



<http://ensaios.usf.edu.br/>

PRODUÇÃO DE FLAVONÓIDES POR FUNGOS ENDOFITICOS.
PRODUCTION OF FLAVONOIDS BY ENDOPHYTIC FUNGI

CRISTIANI, Cíntia¹ SILVA, Alex A. R.² MIYASAKA, Natália R. S.³

¹Autor; ²Co-autor; ³Orientador

Laboratório de Pesquisas em Microbiologia Aplicada, GPMAS, Universidade São Francisco.
cintimedfarma@outlook.com

RESUMO. A diversidade metabólica e a adaptabilidade genética dos fungos endofíticos torna-os uma fonte inesgotável de produtos bioativos. Diversas são as vantagens da interação endofítico-hospedeiro e os benefícios obtidos pela planta hospedeira resultante das interações com os fungos endofíticos, tem motivado diversos estudos, especialmente sobre a produção de metabólitos secundários com diversas atividades farmacológicas, como anticancerígena, antioxidante, antimicrobiana e antiviral. Os flavonóides são metabólitos secundários pertencentes a um grupo de substâncias naturais com estrutura fenólica variável e que desempenham um papel fundamental contra agentes oxidantes atuando também como agente terapêutico em patologias, como o câncer, inflamação, processos alérgicos e outras. A capacidade antioxidante destes compostos seria decorrente às suas propriedades sequestrante de radicais livres e quelante de íons metálicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de 2 fungos endofíticos isolados da cana-de-açúcar para a produção de flavonóides. Os fungos foram caracterizados morfológicamente através de microcultivo e, através de triagem química nos sobrenadantes de cultura, foi detectada a presença de compostos com estrutura fenólica, sugestivo de flavonóides. Estes resultados indicam que os metabólitos secundários de micro-organismos endofíticos podem apresentar um amplo valor de aplicação biotecnológica.

Palavras-chave: fungos endofíticos; flavonóides; metabólitos secundários.

ABSTRACT. The metabolic diversity and the genetic adaptability of endophytic fungi make them an inexhaustible source of bioactive products. Several advantages of endophytic interaction and the benefits obtained by the host plant resulting from interactions with the endophytic fungi, motivated many studies, especially on the production of secondary metabolites with various pharmacological action such as antibiotic, antioxidant, antimicrobial and antiviral activities. Flavonoids are secondary metabolites belonging to a group of natural substances with a variable phenolic structure and which play a crucial role against oxidizing agents acting as a therapeutic agent in pathologies, such as cancer, inflammation, allergic process and other cases. The antioxidant capacity of these compounds would be stemming from its sequestering properties of free radicals and chelation of metallic ions. The present work aims to evaluate the potential of 2 endophytic fungi isolated from sugarcane, for the production of flavonoids. The fungi were morphologically characterized by microcultivation and the presence of compounds with phenolic structure, suggestive of flavonoids was detected in the culture supernatants by chemical reaction. These results indicate that secondary metabolites of endophytic microorganisms may present a high value of biotechnological application.

Keywords: Endophytic fungi; flavonoids; secondary metabolites.

INTRODUÇÃO

A primeira descrição de fungos endofíticos foi feita por Bary, em 1866, e eram vistos como fungos que não produziam efeitos prejudiciais nem benéficos a suas plantas hospedeiras (SANTOS *et al*, 2013).

Nas últimas décadas os cientistas começaram a perceber que as plantas poderiam servir como reservatório de um número muito grande de organismos conhecidos como endofíticos (AZEVEDO, 2002).

A palavra endofítico se originou do grego (*endon*, no interior; *phyton*, planta) e o uso deste termo é tão amplo quanto sua definição literal. A denominação endofíticos compreenderia principalmente fungos e bactérias (FELBER & PAMPHILE, 2013).

Os microrganismos endofíticos são seres que vivem no interior de plantas habitando suas partes aéreas como os caules e folhas, sem causar, aparentemente, qualquer dano aos seus hospedeiros. Eles distinguem-se dos patogênicos, que causam doenças nas plantas e dos epifíticos que vivem na superfície dos vegetais (SANTOS *et al*, 2013).

