

Fungos endofíticos e avaliação da atividade antimicrobiana em *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Basellaceae)

Endophytic fungi and evaluation of antimicrobial activity in *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Basellaceae)

Felipe Lazaro Alves¹,
Fabiana Tonial²,
Andréa Michel Sobottka^{1 2}

Resumo: A planta medicinal conhecida no Brasil como “bertalha”, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, é utilizada popularmente no tratamento de infecções fúngicas e feridas. Esta espécie possui diversos metabólitos secundários de interesse farmacológico, com destaque para as saponinas, que já foram detectadas em todas as partes da planta. Os fungos endofíticos são microrganismos encontrados no interior das plantas durante todo ou pelo menos em parte do seu ciclo de vida sem causar danos ao hospedeiro. Eles se destacam pela capacidade de produção de metabólitos secundários similares àqueles produzidos pelos vegetais, bem como pelas suas propriedades bioativas que são, possivelmente, provenientes das interações metabólicas. Este estudo teve por objetivo isolar e identificar os fungos endofíticos presentes nas folhas de *A. cordifolia*, além de testar seus extratos foliares contra os microrganismos *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Em relação aos fungos endofíticos, foram isolados e identificados os gêneros: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* e *Alternaria*. No que diz respeito à atividade antimicrobiana, os extratos não inibiram o crescimento dos microrganismos nas condições testadas.

Palavras-chave: Planta medicinal. Extratos foliares. Endófitos.

Abstract: The medicinal plant known in Brazil as “bertalha”, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, is popularly used in the treatment of fungal infections and wounds. This species has several secondary metabolites of pharmacological interest, especially saponins, which have already been detected in all parts of the plant. Endophytic fungi are microorganisms found inside plants during all or at least part of their life cycle without causing damage to the host. They stand out for their ability to produce secondary metabolites similar to those produced by plants, as well as for their bioactive properties that are possibly derived from metabolic interactions. This study aimed to isolate and identify the endophytic fungi present in the leaves of *A. cordifolia*, in addition to testing its leaf extracts against the microorganisms *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. With regard to endophytic fungi, the following

¹ Universidade de Passo Fundo (UPF), Instituto da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Rodovia BR 285, Km 292, 99.052-900, Passo Fundo, RS, Brasil. E-mail: felipelazaroa@gmail.com. Autor para correspondência

² Universidade de Passo Fundo (UPF), Instituto da Saúde, Curso de Farmácia, Rodovia BR 285, Km 292, 99.052-900, Passo Fundo, RS, Brasil.

genera were isolated and identified: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* and *Alternaria*. With regard to antimicrobial activity, the extracts did not inhibit the growth of microorganisms under the conditions tested.

Keywords: Medicinal plant. Leaf extracts. Endophytes.

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais sempre tiveram grande importância para as civilizações, sendo utilizadas por milênios. O conhecimento empírico de geração a geração possibilitou ao homem compreender a importância de como utilizar e para quê utilizar as plantas medicinais como recurso terapêutico e para cura de doenças (VEIGA JUNIOR et al., 2005).

Muitas vezes as plantas são, de certa forma, o único recurso disponível pela população no tratamento de doenças, sendo responsáveis por dois terços dessa demanda de saúde em todo o planeta. Esta demanda propicia o desenvolvimento de estudos objetivando estabelecer o potencial farmacológico das plantas (ALBA et al., 2020).

Os fungos endofíticos são microrganismos encontrados no interior da planta. São capazes de fornecer proteção a ela e também de auxiliar em sua demanda nutricional (XIAO et al., 2014). Distribuindo-se por diferentes órgãos e tecidos do seu hospedeiro, os fungos endofíticos podem se associar a raízes, caules, folhas e ramos (FELBER et al., 2016). Sua transmissão ocorre por meio da penetração ativa do fungo pelas estruturas da planta ou por meio de sementes (ALY; DEBBAB; PROKSCH, 2011).

