

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À MIRINDIBA, *Buchenavia tomentosa* (Combretaceae)

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI ASSOCIATED WITH MIRINDIBA, *BUCHENAVIA TOMENTOSA* (COMBRETACEAE)

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE HONGOS ENDOFÍTICOS ASOCIADOS A MIRINDIBA, *BUCHENAVIA TOMENTOSA* (COMBRETACEAE)

Drielly Dayanne Monteiro dos Santos Baliza^{*1}, Pedro Wallace Paiva Silva², Geovanka Marcelle Aguiar Leão³, Ernane Gerre Pereira Bastos⁴, Juliana Fonseca Moreira da Silva³, Raphael Sanzio Pimenta¹

¹Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Região Norte, Universidade Federal do Tocantins, Palmas - TO, Brasil.

²Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Curso de Medicina, Universidade Federal do Tocantins, Palmas - TO, Brasil.

³Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Tocantins, Palmas - TO, Brasil.

⁴Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Curso de Biomedicina, Universidade Luterana do Brasil, Palmas - TO, Brasil.

*Correspondência: Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Universidade Federal do Tocantins, Av. NS 15, 109 Norte, Palmas, Tocantins, Brasil. CEP:77.001-090. e-mail drielly.dayanne@gmail.com.

Artigo recebido em 21/02/2022 aprovado em 30/09/2022 publicado em 28/02/2023.

RESUMO

Os fungos endofíticos vivem em simbiose com a planta hospedeira, sendo que muitos podem apresentar a capacidade de produzir os mesmos metabólitos ativos que seus hospedeiros, tornando-se um reservatório de uma infinidade de produtos naturais. Esta pesquisa investigou a planta Mirindiba (*Buchenavia tomentosa*) e a atividade antimicrobiana exercida pela planta e por fungos endofíticos isolados de suas folhas. Extratos aquosos da Planta e dos fungos foram testados contra bactérias e um fungo filamentosos, sendo que os extratos do vegetal e dos fungos apresentaram inibição das seguintes bactérias patogênicas: *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis* e *Shigella flexneri* e do fungo fitopatogênico *Rhizopus stolonifer*, demonstrando seu potencial biotecnológico como produtores de substâncias antimicrobianas. As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) dos fungos que apresentaram propriedades antimicrobianas foram determinadas. Dois fungos (FC12 e FC31) inibiram as 3 bactérias testadas. Todas as bactérias foram inibidas por pelo menos um fungo na concentração de 25 µg/ml. Uma atividade antifúngica também foi observada pela difusão de substâncias produzidas pelo isolado (FC123), que inibiu em 53% o crescimento de *Rhizopus stolonifer*, causador da podridão

mole em frutos. Este é o primeiro relato de isolamento e avaliação das propriedades antimicrobianas de fungos endofíticos da *B. tomentosa*.

Palavras-chave: Antimicrobiano, endofíticos, mirindiba.

ABSTRACT

*Endophytic fungi live in symbiosis with the host plant, and many can produce the same active metabolites as their hosts, becoming a reservoir for a multitude of natural products. The present study investigated the plant Mirindiba (*Buchenavia tomentosa*) and the antimicrobial activity exerted by the plant and endophytic fungi isolated from its leaves. Aqueous extracts of the plant and fungi, which were tested against bacteria and a filamentous fungus, inhibited the following pathogenic bacteria: *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis* and *Shigella flexneri* and the phytopathogenic fungus *Rhizopus stolonifer*, demonstrating their biotechnological potential as producers of antimicrobial substances. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of the fungi displaying antimicrobial properties were determined. Two fungi (FC12 and FC31) inhibited the 3 bacteria tested. All the bacteria were inhibited by at least one fungus at a concentration of 25 µg/ml. Antifungal activity was also observed by the diffusion of substances produced by the isolate (FC123), which resulted in 53% growth inhibition of *Rhizopus stolonifer*, the causative agent of soft rot in fruits. This is the first report on the isolation and assessment of the antimicrobial properties of endophytic fungi from *B. tomentosa*.*

Keywords: Antimicrobial, endophytic, mirindiba.

