

## POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE CACTOS DA CAATINGA, UMA FLORESTA TROPICAL SECA NO NORDESTE DO BRASIL

IVANIA M.O. PIRES<sup>1</sup>, ARTHUR V. SILVA<sup>1</sup>, MARÍLIA G.S. SANTOS<sup>1</sup>, JADSON D.P. BEZERRA<sup>1\*</sup>, RENAN N. BARBOSA<sup>1</sup>, DIANNY C.V. SILVA<sup>1</sup>, VIRGÍNIA M. SVEDESE<sup>2</sup>, CRISTINA M. SOUZA-MOTTA<sup>1</sup>, LAURA M. PAIVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. \*E-mail: [jadsondpb@gmail.com](mailto:jadsondpb@gmail.com).

<sup>2</sup>Colegiado de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, Pernambuco, Brasil.

Recebido em Maio de 2015. Aceito em Agosto de 2015. Publicado em Outubro de 2015.

**RESUMO** – O potencial biotecnológico de fungos endofíticos tem sido amplamente verificado em todo o mundo. Este estudo teve como objetivo verificar o potencial antibacteriano de fungos endofíticos isolados dos cactos *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru*, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. *gounellei* da Floresta Tropical Seca brasileira (Caatinga) contra bactérias fitopatogênicas e patogênicas ao homem. O teste foi realizado com 60 endófitos e 21 (35%) demonstraram atividade contra pelo menos uma bactéria patogênica ao homem, com destaque dos endófitos isolados de *C. jamacaru* subsp. *jamacaru*. *Trichoderma longibrachiatum* Rifai inibiu sete das 10 bactérias utilizadas, seguido por *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. (6 bactérias) e *Lecythophora decumbens* (J.F.H. Beyma) E. Weber, Görke & Begerow (5 bactérias) com halos variando de 5-30 mm. *Micrococcus luteus* (UFPEDA100) foi inibida por 11 dos 21 endófitos testados. Os endófitos não apresentaram atividade no teste com bactérias fitopatogênicas e com o extrato bruto. Endófitos isolados de cactos crescendo na Caatinga possuem potencial para produção de compostos com potencial antibacteriano.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade antimicrobiana; endófitos; potencial biotecnológico.

### ANTIBACTERIAL POTENTIAL OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM CACTI OF THE CAATINGA, A TROPICAL DRY FOREST IN NORTHEASTERN BRAZIL

**ABSTRACT** – Biotechnological potential of endophytic fungi has been widely observed around the world. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of endophytic fungi from cacti *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru*, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. *gounellei* of the Brazilian Tropical Dry Forest (Caatinga) against phytopathogenic and pathogenic bacteria to man. The test was performed with 60 endophytes of which 21 (35%) demonstrated activity against at least one pathogenic bacteria to man, especially isolates from *C. jamacaru* subsp. *jamacaru*. *Trichoderma longibrachiatum* Rifai inhibited seven of the 10 bacteria used, followed by *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. (6 bacteria) and *Lecythophora decumbens* (J.F.H. Beyma) E. Weber, Görke & Begerow (5 bacteria) with halos ranging from 5-30 mm. *Micrococcus luteus* (UFPEDA100) was inhibited by 11 of the 21 tested endophytes. Endophytes not showed activity in the test with phytopathogenic bacteria and with crude extract. Endophytes isolated from cacti growing in Caatinga have potential for producing compounds with antimicrobial activity.

**KEYWORDS:** Antimicrobial activity; endophytes; biotechnological potential.

### POTENCIAL ANTIBACTERIAL DE HONGOS ENDOFÍTICOS DE CACTUS DE LA CAATINGA, UN BOSQUE TROPICAL SECO EN EL NORESTE DE BRASIL

**RESUMEN** – El potencial biotecnológico de hongos endófitos ha sido ampliamente observado en todo el mundo. Se objetivó evaluar en este estudio la actividad antimicrobiana de hongos endófitos en los cactus *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru*, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. y *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. *gounellei* del Bosque Tropical Seco de Brasil (Caatinga) contra las bacterias patógenas para el hombre y patógenos de plantas. La prueba se realizó con 60 endófitos y 21 (35%) demostrada actividad contra al menos una bacteria patógenas para el hombre, especialmente de aislamientos de *C. jamacaru* subsp. *jamacaru* endófitos. *Trichoderma longibrachiatum* Rifai inhibida siete de las 10 bacterias utilizadas, seguidas de *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. (6 bacterias) y *Lecythophora decumbens* (J.F.H. Beyma) E. Weber, Görke & Begerow (5 bacterias) con halos que van desde 5 hasta 30 mm. *Micrococcus luteus* (UFPEDA100) fue inhibida por 11 de los 21 endófitos evaluados. Los endófitos no mostraron actividad en la prueba con las bacterias patógenas de las plantas y con el extracto crudo. Endófitos aislados de cactus que crecen en la Caatinga tienen potencial para la producción de compuestos con actividad antimicrobiana.