Anredera cordifolia (Ten.) Steenis, mais conhecida como bertalha, é uma planta originária de áreas tropicais e subtropicais da América do Sul (VIVIAN-SMITH; LAWSON; TURNBULL, 2007). Nativa do Brasil, mas não endêmica, é conhecida popularmente como “basela, folha gorda, trepadeira-mimosa” (SOUZA; LORENZI, 2002). Na Indonésia e arredores é chamada de “binahong” (SUMARTININGSIH, 2011), e na região da Austrália é conhecida por “madeira vine” (VIVIAN-SMITH; LAWSON; TURNBULL, 2007). Na Argentina é conhecida como “zarza-parilla” (SCARPA et al., 2004) e “papa santa” (HILGERT, 2001). Esta planta é popularmente utilizada em casos de infecções, contaminações

por fungos e feridas. Além disso, estudos relatam possível ação antibacteriana. Esta ação farmacológica pode estar relacionada com seu conteúdo de saponinas, já que estas foram relatadas como um dos principais grupos de metabólitos secundários presentes nesta espécie (ALBA et al., 2020).

Considerando a importância e o potencial farmacológico desta espécie vegetal, no presente estudo trabalhou-se com folhas de *A. cordifolia* (Ten.) Steenis, com o objetivo de isolar e identificar os fungos endofíticos presentes. Além disso, para avaliar seu potencial antimicrobiano, foi obtido um extrato bruto hidroalcoólico e, por hidrólise ácida, uma fração semi-purificada da planta. Ambos foram testados frente aos microrganismos *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

2 METODOLOGIA

2.1 Material vegetal

As folhas de *A. cordifolia* foram coletadas no município de Sarandi, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (27°57'13" S e 52°55'01" W), nos dias 24 de janeiro e 19 de abril de 2021. O local de coleta se apresenta como um terreno baldio e está rodeado por algumas árvores nativas. As folhas da primeira coleta foram utilizadas para a etapa de investigação dos fungos endofíticos.

O material vegetal da segunda coleta foi utilizado para a preparação dos extratos visando testar a ação antimicrobiana. Este material foi seco em estufa de circulação de ar a 45 °C, durante uma semana. Após a etapa de secagem, foi moído em um macro moinho tipo Willye e reservado.

2.2 Esterilização do material e isolamento dos endofíticos

Para a etapa de investigação de fungos endofíticos foi utilizado o método descrito por Petrini e citado por Andrews e Hirano (1991) com algumas

modificações. As folhas aparentemente sadias (sem manchas, cortes, rugas) foram coletadas com pecíolos, acondicionadas em sacos plásticos, etiquetadas e levadas ao laboratório. Para a desinfestação de sua superfície, elas foram lavadas em água corrente abundante. Os pecíolos foram parafinados para evitar a entrada das soluções, que são utilizadas para a desinfecção da superfície das folhas, nos tecidos internos destas, com o objetivo de preservar os endófitos a serem isolados.

Em seguida, a fim de se eliminar os microrganismos epifíticos, as folhas passaram por uma bateria de soluções. Primeiramente foram imersas em água destilada esterilizada por 1 minuto, depois em etanol 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio a 3% por 4 minutos, novamente lavadas em etanol 70% por 30 segundos, e por último em água destilada esterilizada por 6 minutos, sendo que todos os processos foram realizados em câmara de fluxo laminar. Após, as folhas foram cortadas em condições de assepsia, em fragmentos de 0,5x0,5 cm utilizando um bisturi esterilizado. Posteriormente transferiu-se esses fragmentos para 10 placas de Petri com meio de cultura BDA (batata dextrose ágar). Então, as placas foram incubadas a 28 °C por 20 dias, sendo verificado diariamente o crescimento dos microrganismos.