Segundo Felber *et al* (2013), os endofíticos tiveram um papel crucial na adaptação e seleção de diferentes espécies vegetais e durante o processo evolutivo, sendo que a presença de alguns deles em determinadas plantas, permitiu que elas se desenvolvessem melhor e fossem mais resistentes tanto a ataques de insetos, animais herbívoros e organismos patogênicos, quanto a condições ambientais adversas, como baixa umidade e elevadas temperaturas (MALAJOVICH, 2012).

Os fungos constituem um grupo de micro-organismos eucarióticos, uni ou multicelulares, em geral, com parede celular e cujas estruturas reprodutivas apresentam uma variedade de formas. São organismos que não possuem pigmentos fotossintetizantes, sendo heterotróficos com nutrição por absorção (AZEVEDO, 2002).

De acordo com Reis *et al* (2011), a identificação dos fungos é baseada quase que exclusivamente em sua morfologia tanto macro como microscopicamente; macroscopicamente, os fungos podem apresentar vários tipos morfológicos com colônias filamentosas, cotonosas, pulverulentas, ou no caso de leveduras, as colônias são cremosas e com os mais diversos tipos de pigmentos (MAUTONE, 2008).

A unidade estrutural dos fungos é representada pela hifa e o conjunto desses elementos é denominado micélio. O micélio pode ser diferenciado em vegetativo, quando exerce as funções de assimilação de alimentos e fixação em substratos e micélio de frutificação que serve à reprodução dos fungos (TORTORA *et al*, 2012).

Sua reprodução é realizada pelas vias de dispersão, como o ar atmosférico e através dos ventos dos quais os fungos são espalhados no meio ambiente. Quando encontram um substrato com nutrientes adequados, crescem e colonizam (BORGES, 2008).

De acordo com Reis *et al* (2011), a morfologia do micélio vegetativo se apresenta de três tipos: unicelular, são células arredondadas, que podem se reproduzir por brotamento; filamentoso ou bolor, que pode apresentar hifas com ou sem septos; e o pseudofilamentoso, que em determinadas condições formam, por brotamentos sucessivos, uma estrutura filamentosa conhecida com o nome de pseudomicélio (AZEVEDO, 2002; MALAJOVICH, 2012). O micélio vegetativo se diferencia em estruturas de reprodução caracterizadas pela formação de esporos que cumprem as funções de disseminação da espécie. Os esporos, de acordo com sua origem, podem ser assexuados ou sexuados e tanto um com outro, podem estar ou não dentro de determinadas estruturas (REIS *et al*, 2011).

Os fungos endofíticos são um grupo diversificado de ascomicetos definidos por sua ocorrência assintomática dentro dos tecidos vegetais. Ocorrem em todo o território terrestre, nas comunidades naturais e antrópicas, colonizando plantas no Ártico, Antártica, solos geotérmicos, desertos, oceanos, florestas tropicais, mangues e florestas costeiras (CUZZI *et al*, 2011).

Em quase todas as plantas vasculares, algas marinhas, musgos e samambaias, estudadas até o momento, foram encontradas bactérias e fungos endofíticos. Normalmente, centenas de espécies de endofíticos podem ser isoladas de uma única espécie vegetal, sendo que pelo menos um é específico ao hospedeiro (CHAPLA, 2014).

Segundo Azevedo (2002), existe cerca de 300 mil espécies de plantas em nosso planeta, em todas as plantas estudadas até o momento tem sido detectado microrganismos endofíticos. Dentre as vantagens da interação endofítico-hospedeiro está o fato do micro-organismo se beneficiar com proteção, alimentação e transmissão na planta, enquanto esta se favorece da promoção de crescimento, reprodução e resistência às alterações do ambiente causado por fatores bióticos (insetos, herbívoros, nematóides parasitas e microrganismos fitopatogênicos) ou abióticos (pH, temperatura, estresse hídrico, ventos fortes, salinidade, entre outros) (MAUTONE, 2008).

Os benefícios obtidos pela planta hospedeira resultante das interações com os endofíticos têm sido foco de diversos estudos, inclusive sobre a produção de metabólitos secundários que possuem propriedades de interesse (AZEVEDO, 2002).

A cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum*, é uma planta da família das gramíneas originária do sudeste asiático. Seu cultivo ocorre principalmente em países tropicais e subtropicais para a obtenção de açúcar, álcool e aguardente, devido ao alto teor de sacarose contido em seu caule. Os subprodutos gerados pela cana-de-açúcar também são utilizados no setor industrial, como a vinhaça para a produção de fertilizantes, e o bagaço para a geração de energia elétrica (ALMEIDA, 2006).

Segundo ALMEIDA (2006), o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e o seu cultivo concentra-se na região sudeste, principalmente no interior paulista. A cana ocupa cerca de 8 milhões de hectares e apresenta duas safras anuais, o que garante a produção de açúcar e etanol para os mercados interno e externo.

Estudos sobre a composição química da cana-de-açúcar indicam que as folhas são potenciais marcadores sistemáticos de flavonas (VILA, 2006).

Plantas medicinais ou com propriedades terapêuticas estão sendo cada vez mais investigadas a partir de pressupostos de sua interação com microrganismos endofíticos os quais tem apresentado diversos benefícios como produtores de antibióticos e outros metabólitos secundários de interesse farmacológico (SANTOS *et al*, 2013).

Os metabólitos secundários produzidos por endofíticos podem ser idênticos ou semelhantes aos sintetizados por suas plantas hospedeiras. Estes metabólitos variam de classes, que incluem policetídeos, derivados de chiquimato, derivados de isocumarina, compostos alifáticos, flavonóides, ácidos fenólicos, quinonas, tetralonas, xantonas, lactonas, lignanas, terpenóides, esteróides, alcalóides e peptídeos (SILVA, 2014).

Segundo Mautone (2008), devido aos metabólitos secundários de endofíticos possuem diversas atividades biológicas, vários pesquisadores têm trabalhado com esta temática, havendo um aumento de publicações de artigos científicos nos últimos anos, com ênfase em metabólitos secundários de fungos endofíticos, com atividades biológicas, podem ser encontradas atividades anticancerígena, antioxidante, antimicrobiana e antiviral, sugerindo haver uma transposição de genes entre as plantas e os fungos em uma verdadeira engenharia genética *in vivo* (ORLANDELLI *et al*, 2011).

Os fungos, além de produzirem uma ampla diversidade de compostos químicos, são também bastante utilizados em processos de biotransformação, pela humanidade por milhares de anos (MARTINS, 2009).

O conhecimento da biodiversidade e a bioprospecção de microrganismos tornaram-se um dos principais focos da era biotecnológica. A diversidade metabólica e a adaptabilidade genética dos microrganismos permitiu seu uso como fonte inesgotável de produtos bioativos utilizados em processos biotecnológicos (CHAPLA, 2014).

Uma aplicação biotecnológica de relevante importância é a produção de metabólitos naturais derivados de microrganismos que apresentam atividade biológica diversa como antiparasitica, antimicrobiana, antiviral, inseticida, entre outras (MALAJOVICH, 2012).

Os flavonóides a pertencem uma classe de metabólitos secundários, de um grupo de substâncias naturais com estrutura fenólica variável, constituídos de polifenólicos biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e do acetato, sendo precursores de vários grupos de substâncias como aminoácidos alifáticos, terpenóides e ácidos graxos; constituindo-se em pigmentos naturais presentes nos vegetais que desempenham um papel fundamental na proteção contra agentes oxidantes, e também atuam como agentes terapêuticos contra o câncer (BEHLING & SENDÃO, 2004; SILVA *et al*, 2015).

Os flavonóides participam de importantes funções no crescimento, desenvolvimento e na defesa dos vegetais contra o ataque de patógenos e estão presentes na maioria das plantas, concentrados em sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e flores (DORNAS *et al*, 2007) (Figura 1). Os mesmos não podem ser sintetizados pelo organismo, sendo representativos da parte não energética da dieta humana sendo obtidos através da ingestão de alimentos que os contenham ou através de suplementos nutricionais (SILVA *et al*, 2015).