**PALABRAS CLAVE:** Actividad antimicrobiana; endófitos; potencial biotecnológico.

## INTRODUÇÃO

Existem definições similares para o conceito de microorganismos endofíticos (Hyde e Soyong, 2008), porém, a definição dada por Petrini (1991) se mostra mais utilizada e abrangente, pois considera os fungos endofíticos como aqueles que têm associações com as plantas sem causar-lhes danos aparentes. Esses fungos são diferentes dos epifíticos e fitopatogênicos e essa divisão é apenas didática, pois os limites dessa relação são, muitas vezes, difíceis de serem determinados (Azevedo *et al.*, 2000). Os fungos endofíticos representam um

grupo heterogêneo de táxons pertencentes aos Ascomycota, Basidiomycota e Mucoromycotina (Strobel e Daisy, 2003; Oses *et al.*, 2008; Hyde e Soyong, 2008; Kharwar *et al.*, 2008).

Estudos indicam uma plasticidade no tipo de simbiose que os fungos têm com as plantas, onde patógenos, mutualistas e sapróbios podem penetrar nos tecidos vegetais e ficam latentes para captar os nutrientes do hospedeiro. Em troca disso, o fungo promove à planta resistência a doenças, estimula o crescimento e tolerância à seca (Redman *et al.*, 2001; Rodriguez e Redman, 2008), melhorando a adaptabilidade ecológica do hospedeiro (Strobel *et al.*, 1996).

Uma grande importância dos fungos endofíticos é a capacidade de produzir compostos biotecnológicos, tais como enzimas (Bezerra *et al.*, 2012a), substâncias antitumorais (Chandra, 2012) e antimicrobianas (Souza *et al.*, 2004; Siqueira *et al.*, 2011; Pinheiro *et al.*, 2013; Bezerra *et al.*, 2015). O uso de fungos endofíticos em vários processos tecnológicos levou à descoberta de novos compostos com potencial industrial e farmacêutico (Meng *et al.*, 2011; Wang e Dai, 2011). Além de conhecer a importância econômica, o estudo de fungos endofíticos tem contribuído para o conhecimento da diversidade desse grupo e novas espécies têm sido relatadas com capacidade de produzir metabólitos extracelulares biologicamente ativos (Sun *et al.*, 2008; Siqueira *et al.*, 2008, 2011; Hilarino *et al.*, 2011; Bagchi e Banerjee, 2013; Pinheiro *et al.*, 2013).

São conhecidos seis estudos da associação de fungos endofíticos com cactos. O primeiro de Fisher *et al.* (1994) que estudaram, em regiões da Austrália, a associação de fungos endofíticos com *Opuntia stricta* (Haw.) Haw.; o segundo no Arizona, por Suryanarayanan *et al.* (2005), que estudaram a associação de fungos endofíticos com 21 espécies de cactos; o terceiro e quarto no Brasil, onde Bezerra *et al.* (2012a, 2013) verificaram a composição endofítica fúngica de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru* em regiões da Caatinga, uma Floresta Tropical Seca localizada na região Nordeste do país; o quinto em que Silva-Hughes *et al.* (2015) verificaram a comunidade e o potencial antifúngico de endófitos do cacto medicinal *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. nos Estados Unidos; e o sexto, por Freire *et al.* (2015), que demonstraram a riqueza de fungos endofíticos de *O. ficus-indica* sadia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896). Além disso, Bezerra *et al.* (2012b) reuniram alguns dos estudos de fungos e bactérias endofíticas associadas com os cactos.

O ecossistema Caatinga abriga espécies endêmicas de vegetais, aves, mamíferos e peixes, que garante sua importância para a diversidade mundial (Silva *et al.*, 2004; Leal *et al.*, 2005). Nesse ambiente, a família Cactaceae, que possui aproximadamente 1.440 espécies distribuídas quase exclusivamente na região neotropical (Hunt *et al.*, 2006; Zappi e Taylor, 2008), apresenta o maior número de táxons encontrados no Brasil, com cerca de 90 espécies registradas na Caatinga (Taylor *et al.*, 2015). Os cactos *C. jamacaru* subsp. *jamacaru* e *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. *gounellei* são uns dos mais comuns membros da família Cactaceae na Caatinga (Taylor e Zappi, 2004; Meiado *et al.*, 2010). Entre os cactos largamente cultivados em várias regiões do mundo, *O. ficus-indica* tem sido o mais utilizado na região semiárida do Nordeste do Brasil (Teixeira *et al.*, 1999; Araújo *et al.*, 2005). Considerando a importância dos cactos no ambiente natural, alguns autores tem se dedicado para entender a sua ecologia, distribuição geográfica, *status* de conservação e endemismo em áreas de Caatinga (Meiado *et al.*, 2015).

