

Artigo

Compostos Orgânicos Voláteis de Fungos Endofíticos e suas Aplicações Biotecnológicas

Moraes, G. K. A.; Ferraz, L. F.; Chapla, V. M.*

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (6), 0000-0000. Data de publicação na Web: 29 de Setembro de 2020

<http://rvq.s bq.org.br>

Volatile Organic Compounds of Endophytic Fungi and Biotechnological Applications

Abstract: Endophytic fungi live in symbiotic association with plants for at least part of their life. They are potential agents for the production of new and bioactive compounds, as well as for the use in agriculture, medicine and industry. Endophytic fungi produce Volatile Organic Compounds (VOCs), which are low molecular weight compounds that readily evaporate at normal temperatures and pressures. Fungi are not only capable of producing a wide variety of volatile compounds, they are also able to metabolize them and they have a great importance in chemical ecology. Mixtures of VOCs produced by endophytic fungi are mainly composed by alcohols, aldehydes, esters, aromatic and aliphatic hydrocarbons, terpenoids, nitrogen and sulfur compounds. They can be used in biotechnological applications such as biofuels, mycofumigation, allelochemicals, flavor in food and in the chemotaxonomic identification of fungi. The objective of this mini review was to perform a search in the literature on the endophytic fungi producing VOCs and their biotechnological potential.


Keywords: Endophytic fungi; volatile organic compounds; mycofumigation; biofuel.

Resumo

Fungos endofíticos vivem em associação simbiótica com plantas por pelo menos parte de sua vida. Apresentam potencial na produção de substâncias novas e bioativas, e na descoberta de agentes para uso de interesse agrícola, medicinal e industrial. Os fungos endofíticos são produtores de compostos orgânicos voláteis (COVs), que são compostos de baixo peso molecular que evaporam facilmente em temperaturas e pressões ambiente. Os fungos não são apenas capazes de criar uma grande variedade de compostos voláteis como também de metabolizá-los, e são de grande importância na ecologia química. As misturas de COVs produzidos por fungos endofíticos são compostas principalmente por álcoois, aldeídos, ésteres, aromáticos, hidrocarbonetos alifáticos, terpenoides e compostos contendo nitrogênio e enxofre. Podem ser usados em aplicações biotecnológicas como biocombustíveis, agentes de micofumigação, agentes aleloquímicos, flavorizantes em alimentos e na identificação quimiotaxonômica de fungos. O objetivo desta mini revisão foi realizar uma busca na literatura sobre os fungos endofíticos produtores de COVs e seus potenciais biotecnológicos.

Palavras-chave: Fungos endofíticos; compostos orgânicos voláteis; micofumigação; biocombustível.

* Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, Rua Badejos, Lote 7 s/n, CEP 77402-970, Gurupi-TO, Brasil.

 vmchapla@uft.edu.br
DOI: [10.21577/1984-6835.20200116](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200116)

Compostos Orgânicos Voláteis de Fungos Endófitos e suas Aplicações Biotecnológicas

Gleys Kellen Aquino Moraes, Luana Fernandes Ferraz, Vanessa Mara Chapla*

Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, Rua Badejos, Lote 7 s/n, CEP 77402-970, Gurupi-TO, Brasil.

*vmchapla@uft.edu.br

Recebido em 7 de Janeiro de 2020. Aceito para publicação em 2 de Setembro de 2020.

1. Introdução
2. Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) Produzidos por Fungos Endófitos
3. Aplicações Biotecnológicas de COVs de Fungos Endófitos
 - 3.1. Micofumigação
 - 3.2. Biocombustíveis (Micodiesel)
 - 3.3. Aleloquímicos produzidos por endófitos
 - 3.4. Flavorizantes fúngicos
 - 3.5. Quimiotaxonomia
4. Conclusões

1. Introdução

Fungos que vivem em associação simbiótica com plantas por pelo menos parte de sua vida são denominados de fungos endófitos. Estes são capazes de beneficiar seu hospedeiro protegendo-o de insetos ou mesmo auxiliando no aumento da absorção de nutrientes. São produtores de metabólitos secundários que podem ter grande importância na descoberta de compostos bioativos novos, como antibióticos, antioxidantes, anticancerígenos, na produção de enzimas de interesse industrial, entre outras aplicações.¹⁻⁴ Além disso, são fonte importante em aplicações químicas e biotecnológicas para a utilização no setor farmacêutico e agrícola.

