESAFIOS. **Quim. Nova**, v. 43, n. 3, p. 329–354, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170499>>. Acesso em: 17 abr. 2020.

PLUHÁČEK, T.; LEMR, K.; GHOSH, D.; MILDE, D.; NOVÁK, J.; HAVLÍČEK, V. Characterization of microbial siderophores by mass spectrometry. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 35, n. 1, p. 35–47, 1 jan. 2016.

PLUSKAL, T.; CASTILLO, S.; VILLAR-BRIONES, A.; OREŠIČ, M. MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. **BMC Bioinformatics**, v. 11, 2010.

POVEDA, J. **Beneficial effects of microbial volatile organic compounds (MVOCs) in plants** *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V., 1 dez. 2021.

PROSEN, H.; ZUPANČIČ-KRALJ, L. Solid-phase microextraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 4, p. 272–282, 1999.

RÉGIA PEREIRA DOS SANTOS, P.; BRUNO FONSECA DE CARVALHO, R.; SOARES DA COSTA JÚNIOR, J.; MENDES DE FREITAS, R.; MENDES FEITOSA, C. Levantamento das propriedades físico-químicas e farmacológicas de extratos e compostos isolados de *Platonia insignis* Mart. uma perspectiva para o desenvolvimento de fitomedicamentos Survey of physicochemical and pharmacological properties of extracts and c. **Rev. Bras. Farm**, v. 94, n. 2, p. 161–168, 2013. Disponível em: <<http://rbfarma.org.br/files/rbf-94-2-12-2013.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

SCHULZ, S.; DICKSCHAT, J. S. Bacterial volatiles: The smell of small organisms. **Natural Product Reports** 2007.

SHANNON, P.; MARKIEL, A.; OZIER, O.; BALIGA, N. S.; WANG, J. T.; RAMAGE, D.; AMIN, N.; SCHWIKOWSKI, B.; IDEKER, T. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. **Genome Research**, v. 13, n. 11, p. 2498–2504, 1 nov. 2003. Disponível em: <<https://genome.cshlp.org/content/13/11/2498.full>>. Acesso em: 18 jun. 2023.

SOMENSI, A. Bioprospecção dos fungos endofíticos associados as variedades morfoanatômicas de *Casearia sylvestris* e estudo químico de *Preussia* sp. por abordagens OSMAC. **Tese (doutorado)** – Universidade Estadual Paulista, Araraquara : [s.n.], 2016 190 f.

SUMNER, L. W.; AMBERG, A.; BARRETT, D.; BEALE, M. H.; BEGER, R.; DAYKIN, C. A.; FAN, T. W. M.; FIEHN, O.; GOODACRE, R.; GRIFFIN, J. L.; HANKEMEIER, T.; HARDY, N.; HARNLY, J.; HIGASHI, R.; KOPKA, J.; LANE, A. N.; LINDON, J. C.; MARRIOTT, P.; NICHOLLS, A. W.; REILY, M. D.; THADEN, J. J.; VIANT, M. R. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). **Metabolomics**, v. 3, n. 3, p. 211–221, set. 2007.

TAKEUCHI, T.; KIMURA, T.; TANAKA, H.; KANEKO, S.; ICHII, S.; KIUCHI, M.; SUZUKI, T. Analysis of volatile metabolites emitted by soil-derived fungi using head space solid-phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry: I. *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Fusarium solani* and *Penicillium paneum*. In: **Surface and Interface Analysis**, 6., 2012, [...]. 2012. v. 44, p. 694–698.

TORRES, N. M. P. D. O.; XAVIER, J. D. A.; GOULART, M. O. F.; ALVES, R. B.; DE FREITAS, R. P. The chemistry of advanced glycation end-products. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 2, p. 375–392, 2018.

VALLI, M.; SOUZA, J. M.; CHELUCCI, R. C.; BIASETTO, C. R.; ARAUJO, A. R.; DA SILVA BOLZANI, V.; ANDRICOPULO, A. D. Identification of natural cytochalasins as leads for neglected tropical diseases drug discovery. **PLoS ONE**, v. 17, n. 10 October, 1 out. 2022.

WÅLINDER, R.; ERNSTGÅRD, L.; JOHANSON, G.; NORBÄCK, D.; VENGE, P.; WIESLANDER, G. Acute effects of a fungal volatile compound. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 12, p. 1775–1778, 2005.

WANG, M. *et al.* Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 828–837, 2016b.

WANG, X.; LI, Y.; ZHANG, X.; LAI, D.; ZHOU, L. Structural diversity and biological activities of the cyclodipeptides from Fungi. **Molecules**, v. 22, n. 12, 2017.

WEISSKOPF, L.; SCHULZ, S.; GARBEVA, P. Microbial volatile organic compounds in intra-kingdom and inter-kingdom interactions. **Nature Reviews Microbiology**. Nature Research, 1 jun. 2021.

WIKKEE, S.; LOMBARD, L.; NAKASHIMA, C.; MOTOHASHI, K.; CHUKEATIROTE, E.; CHEEWANGKOON, R.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D.; CROUS, P. W. A phylogenetic re-evaluation of Phyllosticta (botryosphaerales). **Studies in Mycology**, v. 76, p. 1–29, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3114/sim0019>>.

WIKKEE, S.; UDAYANGA, D.; CROUS, P. W.; CHUKEATIROTE, E.; MCKENZIE, E. H. C.; BAHKALI, A. H.; DAI, D.; HYDE, K. D. Phyllosticta—an overview of current status of species recognition. **Fungal Diversity**, v. 51, n. 1, p. 43–61, 2011.

XU, S.; LI, M.; HU, Z.; SHAO, Y.; YING, J.; ZHANG, H. The Potential Use of Fungal Co-Culture Strategy for Discovery of New Secondary Metabolites. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 464, 12 fev. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/11/2/464>>.

XU, Z.; XIONG, B.; XU, J. Chemical Investigation of Secondary Metabolites Produced by Mangrove Endophytic Fungus Phyllosticta Capitalensis. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–5, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1656624>>.

YAMAGUCHI, K. K. L.; VICTOR, C.; PEREIRA, L.; LIMA, E. S.; FLORÊNCIO, V.; JUNIOR, D. V. QUÍMICA E FARMACOLOGIA DO BACURI (*Platonia insignis*). **Scientia Amazonia**, n. 32, p. 39–46, 2014. Disponível em: <<http://scientia-amazonia.org/wp-content/uploads/2016/06/v3-n2-39-46-2014.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

YANG, B. J.; CHEN, G. D.; LI, Y. J.; HU, D.; GUO, L. D.; XIONG, P.; GAO, H. A new xanthone glycoside from the endolichenic fungus *Sporormiella irregularis*. **Molecules**, v. 21, n. 6, p. 9–16, 2016.

ZHANG, H. W.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. Biology and chemistry of endophytes. **Natural Product Reports**, v. 23, n. 5, p. 753, 2006. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=b609472b>>.

ZHENG, R.; LI, S.; ZHANG, X.; ZHAO, C. Biological activities of some new secondary metabolites isolated from endophytic fungi: A review study International. **Journal of Molecular Sciences**. MDPI AG, 2 jan. 2021.