Os fungos representam uma importante fonte de recursos genéticos para o avanço biotecnológico e para o desenvolvimento econômico, uma vez que seu isolamento e seleção têm garantido o desenvolvimento de novos fármacos e aplicações em diversos segmentos industriais como saúde,

agricultura, indústria e meio ambiente. Esses micro-organismos representam excelente fonte de enzimas devido à facilidade de manipulação genética e a ampla diversidade bioquímica (Oliveira *et al.*, 2006).

Dessa forma, considerando os cactos como importante e pouco explorada fonte de micro-organismos e a crescente necessidade de novas fontes de moléculas biologicamente ativas, este estudo teve o objetivo de avaliar o potencial antibacteriano de endófitos associados com cactos de áreas de Caatinga, contra bactérias fitopatogênicas e patogênicas ao homem, com intuito de indicar esses micro-organismos para possível utilização em processos biotecnológicos que envolvem a produção de compostos antimicrobianos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Fungos endofíticos*

Foram utilizadas 60 culturas de fungos endofíticos isolados de *C. jamacaru* subsp. *jamacaru*, *O. ficus-indica* e *P. gounellei* subsp. *gounellei* crescendo em áreas da Caatinga (Itaíba, Águas Belas e Buíque – Pernambuco, Brasil) (Tabela 1). Os fungos foram isolados conforme metodologia proposta por Bezerra *et al.* (2012, 2013), a partir de estudos realizados no Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco.

### *Bactérias patogênicas ao homem*

Culturas de bactérias patogênicas ao homem foram fornecidas pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA): *Staphylococcus aureus* Rosenbach (UFPEDA02), *Mycobacterium smegmatis* (Trevisan) Lehmann & Neumann (UFPEDA71), *Enterococcus faecalis* (Andrewes & Horder) Schleifer & Kilpper-Bälz (UFPEDA138), *Escherichia coli* (Migula) Castellani e Chalmers (UFPEDA224), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA416), *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (UFPEDA86), *Micrococcus luteus* (UFPEDA100), *Staphylococcus aureus* (UFPEDA663), *Klebsiella pneumoniae* (UFPEDA396) e *Salmonella enteritidis* (UFPEDA414).

### *Bactérias fitopatogênica*

Bactérias fitopatogênicas provenientes de culturas de interesse agrícola (banana, alface, cenoura, batata, couve, pimentão, caju, uva e/ou melão) foram fornecidas pela coleção de culturas do Laboratório de Fitobacteriologia do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco: *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc 36), *Acidovorax citrulli* (AC 1.12), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (CoBr-2), *Ralstonia solanacearum* (raça 1, biovar 3) e *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

**TABELA 1.** Fungos endofíticos isolados de *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru*, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. *gounellei* (Cactaceae) crescendo em áreas de Caatinga, Pernambuco, Brasil.

Fungos endofíticos	<i>Cereus jamacaru</i> DC. subsp. <i>jamacaru</i>	<i>Opuntia ficus-</i> <i>indica</i> (L.) Mill.	<i>Pilosocereus gounellei</i> (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. <i>gounellei</i>
<i>Acremonium</i> sp.		X	X
<i>Alternaria</i> sp.		X	
<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church	X		
<i>Aspergillus flavus</i> Link	X		
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.			X
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh	X		
<i>Aspergillus niveus</i> Blochwitz	X		
<i>Aspergillus ustus</i> Blochwitz	X		
<i>Aspergillus</i> sp.	X		
<i>Aureobasidium</i> sp.			X
<i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch	X		
<i>Curvularia senegalensis</i> (Speg.) Subram			X
<i>Curvularia</i> sp.	X		X
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz		X	
<i>Cladosporium</i> sp.			X
<i>Fusarium oxysporum</i> E.F. Sm. & Swingle			X
<i>Fusarium</i> sp.			X
<i>Gibberella baccata</i> (Wallr.) Sacc.	X		
<i>Gibberella fujikuroi</i> (Sawada) Wollenw.	X	X	
<i>Lecythophora decumbens</i> (J.F.H. Beyma) E. Weber, Görke & Begerow	X		
<i>Nodulisporium</i> sp.			X
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx		X	
<i>Penicillium citrinum</i> Thom			X
<i>Penicillium glandicola</i> (Oudem.) Seifert & Samson		X	
<i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx	X		
<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge			X
<i>Penicillium montanense</i> M. Chr. & Backus		X	
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	X		
<i>Penicillium restrictum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott			X
<i>Pestalotiopsis guepinii</i> (Desm.) Steyaert		X	
<i>Pestalotiopsis maculans</i> (Corda) Nag Raj			X
<i>Phoma</i> sp.			X
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai.	X		
<i>Trichoderma</i> sp.		X	X
<b>Número de isolados</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>30</b>