RESUMEN

*Los hongos endófitos viven en simbiosis con la planta hospedante, y muchos tienen la capacidad de producir los mismos metabolitos activos que sus hospedantes, convirtiéndose en reservorio de una multitud de productos naturales. Este estudio investigó la planta Mirindiba (*Buchenavia tomentosa*) y la actividad antimicrobiana ejercida por la planta y hongos endófitos aislados de sus hojas. Extractos acuosos de la planta y de los hongos fueron probados contra bacterias y un hongo filamentoso, y los extractos de la planta y de los hongos mostraron inhibición de las siguientes bacterias patógenas: *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis* y *Shigella flexneri* y del hongo fitopatógeno *Rhizopus stolonifer*, demostrando su potencial biotecnológico como productores de sustancias antimicrobianas. Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) de los hongos que mostraron propiedades antimicrobianas fueron determinadas. Dos hongos (FC12 y FC31) inhibieron las 3 bacterias probadas. Todas las bacterias fueron inhibidas por al menos un hongo a una concentración de 25 µg/ml. Actividad antifúngica también fue observada por la difusión de sustancias producidas por el aislado (FC123), que inhibió en un 53% el crecimiento de *Rhizopus stolonifer*, causante de la pudrición blanda en frutos. Este es el primer reporte de aislamiento y evaluación de las propiedades antimicrobianas de hongos endófitos de *B. tomentosa*.*

Descriptores: Antimicrobiano, endófito, mirindiba.

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade as plantas despertam interesse como fontes viáveis e promissoras de frações terapêuticas (RAO e HARIPRASAD, 2021). É de conhecimento que o início do seu uso ou de

seus extratos foi instintivo, através da manipulação pelas pessoas em seu meio ambiente para curar doenças ou desconfortos (ALAMGIR, 2017). No entanto, muitas plantas ainda são desconhecidas ou seu uso medicinal não está estabelecido, como as plantas do gênero *Buchenavia* (LOPES e MARUO, 2015).

Com o aumento alarmante da resistência microbiana aos medicamentos convencionais em todo o mundo, o uso de novas fontes de substâncias antimicrobianas como alternativa aos medicamentos convencionais tem aumentado (AYUKEKBONG et al., 2017; VASAN et al., 2019; MANGANYI e ATEBA, 2020). Além disso, o desenvolvimento da resistência microbiana contra agentes quimioterápicos, como os antibióticos, torna essencial e urgente o rastreamento de novas terapêuticas eficazes, seguras, baratas e disponíveis para a população (ATEF et al., 2019).

A microbiota fúngica endofítica possui alta capacidade metabólica e pode estar relacionada com a produção de uma infinidade de metabólitos secundários que podem ser explorados, como antimicrobianos, anti-inflamatórios, agentes antitumorais, antioxidantes e mesmo como promotores de crescimento vegetal. O uso de fungos endofíticos ao invés de plantas é muito interessante, pois reduz o tempo, custo e área de produção e são, desta forma, uma alternativa ecologicamente sustentável e economicamente viável de obtenção destas substâncias (RODRIGUEZ e REDMAN, 2008).

As características químicas e os metabólitos secundários produzidos pelas plantas do gênero *Buchenavia* têm sido associados a atividades biológicas importantes, como antibacteriana, antifúngica e anti-HIV (LOPES e MARUO, 2015; TEODORO et al., 2015; CAVALCANTI et al., 2017; BEUTLER et al., 1992). As propriedades antimicrobianas de extratos de *Buchenavia tomentosa* já foram observadas anteriormente, mas a comunidade fúngica endofítica ainda não foi examinada quanto ao seu potencial bioativo (BRIGHENTI et al., 2014; TEODORO et al., 2015). Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção de substâncias antimicrobianas produzidas por fungos endofíticos associados à *Mirindiba* (*B. tomentosa*).