Os endófitos obtidos nesta etapa foram acondicionados nos meios apropriados, sem a presença de antibióticos, sob refrigeração (aproximadamente 4 °C). Os estoques foram mantidos com repiques a cada quatro meses para evitar perda de amostra.

2.3 Identificação dos fungos endofíticos

Após o isolamento foi realizado o microcultivo em meio BDA. Para isso, em ambiente de câmara de fluxo laminar, o ágar foi cortado com o auxílio de um bisturi em quadrados de aproximadamente 1,5x1,5 cm que foram colocados sobre lâminas de vidro estéreis acondicionadas dentro de placas de Petri

grandes. Os fungos isolados na etapa anterior foram repicados no meio BDA, sendo depositados nos quatro cantos do ágar e cobertos por uma lamínula. Um algodão umedecido com água esterilizada foi mantido dentro da placa. Após 15 dias em temperatura ambiente as lamínulas foram removidas com uma pinça e depositadas em uma lâmina contendo uma gota de azul de lactofenol. As estruturas fúngicas foram observadas em microscopia óptica.

Utilizando os dados de macroscopia obtidos pela visualização das colônias isoladas em ágar BDA após 10 dias de crescimento a 28 °C, e de microscopia após a etapa de microcultivo, foi possível a caracterização dos gêneros com base nas descrições de Larone (1993); Fischer e Cook (2001); Watanabe (2002); The University of Adelaide (2016).

2.4 Obtenção dos extratos para os testes de atividade antimicrobiana

Ao material vegetal seco e moído (35 g) foi acrescentado 350 mL de hexano e homogeneizado. O hexano foi removido através de filtração com funil de büchner. Recuperou-se o mesmo material vegetal e acrescentou-se 350 mL de diclorometano, seguindo o mesmo procedimento de filtração através de funil de büchner. Esta etapa foi realizada com o objetivo de retirar as substâncias mais apolares e obter um material desengordurado. Em seguida, o material vegetal desengordurado foi submetido à maceração com metanol:água (1:1) por dois dias, utilizando a proporção de 1 grama de material vegetal para cada 10 mL de solvente. Após a maceração, filtrou-se por algodão e o filtrado obtido foi concentrado em evaporador rotatório, até retirada do metanol. A parte aquosa restante foi extraída por partição líquido-líquido, em funil de separação, com n-butanol. Esta extração com butanol foi realizada com o objetivo de obter um produto rico em saponinas. As saponinas, na planta, normalmente se encontram na forma de heterosídeos, sendo extraídas com butanol (ATHAYDE

et al.; 2017). Recolheu-se então a fração butanólica, que foi levada ao rotavapor. O extrato butanólico concentrado foi submetido à hidrólise ácida, sob refluxo, com ácido clorídrico 3 M, durante 30 minutos. Após concentração em rotavapor, o produto obtido foi denominado “extrato hidrolisado” (GNOATTO; SCHENKEL; BASSANI, 2005). O procedimento de hidrólise ácida foi realizado com o objetivo de separar a parte glicosídica da parte aglicona das saponinas. O extrato hidrolisado deve apresentar somente as agliconas das saponinas. Este extrato semi-purificado foi um dos utilizados no ensaio de atividade antimicrobiana.

Com 1,0 grama da planta seca e moída fez-se também uma maceração com 10 mL de metanol:água (1:1), por dois dias. Após este tempo, ocorreu a filtração e evaporação do solvente. O extrato assim obtido foi denominado de “extrato bruto”. Este extrato também foi utilizado no ensaio de atividade antimicrobiana.