#### Atividade antimicrobiana em meio sólido

Os fungos endofíticos foram cultivados em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) durante sete dias. Após o seu crescimento foram suspensos em 'Tween 80' e cultivados em forma de "tapete" em placas Petri contendo 20 mL de BDA, incubadas a temperatura de  $28 \pm 2$  °C por sete dias. Após este período, com o auxílio de um furador, foram retirados discos de 6 mm de diâmetro dos fungos (micélio-ágar) e inoculados em placas Petri com o meio de cultura Ágar Nutriente (AN) para as bactérias patogênicas ao homem, e, meio de cultura Ágar Nutriente + Dextrose (AN+D) para as bactérias fitopatogênicas. Foram preparadas suspensões de cada micro-organismo teste em solução fisiológica, e utilizado 100 µL para semeio no meio de cultura AN ou AN+D contido em placa de

Petri. Após o semeio, os discos de 6 mm com os fungos foram utilizados (Ichikawa *et al.*, 1971; Schmourlo *et al.*, 2005). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas para as bactérias patogênicas ao homem, e a 28 °C por 48 horas para as bactérias fitopatogênicas. Os antibióticos Tobramicina e Norfloxacin foram utilizados para comparação dos resultados obtidos.

#### Atividade antimicrobiana do extrato líquido

O teste foi realizado apenas com os fungos endofíticos isolado de *P. gounellei* que apresentaram os melhores resultados em meio sólido. A atividade dos extratos foi realizada conforme metodologia descrita por Siqueira *et al.* (2011), com adaptações. Os fungos foram cultivados em forma de "tapete" em placas Petri contendo 20 mL de BDA, incubadas a temperatura de 28

$\pm 2$  °C por sete dias. Após o crescimento dos fungos, foram retirados três discos de 6 mm de diâmetro de cada colônia e inoculados em frascos Erlenmeyer contendo 50 mL de meio de cultura Batata-Dextrose-Caldo (BDC), incubados a 28 °C em mesa rotatória a 180 rpm por 7 dias. Após esse período o caldo foi filtrado e centrifugado (225 rpm por 15 minutos).

O teste foi realizado utilizando discos de papel filtro de 6 mm umedecidos com o extrato e inoculados em meio de cultura AN ou AN+D contidos em placa de Petri com um dos micro-organismos teste semeado (Bauer *et al.*, 1966). As placas foram incubadas como descrito no teste em meio sólido.

#### Análise dos dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, empregando-se o teste F, em delineamento inteiramente casualizado. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5%. Foi utilizado o programa Assisat 7.7 beta (Silva e Azevedo, 2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos se destacam entre os micro-organismos de maior importância como fonte de produtos naturais, sendo responsáveis por cerca de 40% do total dos compostos de origem microbiana e biologicamente ativos (Berdy, 2005). No presente estudo, 60 endófitos foram testados e 21 (35%) apresentaram atividade antimicrobiana contra uma ou mais bactérias patogênicas ao homem, com halos de inibição variando de 5 a 30 mm. Estes endófitos são pertencentes aos gêneros *Penicillium* (5 táxons), *Aspergillus* (5), *Fusarium* (3), *Trichoderma* (3), *Acremonium* (2), *Curvularia* (1), *Lecythophora* [*Phialophora*] (1) e *Cladosporium* (1) (**Tabela 2**). Entre os endófitos de *P. gounellei* subsp. *gounellei* testados contra bactérias fitopatogênicas, nenhum apresentou atividade antimicrobiana.

A maioria das espécies pertence a gêneros como *Acremonium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Coniothyrium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Geniculosporium*, *Phoma*, *Pleospora* e *Phomopsis* são consideradas uma fonte rica de compostos com interesse biotecnológico pela produção de novos metabólitos secundários com atividades biológicas diversas (Schulz e Boyle, 2005; Smith *et al.*, 2008; Robl *et al.*, 2013). Esses metabólitos são explorados pela sua atividade como antibióticos, imunossuppressores e antineoplásicos (Strobel e Daisy, 2003; Chandra, 2012). Entre os fármacos mais conhecidos e derivados de fungos, destacam-se os antibióticos da classe das penicilinas e cefalosporinas, os redutores de colesterol como a mevastatina e lovastatina, e imunossuppressores como a ciclosporina e rapamicina (Cragg e Newman, 2005; Greve *et al.*, 2010).

Este estudo mostrou que fungos endofíticos do gênero *Penicillium* apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias *E. faecalis* e *S. enteritidis* (**Tabela 2**). Cui *et al.* (2008), estudando culturas de *Penicillium* isoladas de *Acrostichum aureum* (Ceratopteridoideae), identificaram dois novos peptídeos cíclicos (Pro-Thr e Pro-Tyr) com ação antimicrobiana contra *S.*

*aureus* e o fungo *Candida albicans*. Semelhante a *Penicillium*, o gênero *Aspergillus* apresenta posição destacada por produzir uma grande variedade de metabólitos tanto primários quanto secundários, incluindo aminoácidos, vitaminas, antibióticos e pigmentos (Houbraken *et al.*, 2014). Sadananda *et al.* (2011) estudaram endófitos de *Tabebuia argentea* (Bureau & K. Schum.) Britton (nome desatualizado e atualmente considerado sinônimo botânico de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S. Moore – Bignoniaceae) e relataram a atividade antimicrobiana de *A. niger* contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Resultados semelhantes também foram obtidos por Bezerra *et al.* (2015), pesquisando endófitos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* isolados da planta medicinal *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae) no Brasil.

