

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE METABÓLITOS DE FUNGOS AMBIENTAIS

Julia Pestana¹ & Jorge Luiz Fortuna^{2*}

RESUMO

PESTANA, J.; FORTUNA, J. L. Atividade antimicrobiana de metabólitos de fungos ambientais. *Perspectivas Online: Biológicas & Saúde*, v. 13 , n. 45 , p. 17-36, 2023.

Com o aumento de casos de resistência bacteriana aos antimicrobianos, são necessários estudos que proporcionem novas formas de combater esses patógenos, sendo uma dessas pesquisas, a extração de metabólitos fúngicos. Objetivou-se investigar a atividade antimicrobiana de extratos metabólicos fúngicos de fungos da Micoteca (Coleção de Fungos) do Laboratório de Biologia dos Fungos do Campus X da Universidade do Estado da Bahia. Reativou-se fungos já coletados e isolados, extraindo-se metabólitos secundários e testando-os contra os seguintes microrganismos patogênicos: *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. O processo consistiu na reativação de 32 diferentes fungos em Ágar Batata Dextrose (ABD), colocados em estufa B.O.D. a 28 °C/7 dias. Após esse período foram colocados em Caldo Batata Dextrose (CBD) em B.O.D. a

28 °C/15 dias. A partir do filtrado, foi feito o Teste de Sensibilidade ao Antimicrobiano (TSA). Os extratos de *Aspergillus calidoustus*, *Colletotrichum* sp.1, *Curvularia brachyspora* e *Thozetella* sp.6 apresentaram atividades antimicrobiana contra os cinco patógenos testados. O fungo do grupo *Aspergillus* inibiu *Staphylococcus aureus*; *Nigrospora* e *Penicillium* inibiram *Klebsiella pneumoniae*. Não houve diferença significativa ($p=0,0756$) entre o tamanho médio dos halos de inibição contra os diferentes microrganismos testados, porém, houve diferença significativa ($p=0,0029$) entre os extratos fúngicos testados. Com isso, a extração de metabólitos secundários fúngicos apresenta-se como um potencial para a descoberta de novos compostos bioativos contra microrganismos patogênicos multirresistentes.

Palavras-chave: Extrato Fúngico. Teste de Sensibilidade. Antimicrobiano.

¹Bolsista de Iniciação Científica pela FAPESB; Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Campus X, Teixeira de Freitas-BA.

²Docente da área de Microbiologia do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Campus X, Teixeira de Freitas-BA. Projeto Fungus Extremus – Laboratório de Biologia dos Fungos. Av. Kaikan, s/n, Universitário, Teixeira de Freitas-BA, CEP: 45.992-294, Brasil.

(*) e-mail: jfortuna@uneb.br

Data de recebimento: 02/01/2023

Aceito para publicação: 05/03/2024

Data de publicação: 11/07/2024

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FUNGAL METABOLITES EXTRACTED FROM ENVIRONMENTAL MICROFUNGI

Julia Pestana¹ & Jorge Luiz Fortuna^{2*}

ABSTRACT

PESTANA, J.; FORTUNA, J. L. Antimicrobial activity of fungal metabolites extracted from environmental microfungi. **Online Perspectives: Biology & Health**, v.13, n. 45 , p.17-36, 2023.

With the increase in cases of bacterial resistance to antimicrobials, studies are needed to provide new ways to combat these pathogens, which may include the extraction of fungal metabolites. The objective of this study was to investigate the antimicrobial activity of fungal metabolic extracts of microfungi from the Mycoteca (fungal collection) of the Laboratory of Fungal Biology of *Campus X* from the University of the State of Bahia. Already collected and isolated microfungi were reactivated, extracting secondary metabolites of these microfungi and testing them against the following pathogenic microorganisms: *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The process consisted in the reactivation of 32 different microfungi. The reactivation of these microfungi occurred in Potato Dextrose Agar (PDA) placed in a B.O.D. incubator at 28°C/7 days. After this period they were placed in

a Potato Dextrose Broth (PDB) in a B.O.D. at 28°C/15 days. The antimicrobial sensitivity test (AST) was performed from the PDB filtrate. *Aspergillus calidoustus*, *Colletotrichum* sp.1, *Curvularia brachyspora* and *Thozetella* sp.6, had antimicrobial activity against the five microorganisms tested. The group of the genus where all microfungi inhibited *S. aureus* were *Aspergillus* and the genera that inhibited *K. pneumoniae* were *Nigrospora* and *Penicillium*. There was no significant difference ($p=0.0756$) between the average size of the inhibition halos against the different microorganisms tested, but there was a significant difference ($p=0.0029$) among the different secondary fungal metabolite extracts tested. Thus, the extraction of fungal secondary metabolites presents itself as a potential pathway for the discovery of new bioactive compounds against multidrug-resistant pathogenic microorganisms.

Keywords: Fungal Extract. Sensitivity. Antimicrobial.

¹Scientific scholarship holder through the FAPESB; Student of the Biological Sciences Course at the University of the State of Bahia (UNEB), Campus X, Teixeira de Freitas-BA.

²Professor in the field of Microbiology of the Biological Sciences course at the University of the State of Bahia (UNEB), Campus X, Teixeira de Freitas-BA. Fungus Extremus Project – Laboratory of Fungal Biology. Av. Kaikan, s/n, Universitário, Teixeira de Freitas-BA, CEP: 45.992-294, Brazil.

(*) e-mail: jfortuna@uneb.br

Received: 02/01/2023

Accepted: 05/03/2024

Published online: 11/07/2024

1. INTRODUÇÃO

Os fungos constituem um reino diferente de plantas e animais por várias características, entre as quais a mais marcante é o modo de nutrição absorptiva. Entre outras características incluem-se a formação de estruturas vegetativas filamentosas – as hifas, que constituem o micélio – e estruturas especializadas para reprodução sexuada e assexuada, próprias de cada grupo taxonômico, a partir das quais se formam os esporos (ALEXOPOULOS et al., 1996).

A função dos fungos é imprescindível para o bom funcionamento do ecossistema, desempenhando o papel de ciclagem de matéria orgânica, degradando a matéria através da fermentação e absorção de nutrientes. Portanto, as atividades dos fungos na natureza são tão necessárias para a continuidade da existência do planeta, quanto são aquelas desempenhadas pelos organismos produtores (SILVA; COELHO, 2006).

Mesmo com tudo o que já se sabe sobre os fungos, existe ainda uma necessidade de pesquisas nessa área. A morfologia desse tipo de organismo e diversos micro habitats permitem sua grande diversidade, sendo as florestas tropicais, áreas que tendem a ter maior diversidade de espécies e ambiente propício ao seu crescimento, como exemplo a Mata Atlântica (ALMEIDA et al, 2020).

Na história da humanidade os fungos possuem o seu destaque no combate a doenças causadas por infecções bacterianas que, com o tempo, vem adquirindo mais resistência aos antimicrobianos. Devido a isso, produtos naturais como os extraídos de plantas e de fungos se apresentam como uma importante fonte biológica de novas moléculas bioativas, podendo apresentar atividade antimicrobiana contra estes patógenos resistentes (MARTINEZ-KLIMOVA et al., 2017).