2.5 Avaliação da atividade antimicrobiana por difusão em ágar

A atividade dos extratos (bruto e hidrolisado) de *A. cordifolia* foi avaliada contra os seguintes microrganismos: *Candida albicans* (NEWP 0031), *Staphylococcus aureus* (NEWP 0038) e *Escherichia coli* (ATCC 2592). As cepas foram repicadas em ágar nutriente e mantidas por 24 horas a temperatura de 36 °C. Após o crescimento, uma suspensão de cada patógeno foi preparada em solução fisiológica comparando o grau de turbidez do inóculo com o padrão 0,5 da escala de MacFarland. Em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton foram feitos orifícios, nos quais foram inseridos 50 µL do extrato hidrolisado nas concentrações de 10,35 mg/mL e 8,30 mg/mL, após a inoculação do patógeno. Do extrato bruto foram inseridos os mesmos 50 µL na concentração de 7,3 mg/mL. Para inocular o patógeno no ágar, um swab foi submerso na suspensão do microrganismo para semeadura pelo método das

quatro direções. Após 24 horas de incubação a 36 °C, a formação de um halo de inibição ao redor do poço indicou o controle do crescimento do patógeno pelo extrato, e a ausência do halo o crescimento do microrganismo mesmo sob a influência dos extratos. Como controle positivo do fungo foi utilizada uma suspensão de nistatina (100.000 UI/mL) e como controle positivo das bactérias foi utilizado cloranfenicol (500 µg/mL); o controle do solvente também foi realizado. Os controles foram aplicados do mesmo modo que o extrato. Para todos os tratamentos foram realizadas três repetições.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Muitos estudos vêm sendo realizados em relação aos fungos endofíticos presentes no interior das plantas, pressupondo que eles, assim como trazem benefícios à própria planta, resultem em inovação na produção de medicamentos.

Como resultado de nossa pesquisa, em relação aos fungos endofíticos presentes nas folhas de *A. cordifolia*, foram isolados e identificados quatro gêneros: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* e *Alternaria*. Não foi observada uma maior frequência em relação a um determinado gênero, uma vez que todos estavam presentes na maioria das folhas utilizadas.

Pesquisas relacionadas com identificação e isolamento de fungos endofíticos são inúmeras, no entanto, não foi encontrado estudo relacionado a fungos endofíticos em plantas da família Basellaceae no que se refere a identificação destes.

Ismail et al. (2018) realizaram um estudo com endofíticos obtidos das folhas de *A. cordifolia*, cujo objetivo era isolar os fungos e testá-los em relação a sua atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *E. coli*. Dois dos fungos isolados apresentaram um halo de inibição de 10 mm contra os patógenos

testados. Nesse estudo os autores somente isolaram os fungos, não os identificando.

Em relação aos gêneros encontrados em nossa pesquisa, Viana et al. (2021) isolaram e identificaram fungos do gênero *Fusarium* das folhas de *Ziziphus joazeiro*. O objetivo foi avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto do endofítico sobre biofilmes de *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo o extrato bruto eficaz na inibição do crescimento de *S. aureus*.

Bezerra et al. (2020) realizaram, através da coleta de folhas de bromélias habitantes da restinga, um isolamento e identificação de fungos endofíticos. As espécies selecionadas foram coletadas no Parque Nacional de Restingas de Jurubatiba (PNRJ) no estado do Rio de Janeiro, sendo elas *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb. e *Bromelia antiacantha* Bertol. Neste estudo vários gêneros de endofíticos foram encontrados: *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Monilia*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Trichoderma*.

Seguindo a mesma linha, Amatuzzi et al. (2017) conseguiram, através da coleta de folhas de morango (*Fragaria x ananassa*) da cultivar “Albion”, o isolamento e identificação de fungos endofíticos, sendo no total 517 colônias isoladas, com a identificação dos seguintes gêneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Ulocladium*, *Phoma*, *Bipolaris* e *Diaporthe*.

Mussi-Dias et al. (2012), com o objetivo de isolar e identificar fungos endofíticos, escolheram onze espécies distintas, sendo elas: *Bauhinia forficata*, *Plectranthus barbatus*, *Morus nigra*, *Vernonia condensata*, *Punica granatum*, *Pfaffia paniculata*, *Maytenus ilicifolia*, *Foeniculum vulgare*, *Cordia curassavica*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, todas escolhidas devido a sua importância medicinal. Destas espécies foram isolados os seguintes gêneros:

Phomopsis, Colletotrichum, Pestalotia, Trichoderma, Fusarium, Nigrospora, Glomerella.