Os flavonóides são componentes de baixo peso molecular, com estrutura base C6-C3-C6 (dois anéis fenil – A e B – ligados através de um anel pirano – C) (Figura 1), (SILVA *et al*, 2015).

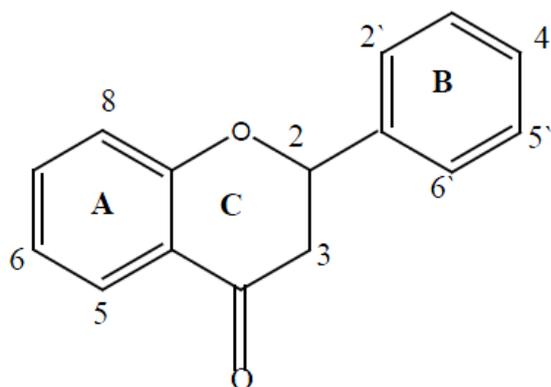


Figura 1- Representação da estrutura básica dos flavonóides (SILVA *et al*, 2015).

Os flavonóides podem ser divididos em 14 classes, sendo subdivididos nas principais classes de: flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, flavanas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas e neoflavonóides (SILVA *et al*, 2015).

Apigenina e luteolina, são considerados flavonas livres (agliconas) ou conjugadas (heterosídeos). São as flavonas mais abundantes encontradas nas plantas. Os flavonóis mais encontrados em vegetais são canferol, quercetina e miricetina. Os flavonóides também são compostos solúveis em água e instáveis em altas temperaturas; as antocianinas são compostos bioativos e que possuem capacidade antioxidante e vários efeitos farmacológicos (DORNAS *et al*, 2007).

São antioxidantes efetivos devido à suas propriedades sequestrantes de radicais livres e por quelar íons metálicos, protegendo assim os tecidos dos radicais livres e da peroxidação lipídica, ou seja, a propriedade antioxidante seria direcionada sobre o radical hidroxil (OH) e o ânion superóxido (O₂⁻), que são espécies altamente reativas envolvidas na iniciação da peroxidação lipídica (BEHLING & SENDÃO, 2004).

A capacidade antioxidante de compostos fenólicos seria determinada por sua estrutura, em particular por hidroxilas que podem doar elétrons e suportar como resultado a deslocalização em torno do sistema aromático. Outro determinante estrutural importante é a capacidade antioxidante de flavonóides atribuídas às hidroxilas em C4 e C3, que atuaria no

aumento do potencial antioxidante (DORNAS *et al*, 2007). A miricetina é o flavonóide que mais apresenta um caráter antioxidante mais efetivo, seguida da quercitina (SILVA *et al*, 2015).

A atividade antioxidante de um flavonóide é, então, determinada pelo anel B, enquanto que o restante da estrutura base tem apenas uma pequena influência, isto acontece por causa de uma maior capacidade elétron doadora deste anel. O arranjo espacial dos substituintes presentes na molécula, também se torna um fator que contribui para a atividade antioxidante destes componentes, ou seja, o fator que determina o caráter antioxidante de um dado flavonóide será a estabilidade redox do radical formado a partir do flavonóide original (BEHLING & SENDÃO, 2004; SILVA *et al*, 2015).

Os flavonóides estão entre os antioxidantes mais ativos e em maior número dentre os compostos fenólicos (BEHLING & SENDÃO, 2004). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de dois fungos endofíticos isolados da cana-de-açúcar para a produção de flavonóides.

METODOLOGIA

Inóculo de Fungos Endofíticos

Dois fungos endofíticos que foram isolados de folhas de cana-de-açúcar coletadas no interior do Estado de São Paulo, na Região Metropolitana de Campinas (latitude 22° – 48.57685', longitude 047° – 06.91544', altitude 603 m, coordenadas - lat/lon – WG 584), que estão preservados e armazenados do Laboratório de Pesquisas em Microbiologia Aplicada da Universidade São Francisco, Bragança Paulista, São Paulo, foram utilizados para este trabalho.

Após o crescimento em ágar potato dextrose, os fungos foram inoculados em 150 mL de caldo Batata e incubados sob agitação e sem agitação, a 27 °C por 120 h. A cultura foi centrifugada por 30 min e o sobrenadante foi filtrado por membranas 0,45 µm e 0,20 µm, para análise dos flavonóides (MALAJOVICH, 2011).

