



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS**

PAULO ITAGINO LOPES THEODORO

**ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS POR
FUNGOS ENDOFÍTICOS DA ALOE VERA**

**SUMÉ - PB
2022**

PAULO ITAGINO LOPES THEODORO

**ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS POR
FUNGOS ENDOFÍTICOS DA *ALOE VERA***

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz.

**SUMÉ - PB
2022**



T388a Theodoro, Paulo Itagino Lopes.
Análise da produção de metabólicos secundários
por fungos endofíticos da Aloe Vera. / Paulo
Itagino Lopes Theodoro. - 2022.

35 f.

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de
Queiroz.

Monografia - Universidade Federal de Campina
Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do
Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e
Bioprocessos.

1. Aloe Vera. 2. Fungos endofíticos. 3.
Metabólitos secundários. 4. Micologia. I.
Queiroz, Jean César Farias de. II. Título.

CDU: 632.4 (043.1)

Elaboração da Ficha Catalográfica:

Johnny Rodrigues Barbosa
Bibliotecário-Documentalista
CRB-15/626

PAULO ITAGINO LOPES THEODORO

**ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS POR
FUNGOS ENDOFÍTICOS DA *ALOE VERA***

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

BANCA EXAMINADORA:

**Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz.
Orientador - UAEB/CDSA/UFCG**

**Professor Me. Leandro da Costa Clementino.
Examinador I**

**Professora Dra. Gauciane Danusa Coelho.
Examinadora II - UAEB/CDSA/UFCG**

Trabalho Aprovado em: 04 de abril de 2022.

SUMÉ - PB

*Dedico este trabalho a todos que depositaram
confiança e acreditaram em mim quando nem
eu mesmo o fiz.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Osvaldo e Cleuza, por todo o apoio e incentivo durante toda minha jornada até aqui.

As minhas irmãs Mayara, Gabriela e Jessica por serem meu ponto seguro e refúgio.

Aos meus amigos Gustavo Henrique, Vitor Rodrigues, Lucas Eder, Wilson Grosso, Leandro Fahl e Gabriel Pinto em Rio Claro - SP que nunca me deixaram estar longe de casa.

A minha família em Sumé, José Carlos, D'ávilla Jhonny e Amauri Medina pela companhia e momentos divididos.

Aos amigos que tive o prazer de morar junto e tenho carinho especial Hélio Jobson e Marcelo Batista.

Aos meus queridos e especiais amigos de todas as horas Sabrina Lima, Judiêdo Moras, Luzia Moura e Armando Henrique.

A Fabricio Soares por ter iniciado essa jornada comigo.

Ao professor Doutor Jean César Farias de Queiroz, pelos conselhos, parceria e paciência não apenas na orientação deste trabalho, mas em toda minha jornada neste curso.

Meu muito obrigado!

RESUMO

Tendo em vista a necessidade da indústria farmacêutica de novas substâncias que possam dar origem a novos fármacos, visando que sejam mais eficazes que os atuais e possuam a facilidade na reprodutibilidade de resultados, este trabalho tem como objetivo analisar a produção de metabólitos secundários de fungos endofíticos, provenientes da *Aloe vera*. Os fungos endofíticos habitam os tecidos internos de espécies vegetais e apresentam grande interação com o hospedeiro, tal interação pode lhes conferir a capacidade de produzir as mesmas substâncias químicas caracterizadas originalmente da planta hospedeira o que se torna benéfico para indústria farmacêutica por já possuir técnicas bem consolidadas de produção em larga escala de substâncias oriundas de fungos. A escolha da espécie vegetal *Aloe vera* se justifica pela sua indicação etnobotânica que evidencia suas propriedades calmantes, hidratantes, curativas na pele, anticancerígenas, dentre outras. As partes vegetais foram coletadas no viveiro do campus do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido. Posteriormente foram isolados os fungos endofíticos em meio Batata-Dextrose-Ágar, contendo Azitromicina. Os fungos foram cultivados para produção de conídios e, em seguida, foram recultivados em meio de aveia, induzindo a produção de metabólitos secundários. Por sua vez os diferentes extratos obtidos foram analisados utilizando tecnologia de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, utilizando coluna de Fase Reversa (CLAE-FR), resultando em 94,28% dos 35 metabólitos secundários encontrados possuem estrutura molecular hidrofóbica que segundo a literatura possuem grande potencial antifúngico e antiparasitário, dando respaldo para conclusões positivas para possível obtenção de substâncias com potencial para origem de novos fármacos.

Palavras-chave: fungos endofíticos; metabólitos secundários; *aloe vera*; fármacos

ABSTRACT

Considering the pharmaceutical industry's need new substances that can give rise to new drugs, aiming to be more effective than the current ones and to have the ease of reproducibility of results, this work aims to analyze the production of secondary metabolites of endophytic fungi from *Aloe vera*. Endophytic fungi inhabit the internal tissues of plant species and have great interaction with the host, such interaction can give them the ability to produce the same chemical substances originally characterized by the host plant, which is beneficial of pharmaceutical industry as it already has well-established techniques. large-scale production of substances from fungi. The choice of the plant species *Aloe vera* is justified by its ethnobotanical indication, which shows its soothing, moisturizing, healing and anticancer properties, among others. The plant parts were collected in the nursery on the campus of the Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido. Subsequently, the endophytic fungi were isolated in Potato-Dextrose-Agar medium containing Azithromycin. The fungi were cultivated for conidia production and then were re-cultured in oat medium, inducing the production of secondary metabolites. In turn, the different extracts obtained were analyzed using High Performance Liquid Chromatography technology, using a Reverse Phase column (HPLC-FR), resulting in 94.28% of the 35 secondary metabolites found having a hydrophobic molecular structure that, according to the literature, have a large antifungal and antiparasitic potential, supporting positive conclusions for possible obtaining substances with potential for the origin of new drugs.

Keywords: endophytic fungi; secondary metabolites; aloe vera; drugs.