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta do espécime vegetal *Buchenavia tomentosa* Eichler

O material vegetal foi coletado de 5 árvores, situadas no Centro de Pesquisa Canguçu, no município de Pium, sudoeste do Estado do Tocantins, às margens da Ilha do Bananal, sob as coordenadas S 9° 58' 40" W 50° 02' 01.2"; S 9° 58' 40.3" W 50° 02' 00.9"; S 9° 58' 44.4" W 50° 02' 13.7"; S 9° 58' 46.7" W 50° 02' 09.3" e S 9° 58' 48.2" W 50° 02' 16.4". A exsicata encontra-se depositada no Herbário da Universidade Estadual do Tocantins sob o código 8215.

Elaboração do extrato de *B. tomentosa* e avaliação da atividade bacteriana

O extrato aquoso de *B. tomentosa* foi obtido a partir da trituração de 12 folhas de tamanho médio em 500 ml de água mineral estéril. Em seguida a solução obtida foi acrescida de mais 500 ml de água mineral e, então, submetida a decocção por 2 min., totalizando 1L de extrato (chá).

O extrato foi avaliado contra os patógenos *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Enterococcus faecalis* (ATCC 4083), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (NEWP 0083), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus epidermidis* (NEWP 0128), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) e *Streptococcus pneumoniae*, obtidos da coleção de culturas Carlos Rosa do Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada da Universidade Federal do Tocantins. Os micro-organismos estavam armazenados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ em caldo Brain Heart Infusion (BHI) com 20% de glicerol. Para reativação foram repicados em caldo Mueller Hinton e incubados por 24 h a $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa bacteriológica. Posteriormente, foram repicados para tubos de ensaio contendo ágar Nutriente inclinado e incubadas por 24 h a $36\text{ }^{\circ}\text{C}$, e armazenadas em geladeira a temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento de preparo para os testes.

Os ensaios foram realizados de acordo com a técnica de micro diluição em caldo, em placas de 96 poços. Em cada cavidade da microplaca foram adicionados $100\text{ }\mu\text{L}$ de caldo Muller Hinton (CMH), $5\text{ }\mu\text{L}$ de suspensão de bactérias contendo 10^7 UFC/mL e $100\text{ }\mu\text{L}$ do extrato aquoso. Como controle positivo foi utilizado $100\text{ }\mu\text{L}$ CMH, $5\text{ }\mu\text{L}$ de suspensão de bactérias contendo 10^7 UFC/mL e 2 mg/mL de cloranfenicol e a suspensão de bacteriana. O controle negativo foi realizado com a inoculação de CMH, solvente DMSO 10% e inóculo. Para controle de crescimento foi utilizada $5\text{ }\mu\text{L}$ de suspensão de bactérias 10^7 UFC/mL. As placas foram incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h (OLIVEIRA et al., 2016). Posteriormente, $30\text{ }\mu\text{L}$ de resazurina a 0,03% (m/v) estéril foi adicionada em cada cavidade para verificação do crescimento microbiano, sendo que a visualização de cor azul indicava de ausência de crescimento e cor rosa crescimento microbiano (PALOMINO et al., 2002 - modificado). O experimento foi qualitativo, realizado em triplicata.

Isolamento dos fungos endofíticos

Foram selecionadas 15 folhas de 5 árvores (3 folhas por árvore) para o isolamento dos fungos endofíticos. As folhas foram submetidas ao processo de desinfecção superficial para a eliminação de micro-organismos epifíticos, por meio de lavagens seriadas em etanol a 70% (v/v) (1 min.), hipoclorito de sódio 2 % (3 min.) e H_2O mQ estéril (2 min.). Após a desinfecção, três fragmentos de aproximadamente $0,5\text{ cm}^2$ de cada material vegetal coletado foram transferidos para placas de Petri contendo Ágar Batata Dextrose (BDA) suplementadas com $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ de cloranfenicol.

As placas foram incubadas a 25 °C por até 20 dias. Os isolados foram transferidos para novas placas de Petri contendo BDA para purificação. Os micélios obtidos foram preservados em frascos estéreis contendo água destilada estéril, em duplicata e temperatura ambiente (CASTELLANI, 1967).