Em relação à avaliação da atividade antimicrobiana, os extratos testados, tanto o bruto como o extrato semi-purificado, não apresentaram tal atividade nas concentrações utilizadas, ou seja, não ocorreu a formação de zonas de inibição do crescimento dos microrganismos testados quando estes foram expostos aos extratos de folhas de *A. cordifolia*.

Um estudo semelhante também não obteve atividade inibitória de *A. cordifolia* sobre o crescimento de bactérias. Neste estudo, o extrato metanólico de folhas da planta foi testado nas concentrações de 50 ppm, 100 ppm e 1000 ppm, contra os seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (AMERTHA et al., 2012).

Tshikalange et al. (2005) testaram a atividade antimicrobiana dos extratos clorofórmico e aquoso das raízes de *A. cordifolia*. Estes inibiram o crescimento de 09 dos 10 microrganismos utilizados (*Bacillus cereus*; *Bacillus pumilus*; *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; *Enterobacter cloacae*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Serratia marcescens*; *Enterobacter aerogenes*) sendo eles Gram-positivos e Gram-negativos. Dentre os microrganismos confrontados, os extratos só não inibiram o crescimento de *Bacillus cereus*. A concentração inibitória mínima (MIC) obtida ficou entre 50 e 60 mg/mL. Em nosso estudo os extratos foram testados em menor concentração (cerca de 10 mg/mL), não havendo neste caso inibição do crescimento microbiano. Além disso, a parte da planta utilizada para a obtenção dos extratos foi diferente.

Souza et al. (2014) utilizaram o óleo essencial das folhas de *A. cordifolia*, obtido por hidrodestilação, para testar a MIC e a Concentração

Bactericida Mínima (MBC) frente a 10 cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Os autores obtiveram MIC entre 25 e 100 µg/mL, mas somente quando o óleo foi testado frente a bactérias Gram-positivas. Em relação a MBC, apenas frente a uma bactéria (*Staphylococcus epidermidis*), dentre todas as testadas, o óleo apresentou valor significativo de 50 µg/mL. Concluiu-se que o óleo essencial de *A. cordifolia* apresentou fraca atividade inibitória, e somente contra os microrganismos Gram-positivos analisados. Este foi o único estudo conduzido com uma espécie de *A. cordifolia* obtida no Brasil. Como em nosso estudo não foi testado o óleo essencial da planta, e sim o extrato das folhas, não foi possível comparar os resultados obtidos.

Sari et al. (2020) obtiveram, através da técnica de maceração com etanol 96%, um extrato concentrado de *A. cordifolia*. Este foi ressuspendido em água destilada, obtendo-se concentrações de 30%, 40%, 50% e 100%, com objetivo de testá-los contra a bactéria *Vibrio cholerae*. Utilizando-se da técnica de esgotamento em ágar, obteve-se a maior atividade inibitória na concentração de 100%, com uma zona de inibição de 6,1 mm. Observa-se que as concentrações testadas foram muito altas, não sendo possível comparar com nossos resultados. Além disso, o microrganismo testado foi outro.

Rimporok et al. (2015) utilizaram as folhas de *A. cordifolia* para obterem, através do método de maceração com etanol 96%, um extrato bruto, com o objetivo de testá-lo frente à bactéria *Streptococcus mutans*. Neste estudo houve inibição do crescimento do microrganismo, com halo de inibição em torno de 8,3 mm. Os autores, no entanto, não deixaram claro qual foi a concentração de extrato bruto utilizada para a obtenção deste resultado.