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 -	Amostras de Aloe vera coletadas na área experimental do Campus CDSA.....	18
Fotografia 2 -	Fungos endofíticos migrando do explante vegetal para a placa de Petri.....	19
Fotografia 3 -	Amostras com conídios dos fungos endofíticos da Aloe vera no cultivo em meio de aveia, para produção de metabólitos secundários.	20
Fotografia 4 -	Amostras em tubos cônicos para secagem (evaporação do solvente) a 27°C.....	21
Fotografia 5 -	Relação da hidrofobicidade em porcentagem.....	27
Fotografia 6 -	Distribuição das moléculas produzidas pelos fungos endofíticos (MSAV03 a MSAV18) em relação ao tempo de retenção e hidrofobicidade, representados em porcentagem.....	28
Fotografia 7 -	Distribuição das moléculas produzidas pelos fungos endofíticos (MSAV20 a MSAV35) em relação ao tempo de retenção e hidrofobicidade, representados em porcentagem.....	29
Fotografia 8 -	Distribuição das moléculas produzidas pelo fungo endofítico MSAV36 em relação ao tempo de retenção e hidrofobicidade, representados em porcentagem.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Batata-dextrose-ágar
CDSA	Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido
CLAE-FR	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de Fase Reversa
EAV	Endofítico da <i>Aloe Vera</i>
MSAV	Metabólitos Secundários da <i>Aloe vera</i>
UV	Radiação Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS GERAIS.....	12
2.1	OBJETIVOS EXPECÍFICOS.....	12
3	JUSTIFICATIVA DA PESQUISA E RELEVÂNCIA DO PROJETO.....	13
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
4.1	PRODUTOS NATURAIS COMO FONTE DE MEDICAMENTOS.....	14
4.2	ALOE VERA.....	14
4.3	FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	15
5	METODOLOGIA.....	17
5.1	MEIO DE CULTURA.....	17
5.2	ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTIVOS.....	17
5.2.1	Coleta das partes vegetais.....	17
5.2.2	Produção de conídios.....	18
5.3	PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	18
5.4	ANALISE DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA <i>ALOE VERA</i>	20
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
6.1	COLETA DAS PARTES VEGETAIS.....	22
6.2	PRODUÇÃO DE CONÍDIOS.....	22
7	ANÁLISE DOS METABOLÍTOS SECUNDÁRIOS DA <i>ALOE VERA</i>.....	24
8	CONCLUSÕES.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

No que se trata dos fungos endofíticos foram descritos pela primeira vez por Bary (1866), entretanto por mais de um século, foram quase que ignorados, devido ao pouco conhecimento sobre suas reais funções no interior dos vegetais e também por não produzirem estruturas externas visíveis em seus hospedeiros. Em geral, os fungos adentram as plantas por aberturas naturais, como estômatos e hidatódios ou feridas causadas por insetos, por estruturas de fungos patogênicos, como os apreensórios ou mecânicas e também podem ser transmitidos via sementes (AZEVEDO, 1998).

Atualmente é reconhecido o grande potencial existente dos fungos endofíticos devido aos metabólitos secundários que os mesmos produzem (GODINHO, 2016).

O mutualismo da relação entre planta e seus hospedeiros acontece na restrição das plantas no crescimento dos fungos, enquanto eles utilizam diversos mecanismos para gradualmente se adaptar ao ambiente onde vivem. O potencial para biotransformações e um sistema enzimático permitem sua sobrevivência e reprodução. Os endofíticos possuem uma espantosa habilidade de transformar compostos complexos. Além disso, após co-evoluírem com seus hospedeiros durante milhares de anos, os endofíticos adquiriram a capacidade de produzir *in vitro* as mesmas substâncias fabricadas por seus hospedeiros (GOLÇALVES, 2013).

As substâncias bioativas de fungos são em geral derivadas do metabolismo secundário, por meio do qual são gerados compostos de baixo peso molecular pertencentes a diversas classes químicas, como: Policetídeos sendo a principal classe de metabólitos fúngicos. Esses compostos são biossintetizados por policetídeo-sintases por meio de sucessivas condensações de moléculas de ácidos graxos de cadeia curta, normalmente acetil-coenzima A ou malonil-coenzima A; alcaloides que são compostos aminados derivados de aminoácidos Triptofano é o precursor para alcaloides indólicos; terpenos que se estabelecem como substâncias largamente encontradas em plantas, principalmente como constituintes de óleos essenciais. Entretanto, os fungos também as produzem com grande variedade. Os terpenos são compostos por duas ou mais unidades isoprênicas, dando origem aos monoterpenos (10 carbonos), sesquiterpenos (15C), diterpenos (20C), triterpenos (30C), além dos carotenoides e esteroides e por fim Peptídeos não ribossomais onde a biossíntese desses compostos é catalisada por enzimas denominadas peptídeos não ribossomais sintetases a partir de aminoácidos proteinogênicos ou não proteinogênicos (CANUTO, 2012).

No tocante a *Aloe vera* uma planta medicinal perene comum com folhas carnudas. Pertence à família Xanthorrhoeaceae. Seu gênero compreende cerca de 400 espécies,

principalmente nativas da África Subsaariana, da Península Arábia Saudita e de muitas ilhas do Oceano Índico Ocidental. Ela cresce em vários climas, incluindo áreas desérticas, campestres e costeiras (REYNOLDS E DWEEK, 1999). Os exsudatos foliares são usados em grande parte na medicina tradicional e na indústria cosmética, valorizada por suas propriedades calmantes, hidratantes e curativas na pele (BOURDREAU E BELAND, 2006). A planta também exibe atividade anticancerígena *in vitro* e *in vivo* (VAN WYK et al; 1997). Também foi documentado que possui vários polifenóis, polissacarídeos, fitoquímicos e alcaloides antioxidantes, e estes foram adicionados à sua capacidade antioxidante (NEJATZADEH-BARANDOZI, 2013). As ações farmacológicas da *A. vera* incluem efeitos antiinflamatórios, antibacterianos e hipoglicêmicos (NEWALL et al; 1996). Estas diversas atribuições fazem de grande interesse o estudo mais aprofundado dos fungos endofíticos encontrados na *Aloe vera*.

São diversos os trabalhos que evidenciam as potencialidades dos fungos endofíticos da *Aloe vera* que identificaram fungos pertencentes a alguns gêneros fúngicos como *Fusarium*, *Nigrospora*, *Alternaria*, *Aspergillus*, e *Penicillium*, tais gêneros possuem características interessantes devido a sua capacidade de produção de metabólitos secundários com propriedades únicas como o *Penicillium* na produção de penicilina (GANGURDE; 2019). Algumas dessas substâncias bioativas demonstraram também grande atividade antibiótica quando testas em bactérias gram-positivas e gram-negativas, possuindo valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) variando entre 4 e 8 µg/mL (BARA; 2013). Indubitavelmente o potencial somático entre fungos endofíticos e sua capacidade de produção de substâncias bioativas e a *Aloe vera* com características já elucidadas em tratamentos medicinais, tornam o produto entre os dois um foco de pesquisa interessante não apenas em nível acadêmico como um grande potencial de capital.