Preparação dos extratos fúngicos e avaliação da atividade antimicrobiana (concentração inibitória mínima – CIM)

Os fungos endofíticos foram reativados inoculando um disco de ágar BDA contendo o micélio de cada amostra em nova placa contendo BDA e incubando à 25 °C por 5 dias. Após esse período, foi realizada a fragmentação do micélio fúngico juntamente com o meio de cultivo, utilizando como líquido extrator o álcool etílico absoluto. Após 10 dias os macerados foram filtrados e os extratos brutos submetidos à remoção do solvente com auxílio de evaporador rotativo.

Os extratos obtidos foram solubilizados em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% e homogeneizados até completa dissolução (OLIVEIRA et al., 2016 - modificado). Os testes de concentração inibitória mínima (CIM) foram realizados pela metodologia padronizada de microdiluição em caldo, em microplacas de 96 poços tipo Elisa, em triplicata (OLIVEIRA et al., 2016a). Em cada cavidade da microplaca foram adicionados 100 µL de caldo Muller Hinton (CMH). Em seguida adicionaram-se os extratos realizando diluição seriada. Foram realizadas 8 diluições de cada amostra obtendo-se concentrações finais de extrato de 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,6; 0,78 mg/mL. Foram avaliadas como alvo de inibição as seguintes espécies de bactérias: *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis* e *Shigella flexneri*, nas concentrações de 10⁷ UFC/mL. Como controle positivo foi utilizado CMH, 2 mg/mL de cloranfenicol e as culturas bacterianas, como controle negativo foi utilizado CMH, solvente DMSO 10% e inóculo bacteriano. Para controle de crescimento foi utilizada 5 µL de suspensão de bactérias 10⁷ UFC/mL. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h (OLIVEIRA et al., 2016).

Posteriormente, em cada cavidade da microplaca foi adicionada 30 µL de resazurina a 0,03% (m/v) estéril para verificação visual do crescimento microbiano, sendo a presença de cor azul representativa de ausência de crescimento e cor rosa, presença de crescimento microbiano (PALOMINO et al., 2002 - modificado). Foi considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano.

Avaliação da atividade antifúngica dos extratos aquosos dos fungos endofíticos de *B. tomentosa*

Os fungos endofíticos isolados foram testados pelo método da cultura pareada quanto à produção de substâncias difusíveis e voláteis frente ao fitopatógeno *Rhizopus stolonifer*. Os isolados

endofíticos foram previamente cultivados em BDA por 5 dias. Em seguida, um disco de ágar de 0,5 cm de diâmetro contendo micélio de cada fungo endofítico foi inoculado em um lado de uma placa de Petri contendo BDA e incubado por 3 dias a 25 °C. Posteriormente, um disco similar contendo uma cultura do fitopatógeno foi inoculado na outra extremidade da placa (4 cm de distância). O diâmetro da colônia do patógeno foi estimado após incubação por dois dias a 25 °C, com auxílio de um paquímetro digital (Starret® 799), e comparado com o diâmetro observado na cultura controle (PINTO *et al.*, 2011).

Para a verificação da produção de substâncias voláteis foram utilizadas placas de Petri com uma divisória a fim de evitar o efeito da difusão. As placas foram seladas com parafilme para evitar possível dissipação das substâncias presentes.

O padrão de crescimento do fitopatógeno (cultura controle) foi obtido por meio da inoculação de um disco de ágar de 0,5 cm de diâmetro contendo micélio do fitopatógeno sozinho em Placas de Petri contendo BDA. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 encontram-se os resultados da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *B. tomentosa*. Três, das 11 cepas bacterianas testadas, apresentaram sensibilidade aos compostos ativos da planta (*Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis* e *Shigella flexneri*), demonstrando um possível potencial de utilização desta espécie vegetal para obtenção de substâncias antibacterianas contra patógenos resistentes a antimicrobianos comerciais utilizados na atualidade. Estudos anteriores demonstraram que extratos de *B. tomentosa* obtidos por outros métodos exerceram inibição sobre *S. aureus* (acetato de etila), *E. faecalis* (fração hexânica) e *P. aeruginosa* (extrato etanólico) (BATISTA *et al.*, 2011; GIRONDI *et al.*, 2017).

Tabela 1 – Atividade antibacteriana do extrato aquoso da Mirindiba (*Buchenavia tomentos*) contra cepas de: *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pneumoniae*.