Espécies do gênero *Fusarium* [*Gibberella*] têm sido relatadas como endófitos de várias plantas (Mussi-Dias, 2012; Costa *et al.*, 2012; Bezerra *et al.*, 2015). Neste estudo, *G. fujikuroi* e *G. baccata* isolados de *C. jamaclaru* subsp. *jamaclaru* apresentaram atividade contra *S. aureus* e *B. subtilis*. A espécie *G. fujikuroi* também apresentou atividade contra *M. luteus*, *M. smegmatis*, *S. enteritidis* e *S. aureus* multirresistente, demonstrando a potencialidade de isolados desse gênero na ação contra bactérias patogênicas ao homem (**Tabela 2**). Cui *et al.* (2011), em estudo de atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de partes medicinais de *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gild. (Thymelaeaceae), verificaram que espécies do gênero *Fusarium* apresentaram atividade contra *S. aureus*, *B. subtilis* e *E. coli*. Bezerra *et al.* (2015) observaram *G. baccata* [*Fusarium*] com atividade antimicrobiana contra as bactérias *S. aureus*, *S. pyogenes*, *B. subtilis* e *S. typhi* com halos variando de 17-22 mm.

Outros táxons pertencentes aos gêneros *Cladosporium*, *Trichoderma* e *Lecythophora* [*Phialophora*] também apresentaram atividade antimicrobiana. Chareprasert *et al.* (2010) verificaram que *Cladosporium* sp. isolado de *Thespesia populneoides* também inibiu bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O endófito *T. longibrachiatum* se destacou como o isolado que inibiu o maior número de bactérias (sete) com halos variando de 12,5-30 mm (**Tabela 2**).

Espécies de *Trichoderma* são amplamente conhecidas pelo seu potencial antagonico contra fungos e bactérias e na utilização em controle biológico de insetos-praga (Bettiol, 2009). Souza *et al.* (2004), estudando o fungo *Trichoderma* isolado de plantas tóxicas da Amazônia, observaram atividade contra *Bacillus* sp., *B. subtilis*, *S. aureus* e *A. flavus*, com halos variando entre 21 e 27 mm, contudo não apresentou atividade contra *E. coli*.

Apesar de nesse estudo os fungos selecionados não terem apresentado nenhuma atividade contra as bactérias patogênicas às plantas, experimentos com bactérias endofíticas tem demonstrado a capacidade dos endófitos em inibir micro-organismos fitopatogênicos (Berg *et al.*, 2005; He *et al.*, 2009; Lanna-Filho *et al.*, 2013).

Os fungos endofíticos isolados do cacto *P. gounellei* subsp. *gounellei* que demonstraram melhor atividade no teste em meio sólido foram selecionados para a avaliação do potencial

**TABELA 2.** Atividade antimicrobiana (mm) de fungos endofíticos isolados dos cactos *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru*, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. *gounellei* (Cactaceae) crescendo em áreas de Caatinga do Estado de Pernambuco, Brasil, contra bactérias patogênicas ao homem.

Cactos/Fungos endofíticos	Micro-organismo teste (UFPEDA)*									
	Halo de inibição (mm)									
	02	86	100	224	396	416	71	138	414	663
<b><i>Cereus jamacaru</i> DC. subsp. <i>jamacaru</i></b>										
<i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church	0f	0e	15,5i	0	0	0	0c	0b	0g	0d
<i>Aspergillus flavus</i> Link	0f	0e	5l	0	0	0	0c	0b	0g	0d
<i>Aspergillus niveus</i> Blochwitz	15c	0e	25,5b	0	0	0	0c	0b	0g	0d
<i>Aspergillus</i> sp.	14d	0e	25c	0	0	0	0c	0b	0g	17a
<i>Curvularia</i> sp.	0f	0e	18,5g	0	0	0	0c	0b	0g	0d
<i>Gibberella baccata</i> (Wallr.) Sacc.	14d	0e	13j	0	0	0	0c	0b	0g	0d
<i>Gibberella fujikuroi</i> (Sawada) Wollenw.	14d	13c	23,5e	0	0	0	8b	0b	13d	5c
<i>Lecytophora decumbens</i> (J.F.H. Beyma) E. Weber, Görke & Begerow	15,5b	13c	20,5f	0	0	0	0c	0b	13,5c	13b
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai.	17a	15,5a	26a	0	0	0	30a	12,5a	19,5a	13b
<b><i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.</b>										
<i>Penicillium glandicola</i> (Oudem.) Seifert & Samson	0f	0e	0m	0	0	0	0c	0b	11f	0d
<i>Penicillium montanense</i> M. Chr. & Backus	0f	0e	24d	0	0	0	0c	0b	15b	0d
<i>Trichoderma</i> sp.	8e	12,5d	17h	0	0	0	0c	0b	12e	0d
<i>Trichoderma</i> sp.	14d	14b	0m	0	0	0	0c	0b	13d	0d
<b><i>Pilosocereus gounellei</i> (F.A.C. Weber) Byles &amp; G.D. Rowley subsp. <i>gounellei</i><sup>a</sup></b>										
<i>Acremonium</i> sp.	0c		0d	0c	1,2b	0c				
<i>Acremonium</i> sp.	0c		0d	0c	1,6a	0c				
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	0c		1,1c	0c	0c	2,0a				
<i>Cladosporium</i> sp.	0c		0c	0c	0c	2,1a				
<i>Fusarium</i> sp.	0c		1,1c	0c	0c	0c				
<i>Penicillium citinum</i> Thom	0c		0d	0c	0c	1,5b				
<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge	0c		0d	0c	0c	2,0a				
<i>Penicillium restrictum</i> J.C. Gilman & E.V. Abbott	0c			0c	0c	2,1a				
Norfloxacin <sup>b</sup>	27a		32a	28a	10b	20a				
Tobramicina <sup>b</sup>	23,5b		20b	24b	1,2b	0c				