2 OBJETIVOS GERAIS

- Analisar a produção de metabólitos secundários por fungos endofíticos da *Aloe vera*

2.1 OBJETIVOS EXPECÍFICOS

- Isolar os fungos endofíticos da Babosa;
- Produzir metabólitos secundários pelos fungos endofíticos isolado; por cultivo em meio de aveia;
- Traçar perfis cromatográficos dos extratos de metabólitos secundários produzidos pelos fungos endofíticos;
- Determinar se é possível isolar os metabólitos secundários através de técnicas cromatográficas.

3 JUSTIFICATIVA DA PESQUISA E RELEVÂNCIA DO PROJETO

Metabólitos secundários são substâncias bioativas produzidas por fungos endofíticos, tais substâncias são de alto interesse da indústria farmacêutica desde o século 20 com a produção do diterpenóide Taxol pelo fungo endofítico *Taxomyces andreane*, composto antitumoral com atividade citotóxica, utilizado atualmente na redução ou interrompimento do crescimento e disseminação de células cancerosas, aplicável no tratamento do câncer de mama, pulmão e ovário (CREMASCO, 2009). As substâncias bioativas são produzidas por 80% dos fungos endofíticos já estudados, substâncias biologicamente ativas em testes antibacterianas e antifúngicos ou como herbicidas (SCHULZ, 2002).

Tendo em vista sua característica xerófila e diversas pesquisas a respeito da *Aloe vera*, é evidente seu potencial preventivo e curativo, sendo tais características também apresentadas em seus fungos endofíticos e seus metabólitos secundários, estes que apresentam compostos diversos e de alto interesse. É interessante notar que durante a co-evolução do fungo endofítico e seu hospedeiro é possível que possa ter ocorrido uma transferência horizontal de genes que resulta na habilidade do endofítico realizar as mesmas reações biossintéticas do hospedeiro. Evidenciando ainda mais a potencialidade dos fungos endofíticos da *Aloe vera*, por esta se tratar de uma planta com princípios medicinais e terapêuticos já difundidos na indústria farmacológica e farmacêutica (AALY AH et al, 2014). O fato do endofítico produzir o mesmo metabólito bioativo que a planta impacta diretamente na queda da procura dessas plantas hospedeiras na natureza, preservando assim a biodiversidade (STIERLE et al, 1993), além de o mercado já possuir técnicas bem consolidadas de produção em larga escala e de aperfeiçoamento de rendimento, técnicas essas como a fermentação microbiana e a biotransformação microbiana que podem ser utilizadas quando há um metabólito microbiano elegível para um novo fármaco (SPECIAN, et al., 2004).

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 PRODUTOS NATURAIS COMO FONTE DE MEDICAMENTOS

Por milhares de anos a medicina formalizada e os produtos naturais estão intrinsecamente ligados através da utilização de medicamentos oriundos dos conhecimentos populares e o uso de venenos naturais (CHAPLA, 2013). A busca e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas foi uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais que se possuem registros. O desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental possuem ricas histórias em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa (VIEGAS, 2006).

O Século XX apresentou um avanço indispensável na pesquisa de produtos naturais, especialmente de plantas e microrganismos, no campo da oncologia, propiciando a descoberta de diversas substâncias que são atualmente utilizadas com funções terapêuticas antineoplásica. A maioria (60%) dos fármacos anticâncer introduzida na terapêutica nas últimas décadas tem sua origem nos produtos naturais. Dentre estes se destacam a vimblastina (Velban®) e a vincristina (Oncovin®) e os análogos vindesina (Eldisine®) e vinorelbina (Navelbine®); o paclitaxel (Taxol®) e seu análogo docetaxel (Taxotere®); a podofilotoxina e os análogos, etoposídeo (Etopophos®) e teniposídeo (Vumon®); e a camptotecina e os análogos, topotecano (Hycamtin®) e irinotecano (Camptosar®). Estes medicamentos movimentam anualmente um mercado de cerca de 60 bilhões de dólares (COSTA, 2010).

Os microrganismos (fungos, bactérias, actinomicetos, entre outros) desempenham papel fundamental na produção de novos produtos naturais que podem ser utilizados na indústria farmacêutica (humana e animal), alimentícia e agrícola. Os fungos encontrados no interior de espécies vegetais, denominados fungos endofíticos ou fungos endófitos, apresentam um enorme potencial na produção de substâncias novas e bioativas (CHAPLA, 2013).

4.2 ALOE VERA

Se trata uma planta herbácea que cresce em qualquer tipo de solo, mas se adaptada mais facilmente aos solos leves e arenosos e não exige muita água, características apropriadas ao solo e clima do Cariri paraibano. Suas folhas são verdes, grossas, suculentas e medem de 30 a 60 centímetros de comprimento. Suas flores são vistosas, mostram tonalidade branca amarelada, em formato tubular. Na literatura também é encontrada com as sinônimas *Aloe barbadensis* Mill., *Aloe barbadensis* var. *chinensis* Haw., *Aloe perfoliata* var. *vera* L., *Aloe*

chinensis Bak. e *Aloe vera* var. *chinensis* Berger. Popularmente é chamada de babosa, aloe, aloe-de-barbados e aloe-de-curaçao. (FREITAS, 2014).

Introduzida no mercado londrino por comerciantes em 1693 e em 1843 quantias consideráveis eram importadas. Atualmente é plantada em grande escala em diversos países, como México, EUA e China. Reconhecida pela Farmacopeia Britânica como fármaco oficial em 1932 sendo aceita também em diversas outras farmacopeias. É muito comum no Brasil onde é popularmente utilizada na cicatrização de feridas, no tratamento de queimaduras, conjuntivite, dores reumáticas dentre outros males (LORENZI, 2008).

São descritos 70 diferentes compostos biologicamente ativos atribuindo a *Aloe vera* propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, anticarcinogênicas, antidiabéticas, imunoestimulantes, dentre outras, propriedades estas que dão alta importância medicinal para esta espécie (LANGMEAD, 2004).

Estudos recentes comprovam que extrato de Aloe foi potente contra três linhagens de *Mycobacterium* (*M. fortuitum*, *M. smegmatis* e *M. kansasii*) e um forte anti-micobacteriano além de evidenciar uma atividade favorável contra *M. tuberculosis* bem como antibacteriano contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica serovar Typhi*. A fitoquímica preliminar revelou presença de terpenoides, flavonoides e taninos, evidenciando que a Aloe pode ser uma fonte rica de agentes antimicrobianos e com grandes potenciais fitoterapêuticos e medicinais (LANGMEAD, 2004).