Patógenos	Inibição
<i>Bacillus cereus</i>	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Salmonella Typhimurium</i>	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+
<i>Shigella flexneri</i>	+
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-

+ inibição do crescimento, - ausência de inibição do crescimento.

Esse resultado contrastante possivelmente ocorreu pela diferença de polaridade dos compostos extraídos por cada método. Enquanto a ação inibitória dos extratos aquosos envolve as substâncias hidrofílicas (aminoácidos, açúcares, alcaloides na forma de sal, saponinas, heterosídeos, flavanóides e as mucilagens), os extratos alcoólicos e hexânicos fornecem uma extração mais ampla, incluindo compostos menos polares, e conseqüentemente mais propriedades antifúngicas e antimicrobianas (SIMÕES, 2001). No entanto, o extrato aquoso é um método mais simples, mais próximo do uso pelas comunidades tradicionais e da população de um modo geral.

As plantas da família Combretaceae têm sido utilizadas como medicinais em todo o mundo, especialmente na Ásia e África (FYHRQUIST et al., 2002). Dentre os 20 gêneros pertencentes à esta família, o gênero *Buchenavia* apresenta atividades biológicas promissoras, como os observados por OLIVEIRA et al.(2012): ampla atividade antimicrobiana (inibição de crescimento de *Micrococcus luteus* (CIM: 0,10 mg/mL), *Pseudomonas aeruginosa* (CIM: 0,20 mg/mL), *Mycobacterium smegmatis* (CIM: 0,39 mg/mL), *Proteus vulgaris* e *Staphylococcus aureus* (CIM: 0,78 mg /mL para ambos)), além da presença de flavonóides, triterpeno, carboidrato e tanino.

Os frutos de *B. tomentosa* foram relatados como tóxicos para ovinos, caprinos e bovinos, mas um estudo fitoquímico realizado por Batista (2011) identificou 7 substâncias de caráter antimicrobiano

e antiradicalar (radicais livres) em *B. tomentosa*, sendo eles os ácidos fenólicos galato etila (1) e galato de metila (2), ácido gálico (3), os taninos hidrolisáveis corilagina (4) e buchenavina (5), e as lignanas pinioresinol (6) e o epipinioresinol (7) (MELO et al., 2010).

Sabendo-se da capacidade de endofíticos sintetizarem metabólitos bioativos semelhantes às plantas hospedeiras (SHARMA e KUMAR, 2021), o isolamento realizado nesta pesquisa resultou na obtenção de 22 isolados de fungos endofíticos, obtidos a partir das folhas de *B. tomentosa*. Estes isolados foram testados contra as bactérias *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis* e *Shigella flexneri*, que foram as espécies sensíveis ao extrato aquoso da planta. Estas bactérias foram selecionadas para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos fúngicos. Destes 22 fungos, 7 apresentaram atividade antimicrobiana (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentração inibitória mínima (CIM) de fungos endofíticos isolados de *B. tomentosa* contra as bactérias *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis* e *Shigella flexneri*.

Fungo endofítico	CIM (µg/ml)		
	Bactéria		
	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. epidermidis.</i>	<i>S. flexneri</i>
FC12	25	25	50
FC13	100	100	-
FC31	50	25	100
FC49	50	50	-
FC53	50	50	-
FC81	25	50	-
FC93	-	-	25

* (-) Não houve inibição nas concentrações testadas: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,6; 0,78 mg/mL.

O uso de isolados fúngicos de folhas de *B. tomentosa* na literatura é inexistente, sendo este o primeiro trabalho a testar seu efeito antimicrobiano e, portanto, não há dados comparativos. Os extratos fúngicos que apresentaram atividade antimicrobiana mais abrangentes foram os obtidos dos isolados FC12 e FC31 (inibiram as três bactérias avaliadas, *S. typhimurium*, *S. epidermidis* e *S. flexneri*). Em todos os extratos fúngicos avaliados, pelo menos um foi capaz de inibir as bactérias na concentração de 25 µg/ml, sendo esta a menor concentração inibitória de extrato fúngico observada. Ressalta-se que as *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. compõem a lista de agentes patogênicos prioritários da Organização Mundial da Saúde para a produção e desenvolvimento de novos antibióticos, reforçando a importância desses resultados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