Já se sabe que algumas espécies de fungos apresentam um importante uso para a indústria farmacêutica (ABREU et al., 2015). Porém, com o aumento de casos de resistência de microrganismos aos antimicrobianos (FRIDKIN et al., 1999; HIRAMATSU, 2001; VENTOLA, 2015; TONER et al., 2015; SUGDEN et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2020), são necessários estudos que proporcionem mais formas de combater esses patógenos, sendo uma dessas pesquisas a extração de metabólitos fúngicos.

Metabólitos secundários são compostos extracelulares secretados no meio de cultura, durante o crescimento e diferenciação de um organismo vivo e têm sido isolados e caracterizados principalmente para fins industriais (DREYFUSS; CHAPELA, 1994; STROBEL, 2003; SPECIAN et al., 2014).

Segundo Takahashi e Lucas (2008), conhecer a química da atividade de metabólitos fúngicos representa uma vantagem para o ecossistema, pois é de fácil manuseio e controle do crescimento fúngico, sem representar um possível desequilíbrio ecológico para a preservação da natureza. Além disso, há a possibilidade de que novos compostos de valor econômico sejam descobertos, como novos antimicrobianos, antifúngicos, agentes terapêuticos, produtos químicos, enzimas, entre outros (SIQUEIRA, 2011).

O presente trabalho contribui para a comunidade acadêmica e a sociedade em geral sobre o potencial de alguns fungos apresentam em seus metabólitos químicos no combate a

Candida albicans (C.P. Robin) Berkhout e as principais bactérias responsáveis por Infecções Referentes à Assistência à Saúde (IRAS) que são conhecidas como ESKAPE (*Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919; *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884; *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter 1886) Trevisan 1887; *Acinetobacter baumannii* Bouvet and Grimont 1986; *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900 e espécies de *Enterobacter* Hormaeche and Edwards 1960). Segundo Rice (2008) estes microrganismos patogênicos são importantes, não apenas porque causam a maior parte das IRAS, mas também porque representam paradigmas de patogênese, transmissão e resistência, despertando assim, o interesse farmacológico na produção de medicamentos eficazes.

Dessa forma, essa pesquisa teve como objetivo geral investigar a atividade antimicrobiana de extratos metabólicos fúngicos de espécies fungopresentes na Micoteca (Coleção de Fungos) do Laboratório de Biologia dos Fungos/UNEB, contra os microrganismos patogênicos *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

2. METODOLOGIA

2.1. Área de Estudo e Amostras Analisadas

Nesta pesquisa foram utilizados espécimes de fungos pertencentes à coleção depositada na Micoteca do Laboratório de Biologia dos Fungos do *Campus X* da UNEB, em Teixeira de Freitas-BA. Todos os fungos utilizados nesta pesquisa foram coletados em fragmentos de Mata Atlântica do Extremo Sul da Bahia e identificados em nível de gênero ou espécie, a partir de trabalhos de pesquisas de isolamento e identificação de microfungos realizados pelo grupo de pesquisa do Projeto Fungus Extremus.

2.2. Fungos Utilizados

Foram selecionados os fungos, cujo respectivos códigos de identificação utilizados na Micoteca (Tabela 1).

Todos os fungos encontravam-se armazenados em tubos inclinados com Ágar Batata Dextrose em óleo mineral e/ou água destilada esterilizada (método Castellani) (CASTELLANI, 1939).

Tabela 1: Fungos selecionados para cultivo e produção dos metabólitos secundários, com seus respectivos códigos de identificação na Micoteca/UNEB, substrato de origem, local e data da coleta

ESPÉCIE	CÓDIGO	SUBSTRATO	LOCAL DA COLETA	DATA DA COLETA
<i>Acremonium</i> sp.	MI-072	Endofítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	29/05/2019
<i>Aphanocladium</i> sp.	MI-066	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	19/09/2019
<i>Aspergillus calidoustus</i>	MI-065	Água	Fitotelmo de <i>Vriesea procera</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	29/03/2019
<i>Aspergillus flavus</i>	MI-062	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	29/03/2019
<i>Aspergillus japonicus</i>	MI-060	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	09/01/2019
<i>Cladosporium</i> sp.	MI-033	Folha	Corpo Hídrico - Fragmento de Mata Atlântica - ARBORETUM	XX/02/2017
<i>Cladosporium</i> sp.1	MI-053	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	19/09/2019
<i>Colletotrichum bannaense</i>	MI-071	Endofítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	04/09/2019
<i>Colletotrichum</i> sp.1	MI-074	Endofítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	29/03/2019
<i>Colletotrichum</i> sp.3	MI-075	Epifítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	09/01/2019
<i>Curvularia brachyspora</i>	MI-073	Epifítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	09/01/2019
<i>Exophiala</i> sp.	MI-064	Água	Fitotelmo de <i>Vriesea procera</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	04/09/2019
<i>Fusarium graminearum</i>	MI-057	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	09/01/2019
<i>Fusarium redolens</i>	MI-069	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	29/03/2019
<i>Fusarium</i> sp.1	MI-076	Endofítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	09/01/2019

<i>Fusarium</i> sp.3a	MI-067	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	04/09/2019
<i>Fusarium</i> sp.3b	MI-077	Endofítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	29/03/2019
<i>Mucor</i> sp.	MI-063	Água	Fitotelmo de <i>Vriesea procera</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	09/01/2019
<i>Nigrospora gorlenkoana</i>	MI-082	Epifítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	04/09/2019
<i>Nigrospora rubi</i>	MI-083	Epifítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	19/09/2019
<i>Nigrospora sphaerica</i>	MI-081	Epifítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	04/09/2019
<i>Penicillium chrysogenum</i>	MI-054	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	29/03/2019
<i>Penicillium citrinum</i>	MI-058	Água	Fitotelmo de <i>Vriesea procera</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	29/03/2019
<i>Penicillium simplicissimum</i>	MI-068	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	09/01/2019
<i>Penicillium</i> sp.1	MI-056	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	29/03/2019
<i>Penicillium</i> sp.2a	MI-059	Água	Fitotelmo de <i>Aechmea alba</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	09/01/2019
<i>Penicillium</i> sp.2b	MI-079	Epifítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	04/09/2019
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	MI-080	Epifítico	Fragmento de Mata Atlântica - Fazenda Sayonara	19/09/2019
<i>Talaromyces</i> sp.3	MI-055	Água	Fitotelmo de <i>Vriesea procera</i> - F. Mata Atlântica (Fazenda Sayonara)	29/03/2019
<i>Thozetella</i> sp.1	MI-035	Folha	Corpo Hídrico - Fragmento de Mata Atlântica - ARBORETUM	XX/04/2017
<i>Thozetella</i> sp.3	MI-041	Folha	Corpo Hídrico - Fragmento de Mata Atlântica - ARBORETUM	XX/04/2017
<i>Thozetella</i> sp.6	MI-047	Folha	Corpo Hídrico - Fragmento de Mata Atlântica - ARBORETUM	XX/11/2017

2.3. Obtenção dos Extratos de Fungos

Os fungos, armazenados originalmente em tubos de ensaio contendo Ágar Cenoura Milho (ACM) inclinado e preservados com óleo mineral esterilizado, foram reativados a partir do descarte do óleo mineral, sendo depois deixados emborcados para a retirada do excesso de óleo, durante 24 horas (Figura 1).

Os fragmentos de Ágar com micélio fúngico que se encontravam em frascos com água destilada esterilizada (CASTELLANI, 1939) foram transferidos diretamente para as placas de Petri contendo Ágar Batata Dextrose (ABD) para a ativação dos fungos.