4.3 FUNGOS ENDOFÍTICOS

O termo endófito foi originalmente descrito por De Bary em 1866, este que se refere a qualquer microrganismo que vive no interior dos tecidos das plantas, distinguem-se dos fungos epifíticos por estes viverem na superfície. São encontradas diferentes definições de endófito na literatura, mas são comumente descritas como microrganismos que colonizam os tecidos internos das plantas sem causar prejuízos imediatos no hospedeiro (CHAPLA, 2013).

Os fungos endofíticos, que habitam os tecidos internos de espécies vegetais e apresentam importante interação com o hospedeiro, podem, devido ao que parece ser a sua contribuição ao hospedeiro, produzir uma infinidade de moléculas a serem explorados em medicamentos. As plantas medicinais têm sido recentemente alvos de estudos relacionados a seus fungos endofíticos e metabólitos secundários. Além da possibilidade de produzir a mesma substância sintetizada por seus hospedeiros ou análogos bioativos, esses microrganismos são

capazes de produzir novas moléculas com atividade antibacteriana, antifúngica, anticâncer e imunossupressora, entre outras (FERRARA, 2006).

São diversas as aplicações esperadas para os microrganismos endofíticos, mas dentre essas pode-se destacar a sua utilização como agentes no controle biológico de pragas e de ervas daninhas; a utilização como vetores para a introdução de genes de interesse em espécies de plantas economicamente importantes; produção de enzimas; e obtenção de metabólitos secundários com potencial terapêutico (PEARCE, 1997).

A produção de substâncias biologicamente ativas por fungos endofíticos está intrinsecamente relacionada à sua capacidade de sobrevivência de um microambiente distinto, sujeito às constantes interações metabólicas e ambientais. Nas últimas duas décadas, mais de 100 microrganismos endofíticos foram cultivados e estudados, levando à caracterização química e avaliação da ação biológica de um grande número de produtos naturais, muitos dos quais apresentaram novas estruturas e interessantes atividades biológicas (GUTATILAKA, 2006).

Em vista o potencial medicinal da *Aloe Vera* como já evidenciado neste trabalho e as características interessantes que possuem os endofíticos e as interações entre seu hospedeiro em especial a evolução conjunta dos dois e a possível troca de genes horizontal que confere ao endófito produzir as mesmas substâncias de seu hospedeiro (AALY AH et al, 2014), os metabólitos secundários dos fungos endofíticos da *Aloe Vera* podem trazer somativa destes potencias e a promessa de novas substâncias que podem vir a ser novos fármacos.

5 METODOLOGIA

5.1 MEIO DE CULTURA

O meio de cultura utilizado para a obtenção dos fungos endofíticos da *Aloe vera* é composto por batata, sacarose e ágar (BDA), nas concentrações de 100g/L, 20g/L e 6g/L, respectivamente. A Batata foi triturada em liquidificador com água destilada e, em seguida, filtrada e acrescida de sacarose e completada com água destilada (q.s.p. 1000ml). Por fim, a solução foi distribuída em Erlenmeyers, acrescentando o ágar e autoclavada, a 121 °C e 1 atm, por 15 minutos. O meio foi distribuído em placas de Petri, previamente autoclavadas.

5.2 ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTIVOS

5.2.1 Coleta das partes vegetais

As amostras de *Aloe vera* foram coletadas na área experimental do Campus CDSA, como exemplificado na Fotografia 1, na cidade de Sumé – Paraíba região que envolve o bioma Caatinga. As folhas maduras foram selecionadas, cortadas e armazenadas em sacos plásticos.

Fotografia 1 - Amostras de *Aloe vera* coletadas na área experimental do Campus CDSA.



Fonte: Autoral

As folhas foram lavadas em água corrente e desinfetadas com álcool 70%. Após este procedimento foram realizados cortes transversais nas amostras vegetais e inoculadas em placa de Petri contendo o meio de cultura já autoclavado adicionado antibiótico Azitromicina (500 mg/L) para inibir crescimento bacteriano.

As placas foram incubadas no meio BDA, a 37 °C, por 96 horas. Os microrganismos que cresceram em placa de Petri, como mostra a Fotografia 2, foram recuperados e recultivados em metodologia de quatro pontos por placa afim de obter colônias isoladas, este foram considerados microrganismos endofíticos.

Fotografia 2 - Fungos endofíticos migrando do explante vegetal para a placa de Petri.



Fonte: Autoral

5.2.2 Produção de conídios

Com o crescimento das colônias isoladas em BDA, até o preenchimento da placa de Petri, foi utilizada uma solução formada por NaCl, detergente aniônico puro e água (4,5g, 500 μ L e 500mL, respectivamente), para a extração dos conídios. As soluções de conídios foram dispostas para armazenamento em tubos devidamente esterilizados e etiquetados em geladeira. Posteriormente, essas amostras foram diluídas em uma proporção de 1:10 μ L de água destilada e será realizada as contagens de esporos, em câmara de Neubauer.

5.3 PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Após a obtenção dos conídios e contagem em câmara de Neubauer, foi confeccionado o meio para produção de metabólitos secundários, formado por 5g de aveia comercial diluída em 15mL de água destilada por recipiente. O meio foi previamente autoclavado a 121°C e 1atm, durante 1 hora. Em seguida, foi inoculado em microlitros o equivalente a 1x10⁷ conídios

(quantidade descrita na Tabela 1), retirada na nossa solução de conídios e inoculado individualmente em um pote, os quais foram levados para estufa a 37°C, pelo período de 7 dias, a fim de promover a produção de metabólitos secundários, como mostra a Fotografia 3.

Fotografia 3 - Amostras com conídios dos fungos endofíticos da *Aloe vera* no cultivo em meio de aveia, para produção de metabólitos secundários.



Fonte: Autoral

Transcorrido o período de 7 dias foi adicionado em cada pote 10 mL de uma solução composta de 25,49% de clorofórmio e 74,51% de acetonitrila a fim de promover a retirada dos metabólitos secundários, o volume retirado foi adicionado em tubos cônicos de 50 mL, devidamente identificados, os quais foram centrifugados em 2000Xg por 15 minutos. A Fotografia 4 mostra o sobrenadante retirado posteriormente a centrifugação e filtrado em filtro de café comercial e o volume filtrado transferido para tubos cônicos previamente identificados de 50 mL, levados para a estufa a 27°C para secagem.

Fotografia 4 - Amostras em tubos cônicos para secagem (evaporação do solvente) a 27°C.