A atividade antimicrobiana das famílias químicas contra bactérias é classificada na ordem: fenóis > aldeídos > cetonas > álcoois > éteres > hidrocarbonetos (NOWAK et al., 2012; FADIL et al., 2018). Além dos compostos químicos já mencionados identificados nos frutos da *B. tomentosa*, Girondi et al., (2017) identificaram os compostos: ácido gálico, ácido quínico, kaempferol, epicatequina, ácido elágico e vitexina e Eschweilenol C nas folhas, com atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Os resultados encontrados na atual pesquisa correspondem ao padrão mencionado, reforçando a potência dos ácidos fenólicos predominantes nessa planta. Possivelmente, os fungos endofíticos presentes nas folhas sintetizam partes destes compostos através de suas vias metabólicas secundárias, inibindo os mesmos micro-organismos sensíveis ao extrato aquoso das folhas utilizado como triagem de patógenos neste estudo. Ressalta-se que questões como localização geográfica, clima, pragas e condições variadas na rizosfera podem causar variação dos constituintes químicos de plantas do mesmo gênero e espécie (JAYATILAKE e MUNASINGHE, 2020).

Brighenti et. al (2017) testaram a atividade antifúngica de extratos de *B. tomentosa* contra fungos leveduriformes e observaram atividade antibiofilme em *Candida albicans* a partir de ação dos ácidos elágico e gálico.

Nesta pesquisa foi identificado controle de crescimento do fungo filamentosso *R. stolonifer*, demonstrando uma potencial utilização na destes fungos como agentes de controle biológico. O isolado FC123 foi capaz de inibir 53% o crescimento de *R. stolonifer* através da difusão de substâncias. Apesar de outros métodos químicos e térmicos serem comuns no controle de *R. stolonifer* em alimentos, a busca de novos agentes antimicrobianos à base de plantas e micro-organismos tem sido intensa devido à resistência do fungo aos fungicidas sintéticos (ELIZEI et al., 2016).

O fungo *Rhizopus stolonifer* é o agente causador da podridão mole em frutos, considerado um dos principais causadores de doenças pós-colheita, responsável por cerca de 50% de perda de frutos que seriam comercializados (BASSETTO et al., 2007).

Seu controle é de grande interesse comercial, biotecnológico, social e ambiental, sendo o controle biológico um método alternativo e eficiente na prevenção da deterioração pós-colheita de frutos, e consequentemente redutor da quantidade de resíduos químicos aplicados nesses alimentos (BONILLA, 2019).

CONCLUSÃO

Este é o primeiro estudo a explorar fungos endofíticos de *Buchenavia tomentosa* e avaliar suas potenciais atividades antimicrobianas *in vitro*. Os isolados FC12 e FC31 foram eficazes em inibir o crescimento dos três patógenos bacterianos avaliados. A concentração inibitória mínima observada de

25 µg/ml por pelo menos um endofítico contra os patógenos avaliados. Os isolados endofíticos testados constituem potenciais fontes de substâncias antimicrobianas. As confirmações poderão ser feitas após a verificação dos níveis de citotoxicidade e das caracterizações químicas.

O isolado FC123 produziu substâncias difusíveis capazes de inibir o fungo fitopatogênico *R. stolonifer*.

Novos estudos deverão ser realizados para identificar as espécies endofíticas e as substâncias antimicrobianas por elas produzidas

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo 429435/2018-5 e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Programa Pró-Amazônia, Número: 23038.010315/2013-66. Agradecemos ainda à técnica Adrielly pelo trabalho realizado junto ao Herbário da Universidade Estadual do Tocantins no depósito da exsicata da planta *B. tomentosa*.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

ALAMGIR, A. N. M. Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Volume 1. Progress in Drug Research, 73. Chapter 1, p. 2, 2017.

ATEF, N. M.; SHANAB, S. M.; NEGM, S.I.; ABBAS, Y. A. Evaluation of antimicrobial activity of some plant extracts against antibiotic susceptible and resistant bacterial strains causing wound infection. Bulletin of the National Research Centre, v. 43, n. 144, 2019.