Microcultivo

Para o microcultivo utilizou-se o meio ágar potato dextrose. O fungo foi cultivado em câmara úmida, a temperatura ambiente por 48 h. A esporulação foi inativada e o fungo foi fixado com 1 mL de formol e corado com lactofenol-algodão (CORREA, 2003).

Teste de Triagem Química

O teste de triagem química realizado nos sobrenadantes de cultura foi adaptado da farmacognosia para indicação de flavonóides, sendo que foi realizada uma reação com cloreto férrico (SIMÕES *et al*, 2017).

Na reação com cloreto férrico; foram colocados em um tubo, 5 mL do filtrado e adicionado, pelas paredes do tubo, uma gota de cloreto férrico a 2%. A formação de coloração esverdeada nesta reação indica um resultado positivo, enquanto que a formação de uma coloração acastanhada indica um resultado negativo (SIMÕES *et al*, 2017).

O meio de cultura caldo batata, sem o fungo foi submetido às mesmas condições e foi utilizado como controle, para fins comparativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inóculo de Fungos Endofíticos

Após o descongelamento e reativação dos isolados em ágar potato dextrose, foi possível observar o aspecto macroscópico dos fungos (Figura 2) e confirmar a pureza dos fungos endofíticos preservados no Laboratório e que, com base em sua coloração, foram denominados Rose e D.Verde. Para a pesquisa dos flavonóides os fungos foram cultivados em caldo batata (Figura 3).



Figura 2- Aspecto macroscópico de colônia dos fungos endofítico: Direita: D. Verde.; Esquerda: Rose, fotografias tiradas no Laboratório de Pesquisas em Microbiologia Aplicada da Universidade São Francisco (Fonte: Próprio autor).



Figura 3- Cultivo do fungo endofítico em meio líquido: Direita: cultura do fungo D. Verde; Esquerda: cultura do fungo Rose, fotografia tirada no Laboratório de Pesquisas em Microbiologia Aplicada da Universidade São Francisco (Fonte: Próprio autor).

Microcultivo

O aspecto microscópico dos fungos foi observado após o microcultivo. Como esperado, os fungos desenvolveram as hifas e os conídios, sendo que tanto o fungo Rose

(Figura 4), assim como o fungo D.Verde (Figura 5) formaram hifas septadas. Estas características morfológicas e microscópicas dos fungos filamentosos, após microcultivo são importantes para a identificação da espécie e confirmação de sua pureza.

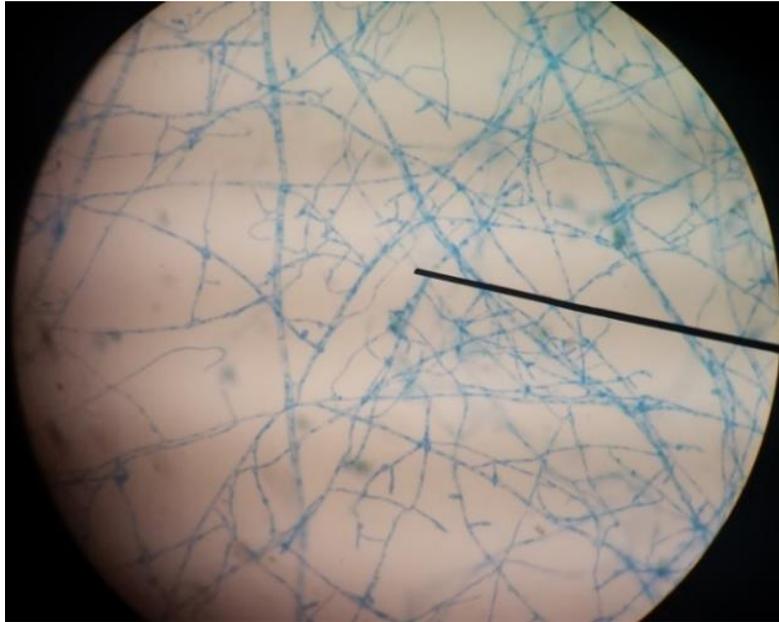


Figura 4- Aspecto microscópico do Fungo endofítico Rose, fotografia tirada no Laboratório de Pesquisas em Microbiologia Aplicada da Universidade São Francisco (Fonte: Próprio autor).