Fonte: Autoral

Após a solução composta de clorofórmio e acetonitrila evaporar foi adicionado 1 mL de acetonitrila aos tubos cônicos de 50 mL este volume posteriormente foi transferido para tubos cônicos de 1,5mL que então foram novamente levados para secagem a 27°C em estufa. Após secagem os tubos cônicos de 1,5mL foram armazenados ao freezer.

5.4 ANALISE DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA *ALOE VERA*

Os metabólitos secundários foram analisados utilizando a tecnologia de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa (CLAE-FR) que consiste em uma técnica de análise (separação, confirmação e quantificação) bem difundida e empregada. Na aplicação desta técnica foi utilizada uma FE (Fase Estacionária) composta por Resina C18 e na fase móvel água deionizada e metanol, relacionadas entre si por uma interação inversamente proporcional em função do tempo. A análise foi realizada em coluna PelkinElmer C18 (150mm x 4.6mm), com gradiente de água e metanol, com fluxo igual a 1mL/min inicialmente utilizando 100% de água deionizada e 0% de metanol, ocorrendo em função do tempo, a partir de 5 minutos, a diminuição da porcentagem de água deionizada e aumento da porcentagem utilizada de metanol, finalizando o processo aos 20 minutos com 0% de água e 100% de metanol sendo finalizado com uma lavagem da coluna por 1 minuto. Os compostos eluídos da cromatografia foram analisados por um detector UV-VIS, com leitura em 250nm.

Com a utilização do solvente orgânico (metanol) e solvente inorgânico (água deionizada), juntamente com a variação da proporção de cada um em função do tempo, podemos realizar a observação quanto a hidrofobicidade das moléculas presentes nos metabólitos secundários, podendo ser classificadas da seguinte forma: 0 a 5 minutos:

hidrofílico, 5 a 10 minutos: levemente hidrofóbico, 10 a 15 minutos: hidrofóbico e 15 a 20 minutos: extremamente hidrofóbico.

Diante análise cronológica e das áreas apresentadas pelos picos na cromatografia, foi possível realizar a relação, representada em porcentagem, quanto a hidrofobicidade e a quantidade presente destas moléculas na amostra, esta análise é de fundamental importância para compreendermos quanto as propriedades físico-químicas das moléculas em estudo.

Foi realizada a análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa (CLAE-FR) em todos os trinta e quatro (34) extratos do fungo endolítico da *Aloe vera*. Os cromatogramas apresentam os picos em 250 nm, as áreas dos picos foram utilizadas para o cálculo de moléculas identificadas naquelas condições de tempo e concentrações de solventes. As tabelas contêm a relação quanto hidrofobicidade das moléculas analisadas em porcentagem. Mostrando assim quantitativamente se o metabólito secundário analisado possui moléculas mais hidrofóbicas ou menos hidrofóbicas.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 COLETA DAS PARTES VEGETAIS

Os tratamentos de assepsia foram eficientes pois não houve crescimento de microrganismos na face externa das amostras, garantindo a obtenção de fungos endofíticos (provenientes dos tecidos internos) da cultura da *Aloe Vera*.

6.2 PRODUÇÃO DE CONÍDIOS

A relação de produção de conídios e a produção de metabólitos secundários podem estar relacionadas de diversas formas, uma das quais esta relação se dá é pelo metabólito secundário ser produzido apenas após a esporulação como ocorre com o fungo *Penicillium brevicompactum*. Em contra partida há casos como *Penicillium urticae patulin* no qual mesmo após a esporulação se mantém deficiente na produção de metabólitos secundários. Outros estudos revelam uma interação interessante na qual tanto a produção de conídios quanto de metabólitos secundários ocorrem juntas, pelo fato de que as duas possuem condições de desenvolvimento parecidas (CALVO, 2002).

Com as placas de Petri e o meio de BDA (Batata-Dextrose-Ágar) devidamente preparados e autoclavado, os mesmos e as partes vegetais coletadas foram levadas para o fluxo laminar onde o meio de BDA foi acrescentado nas placas e após o mesmo já seco foram adicionados os recortes transversais da folha da *Aloe vera*, para que assim os fungos endofíticos localizados na parte vegetal, crescessem no meio de BDA, as placas foram incubadas, a 37°C, até que os fungos tomassem a placa.

Após as placas já tomadas pelos fungos endofíticos, foi realizado o isolamento de um fungo por placa, já o mesmo tendo sido isolado e ter tomado a placa por completo foi utilizada uma solução formada por NaCl (0,009 g/mL), detergente aniônico puro (1µL/mL) detergente aniônico puro e água e água para preservar os conídios coletados, os mesmos juntamente com a solução foram dispostos em tubos devidamente esterilizados e etiquetados em duplicata, no final foram obtidas 35 amostras de conídios de fungos endofíticos diferentes, apenas o endofítico EAV19 não apresentou produção de conídios, as amostras foram diluídas em água destilada e foi realizada as contagens de esporos, em câmara de Neubauer que possibilitou a confecção da Tabela 1 que nos apresenta os 35 endofíticos, a média obtida na contagem da câmara de Neubauer e o volume em microlitros (µL) de quanto da amostra foi utilizado para produção e extração de metabólitos secundários.

Tabela 1 - Contagem de esporos dos fungos Endofítico de *Aloe vera*. A primeira coluna identifica qual fungo endofítico estamos tratando, enquanto as colunas médias e a diluição indicam respectivamente a média obtida na contagem de esporos e o fator de diluição usado para cada amostra, a última coluna a direita nos indica em microlitros (μL) quanto da amostra foi utilizado para produção e extração de metabólitos secundários.

Endofítico da <i>Aloe vera</i>	Média	Diluição	Utilizado (μL) = 1×10^7
EAV01	453	10	220,75
EAV02	472	10	211,86
EAV03	498	10	200,8
EAV04	871	10	114,81
EAV05	1176	10	85,03
EAV06	272	10	367,65
EAV07	1263	10	79,18
EAV08	275	40	90,91
EAV09	1984	10	50,4
EAV10	338	10	295,86
EAV11	220	40	113,64
EAV12	117	40	213,68
EAV13	646	10	154,8
EAV14	114	40	219,3
EAV15	747	10	133,87
EAV16	332	10	301,2
EAV17	897	10	111,48
EAV18	597	10	167,5
EAV19	0	0	0
EAV20	116	40	215,52
EAV21	1256	10	79,62
EAV22	72	40	347,22
EAV23	58	40	431,03
EAV24	919	10	108,81
EAV25	1271	10	78,68
EAV26	74	40	337,84
EAV27	692	10	144,51
EAV28	1370	10	72,99
EAV29	101	40	247,52
EAV30	58	40	431,03
EAV31	48	40	520,83
EAV32	99	40	252,53
EAV33	116	40	215,52
EAV34	53	40	471,7
EAV35	24	60	694,44
EAV36	721	40	34,67