AYUKEKBONG, J. A.; NTEMGWA, M.; ATABE, A. N. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: Causes and control strategies. Antimicrobial Resistance & Infection Control, v. 6, n. 47, 2017.

BASSETTO, E.; AMORIM, L.; BENATO, E. A.; GONÇALVES, F. P.; LOURENÇO, S. A. Efeito da irradiação UV-C no controle da podridão parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pós-colheita de pêssegos. Fitopatologia Brasileira, v. 32, n. 5, p. 393-399, 2007.

BATISTA, A. L. Avaliação da atividade antimicrobiana e antiradicalar dos extratos e substâncias dos frutos de *Buchenavia tomentosa* – Eichler (Combretaceae) e *Ouratea spectabilis* Aubl. (Ochnaceae). Campo Grande; 2011. [Tese – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

BEUTLER, J. A.; CARDELLINA, I. I. J. H.; MCMAHON, J. B.; BOYD, M. R.; CRAGG, G. M. Anti-HIV and Cytotoxic Alkaloids from *Buchenavia capitata*. *Journal of Natural Product*, v.55, n.2, p.207-213, 1992.

BRIGHENTI, F. L.; SALVADOR, M. J.; DELBEM, A. C. B. Systematic Screening of plant extracts from the Brazilian pantanal with antimicrobial activity against bacteria with cariogenic relevance. *Caries Research*, v. 48, n.5, p. 353–360, 2014.

BRIGHENTI, F. L.; SALVADOR, M. J.; GONTIJO, A. V. L.; DELBEM, A. C. B.; DELBEM, Á. C. B.; SOARES, C. P.; OLIVEIRA, M. A. C.; GIRONDI, C. M.; KOGA-ITO, C. Y. Plant extracts: initial screening, identification of bioactive compounds and effects against *Candida albicans* biofilms. *Future Microbiology*, v. 12, n. 1, p. 15-27, 2017.

BONILLA, C. M. Utilización de agentes de biocontrol para prevenir el deterioro de la fruta en poscosecha. Máster Universitario en Seguridad y Calidad de los Alimentos. Repositorio institucional de la Universidad de La Laguna. Disponível em: <<http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/17327>>. Acesso em: 09 de set de 2022.

CASTELLANI, A. Maintenance and Cultivation of Common Pathogenic Fungi of Man in Sterile Distilled Water. *Further Researcher. Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 70, p. 181-184, 1967.

CAVALCANTI FILHO, J. R. N.; SILVA, T. F.; NOBRE, W. Q.; OLIVEIRA DE SOUZA; L. I., SILVA E SILVA FIGUEIREDO, C. S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. D.; FYHRQUIST, P.; MWASUMBI, L.; HÆGGSTRÖM, C. A. Ethnobotanical and antimicrobial investigation on some species of *Terminalia* and *Combretum* (Combretaceae) growing in Tanzania. *Journal of Ethnopharmacology*, v.79, n. 2, p. 169-177, 2002.

ELIZEI, V. G.; CHALFOUN, S. M.; BOTELHO, D. M. D. S.; REBELLES, P. P. R. Atividade antifúngica, in vitro, do óleo de café verde. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 83, 2016.

FADIL, M.; FIKRI-BENBRAHIM, K.; RACHIQ, S.; IHSSANE, B.; LEBRAZI, S.; CHRAIBI, M.; HALOUI, T.; FARAH, A. Combined treatment of *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils against *Salmonella typhimurium*: Optimization of antibacterial activity by mixture design methodology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, p. 211-220, 2018.

GUSMÃO, N. B.; SILVA, M. V.; DA SILVA, L. C. N.; CORREIA, M. T. D. S. Antimicrobial activity of *Buchenavia tetraphylla* against *Candida albicans* strains isolated from vaginal secretions. *Pharmaceutical Biology*, v. 55, n. 1, p. 1521-1527, 2017.