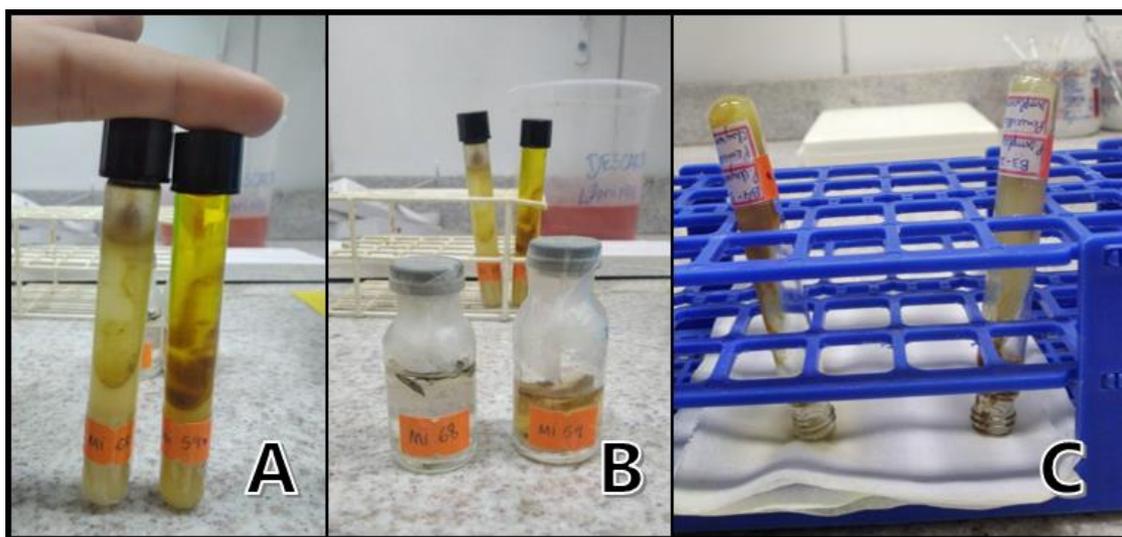


Figura 1: (A) Tubos de ensaio contendo fungo em Ágar Cenoura Milho (ACM) preservados em óleo mineral. (B) Fragmentos de colônia de fungos armazenados em frascos com água esterilizada. (C) Tubos de ensaio emborcados para a retirada do excesso de óleo, durante 24 horas.

(Fotos: Julia Pestana).

A repicagem dos fungos foi feita utilizando-se as técnicas de estriamento, picada e fragmento de Ágar com micélio do fungo para placa de Petri contendo Ágar Batata Dextrose (ABD), (Figura 2) em câmara de fluxo laminar. Em seguida, foram incubados em BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) em temperatura de 28 °C durante sete dias para a obtenção de colônias jovens. Após este período, foram retirados cinco fragmentos do Ágar ($\pm 0,5$ cm) com o micélio e repicados para frascos Erlenmeyer contendo 250 mL de Caldo Batata Dextrose (CBD) e incubados em BOD a 28 °C por 15 dias, sem agitação. Posteriormente, as culturas foram filtradas em papel filtro nº 4 para separar o caldo do micélio (Figura 3). O filtrado foi armazenado em tubos Falcon sob refrigeração de 4 °C até o momento da realização dos testes antimicrobianos (SOUZA et al., 2004; LI et al., 2005; GARCIA et al., 2012; ORLANDELLI et al., 2012; WENZEL et al., 2013).

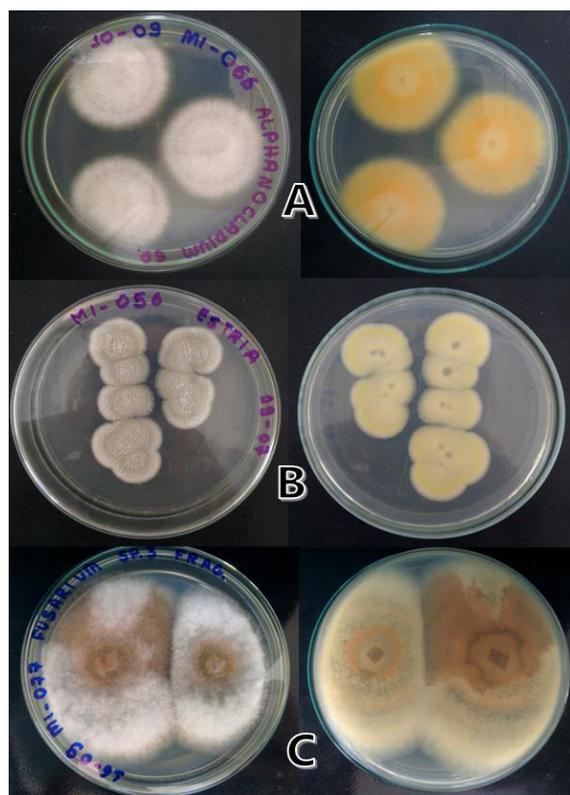


Figura 2: Colônias de fungos repicadas para meio de cultura após armazenamento (A) Técnica de picada (crescimento frente e verso, respectivamente). (B) Técnica de estria (frente e verso). (C) Técnica com fragmento de Ágar com micélio (frente e verso).
(Fotos: Julia Pestana).



Figura 3: Cultivo de fungos em meio líquido para obtenção de compostos secundários. (A) Retirada de cinco fragmentos de colônia e repicagem para frascos de Erlenmeyer contendo Caldo Batata Dextrose. (B) Crescimento após 15 dias (C) Filtragem com papel filtro separando o caldo do micélio.
(Fotos: Julia Pestana).

2.4. Diluição dos Extratos e Preparo dos Discos de Papel

A partir dos extratos fúngicos concentrados, foram preparadas escalas de diluições com diferentes concentrações (100%; 50%; 25%; 12,5%) (Figura 4), utilizado-se Dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente para os extratos apolares (acetato de etila; etanol e hexano) e a água deionizada esterilizada para o extrato polar (água) (TRAJANO et al., 2009; VANDERLINDE; ONOFRE, 2010).

Discos de papel filtro esterilizados, com 6,0 mm de diâmetro, foram embebidos com 10 μ L dos respectivos extratos metabólitos fúngicos secundários, nas respectivas diluições pré-definidas (Figura 4). Em seguida, os discos foram colocados em câmara de fluxo laminar por uma hora, para que o excesso de solvente fosse eliminado por evaporação (VANDERLINDE; ONOFRE, 2010).