Fonte: Autoral

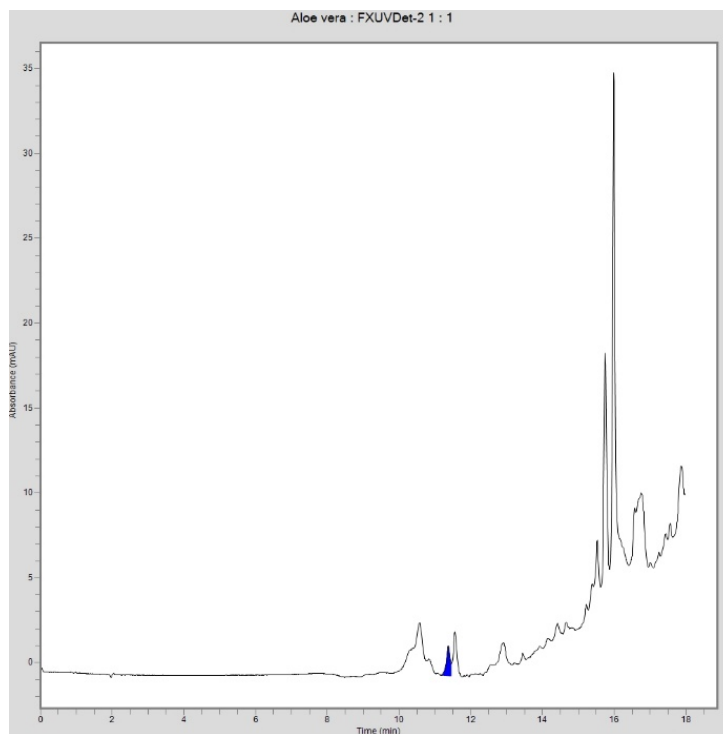
7 ANÁLISE DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA *ALOE VERA*

Com a finalidade de analisar os trinta e cinco metabólitos secundários foi obtido os cromatogramas disponibilizados pelo programa utilizado na técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa, os cromatogramas apresentam picos em 250 nm que nos mostram diferentes moléculas identificadas nos metabólitos secundários, estas moléculas foram classificadas de não hidrofóbicas até extremamente hidrofóbicas, como mostram as tabelas. A Tabela 2 foi produzida através do cálculo das áreas abaixo dos picos identificados no cromatograma em função do tempo como descrito anteriormente na metodologia.

A análise das tabelas evidenciam que 94,28% dos metabólitos secundários possuem moléculas de características hidrofóbicas, sendo identificadas nos intervalos: hidrofóbico (10-15 min) e extremamente hidrofóbico (15-20 min), onde os níveis de metanol são maiores, em consulta a literatura foi evidenciado por vários autores os potenciais de metabólitos secundários com características hidrofóbicas, como FERNANDES (2019) estudando a atividade antifúngica dos metabólitos secundários dos fungos endofíticos da *Anadenanthera macrocarpa*, constatou que moléculas com maior potencial inibitório antifúngico são de natureza hidrofóbica. Como também no trabalho de RAMOS (2013) que são evidenciadas duas substâncias oriundas de metabólitos secundários produzidos pelo fungo *Apiospora montagnei* que possuem atividade antileishmania.

O Gráficos 1 e 2 são referentes aos Metabólitos Secundários da *Aloe vera* (MSAV) 1 e 2 respectivamente que estão exemplificando os cromatogramas realizados, enquanto a relação de hidrofobicidade em porcentagem dos metabólitos secundários estão dispostos do MSAV 1 ao 36 nas Tabelas de 2 a 6, apresentando as características hidrofóbicas de cada metabólito.

Gráfico 1 - Cromatograma da amostra MSAV1 com leitura em 250 nm. Para realização do cálculo quanto hidrofbicidade das moléculas foram consideradas as áreas dos picos nos tempos de referência. O pico evidenciado em azul é um exemplo de área automaticamente calculada pelo software do cromatógrafo.



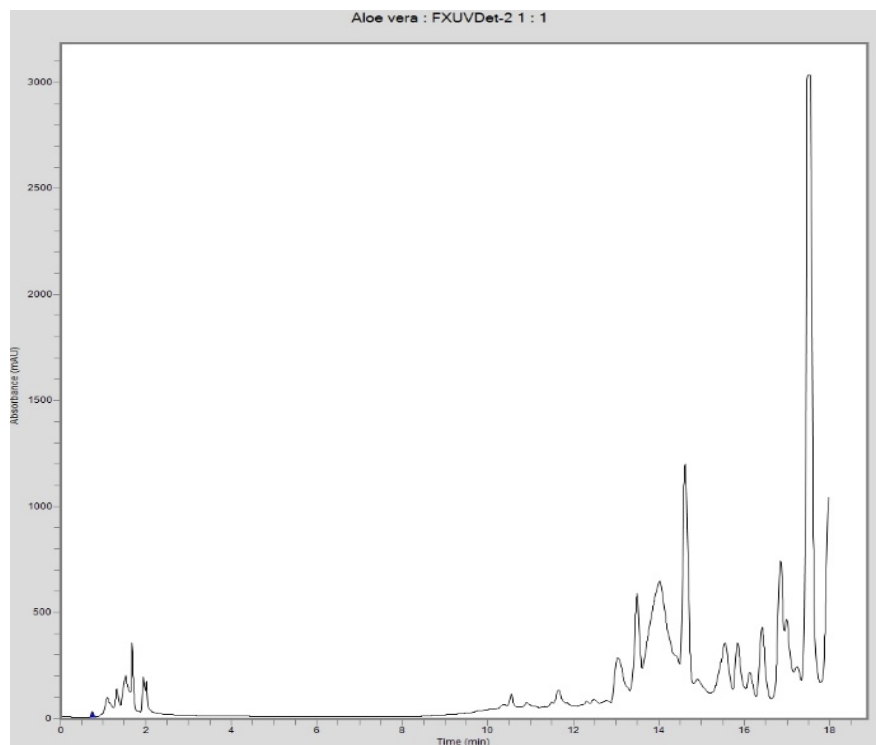
Fonte: Autoral

Tabela 2 - Relação da hidrofbicidade em porcentagem

Tempo	Porcentagem
Não hidrofbico(0-5min)	0,14
Levemente hidrofbico(5-10min)	0,00
Hidrofbico(10-15min)	22,42
Extremamente hidrofbico(15-20min)	77,44

Fonte: Autoral

Gráfico 2 - Cromatograma da amostra MSAV2 com leitura em 250 nm. Para realização do cálculo quanto hidrofobicidade das moléculas foram consideradas as áreas dos picos nos tempos de referência.