GIRONDI, C. M.; OLIVEIRA, A. B.; PRADO, J. A.; KOGA-ITO, C. Y.; BORGES, A. C.; DELBEM, A. C. B.; PEREIRA, D. F. A.; SALVADOR, M. J.; BRIGHENTI, F. L. Screening of plants with antimicrobial activity against enterobacteria, *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus* spp. *Future Microbiology*, v.12, n.8, p. 671-681, 2017.

JAYATILAKE, P. L.; MUNASINGHE, H. Antimicrobial Activity of Cultivable Endophytic and Rhizosphere Fungi Associated with "Mile-a-Minute," *Mikania cordata* (Asteraceae). *BioMed Research International*, v. Jun 15, p. 5292571, 2020.

LOPES, D.; MARUO, V. Toxicidade de *Buchenavia tomentosa* – revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, v. 23, n. 1, p. 1-13, 2015.

MANGANYI, M. C.; ATEBA, C. N. Untapped Potentials of Endophytic Fungi: A Review of Novel Bioactive Compounds with Biological Applications. Microorganisms, v. 8, n. 12, p. 1934, 2020.

MELLO, G. W., OLIVEIRA, D. M., CARVALHO, C. J., PIRES, L. V., COSTA, F. A., RIET-CORREA, F., & SILVA, S. M. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense. Pesquisa Veterinária Brasileira, 30, 1-9, 2010.

NOWAK, A.; KALEMBA, D.; KRALA, L.; PIOTROWSKA, M.; CZYZOWSKA, A. The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. Food microbiology, v. 32, n.1, p. 212-216, 2012.

OLIVEIRA, Y. L. C.; NASCIMENTO, DA SILVA L. C.; DA SILVA, A. G. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Buchenavia tetraphylla* (Aubl.) R. A. Howard (*Combretaceae: Combretoideae*). The Scientific World Journal, v. 6, 2012: 849302, 2012.

OLIVEIRA, A. I. T. DE; MAHMOUD, T. S.; NASCIMENTO, G. N. L. DO; SILVA, J. F. M. DA; PIMENTA, R. S.; MORAIS, P. B. DE. Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Palm Leaf Extracts from Babaçu (*Attalea speciosa*), Buriti (*Mauritia flexuosa*), and Macaúba (*Acrocomia aculeata*). The Scientific World Journal, v. 2016, p. 1-5, 2016.

OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, M. S.; MARCIANO, T. Y. F.; PROENÇA, S. L.; SÁ, M. E. Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis* / early growth of common bean plants in response to vigour seeds and inoculation with *Bacillus subtilis*. Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas, v. 10, n. 4, p. 439-448, 2016a.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PINTO, W S; ROSA L H ; SILVA, J. F. M. PIMENTA, R. S.. Diversity and antimicrobial activities of endophytic fungi of *Myrcia sellowiana* (Myrtaceae) from Tocantins. Acta Horticulturae, v. 905, p. 283-286, 2011.

RAO, M. M. V.; HARIPRASAD, T. P. N. In silico analysis of a potential antidiabetic phytochemical erythrin against therapeutic targets of diabetes. In Silico Pharmacology, v. 9, n. 5, 2021.

RODRIGUEZ, R.; REDMAN, R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: Plant stress tolerance via fungal symbiosis. Journal of Experimental Botany, v. 59, p. 1109–1123, 2008.

SHARMA, P.; KUMAR, S. Bioremediation of heavy metals from industrial effluents by endophytes and their metabolic activity: Recent advances. Bioresource Technology, v. 339, 125589, 2021.

SIMÕES, C. M. O. et al. (org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3. ed. rev. – Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2001

TEODORO, G. R.; BRIGHENTI, F. L.; DELBEM, A. C.; DELBEM, Á. C.; KHOURI, S.; GONTIJO, A. V.; PASCOAL, A. C.; SALVADOR, M. J.; KOGA-ITO, C. Y. Antifungal activity of extracts and isolated compounds from *Buchenavia tomentosa* on *Candida albicans* and non-*albicans*. *Future Microbiology*, v. 10, n. 6, p. 917-927, 2015.

VASAN, N.; BASELGA, J.; HYMAN, D. M. A view on drug resistance in cancer. *Nature*, v. 575, p. 299–309, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. 2017. <<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-whopublishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>>. Acesso em 30 de outubro de 2022.