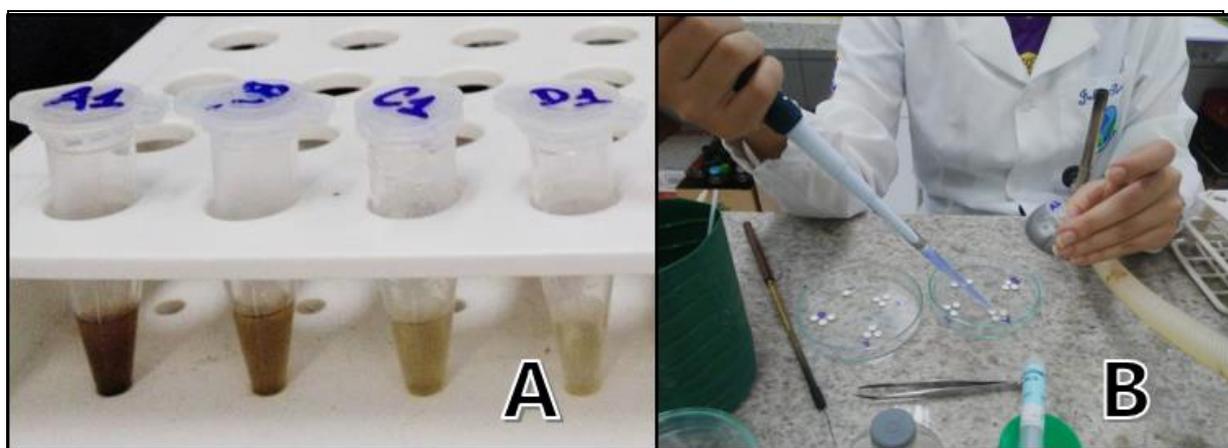
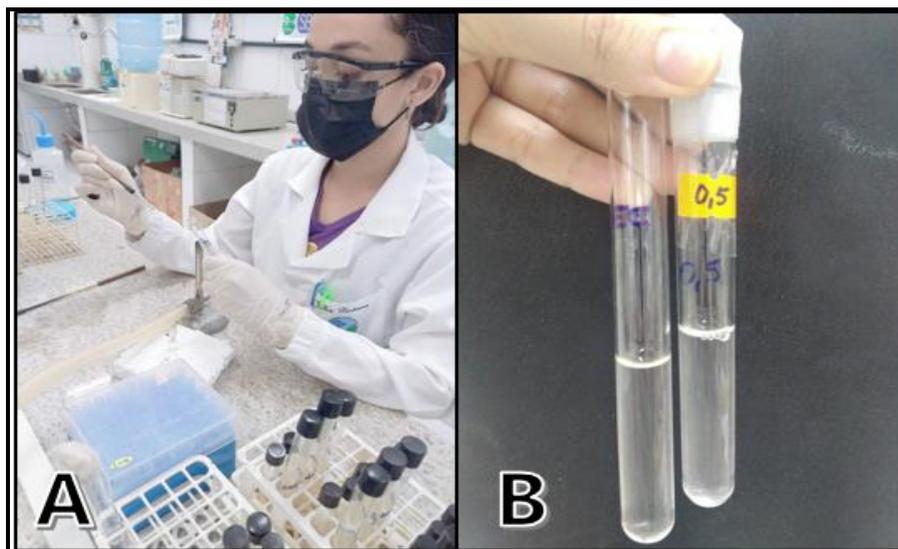


Figura 4: (A) Extrato fúngico diluído em 100%; 50%; 25% e 12,5%, respectivamente para avaliação do efeito inibitório, *in vitro*, de patógenos. (B) Discos de papel filtro sendo embebidos com as diluições. (Fotos: Julia Pestana).

2.5. Preparo do Inóculo

Foram utilizados os seguintes microrganismos patogênicos: *E. coli*; *S. aureus*; *K. pneumoniae*; *P. aeruginosa* e *C. albicans*. As culturas bacterianas foram ativadas em Ágar Nutriente (AN) e a levedura em Ágar Batata Dextrose (ABD), incubadas em estufa a 36 ± 1 °C por 18-24 h. Após a incubação, todas as culturas foram padronizadas em 10^8 células/mL, estimadas por comparação a partir de tubo 0,5 da escala de MacFarland (Figura 5) (VANDERLINDE; ONOFRE, 2010; OLIVEIRA; FORTUNA, et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020).



Figuras 5: (A) Reativação dos microrganismos patogênicos. (B) Padronização das culturas a partir do tubo padrão 0,5 da escala de MacFarland. (Fotos: Julia Pestana).

2.6. Ensaio de Difusão em Disco

As suspensões de células dos microrganismos patogênicos foram repicadas e espalhadas em placas contendo Ágar Mueller-Hinton (AMH) com o auxílio de um suabe. Em seguida, os discos de papel filtro, previamente embebidos com os extratos fúngicos nas concentrações determinadas foram transferidos para as mesmas placas de Petri com os patógenos semeados. As placas foram mantidas a 36 ± 1 °C/24 h. Após este período, foram analisadas e avaliadas a presença de halos de inibição, os quais foram medidos (mm) utilizando um halômetro (Figura 6) (BAUER et al., 1966; CLSI, 2015). Todos os ensaios foram realizados em triplicata e tiveram como controle positivo os discos antimicrobianos com vancomicina, cloranfenicol, cefalotina, estreptomicina, amicacina e nistatina.



Figura 6: (A) Placas incubadas a 36 ± 1 °C/24 h. (B) Placa analisada, utilizando um halômetro, quanto a presença de halo de inibição. (Fotos: Julia Pestana).

2.7. Análise Estatística

Os resultados obtidos das médias dos halos de inibição foram interpretados através da análise de variância (ANOVA), também conhecido como F-teste ($p < 0,05$), entre dois diferentes fatores: microrganismos patogênicos testados e extratos fúngicos, utilizando-se o programa *BioEstat 5.3* (AYRES et al., 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram extraídos 32 metabólitos fúngicos secundários de diferentes espécimes de fungos. Destes, 30 (93,75%) apresentaram atividades antimicrobianas, comprovadas com a presença de halo de inibição contra os seguintes microrganismos patogênicos: *E. coli*; *S. aureus*; *K. pneumoniae*; *P. aeruginosa* e *C. albicans* (Tabela 2).

Os extratos metabólitos secundários de quatro (12,5%) fungos (*Aspergillus calidouustus* Varga, Houbraken & Samson; *Colletotrichum* Corda sp.1; *Curvularia brachyspora* Boedijn e *Thozetella* Kuntze sp.6) apresentaram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados. Já os extratos metabólitos secundários de dois deles, (6,25%) fungos *Colletotrichum bannaense* X.B. Liu e *Thozetella* (sp.3) não apresentaram ação inibitória contra nenhum dos microrganismos testados (Figura 7; Tabelas 2 e 3).

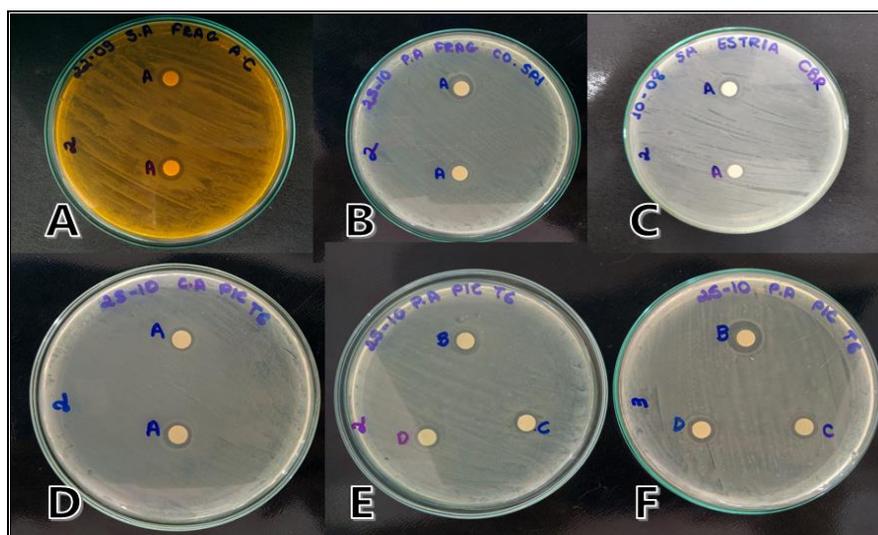


Figura 7: (A) Extrato de *A. calidouustus* na concentração de 100% formando halo de inibição contra o microrganismo *S. aureus*. (B) Extrato de *Colletotrichum* sp.1 na concentração 100% contra *P. aeruginosa*. (C) Extrato de *C. brachyspora* a 100% contra *S. aureus*. (D) Extrato de *Thozetella* sp.6 na concentração 100% contra *C. albicans*. (E-F) Extrato de *Thozetella* sp.6 testado contra *P. aeruginosa* apresentando halo de inibição nas diluições 50%; 25% e 12,5%.