Fonte: Autoral

Tabela 3 - Relação da hidrofobicidade em porcentagem

Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	7,63
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,24
Hidrofóbico(10-15min)	44,31
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	47,82

Fonte: Autoral

Tabela 4 - Distribuição das moléculas produzidas pelos fungos endofíticos (MSAV03 a MSAV18) em relação ao tempo de retenção e hidrofobicidade, representados em porcentagem.

MSAV 03		MSAV 11	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	8,78	Não hidrofóbico(0-5min)	2,08
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,14	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,1
Hidrofóbico(10-15min)	10,75	Hidrofóbico(10-15min)	9,96
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	80,33	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	87,86
MSAV 04		MSAV 12	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	7,99	Não hidrofóbico(0-5min)	44,44
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,16	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,09
Hidrofóbico(10-15min)	13,99	Hidrofóbico(10-15min)	6,84
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	77,85	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	48,63
MSAV 05		MSAV 13	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	10,24	Não hidrofóbico(0-5min)	10,02
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,37	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0
Hidrofóbico(10-15min)	22,82	Hidrofóbico(10-15min)	34,26
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	66,94	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	55,72
MSAV 06		MSAV 14	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	17,59	Não hidrofóbico(0-5min)	12,9
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,84	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0
Hidrofóbico(10-15min)	41,2	Hidrofóbico(10-15min)	1,9
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	40,37	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	85,2
MSAV 07		MSAV 15	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	64,6	Não hidrofóbico(0-5min)	6,83
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0
Hidrofóbico(10-15min)	2,34	Hidrofóbico(10-15min)	0,06
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	33,06	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	93,11
MSAV 08		MSAV 16	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	1,77	Não hidrofóbico(0-5min)	18,75
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,04	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,01
Hidrofóbico(10-15min)	5,84	Hidrofóbico(10-15min)	8,14
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	92,35	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	73,09
MSAV 09		MSAV 17	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	60,35	Não hidrofóbico(0-5min)	48,65
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,05	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,03
Hidrofóbico(10-15min)	3,5	Hidrofóbico(10-15min)	2,57
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	36,1	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	48,75
MSAV 10		MSAV 18	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	40,75	Não hidrofóbico(0-5min)	7,71
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0
Hidrofóbico(10-15min)	2,86	Hidrofóbico(10-15min)	0,64
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	56,39	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	91,65

Tabela 5 - Distribuição das moléculas produzidas pelos fungos endofíticos (MSAV20 a MSAV35) em relação ao tempo de retenção e hidrofobicidade, representados em porcentagem.

MSAV 20		MSAV 28	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	11,69	Não hidrofóbico(0-5min)	3,12
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,01	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,02
Hidrofóbico(10-15min)	0,86	Hidrofóbico(10-15min)	21,06
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	87,45	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	75,80
MSAV 21		MSAV 29	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	1,87	Não hidrofóbico(0-5min)	2,21
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,00	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,37
Hidrofóbico(10-15min)	1,64	Hidrofóbico(10-15min)	42,68
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	96,49	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	54,74
MSAV 22		MSAV 30	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	16,28	Não hidrofóbico(0-5min)	3,06
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,02	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,05
Hidrofóbico(10-15min)	2,82	Hidrofóbico(10-15min)	8,28
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	80,89	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	88,62
MSAV 23		MSAV 31	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	5,78	Não hidrofóbico(0-5min)	9,76
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,25	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,01
Hidrofóbico(10-15min)	33,03	Hidrofóbico(10-15min)	2,76
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	61,13	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	87,47
MSAV 24		MSAV 32	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	8,51	Não hidrofóbico(0-5min)	4,65
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,01	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,54
Hidrofóbico(10-15min)	4,26	Hidrofóbico(10-15min)	40,63
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	87,21	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	54,17
MSAV 25		MSAV 33	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	2,7	Não hidrofóbico(0-5min)	9,97
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,23	Levemente hidrofóbico(5-10min)	1,42
Hidrofóbico(10-15min)	28,41	Hidrofóbico(10-15min)	20,56
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	68,66	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	68,05
MSAV 26		MSAV 34	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	10,57	Não hidrofóbico(0-5min)	19,23
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,02	Levemente hidrofóbico(5-10min)	1,45
Hidrofóbico(10-15min)	3,33	Hidrofóbico(10-15min)	20,8
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	86,09	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	58,19
MSAV 27		MSAV 35	
Tempo	Porcentagem	Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	3,47	Não hidrofóbico(0-5min)	11,69
Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,05	Levemente hidrofóbico(5-10min)	0,01
Hidrofóbico(10-15min)	32,07	Hidrofóbico(10-15min)	0,86
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	64,41	Extremamente hidrofóbico(15-20min)	87,45

Tabela 6 - Distribuição das moléculas produzidas pelo fungo endofítico MSAV36 em relação ao tempo de retenção e hidrofobicidade, representados em porcentagem.

MSAV 36	
Tempo	Porcentagem
Não hidrofóbico(0-5min)	4,86
Levemente hidrofóbico(5-10min)	1,66
Hidrofóbico(10-15min)	39,62
Extremamente hidrofóbico(15-20min)	53,87

Fonte: Autoral

Há relação intrínseca entre as propriedades físico-químicas dos compostos bioativos e a atividade biológica que estas desempenham. As propriedades mais importantes são: a distribuição eletrônica, a hidrofobicidade e a propriedade estereoquímica da molécula, tais propriedades são responsáveis por influenciar direta ou indiretamente na intensidade da resposta biológica atuando na interação com a biofase e distribuição que compõem o sistema biológico (TAVARES, 2004).

A hidrofobicidade é responsável por regular processos como a absorção e distribuição das moléculas bioativas que são necessárias para que atravessem as membranas biológicas e atuem nos sítios de ação, encadeando as respostas biológicas que serão posteriormente produzidas pelos compostos bioativos. Desta forma a hidrofobicidade é aquela que determina a extensão, velocidade e distribuição da molécula bioativa, assim como sua capacidade de ligação com o sítio receptor e por fim sua biotransformação e excreção (TAVARES, 2004).