\* Micro-organismos teste: UFPEDA 02 – *S. aureus*; UFPEDA86 – *B. subtilis*; UFPEDA 100 – *M. luteus*; UFPEDA 224 – *E. coli*; UFPEDA 396 – *K. pneumoniae*; UFPEDA 416 – *P. aeruginosa*; UFPEDA 71 – *M. smegmatis*; UFPEDA 138 – *E. faecalis*; UFPEDA 414 – *S. enteritidis*; UFPEDA 663 – *S. aureus* multirresistente.

<sup>a</sup> Fungos endofíticos do cacto *P. gounellei* foram testados apenas contra as bactérias: UFPEDA 02, UFPEDA 224, UFPEDA 71, UFPEDA 416 e UFPEDA 138;

<sup>b</sup> Antibióticos: Tobramicina e Norfloxacin.

antibacteriano do extrato bruto. Após sete dias de cultivo o extrato foi testado e não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana.

Siqueira *et al.* (2011) verificaram o potencial antagonico de fungos endofíticos da planta medicinal *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) e obtiveram extrato de 11 endofitos com atividade antimicrobiana, com destaque para a inibição de *S. aureus*, com halos variando de 15-25 mm. Kalyanasundaram *et al.* (2015) também estudaram o potencial de extrato de fungos endofíticos contra micro-organismos patogênicos e obtiveram halos variando de 2-12 mm contra a bactéria *S. typhi* e fungo *T. rubrum*.

## CONCLUSÕES

Fungos endofíticos dos cactos *C. jamacaru* subsp. *jamacaru*, *Opuntia ficus-indica* e *P. gounellei* subsp. *gounellei*