No estudo feito por Rahmawati et al. (2014), um extrato obtido das folhas de *A. cordifolia*, nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100%, foi testado contra as bactérias *Bacillus cereus* e *Salmonella enteritidis* utilizando o

método de difusão em disco. Neste estudo todas as concentrações testadas se mostraram eficazes na inibição do crescimento de ambas as bactérias. Notavelmente, na concentração de 100%, a inibição do crescimento dos microrganismos foi maior, tendo sido obtidos halos de inibição de 9,64 mm e 6,86 mm para *B. cereus* e *S. enteritidis*, respectivamente. Contudo, não se pode comparar os resultados obtidos neste estudo com os nossos resultados, uma vez que o artigo não deixa claro como foram obtidos os extratos utilizados, além de terem sido testados outros tipos de microrganismos.

O Quadro 1 apresenta um resumo da literatura relacionada com experimentos de atividade antimicrobiana de extratos de *A. cordifolia*.

Quadro 1 – Relação de estudos encontrados na literatura que avaliaram a atividade antimicrobiana de *A. cordifolia*.

Referência	Parte da planta utilizada	Método de obtenção do extrato e concentrações	Microrganismos utilizados	Resultados
Tshikalang; Meyer; Hussein, 2005	Raízes	Extratos clorofórmico e aquoso, concentrados sob pressão reduzida e diluídos em DMSO 1% até uma concentração de 100 mg/mL	<i>Bacillus cereus</i> ; <i>Bacillus pumilus</i> ; <i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterobacter cloacae</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Serratia marcescens</i> ; <i>Enterobacter aerogenes</i>	MIC entre 50 e 60 mg/mL. Atividade apenas contra <i>Bacillus cereus</i> .

Souza et al., 2014	Folhas	Óleo essencial obtido por hidrodestilação	<i>Bacillus cereus</i> ; <i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Staphylococcus epidermidis</i> ; <i>Streptococcus faecalis</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Proteus vulgaris</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Salmonella typhi</i> Ty2	MIC entre 25 e 100 µg/mL, somente para bactérias Gram positivas
Amertha; Soeliongan; Kountul, 2012	Folhas	Maceração durante 24h com metanol 95% (extrato concentrado e ressuspensionado com água destilada em 3 concentrações: 50, 100 e 1000 ppm)	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	Não apresentou zona de inibição
Sari et al., 2020	Folhas	Maceração durante 24h com etanol 96% (extrato concentrado e ressuspensionado com água destilada em 4 concentrações: 30%, 40%, 50% e 100%)	<i>Vibrio cholerae</i>	Formação de zonas de inibição em todas as concentrações testadas, mas somente na concentração de 100% o halo de inibição foi maior que 6 mm
Rimporok; Kepel; Siagian, 2015	Folhas	Maceração durante 24h com etanol 96%	<i>Streptococcus mutans</i>	Formação de halo de inibição de 8,3 mm

Rahmawati; Bintari, 2014	Folhas	Extratos nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100%	<i>Bacillus cereus</i> e <i>Salmonella enteritidis</i>	Formação de halos de inibição, com diâmetro maior que 6 mm somente na concentração de 100%, sendo maior a inibição contra <i>Bacillus cereus</i>
Pitaloka; Sukandar, 2018	Folhas	Maceração com n-hexano, acetato de etila e etanol, seguido de concentração em rotavapor. Extratos ressuspensos em DMSO na concentração de 0,5%	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Extrato n-hexano foi o mais ativo (autores concluem que a presença de triterpenos pentacíclicos seriam os responsáveis pela ação)
Maharani; Puspitawati; Gunawan, 2018	Folhas	Infusão nas concentrações de 50%, 65%, 80%, 95% e 100%	<i>Porphyromonas gingivalis</i> e <i>Prevotella intermedia</i>	Formação de halos de inibição menores que 2 mm
Pakadang et al., 2021	Folhas	Maceração em etanol 96%, extrato concentrado e ressuspensado em carboximetilcelulose sódica em concentrações de 50 a 275 ppm	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	A concentração bactericida mínima foi de 225 ppm