8 CONCLUSÕES

- Muitos fungos endofíticos coletados da *Aloe vera* cresceram em BDA e foram posteriormente isolados de forma a obter 35 colônias puras. O meio utilizado (BDA) confeccionado a partir de vegetal, foi eficiente no desenvolvimento de fungos endofíticos.
- Sob estimulação do meio de aveia, os isolados produziram metabólitos secundários, em cultivo laboratorial;
- Os 35 extratos foram analisados mediante a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Coluna de Fase Reversa, que evidenciou que 94,28% dos metabólitos secundários possuem estrutura molecular hidrofóbica;
- Os perfis cromatográficos demonstram que será possível isolar a maioria desses metabólitos, por técnicas cromatográficas.

REFERÊNCIAS

- ALY, A. H., DEBBAB, A., KJER, J.; PROKSCH, P. **Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products.** *Fungal Divers* 2010; 41:1-16.
- AZEVEDO, J. L. Microorganismos endofíticos. *In*: MELLO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (ed.). *Ecologia microbiana. Embrapa Meio Ambiente.* Jaguariúna, p. 117 – 137,1998.
- AZEVEDO, J. L., MACCHERONI, W. J. R., PEREIRA, J.O., ARAÚJO, W.L. Endophytic Microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.3, n.1, p.40-65, 2000.
- BARA, R., ALY A. H., PRETSCH, A., WRAY, V., WANG, B., PROKSCHM, P., DEBBAB, A. Antibiotically active metabolites from *Talaromyces wortmannii*, an endophyte of *Aloe vera*, *The Journal of Antibiotics* 2013/05/15/online
- BOUDREAU, M. D., BELAND, F. A. An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (Miller), *Aloe vera*. **J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol**, V.24, N.1, P.103-154, 2006.
- CANUTO, K. M. Fungos endofíticos: perspectiva de descoberta e aplicação de compostos bioativos na agricultura Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2012
- CALVO, A. M., et al. Relationship between secondary metabolism and fungal development. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 66, n. 3, p. 447-459, 2002.
- CHAPLA, V. M., BIASETTO, C. R., ARAUJO, A. R. Fungos endofíticos: Uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 421-437, 2013. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/75343>.
- CREMASCO, M. A., HRITZKO, B.J., LINDA, W. N. H. Experimental purification of paclitaxel from a complex mixture of taxanes using a simulated moving bed. **Braz J Chem Eng** 2009;26(1):207-18.
- COSTA, L. V., MONTENEGRO, R. C., ALVES, A. P. N. N., MADEIRA, S. V. F., PESSOA, C., MORAES, M. E. A., MORAS, M. O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará, **Rev. Virtual Quim.**, 2010, 2 (1), 47-58. Data de publicação na Web: 30 de agosto de 2010. Disponível em: <http://www.uff.br/rvq>.
- FERNANDES, A. I. **Avaliação da atividade antifúngica dos metabólitos secundários dos fungos endofíticos da *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan.** 2019. 58f. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé – Paraíba – Brasil, 2019
- FERRARA, M. A. Fungos Endofíticos. Potencial para a Produção de Substâncias Bioativas, **Revista Fitos**, v. 2, n. 01 (2006). Disponível em: <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/43>.
- FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F.O.G. Propriedades farmacológicas da *Aloe vera* (L.) Burm. f. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.2, p.299-307, 2014.

- GANGURDE, A. B., et al. Production, purification and evaluation of different functional groups from endophytic *Penicillium* species derived bioactive compounds isolated from *Aloe vera*. *Int. J. Chem. Stud*, v. 3, n. 2, p. 35-38, 2019.
- GUNATILAKA, A. A. L. Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of Natural Products*, v.69, p.509-526, 2006.
- GODINHO, B. T. V. **Isolamento, identificação e antagonismo de fungos endofíticos de *Eremanthus* sp Lavras: UFKA**, 2016.
- GOLÇALVES, F. J. T.; FREIRE, F. C. O.; LIMA, J. S. Fungos Endofíticos e seu potencial como produtores de compostos bioativos. *Essentia, Sobral*, vol. 15, nº 1, p. 71-92, jun./nov. 2013
- LANGMEAD, L., MAKINS, R. J., RAMPTON, D.S. Antiinflammatory effects of *Aloe veragel* in human colorectal mucosa *in vitro*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, n.19, p.521-7, 2004.
- LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil – Nativas e exóticas**. 2.ed. São Paulo: Instituto Plantarum, P. 244, 2008.
- NEJATZADEH, B. F. **Antibacterial activities and antioxidant capacity of *Aloe vera* Org** *Med Chem Lett*, 2013.
- NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A, PHILLIPSON, J. D. Herbal medicines Crone CC Wise TN A Guide for Health-Care Professionals London The Pharmaceutical Press, 1996.
- PEARCE, C. Biologically active fungal metabolites. *Advances in Applied Microbiology*, v.44, p.1-80, 1997.
- RAMOS, H. P. **Obtenção e identificação de metabólitos secundários com atividade antiparasitária produzidos pelo fungo endofítico *Arthrrium state of Apiospora montagnei* Sacc.** 2013. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.
- RENOLDS, T., DWECK, A. ***Aloe vera* leaf gel: a review update** *J Ethnopharmacol*. 1999.
- SCHULZ, B.; BOYLE, C.; DRAEGER, S.; ROMMERT, A. K.; KROHN, K. Endophyte fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycol Res* 2002;106(9):996-1004.
- SILVA, E. O. **Otimização das condições de cultivo e investigação das atividades citotóxicas e antimicrobiana de metabólitos secundários do fungo endofíticos *Drechslera ravenelii***. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo; 2010.
- SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; SPARTACO, F. A.; 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 bentham*. *Acta Amaz*; 34(2):185-95; 2004.
- SPECIAN, V. *et al.* Metabólitos Secundários de Interesse Farmacêutico Produzidos por Fungos Endofíticos. *Journal of Health Sciences*, v.16 n.4 ;2004
- STIERLE, A. A.; STROBEL, G. A.; STIERLE, D. B. Investigation of fungi associated with the pacific yew tree *taxus-brevifolia*. *Abstr Pap American Chem Soc*, 205:8; 1993
- TAVARES, L. C. QSAR: a abordagem de Hansch. *Química Nova*, 27(4), 631-639,2004

VAN WYK, B. E.; OUDSTSHOOM, B. V.; GERICKE, N. **Medicinal Plants of South Africa Pretoria Briza Publications**, 1997.

VIEGAS, Jr.; CLAÚDIO, B.; VANDERLAN, B.; ELIEZER J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/68793>.

XUE, H.; LU, C.; LIANG, L.; SHEN, Y. Secondary metabolites of *Aspergillus* sp. CM9a, an endophytic fungus of *Cephalotaxus mannii*. **Rec Nat Prod**; 6(1):28-34; 2012