apresentam potencial para utilização em processos biotecnológicos envolvendo a produção de compostos contra bactérias patogênicas ao homem. Futuros estudos são necessários para verificação dos compostos ativos produzidos por estes fungos e o entendimento da relação simbiótica deles com espécies de cactos crescendo na Floresta Tropical Seca brasileira.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelo auxílio financeiro. Estendemos nossos agradecimentos aos estudantes do Laboratório de Citologia e Genética de Fungos, Departamento de Micologia/UFPE.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo LF, Oliveira LSC, Perazzo Neto A, Alsina OLS e Silva FLH. 2005. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 9(3): 379-384.
- Azevedo JL, Maccheroni Jr W, Pereira JO e Araújo WL. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, 3(1): 40-65.
- Bagchi B e Banerjee D. 2013. Diversity of fungal endophytes in *Bauhinia vahlii* (alianas) from different regions of Paschim Medinipur district of West Bengal. **International Journal of Scientific Engineering and Technology**, 2: 748-756.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris SC e Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, 45: 493-496.
- Berdy J. 2005. Bioactive microbial metabolites. **The Journal of antibiotics**, 58: 1-26.
- Berg G, Krechel A, Ditz M, Sikora, RA, Ullrich A e Hallmann J. 2005. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Ecology**, 51(2): 215-229.
- Bettiol W e Morandi MAB. 2009. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 241.
- Bezerra JDP, Lopes DHG, Santos MGS, Svedese VM, Paiva LM, Almeida-Cortez JS e Souza-Motta CM. 2012b. Riqueza de micro-organismos endofíticos em espécies da família Cactaceae. **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas**, 9: 19-23.
- Bezerra JDP, Nascimento CCF, Barbosa RN, Silva DCV, Svedese VM, Silva-Nogueira EB, Gomes BS, Paiva LM e Souza-Motta CM. 2015 Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. **Brazilian Journal of Microbiology** (in press).
- Bezerra JDP, Santos MGS, Barbosa RN, Svedese VM, Lima DMM, Fernandes MJS, Paiva LM, Almeida-Cortez JS e Souza-Motta CM. 2013. Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study. **Symbiosis**, 60(2): 53-63.
- Bezerra JDP, Santos MGS, Svedese VM, Lima DMM, Fernandes MJS, Paiva LM e Souza-Motta CM. 2012a. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 28: 1989-1995.
- Chandra S. 2012. Endophytic fungi: novel sources of anticancer lead molecules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 95: 47-59.
- Chareprasert S, Piapukiew J, Whalley AJS e Sihanonth P. 2010. Endophytic fungi from mangrove plant species of Thailand: their antimicrobial and anticancer potentials. **Botanica Marina**, 53: 555-564.
- Costa IPMW, Assunção MMC, Lima TEF, Oliveira RJV e Cavalcanti MAQ. 2012. Checklist of endophytic fungi from tropical regions. **Mycotaxon**, 119: 494.
- Cragg GM e Newman DJ. 2005. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of ethnopharmacology**, 100(1): 72-79.
- Cui J-L, Guo S-X e Xiao P-G. 2011. Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of *Aquilaria sinensis*. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)**, 12(5): 385-392.
- Cui HB, Mei WL, Miao CD, Lin HP, Hong K e Dai HF. 2008. Antibacterial constituents from the endophytic fungus *Penicillium* sp.0935030 of mangrove plant *Acrostichum aureum*. **Chemical Journal of Chinese Universities**, 33: 407-10.
- Fisher PJ, Sutton BC, Petrini LE e Petrini O. 1994. Fungal endophytes from *Opuntia stricta*: a first report. **Nova Hedwigia**, 59:195-200.
- Freire KTLS, Araújo GR, Bezerra JDP, Barbosa RN, Silva DCV, Svedese VM, Paiva LM e Souza-Motta CM. 2015. Fungos endofíticos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) sadia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae). **Gaia Scientia**, 9(2): 104-110.
- Greve H, Mohamed IE, Pontius A, Kehraus S, Gross H e König GM. 2010. Fungal metabolites: structural diversity as incentive for anticancer drug development. **Phytochemistry Reviews**, 9(4): 537-545.
- He RL, Wang GP, Liu X, Zhang CL e Lin FC. 2010. Antagonistic bioactivity of an endophytic bacterium isolated from *Epimedium brevicornu* Maxim. **African Journal of Biotechnology**, 8(2): 191-195.
- Hilarino MPA, Silveira FAO, Oki Y, Rodrigues L, Santos JC, Junior AC, Fernandes GW e Rosa CA. 2011. Distribution of the endophytic fungi community in leaves of *Bauhinia brevipes* (Fabaceae). **Acta Botanica Brasilica**, 25: 815-821.
- Houbraken J, de Vries RP e Samson RA. 2014. Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. **Advances in Applied Microbiology**, 86: 199-249.
- Hunt DR, Taylor NP e Charles G. 2006. **The New Cactus Lexicon**. DH Publications, Milborne Port.
- Hyde KD e Soyong K. 2008. The fungal endophyte dilemma. **Fungal Diversity**, 33: 163-173.
- Ichikawa T, Date M, Ishikura T, Ozaki A 1971. Improvement of Kasugamycin—producing strain by the agar piece method and the prototroph method. **Folia Microbiologica**, 16: 218-224.
- Jin-Long C, Shun-Xing G e Pei-Gen X. 2011 Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of *Aquilaria sinensis*. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)**, 12(5): 385-392.
- Kalyanasundaram I, Nagamuthu J e Muthukumaraswamy S. 2015. Antimicrobial activity of endophytic fungi isolated and identified from salt marsh plant in Vellar Estuary. **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, 7(2): 13-20.
- Kharwar RN, Verma VC, Strobel G e Erza D. 2008. The endophytic fungal complexo of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Current Science**, 95(2): 228-233.
- Lanna-Filho R, Souza RM, Magalhães, MM, Villela L, Zanotto E, Ribeiro-Júnior PM e Resende ML. 2013. Induced defense responses in tomato against bacterial spot by proteins synthesized by endophytic bacteria. **Tropical Plant Pathology**, 38(4): 295-302.
- Leal IR, Silva JD, Tabarelli M, Lacher Jr TE. 2005. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. **Megadiversidade**, 1(1): 139-146.