Fonte: Próprio autor

Observa-se que a literatura aponta alguns trabalhos de atividade antimicrobiana realizados com diferentes partes da espécie *A. cordifolia*, sendo que quase a totalidade deles utilizou extratos brutos das folhas da planta em diferentes concentrações. Os resultados obtidos apontam para ausência de

inibição do crescimento de microrganismos ou então fraca a moderada inibição, somente para determinado microrganismo e com formação de pequenos halos ou zonas de inibição. Observa-se também que, no caso de resultados onde se obteve zonas de inibição maiores (> 6 mm), foram utilizadas altas concentrações do extrato. Nota-se que a maioria dos estudos foi proveniente da região da Indonésia e publicados no idioma nativo, deixando muitos questionamentos em relação às técnicas empregadas, desde os solventes até os métodos de extração utilizados. No único trabalho encontrado onde testou-se a atividade de *A. cordifolia* obtida no Brasil, testou-se o óleo essencial da planta, e concluiu-se que o mesmo apresenta fraca atividade inibitória sobre patógenos Gram-positivos. Além disso, somente dois estudos descrevem a Concentração Inibitória Mínima, sendo que um deles testou o óleo essencial da *A. cordifolia* (SOUZA et al., 2014) e o outro, além de ser utilizada outra parte da planta, a MIC obtida foi maior do que a concentração testada em nosso estudo (TSHIKALANGE et al., 2005).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No que se refere aos fungos endofíticos, foi possível isolar e identificar quatro gêneros: *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Scedosporium* sp. e *Alternaria* sp., sendo estes resultados inéditos para a espécie *A. cordifolia*. Portanto esta planta possui fungos endofíticos que enriquecem a biodiversidade brasileira e podem ser explorados como possíveis fontes de obtenção de substâncias com atividade biológica.

Os extratos testados em nosso experimento não apresentaram ação antimicrobiana contra *Candida albicans* (NEWP 0031), *Staphylococcus aureus* (NEWP 0038) e *Escherichia coli* (ATCC 2592). Conclui-se que, em relação à atividade antimicrobiana, a espécie *A. cordifolia* precisa ser mais investigada.

Sugerimos que novos estudos sejam feitos utilizando diferentes extratos, em diferentes concentrações e também contra outros organismos.

REFERÊNCIAS

ALBA, T. M.; PELEGRIN, C. M. G. DE; SOBOTTKA, A. M. Ethnobotany, ecology, pharmacology, and chemistry of *Anredera cordifolia* (Basellaceae): a review. **Rodriguésia**, v. 71, p. 01042019, 2020.

ANDREWS, J. H.; HIRANO, S. S. (Eds.). Microbial Ecology of Leaves. **New York: Springer-Verlag**, pg. 179-197, 1991

AMERTHA, I. B. P. M; SOELIONGAN, S.; KOUNTUL, C. *In vitro* inhibition zone test of Binahong (*Anredera cordifolia*) towards *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. **Indonesian Journal Of Biomedical Sciences**, [S.l.], nov. 2012. ISSN 2302-2906.

AMATUZZI, R. F. et al. Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera:Crambidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 3, p. 429–435, 9 nov. 2017.

ATHAYDE, M. L. et al. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 285-303.

BEZERRA, G. DE A. et al. Fungos endofíticos associados a bromélias de restingas, do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro – Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e971974298, 20 jun. 2020.

FELBER, A. C. et al. Bioprospecting foliar endophytic fungi of *Vitis labrusca* Linnaeus, Bordô and Concord cv. **Annals of Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 765–775, jun. 2016.

FISCHER, F.; COOK, N.B. **Micologia: fundamentos e diagnóstico**. Editora Revinter: Rio de Janeiro, 2001.