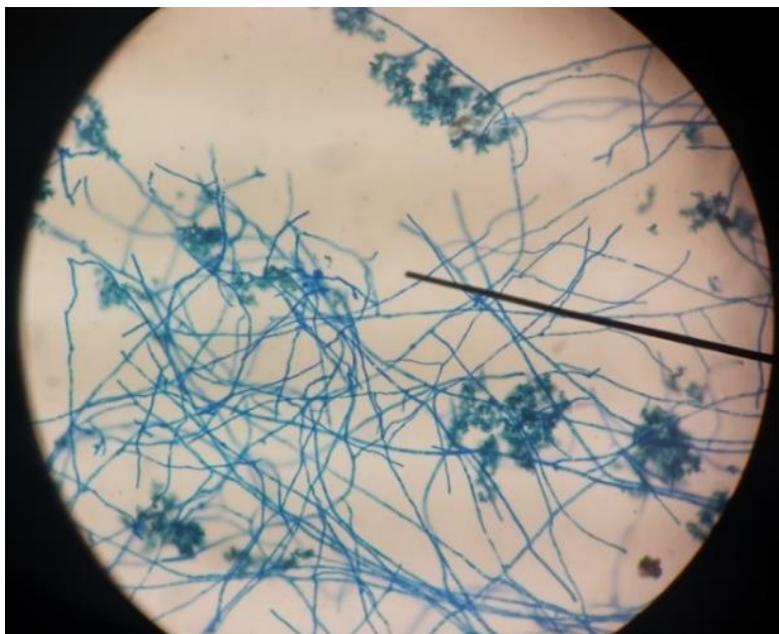


Figura 5- Aspecto microscópico do Fungo endofítico D. Verde, fotografia tirada no Laboratório de Pesquisas em Microbiologia Aplicada da Universidade São Francisco (Fonte: Próprio autor).

Testes De Triagem Química

Na reação com o cloreto férrico, os sobrenadantes de cultura dos fungos Rose e D. Verde apresentaram coloração esverdeada, indicando resultados positivos, portanto, sugerindo a presença de flavonóides. A reação foi negativa para o controle (meio de cultura, sem o fungo). (Tabela 1). A cultura em aerobiose (sob agitação) apresentou uma coloração esverdeada mais intensa, indicando maior produção de flavonóides, nesta condição.

A produção de metabólitos secundários pertencentes ao grupo dos compostos fenólicos pode indicar a presença de flavonas e isoflavonas, sendo que as flavonas têm demonstrado potencial antioxidante (SILVA *et al*, 2015).

Tabela 1- Reação com Cloreto Férrico nos sobrenadantes de cultura com os fungos endofíticos Rose e D. Verde

Amostra	Condição de cultivo	Reação
Controle	Parada	-
	Sob agitação	-
Sobrenadante (Rose)	Parada	+
	Sob Agitação	++
Sobrenadante (D. Verde)	Parada	+
	Sob Agitação	++

(Fonte: Próprio autor). Legenda: (-) negativo; (+) positivo.

Os flavonóides são compostos tricíclicos possuindo dois anéis aromáticos, um grupamento pirona, e também possuem grupamentos de hidroxila. São compostos de origem natural do grupo dos metabólitos secundários, até então, abundantes no Reino Vegetal. Os flavonóides auxiliam na absorção de vitamina C, podem ter ação anti-inflamatória, mas sua ação mais importante é a de antioxidante (BESSA *et al*, 2014).

Segundo SILVA *et al* (2014), por causa dos metabólitos secundários produzidos por endofíticos possuem diversas atividades biológicas, vários pesquisadores têm dado grande ênfase a essas pesquisas, pois dentre diversas atividades biológicas, podem ser encontradas atividades anticancerígena, antioxidante, antimicrobiana e antiviral.