(Fotos: Julia Pestana).

A partir dos testes de sensibilidade ao antimicrobiano em meio AMH, 12 (37,5%) fungos apresentaram atividade inibitória dos seus extratos metabólitos secundários contra *E. coli* (*P. simplicissimum*; *N. gorlenkoana*; *N. rubi*; *C. brachyspora*; *P. chrysogenum*; *A. japonicus*; *Penicillium* sp.1; *A. calidouustus*; *Fusarium* sp.3; *Colletotrichum* sp.1; *Thozetella* sp.6; *Acremonium* sp.) (Tabela 3).

Contra o microrganismo *S. aureus*, 18 (56,3%) extratos metabólitos secundários dos fungos *P. simplicissimum*; *N. rubi*; *C. brachyspora*; *F. redolens*; *F. graminearum*; *P. chrysogenum*; *A. japonicus*; *Penicillium* sp.1; *Talaromyces* sp.3; *P. citrinum*; *Penicillium* sp.2; *A. calidoustus*; *A. flavus*; *Aphanocladium* sp.; *Colletotrichum* sp.1; *Thozetella* sp.6; *Colletotrichum* sp.3 e *Pestalotiopsis* sp. apresentaram atividade de inibição (Tabela 3).

Para *K. pneumoniae*, 24 (75%) dos extratos metabólitos secundários dos fungos *P. simplicissimum*; *N. sphaerica*; *N. gorlenkoana*; *N. rubi*; *C. brachyspora*; *F. redolens*; *F. graminearum*; *P. chrysogenum*; *Penicillium* sp.1; *P. citrinum*; *Cladosporium* sp.1; *Penicillium* sp.2; *A. calidoustus*; *Fusarium* sp.3; *A. flavus*; *Aphanocladium* sp.; *Mucor* sp.; *Cladosporium* sp.; *Colletotrichum* sp.1; *Thozetella* sp.6; *Exophiala* sp.; *Penicillium* sp.2; *Thozetella* sp.1 apresentaram inibição contra o microrganismo (Tabela 3).

Extratos metabólitos de 17 (53,1%) fungos (*N. gorlenkoana*; *C. brachyspora*; *Penicillium* sp.1; *Talaromyces* sp.3; *P. citrinum*; *Cladosporium* sp.1; *Penicillium* sp.2; *A. calidoustus*; *Fusarium* sp.3; *A. flavus*; *Aphanocladium* sp.; *Fusarium* sp.3; *Colletotrichum* sp.; *Thozetella* sp.6; *Colletotrichum* sp.3; *Pestalotiopsis* sp.; *Penicillium* sp.2; *Thozetella* sp.1) inibiram o crescimento de *P. aeruginosa* (Tabela 3).

Contra a levedura *C. albicans*, 16 (50%) extratos metabólitos secundários dos fungos *N. rubi*; *C. brachyspora*; *F. redolens*; *F. graminearum*; *Penicillium* sp.2; *A. calidoustus*; *Fusarium* sp.3; *Mucor* sp.; *Fusarium* sp.3; *Colletotrichum* sp.1; *Thozetella* sp.6; *Colletotrichum* sp.3; *Exophiala* sp.; *Pestalotiopsis* sp.; *Penicillium* sp.2; *Thozetella* sp.1 tiveram ação inibitória (Tabela 3).

Analisando os dados (Tabela 3) é possível observar que todos os fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus* apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. Aureus*, destacando-se, dentre eles, *Aspergillus calidoustus* que inibiu todos os microrganismos. *Aspergillus* são fungos anamórficos comumente isolados do solo, água, vegetais ou de outros substratos constituídos de nutrientes essenciais para o seu crescimento e reprodução (TEIXEIRA et al., 2011; PINHEIRO et al., 2013). Zhang et al. (2016) apontam que espécies de *Aspergillus* são fontes ricas de produtos bioativos, especialmente metabólitos secundários, compostos sintetizados na fase estacionária que são estruturalmente heterogêneos e não essenciais para o crescimento microbiano. Existem representantes como *A. niger*, *A. carbonarius* e *A. japonicus* que são excelentes para uso na indústria biotecnológica por produzirem compostos bioativos de importância industrial (PERRONE et al., 2007; SAMSON; VARGA, 2009). Lima (2016) mostrou, em seu trabalho, que o filtrado da cultura do fungo *Aspergillus* (H63) apresentou atividade antimicrobiana frente as bactérias Gram positivas *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) e *S. aureus* ATCC 25923, pelo método de difusão em ágar. Corroborando com os resultados obtidos.

Tabela 2: Média dos halos de inibição (mm) de diluições de metabólitos secundários de fungos sobre microrganismos patogênicos em diferentes diluições (100%; 50%; 25% e 12,5%)

FUNGOS	<i>Escherichia coli</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Klebsiella pneumoniae</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Candida albicans</i>			
	100	50	25	12,5	100	50	25	12,5	100	50	25	12,5	100	50	25	12,5	100	50	25	12,5
<i>Acremonium</i> sp.	9,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aphanocladium</i> sp.	-	-	-	-	9,5	-	-	-	9,0	9,0	8,0	-	10,0	10,0	10,0	10,0	-	-	-	-
<i>Aspergillus calidouustus</i>[#]	8,3	10,0	9,5	9,5	10,0	8,0	9,5	9,5	9,3	10,0	11,0	10,0	9,6	10,0	8,0	9,0	9,0	8,5	9,5	9,5
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	9,5	-	-	-	9,0	9,5	8,0	9,0	8,3	8,0	9,5	8,5	-	-	-	-
<i>Aspergillus japonicus</i>	9,0	8,5	8,5	-	8,0	8,5	9,0	9,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	9,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i> sp.1	-	-	-	-	-	-	-	-	8,6	8,6	9,0	8,6	8,0	9,0	9,0	8,0	-	-	-	-
<i>Colletotrichum bannaense</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Colletotrichum</i> sp.1	9,0	9,0	9,0	8,0	9,0	9,0	8,0	9,0	9,0	8,0	8,0	9,0	10,0	8,5	8,5	9,0	10,0	-	-	-
<i>Colletotrichum</i> sp.3	-	-	-	-	9,0	8,0	8,0	9,0	-	-	-	-	9,5	-	-	-	8,5	8,0	-	-
<i>Curvularia brachyspora</i>	9,0	8,0	-	-	8,0	8,0	8,3	8,0	8,0	8,5	8,5	8,0	9,0	8,0	8,0	8,5	10,0	8,0	9,0	9,0
<i>Exophiala</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	8,5	9,0	8,0	9,0	-	-	-	-	9,0	-	-	-
<i>Fusarium graminearum</i>	-	-	-	-	8,3	-	-	-	8,3	8,5	8,3	8,6	-	-	-	-	8,6	8,0	8,5	9,0
<i>Fusarium redolens</i>	-	-	-	-	8,0	8,3	8,6	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	-	-	-	-	8,6	8,5	8,0	8,5
<i>Fusarium</i> sp.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium</i> sp.3a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,0	9,0	-	-	10,0	-	-	-
<i>Fusarium</i> sp.3b	10,0	10,0	10,0	9,0	-	-	-	-	9,0	9,5	10,0	10,0	8,5	8,3	8,0	9,0	10,0	-	-	-
<i>Mucor</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	9,5	-	-	-	-	-	-	-	9,5	-	-	-
<i>Nigrospora gorenkoana</i>	9,5	8,0	8,3	8,0	-	-	-	-	9,0	8,0	8,5	9,5	8,5	-	-	-	-	-	-	-