- Meiido MV, Albuquerque LSC, Rocha EA, Rojas-Arêchiga M e Leal IR. 2010. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. **Plant Species Biology**, 25(2): 120-128.
- Meiido MV, Machado MC, Zappi DC, Taylor NP e Filho JAS. 2015. Ecological attributes, geographic distribution and endemism of cacti from the São Francisco Watershed. **Gaia Scientia**, 9(2): 40-53.
- Meng L, Sun P, Tang H, Li L, Draeger S, Schulz B, Krohn K, Hussain H, Zhang W e Yi Y. 2011. Endophytic fungus *Penicillium chrysogenum*, a new source of hypocrellins. **Biochemical Systematics and Ecology**, 39: 163-165.
- Mussi-Dias V, Araújo A, Silveira S, Rocabado J e Araújo K. 2012. Fungos endofíticos associados a plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 14(2): 261-266.
- Oliveira VM, Sette LD e Fantinatti-Garborggini F. 2006. Preservação e Prospecção de Recursos Microbianos. **Revista MultiCiência**, 7: 1-19.
- Oses R, Valenzuela S, Freer J, Sanfuentes E e Rodriguez J. 2008. Fungal endophytes in xylem of healthy Chilean trees and their possible role in early wood decay. **Fungal Diversity**, 33: 77-86.
- Petrini O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews J, Hirano SS (Eds), **Microbial Ecology of Leaves**. Springer-Verlag New York, p. 179-197.
- Pinheiro EAA, Carvalho JM, Santos DCP, Feitosa AO, Marinho PSB, Guilhon GMSP, Souza ADL, Silva FMA e Marinho AMR. 2013. Antibacterial activity of alkaloids produced by endophytic fungus *Aspergillus* sp. EJC08 isolated from medical plant *Bauhinia guianensis*. **Natural Product Research**, 27: 1633-1638.
- Redman RS, Dunigan DD e Rodriguez RJ. 2001. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader? **New Phytologist**, 151: 705-716.
- Robl D, Delabona P, Mergel CM, Rojas JD, Costa P, Pimentel I, Vicente VP, Pradella J e Padilla G. 2013. The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. **BMC Biotechnology**, 13: 94.
- Rodriguez R e Redman R. 2008. 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**, 59(5): 1109-1114.
- Sadananda TS, Nirupama R, Chaithra K, Govindappa M, Chandrappa CP e Vinay Raghavendra B. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of endophytes from *Tabebuia argentea* and identification of anticancer agent (Lapachol). **Journal of Medicinal Plants Research**, 5: 3643-3652.
- Schmourlo G, Mendonça-Filho RR, Alviano CS e Costa SS. 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 96: 563-568.
- Schulz B e Boyle C. 2005. The endophytic continuum. **Mycological research**, 109(6): 661-686.
- Silva FAZ e Azevedo CAV. 2009. Principal components analysis in the software Assstat – Statistical Assistance. In: **World Congress on Computers in Agriculture**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Silva JMC, Tabarelli M, Fonseca MT e Lins LV. 2004. **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- Silva-Hughes AF, Wedge DE, Cantrell CL, Carvalho CR, Pan Z, Moraes RM, Madoxx VL e Rosa LH. 2015. Diversity and antifungal activity of the endophytic fungi associated with the native medicinal cactus *Opuntia humifusa* (Cactaceae) from the United States. **Microbiological Research**, 175: 67-77.
- Siqueira VM, Conti R, Araújo JM e Souza-Motta CM. 2011. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. **Symbiosis**, 53: 89-95.
- Siqueira VM, Souza-Motta C e Braun U. 2008. *Corynespora subcylindrica* sp. nov., a new hyphomycete species from Brazil and a discussion on the taxonomy of corynespora-like genera. **Sydowia**, 60: 113-122.
- Smith SA, Tank DC, Boulanger LA, Bascom-Slack CA., Eisenman K, Kingery D e Strobel SA. 2008. Bioactive endophytes warrant intensified exploration and conservation. **PLoS One**, 3(8): e3052.
- Souza AQL, Souza ADL, Filho SA, Pinheiro MLB, Sarquis, MIM e Pereira JO. 2004. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. **Acta Amazonica**, 34(2): 185-195.
- Strobel GA e Daisy B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 67(4): 491-502.
- Strobel GA, Hess WM, Ford E, Sidhu RS e Yang X. 1996. Taxol from fungal endophyte and issue of biodiversity. **Journal of Industrial Microbiology**, 17: 417-423.
- Sun JQ, Guo L-D, Zang W, Ping WX e Chi DF. 2008. Diversity and ecological distribution of endophytic fungi associated with medicinal plants. **Science in China Series C: Life Sciences**, 51: 751-759.
- Suryanarayanan TS, Wittlinger SK e Faeth SH. 2005. Endophytic fungi associated with cacti in Arizona. **Mycological Research**, 109: 635-639.
- Taylor N e Zappi D. 2004. **Cacti of Eastern Brazil**. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Taylor N, Santos MR, Larocca J e Zappi D. 2015. Cactaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB70>. Acesso em: 03 Mai 2015.
- Teixeira JC, Evangelista AR, Perez JO, Trindade IACM, Moron IR. 1999. Cinética da digestão ruminal da palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* (L.) Lyons (Cactaceae) em bovinos e caprinos. **Ciência e Agrotecnologia**, 23(1): 179-186.
- Wang Y e Dai C-C. 2011. Endophytes: a potencial resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. **Annals of Microbiology**, 61: 207-215.
- Zappi D e Taylor N. 2008. Diversidade e endemismo das Cactaceae na Cadeia do Espinhaço. **Megadiversidade**, 4(1-2): 111-116.