GNOATTO, S. C. B.; SCHENKEL, E. P.; BASSANI, V. L. HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 4, p. 723–725, ago. 2005.

HILGERT, N. I. Plants used in home medicine in the Zenta River basin, Northwest Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 1, p. 11–34, jun. 2001.

ISMAIL, ISMAIL. Exploration of Endofit Fungus From Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) as Antibacterial. **Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences**, v. 3, p 22-27, 2018.

LARONE, D.H. **Medically important fungi: a guide to identification**. Editora Elsevier: Nova Iorque. 2ª ed., 1993.

MAHARANI, E. S.; PUSPITAWATI, R.; GUNAWAN, H. A. Antibacterial effect of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaf infusion against black pigmented bacteria. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1073, p. 032013, ago. 2018.

MUSSI-DIAS, V.; ARAÚJO, A. C. O.; SILVEIRA, S. F.; ROCABADO J. M. A.; ARAÚJO, K. L. Fungos endofíticos associados a plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 261–266, 2012.

PAKADANG, S. R.; HILARIA, M.; DEWI, S. T. R.; SINALA, S.; JUMAIN, S.S. MIC and MKC Analysis of Herbal Medicine in Indonesia Against *Mycobacterium tuberculosis*. **Pharmacognosy Journal**, v. 13, n. 5, p. 1058–1064, 8 set. 2021.

PITALOKA, D. A. E.; SUKANDAR, E. Y. Synergistic Study on n-Hexane Extract of *Anredera cordifolia* (Ten.)v Steenis (binahong) Leaves Combined with Antituberculosis Drugs against Drug-Sensitive and Drug-Resistant of *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 8, n. 05, p. 134–138, 2018.

RAHMAWATI, F.; BINTARI, S. H. STUDI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SARI DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis*. **Unnes Journal of Life Science**, v. 3, n. 2, p 103-111, 2014.

RIMPOROK, S.; KEPEL, B. J.; SIAGIAN, K. V. UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera Cordifolia* Steenis) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans* SECARA IN VITRO. **Pharmacon**, v. 4, n. 4, p. 15-21, 2015.

SARI, M. K. et al. Effectiveness of the binahong leaf extract (*Anredera cordifolia*) in devoting bacterial growth *Vibrio cholerae* in vitro. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 725, p. 012073, 21 jan. 2020.

SCARPA, G. F. Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 115-135, 2004

SOUZA, L. F. et al. Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oil from *Anredera cordifolia* Grown in Brazil. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 7, p. 1934578X1400900, jul. 2014.

SOUZA VC; LORENZI H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas do Brasil**. 3a ed. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

SUMARTININGSIH, S. The Effect of Binahong to Hematoma. **International Science Index, Medical and Health Sciences**, v: 5, n. 6, p. 244-246, 2011.

THE UNIVERSITY OF ADELAIDE, Austrália. **Descriptions of medical fungi**. 3ªed. 2016. Disponível em: <<https://www.adelaide.edu.au/mycology/ua/media/1596/fungus3-book.pdf>> Acesso em: 02 de agosto de 2022.

TSHIKALANGE, T. E.; MEYER, J. J. M.; HUSSEIN, A. A. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 3, p. 515–519, jan. 2005.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519–528, jun. 2005.

VIANA, M. G.; ARAÚJO, J. P. R. de; AMORIM, L. D. M. de. Bioprospecção de fungos endófitos de *Ziziphus joazeiro* e potencial antibiofilmes. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 13, 2021. DOI: 10.51189/rema/804. Disponível em: <<https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rema/article/view/804>>. Acesso em: 22 novembro. 2022.

VIVIAN-SMITH, G.; LAWSON, B. E.; TURNBULL, I. The biology of Australian weeds 46. *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. **Plant Protection Quarterly**, v. 22, p. 2-10, 2007.

WATANABE, T. **Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species**. Editora CRC: Nova Iorque. 2^aed., 2002.