<i>Nigrospora rubi</i>	10,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,5	8,0	9,0	8,3	8,5	8,0	-	-	-	-	8,5	8,0	8,5	8,0
<i>Nigrospora sphaerica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	8,5	8,0	8,0	8,0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	9,0	9,0	9,0	9,3	9,0	8,0	8,0	8,0	8,0	9,0	8,6	8,6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium citrinum</i>	-	-	-	-	8,0	-	-	-	8,6	8,3	8,3	9,0	8,0	8,5	9,0	9,0	-	-	-	-
<i>Penicillium simplicissimum</i>	8,3	8,0	8,3	8,6	8,0	9,0	9,0	9,0	8,5	8,5	8,3	8,5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.1	8,0	-	-	-	12,0	10,0	9,0	10,0	8,6	8,0	8,0	8,0	8,0	9,0	9,0	8,5	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.2a	-	-	-	-	-	-	-	-	10,0	9,5	9,0	10,0	10,5	9,0	10,0	9,0	9,5	10,0	9,0	10,0
<i>Penicillium</i> sp.2b	-	-	-	-	9,0	8,5	8,0	8,0	9,6	8,0	9,0	9,0	9,6	9,5	10,0	10,0	10,0	9,5	9,5	9,0
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	-	-	-	-	9,5	9,0	8,5	9,0	-	-	-	-	8,5	9,0	8,0	8,0	9,5	-	-	-
<i>Talaromyces</i> sp.3	-	-	-	-	8,5	-	-	-	-	-	-	-	8,0	8,0	8,0	8,0	-	-	-	-
<i>Thozetella</i> sp.1	-	-	-	-	-	-	-	-	9,0	8,0	8,0	8,0	8,5	8,5	8,5	9,0	9,0	9,0	8,0	10,0
<i>Thozetella</i> sp.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Thozetella</i> sp.6	9,0	8,0	8,0	10,0	8,5	8,0	8,0	8,0	8,5	8,5	9,0	9,0	9,6	10,5	8,5	9,0	8,5	-	-	-

Em negrito espécies dos metabólitos fúngicos secundários que inibiram todos os microrganismos testados.

Tabela 3: Indicação de atividade antimicrobiana de metabólitos fúngicos contra microrganismos patogênicos

FUNGOS	MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Acremonium</i> sp.	■	■	■	■	■
<i>Aphanocladium</i> sp.	■	■	■	■	■
<i>Aspergillus calidoustus</i> [#]	■	■	■	■	■
<i>Aspergillus flavus</i>	■	■	■	■	■
<i>Aspergillus japonicus</i>	■	■	■	■	■
<i>Cladosporium</i> sp.	■	■	■	■	■
<i>Cladosporium</i> sp.1	■	■	■	■	■
<i>Colletotrichum bannaense</i>	■	■	■	■	■
<i>Colletotrichum</i> sp.1	■	■	■	■	■
<i>Colletotrichum</i> sp.3	■	■	■	■	■
<i>Curvularia brachyspora</i>	■	■	■	■	■
<i>Exophiala</i> sp.	■	■	■	■	■
<i>Fusarium graminearum</i>	■	■	■	■	■
<i>Fusarium redolens</i>	■	■	■	■	■
<i>Fusarium</i> sp.1	■	■	■	■	■
<i>Fusarium</i> sp.3a	■	■	■	■	■
<i>Fusarium</i> sp.3b	■	■	■	■	■
<i>Mucor</i> sp.	■	■	■	■	■
<i>Nigrospora gorlenkoana</i>	■	■	■	■	■
<i>Nigrospora rubi</i>	■	■	■	■	■
<i>Nigrospora sphaerica</i>	■	■	■	■	■
<i>Penicillium chrysogenum</i>	■	■	■	■	■
<i>Penicillium citrinum</i>	■	■	■	■	■
<i>Penicillium simplicissimum</i>	■	■	■	■	■
<i>Penicillium</i> sp.1	■	■	■	■	■
<i>Penicillium</i> sp.2a	■	■	■	■	■
<i>Penicillium</i> sp.2b	■	■	■	■	■
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	■	■	■	■	■
<i>Talaromyces</i> sp.3	■	■	■	■	■
<i>Thozetella</i> sp.1	■	■	■	■	■
<i>Thozetella</i> sp.3	■	■	■	■	■
<i>Thozetella</i> sp.6	■	■	■	■	■
TOTAL*	12 (37,5%)	18 (56,3%)	24 (75%)	17 (53,1%)	16 (50%)

■ Inibiu (houve atividade antimicrobiana); ■ Não Inibiu (sem atividade antimicrobiana).

Em negrito espécies dos metabólitos fúngicos que inibiram todos os microrganismos testados. * Percentagem de metabólitos fúngicos que inibiram os respectivos microrganismos patogênicos.

De acordo com os resultados obtidos não houve diferença significativa ($p=0,0756$) entre o tamanho médio dos halos de inibição contra os diferentes microrganismos testados, porém,

houve diferença significativa ($p=0,0029$) entre os diferentes extratos metabólitos fúngicos secundários testados.

O patógeno *S. aureus* foi inibido pelo extrato de apenas um dos três isolados de *Nigrospora* testados, em contrapartida ao que Santos et al. (2015) relata, no isolamento de *Nigrospora* sp. da planta medicinal brasileira *Indigofera suffruticosa* Miller, que apresentou atividade bactericida contra *S. aureus*. Isso pode indicar uma diferença na química dos metabólitos secundários, variando conforme a espécie do fungo.

Analisando os resultados dos extratos do gênero *Penicillium*, temos que entre os seis extratos testados contra *S. aureus*, apenas um não apresentou atividade inibitória. No trabalho desenvolvido por Moraes Neto et al. (2017), foi possível verificar que extratos fúngicos do gênero *Penicillium* também apresentaram atividade contra *S. aureus*. Já para *K. pneumoniae* (Tabela 3) houve inibição para todos os extratos dos fungos *Penicillium* e *Nigrospora*. Espécies de *Penicillium* produzem uma gama muito diversificada de metabólitos secundários ativos, incluindo antibacterianos (RANČIĆ et al., 2006; LUCAS et al., 2007).

Todos os fungos pertencentes ao gênero *Colletotrichum* (Tabela 3) exerceram ação antimicrobiana. Segundo Quinto e Santos (2005), os extratos das espécies de *Colletotrichum* sp. e *Nigrospora* sp. mostraram propriedades antibacterianas parcialmente ativas a fortes contra *S. aureus* (MRSA), *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*. No trabalho de Notarte et al. (2019) o extrato de caldo de *Colletotrichum* sp., demonstrou maior bioatividade. *Colletotrichum boninense* e *Colletotrichum* sp., fungos endofíticos isolados de *Stryphnodendron adstringens*, foram capazes de inibir o crescimento de linhagens de *C. albicans* (CARVALHO et al., 2012) corroborando com os resultados apresentados.