De acordo com WANG *et al*. (2011), um metabólito secundário chamado de beauvericina, produzido e isolado de um microrganismo endofítico *Fusarium oxysporum*, da planta *Cinnamomum kanehirae* teve ação contra células lesionadas PC-3, PANC-1, e A549, sugerindo uma atividade anticancerígena.

Sob estresse, o organismo humano produz diversas espécies reativas de oxigênio, como radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio, essas substâncias são produzidas em maior quantidade do que substâncias antioxidantes. As substâncias antioxidantes combatem doenças como Alzheimer, doenças cardiovasculares, e o envelhecimento (SILVA *et al*, 2015).

Segundo VILA (2006), metabólitos secundários extraídos da cana-de-açúcar são sintetizados a partir de intermediários do metabolismo primário do carbono. Sob condições de estresse, a síntese aumentada de flavonóides está relacionada à proteção das estruturas celulares contra danos oxidativos (ALMEIDA, 2006).

O metabolismo da cana-de-açúcar possui grande complexidade e poucos estudos foram realizados até o momento visando a caracterização de metabólitos secundários produzidos por seus fungos endofíticos.

Fungos endofíticos podem ser encontrados em todas as espécies de plantas, sendo que em cada planta pode se hospedar um ou mais micro-organismos com a capacidade de produzir compostos bioativos, o que os tornam promissores fontes de metabólitos secundários com diversas atividades farmacológicas.

CONCLUSÃO

O desenvolvimento deste trabalho possibilitou concluir que os fungos endofíticos isolados da cana-de açúcar mostraram resultados positivos para a produção de metabólitos secundários, como os flavonóides.

Estes resultados indicam que os metabólitos secundários de microrganismos endofíticos podem apresentar um amplo valor de aplicação biotecnológica. Uma vez confirmada a produção destes princípios ativos e avaliada a sua aplicação, será interessante a produção em escala semi-industrial, visando a obtenção de maiores quantidades do princípio ativo em estudo, além de fornecer uma alternativa mais sustentável para a obtenção do princípio ativo em maior escala.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. M. D. **Flavonóides e ácidos cinâmicos de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L - Poaceae) e seus produtos. Identificação e atividade antioxidante e antiproliferativa.** Faculdade de Ciências Farmacêuticas; USP, SP. 2006. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/.../JOAQUIM_MD_ALMEIDA_DOUTORADO.pdf>. Acessado em: 01/12/2017.

AZEVEDO, J. L. **Ecologia Microbiana: Micro-organismo Endofíticos.** Departamento de Biologia Geral; UFGO; Goiania, GO; 2002; cap: 4, pag. 117 – 137. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Azevedo_Micro-organismosendofiticos_000fdrap80702wx5eo0a2ndxyo89f39n.pdf>. Acessado em: 26/10/2016.

BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C. **Flavonóide Quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas.** Alim. Nutr., Araraquara, v. 15, n°. 3, 2004. Disponível em: <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewfile/89/102>>. Acessado em: 18/03/2017.

BESSA, T., *et al.* **Avaliação fitotóxica e identificação de metabólitos secundários da raiz de *Cenchrus echinatus*.** Faculdade de Química – Universidade Federal de Uberlândia; 2014. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/horizontecientifico/article/viewFile/3873/2878>>. Acessado em: 19/11/2016.

BORGES, W. S. **Estudo de fungos endofíticos associado as plantas da família Asteraceae como fontes de metabolitos secundários e em processo de biotransformação.** USP; Ribeirão Preto; 2008. Disponível em: <[file:///C:/Users/camilarodrigues/Downloads/000774986%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/camilarodrigues/Downloads/000774986%20(2).pdf)>. Acessado em: 26/10/2016.

CHAPLA, V. M. **Bioprospecção dos fungos endofíticos associados à espécie vegetal *Eugenia jambolana* e utilização de modificador epigenético no cultivo do fungo *Lecythophora* sp.** UNESP: Universidade Estadual Paulista; Instituto de Química de Araraquara; 2014. Disponível em: <[file:///C:/Users/camilarodrigues/Downloads/000774986%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/camilarodrigues/Downloads/000774986%20(2).pdf)>. Acessado em: 26/10/2016.