Thozetella sp.6, apresentou atividade contra todos os microrganismos testados. Analisando a literatura, não foram encontrados relatos de atividade antimicrobiana deste gênero, fato também observado por Ramos-Garza et al. (2016), tornando-o um possível alvo para futuras pesquisas sobre atividade antimicrobiana desde fungo.

Fungos do gênero *Curvularia* são amplamente distribuídos ao redor do mundo, podendo estar associados a espécies vegetais, na forma saprofítica, endofítica ou como parasita (LOPES et al., 2017). O fungo *Curvularia brachyspora* apresentou atividade contra todos os microrganismos testados. Porém, assim como o fungo anterior, não há relatos de trabalhos publicados sobre a bioquímica dos seus metabólitos ou potencial de atividade antimicrobiana. Sobre o gênero a que essa espécie pertence, Cruz (2014) traz em sua pesquisa que os compostos isolados de *Curvularia* demonstram uma diversidade estrutural significativa, apresentando várias atividades biológicas com potencial uso na medicina.

O microrganismo que sofreu maior atividade antimicrobiana em relação ao número de extratos fúngicos foi *K. pneumoniae*, bactéria Gram-negativa. Estes resultados vão em contrapartida com o trabalho de D'Elia (2021) que aponta para ações inibitórias mais promissoras contra bactérias Gram-positivas, sendo atribuído em razão das bactérias Gram-positivas possuírem uma parede celular com maior permeabilidade que a das bactérias Gram-negativas, que são dotadas de uma membrana externa à sua parede celular, dificultando ainda mais a ação de certos antimicrobianos.

4. CONCLUSÕES

Os extratos metabólitos secundários de fungos ambientais apresentaram atividade antimicrobiana contra os microrganismos patogênicos testados. Dentre os 32 extratos analisados, apenas os fungos *Colletotrichum bannaense*, *Fusarium* sp.1 e *Thozetella* sp.3 não exerceram inibição contra os patógenos testados. Com isso, a extração de metabólitos secundários fúngicos apresenta-se como um potencial de descoberta de novos compostos bioativos que podem ser úteis na indústria, medicina e na agricultura. Conhecer a bioquímica dos metabólitos fúngicos também é importante para melhor compreensão dos mecanismos de ação dos fungos em relação aos microrganismos patogênicos e seu potencial de inibição.

5. REFERÊNCIAS

- ABREU, J. A. S.; ROVIDA, A. F. S.; PAMPHILE, J. A. Fungos de interesse: aplicações biotecnológicas. **Revista UNINGÁ Review**, v. 21, n. 1, p. 55-59, 2015. URL: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20150101_115351.pdf
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons. 1996. 880 p.
- ALMEIDA, E. A.; SANTANA, J. S.; FORTUNA, J. L. Microfungos em um fragmento de Mata Atlântica no Extremo Sul da Bahia. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, p. 328-343, 2020. URL: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/2083>
- AYRES, M. AYRES JR., M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. **BioEstat 5.3 – Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biomédicas**. Belém: Instituto Mamirauá. 2007. 364 p.
- BAUER, A. W.; KIRBY, E.; M.; SHERRIS, J. C.; TURK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
- CARVALHO, C. R.; GONÇALVES, V. N.; PEREIRA, C. B.; JOHANN, S.; GALLIZA, I. V.; ALVES, T. M. A.; RABELLO, A.; SOBRAL, M. E. G.; ZANI, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. The diversity, antimicrobial and anticancer activity of endophytic fungi associated with the medicinal plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (*Fabaceae*) from the Brazilian savannah. **Symbiosis**, v. 57, p. 95-107, 2012. DOI: 10.1007/s13199-012-0182-2
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225-226, 1939.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Fifth Informational Supplement**. CLSI Document M100-S25. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
- CRUZ, H. J. M. **Estudo químico e avaliação das atividades antimicrobianas, anticolinesterásica e larvicida do fungo *Curvularia lunata* e levantamento quimiotaxonômico do complexo *Curvularia-Bipolaris-Cochliobolus***. 2014. 155 p. Dissertação (Pós-Graduação em Química), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014. URL: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/20687>
- D'ELIA, G. M. A. **Prospecção de Metabólitos de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. da Coleção de Fungos da Amazônia (CFAM) para Atividade Antimicrobiana e Produção de Proteases**. 2021. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em ciências Biológicas), Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2021. URL: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/3658>

- DREYFUSS, M. M.; CHAPELA, I. H. Potential of fungi in the discovery of novel, lowmolecular weight pharmaceuticals. **Biotechnology (Reading, Mass.)**, v. 26, p. 49-80, 1994. DOI: 10.1016/b978-0-7506-9003-4.50009-5
- FRIDKIN, S. K.; STEWARD, C. D.; EDWARDS, J. R.; PRYOR, E. R.; MCGOWAN, J. E.; ARCHIBALD, L. K.; GAYNES, R. P.; TENOVER, F. C. Projeto Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE) Hospitais, Vigilância do Uso de Antimicrobianos e Resistência Antimicrobiana em Hospitais dos Estados Unidos: Projeto ICARE Fase 2. **Doenças Infecciosas Clínicas**, v. 29, n. 2, p. 245-252, 1999. DOI: 10.1086/520193
- GARCIA, A.; RHODEN, S.; BERNARDI-WENZEL, J.; ORLANDELLI, R. C.; AZEVEDO, J. L.; PANFÍLIO, J. Antimicrobial activity of crude extracts of endophytic fungi isolated from medicinal plant *Sapindus saponaria* L. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 10, p. 35-40, 2012. DOI: 10.7324/JAPS.2012.21007
- HIRAMATSU, K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, n. 3, p. 147-155, 2001. DOI: 10.1016/S1473-3099(01)00091-3
- LI, H.; QING, C.; ZHANG, Y.; ZHAO, Z. Screening for endophytic fungi with antitumour and antifungal activities from Chinese medicinal plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, p. 1.515-1.519, 2005. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-005-7381-4>
- LIMA, R. M. **Bioprospecção de antimicrobianos produzidos por fungos do solo amazônico com ação frente as principais bactérias multirresistentes**. 2016. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016. URL: <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/7170>
- LOPES, J. C.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NEVES, A. C. C.; CHAPLA, V. M.; BATISTELLA, A. R. Fungos endofíticos isolados do capim-citronela e seleção de antagonistas a fitopatógenos. **Acta Amazônia**, v. 7, n. 3, p. 84-88, 2017. URL: <https://core.ac.uk/download/pdf/233921481.pdf>
- LUCAS, E. M. F.; CASTRO, M. C. M.; TAKAHASHI, J. A. Propriedades antimicrobianas de esclerotiorina, isocromofilona VI e pencolídeo, metabólitos de *Penicillium sclerotiorum* van Beyma isolado de solo do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 38, n. 4, p. 785-789, 2007. DOI: 10.1590/S1517-83822007000400036
- MARTINEZ-KLIMOVA, E.; RODRÍGUEZ-PEÑA, K.; SÁNCHEZ, S. Endophytes as sources of antibiotics. **Biochemical Pharmacology**, v. 134, p. 1-17, 2017. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.10.010
- MORAES NETO, V. F.; LIMA, M. S.; NUNES, A. P. R.; TEIXEIRA, R. H. F.; SILVA, R. H. F. Ação antimicrobiana de extratos produzidos a partir de fungos filamentosos contra *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 7, n. 2, p. 198-202, 2017. URL: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/REBAGRO/article/view/5166>
- NOTARTE, K. I. R.; DEVANADERA, M. K. P.; MAYOR, A. B. R.; CADA, M. C. A.; PECUNDO, M. H.; MACABEO, A. P. G. Toxicity, Antibacterial, and Antioxidant Activities of Fungal Endophytes *Colletotrichum* and *Nigrospora* spp. Isolated from *Uvaria grandiflora*. **Philippine Journal of Science**, v. 148, p. 505-512, 2019.

- OLIVEIRA, E. L. T.; ROCHA, S. S.; FORTUNA, J. L. Ação antimicrobiana de extratos vegetais de folha e casca de *Cinnamomum verum* (J. Presl.) contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, p. 1-13, 2020. URL: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/2058>
- OLIVEIRA, H. V. V.; FORTUNA, J. L. Microfungos em fitotelmata de bromélias de um fragmento de Mata Atlântica do Extremo Sul da Bahia. **Unisanta BioScience**, v. 9, n. 4, p. 338-355, 2020. URL: <https://periodicos.unisanta.br/index.php/bio/article/view/2599/1896>
- ORLANDELLI, R. C.; ALBERTO, R. N.; ALMEIDA, T. T.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. In vitro antibacterial activity of crude extracts produced by endophytic fungi isolated from *Piper hispidum* Sw. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 10, p. 137-141, 2012. URL: https://japsonline.com/admin/php/uploads/682_pdf.pdf
- PERRONE, G.; SUSCA, A.; COZZI, G.; EHRLICH, K.; VARGA, J.; FRISVAD, J. C.; MEIJER, M.; NOONIM, P.; MAHAKARNCHANAKUL, W.; SAMSON, R. A. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Mycology**, v. 59, p. 53-66, 2007. DOI: 10.3114/sim.2007.59.07
- PINHEIRO, E. A. A.; CARVALHO, J. M.; SANTOS, D. C. P.; FEITOSA, A. O.; MARINHO, P. S. B.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S.; SOUZA, A. L. D.; MARINHO, A. M. R. Chemical constituents of *Aspergillus* sp. EJC08 isolated as endophyte from *Bauhinia guianensis* and their antimicrobial activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1.247-1.252, 2013. DOI: 10.1590/0001-3765201395512.
- QUINTO, E.; SANTOS, M. **A Guidebook to Plant Screening: Phytochemical and Biological**. Manila: University of Santo Tomas Publishing House, 2005.
- RAMOS-GARZA, J.; RODRÍGUEZ-TOVAR, A. V.; FLORES-COTERA, L. B.; RIVERA-ORDUÑA, F. N.; VÁSQUEZ-MURRIETA, M. S.; PONCE-MENDOZA, A.; WANG, E. T. Diversidade de fungos endofíticos da planta medicinal *Dendropanax arboreus* em uma área protegida do México. **Annals of Microbiology**, v. 66, p. 991-1.002, 2016. URL: <https://annalsmicrobiology.biomedcentral.com/articles/10.1007/s13213-015-1184-0>
- RANČIĆ, A.; SOKOVIĆ, M.; KARIOTI, A.; VUKOJEVIĆ, J.; SKAL TSA, H. Isolation and structural elucidation of two secondary metabolites from the filamentous fungus *Penicillium ochrochloron* with antimicrobial activity. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 22, n. 1, p. 80-84, 2006. DOI: 10.1016/j.etap.2005.12.003
- RICE, L. B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 197, n. 8, p. 1.079-1.081, 2008. DOI: 10.1086/533452
- SAMSON, R. A.; VARGA, J. What is a species in *Aspergillus*? **Medical Mycology**, v. 47, p. 13-20, 2009. DOI: 10.1080/13693780802354011
- SANTOS, I. P.; SILVA, L. C. N.; SILVA, M. V.; ARAÚJO, J. M.; CAVALCANTI, M. S.; LIMA, V. L. M. Antibacterial activity of endophytic fungi from leaves of *Indigofera suffruticosa* Miller (Fabaceae). **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1-7, 2015. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00350
- SILVA, R. R.; COELHO, G. D. **Fungos: Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas**. São Paulo: Instituto de Botânica. 2006. 20 p. (Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Curso de Capacitação de Monitores e Educadores, São Paulo, 2006.

- SIQUEIRA, D. R. **Bioprospecção de fungos Amazônicos com atividade antifúngica frente aos fitopatógenos de Pau-Rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke)**. 2011. 73 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais). Universidade do Estado do Amazonas, Manaus. 2011.
- SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; ASTOLFI FILHO, S.; PINHEIRO, M. L. B.; SARQUIS, M. I. M.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Benth. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 2, p. 185-195, 2004. DOI: 10.1590/S0044-59672004000200006
- SUGDEN, R.; KELLY, R.; DAVIES, S. Combatting antimicrobial resistance globally. **Nature Microbiology**, v. 1, n. 10, p. 1-2, 2016. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.187
- SPECIAN, V.; ORLANDELLI, R. C.; FELBER, A. C.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. Metabólitos secundários de interesse farmacêutico produzidos por fungos endofíticos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 16, n. 4, p. 345-351, 2014.
- STROBEL, G. A. Endophytes as sources of bioactive products. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 6, p. 535-544, 2003. DOI: 10.1016/s1286-4579(03)00073-x
- TAKAHASHI, J. A.; LUCAS, E. M. F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1.807-1.813, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000700036
- TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, T. A.; CARNEIRO, A. L.; PALHETA, R. **Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada (Aplicações Biotecnológicas)**. Manaus: Editora da Universidade Federal do Amazonas. 2011. 255 p.
- TONER, E.; ADALJA, A.; GRONVALL, G. K.; CÍCERO, A.; INGLESBY, T. V. Antimicrobial resistance is a global health emergency. **Health Security**, v. 13, n. 3, p. 153-155, 2015. DOI: 10.1089/hs.2014.0088
- TRAJANO, L. E. O.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSO, A. E. R. Propriedades antibacterianas de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 542-545, 2009. URL: <https://www.scielo.br/j/cta/a/yDVtMkfNKXztV88CSHmpQDJ/?lang=pt&format=pdf>
- VANDERLINDE, D. G.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de metabólitos produzidos pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* (Linnaeus: Fries) Murrill. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 1, p. 11-16, 2010. URL: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/1290>
- VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis part 2: management strategies and new agents. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 40, n. 5, p. 344-352, 2015. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4422635/>
- WENZEL, J. B.; MORESCO, A. A. A.; BOAS, E. V.; BURIN, F. A. G.; SOUZA, R. O. Atividade enzimática e antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de soja. **Perspectivas Online: Biológicas & Saúde**, v. 9, n. 3, p. 1-15, 2013. DOI: 10.25242/8868392013133
- ZHANG, H.; TANG, Y.; RUAN, C.; BAI, X. Bioactive secondary metabolites from the endophytic *Aspergillus* genus. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2016. URL: <http://www.acgpubs.org/doc/201808051727041-RNP-1410-217.pdf>