CORREA, W. R. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos encontrados em peças anatômicas conservadas em solução de formol a 10%**. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento; Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos, SP. 2003. Disponível em: <<http://biblioteca.univap.br/dados/000000/00000069.pdf>>. Acessado em: 26/10/2017.

CUZZI, C.; LINK, S., *et al.* **Enzimas extracelulares produzidas por fungos endofíticos isolados de baccharis dracunculifolia d.c. (asteraceae)**. Gl. Sci. Technol.; Mai/Ago/2011. v. 04, n°. 02, p.47 – 57.

DORNAS, W. C., *et al.* **Flavonóides: Potencial terapêutico no estresse oxidativo**. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl; vol. 28, n°3; 2007. p. 241- 249. Disponível em: <https://farmacia200902.files.wordpress.com/2011/03/aula_3_flavonoides.pdf>. Acessado em: 02/05/2017.

FELBER, A. C.; PAMPHILE, J. A. **Fungos endofíticos: potencial como Controladores biológicos e estudos em videiras**. UNINGÁ Review; Abr/2013; n° 14; p. 13-25. Disponível em: <http://www.mastereditora.com.br/periodico/20130701_165829.pdf>. Acessado em: 26/10/2016.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia** 2011. Rio de Janeiro, Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2012. Disponível em: <www.bteduc.bio.br>. Acessado em: 26/10/2016.

MARTINS, L. R. **Avaliação do potencial biotecnológico de fungos brasileiros em reações de biotransformação e biorremediação**. UFMG; Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte; 2009.

MAUTONE, J. N. **Diversidade e potencial biotecnológico de levedura e fungos semelhantes a leveduras isolados de folhas de figueira do parque de Itapuã, RS, Brasil**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Instituto de Ciências Básica de Saúde; Março/2008. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/14247/000660005.pdf?sequence=>>>. Acessado em: 27/10/2016.

ORLANDELLI, R. C. *et al.* **Produção da enzima protease por fungos endofíticos isolados da planta medicinal Piper hispidum Sw**. Encontro Internacional de Produção Científica; Outubro/2011. Disponível em: <http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/ravelly_casarotti_orlandelli_2.pdf>. Acessado em: 27/10/2016.

REIS, S. C. M. M. A.; *et al.* **Manual de Curadores de Germoplasma – Micro-organismos: Fungos Filamentosos**. EMBRAPA Recursos Genéticos e Tecnologia; Brasília, DF, Julho/2011. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355163/2005846/doc335-134.pdf/18422cc9-6f06-47af-865c-8a8839efee9b>>. Acessado em: 26/10/2016.

SANTOS, M. S.; *et al.* **Bioprospecção de Fungo Endofítico Isolado de Passiflora sp. com Potencial Biotecnológico**. Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia. Londrina; 2013. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/view/15718>>. Acessado em: 26/10/2016.

SILVA, I. P. **Fungos endofíticos: fonte alternativa a metabólitos secundários de plantas.** Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Brasil; 07/2014. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/MULTIDISCIPLINAR/Fungos.pdf>>. Acessado em: 27/10/2016.

SILVA, L. R.; *et al.* **Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico.** Revista scielo: Acta toxicol, vol.23, n°.1. Buenos Aires; Maio/2015. Disponível em: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432015000100004>. Acessado em: 02/05/2017.

SIMÕES, C. M. O.; *et al.* **Farmacognosia: Do produto natural ao medicamento.** Artmed Editora Ltda. Porto Alegre; 2017. Cap. 15; pag. 209 – 231.

TORTORA, G. J. *et al.* **Microbiologia.** Editora Artmed, 10ª edição; 2012. Pag. 330 – 363.

VILA, F. C. **Identificação dos flavonóides com atividade antioxidante da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L).** USP; São Carlos. 2006. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75132/tde-11042007.../FabianaVila.pdf>. Acessado em: 01/12/2017.

WANG, Q. X.; *et al.* **Chemical constituents from endophytic fungus *Fusarium oxysporum*.** Fitoterapia, Milano, v. 82, n°. 5, p. 777–81, 2011. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/77d4/ea243669fef3289d5285502f58e522c910.pdf>>. Acessado em: 10/11/2017.