Fungos endófitos podem ser detectados por exame microscópico direto dos tecidos vegetais. Contudo, a maioria das pesquisas

envolvendo endófitos é realizada pelo isolamento dos microrganismos dos seus hospedeiros em condições apropriadas. Os microrganismos podem ser isolados de diferentes tecidos e órgãos vegetais, como folhas, ramos, caules e raízes. O exterior dos órgãos e tecidos vegetais devem passar por assepsia, de tal forma que a microbiota epifítica seja eliminada. Essa assepsia varia conforme o tipo de órgão utilizado. O processo mais comum envolve o tratamento do material vegetal com etanol 70% seguido pelo tratamento com hipoclorito de sódio (3 a 4%). Após a esterilização superficial, o material vegetal passa por várias lavagens com água destilada esterilizada. Pedacos do material vegetal são então inoculados em placas de Petri e diferentes meios de cultivo podem ser empregados no isolamento, sendo os mais comuns batata-dextrose-ágar e *sabouraud*.^{2,5,6}

Fungos endófitos são excelentes produtores de metabólitos secundários com diferentes estruturas

químicas e bioatividades¹⁻⁴. Dentre estes compostos estão presentes os compostos orgânicos voláteis (COVs), que são compostos de baixo peso molecular que podem vaporizar e entrar na fase gasosa em temperaturas e pressões atmosféricas ambiente. Geralmente, tem de baixa a média solubilidade em água e apresentam odor característico.^{7,8} Dentre as mais de 100.000 espécies de fungos descritas, cerca de 100 espécies foram avaliadas para a produção de COVs, apresentando misturas de diferentes classes químicas como álcoois, aldeídos, hidrocarbonetos, aromáticos, compostos contendo nitrogênio e enxofre, terpenoides, etc. A composição dos COVs produzido por fungos é dependente da espécie do microrganismo, do substrato, tempo de incubação, tipo de nutrientes, temperatura e outros parâmetros ambientais.^{9,10} Os fungos não são apenas capazes de produzir uma grande variedade de compostos voláteis, mas também são capazes de metabolizá-los.⁹

Os COVs produzidos por fungos endofíticos são importantes no funcionamento de ambos ecossistemas, acima e abaixo do solo. Estes compostos pertencem à classe conhecida como biopesticidas, apresentam-se geralmente em misturas, e possuem propriedades antimicrobianas potentes.^{11,12} Dessa forma os COVs possuem aplicações biotecnológicas na agricultura, indústria e na medicina. Na agricultura, o interesse nos COVs fúngicos é para o seu potencial biológico como agentes de biocontrole. Para o controle de fitopatógenos e ervas daninhas, o uso de COVs fúngicos é uma estratégia ambientalmente correta na redução do uso de fungicidas e herbicidas nas plantas cultivadas.⁹ Além disso os COVs podem contribuir ou permitir que sua planta hospedeira sobrepuje as plantas vizinhas,⁹ e têm sido aplicados na quimiotaxonomia para diferenciar espécies fúngicas.¹³

Acromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), devido à sua poderosa separação e detecção altamente sensível, é o principal método para detectar COVs fúngicos. Em geral, os COVs são coletados via *headspace* e em seguida analisados e separados por cromatografia gasosa. Os COVs são identificados das misturas complexas por comparação dos espectros de massas com base de dados espectrais, padrões ou índices cromatográficos de retenção. Outro método de coleta e análise dos COVs é via a microextração em fase sólida (SPME), onde a dessorção ocorre no próprio injetor do CG/EM. A SPME tornou-se mais popular nos últimos

anos pois reduz o tempo de preparação, combinando extração e concentração dos compostos em uma única etapa, enquanto aumenta a sensibilidade sobre outros métodos de extração. Os métodos de detecção e análise dos COVs obtidos de fungos são amplamente discutidos nas revisões de Morath *et al.* (2012)⁹ e Hung *et al.* (2015).¹³

Esta mini revisão teve por objetivo realizar buscas na literatura sobre os COVs de fungos endofíticos e suas potenciais aplicações biotecnológicas, com a finalidade de evidenciar a importância dos endofitos na produção de novos compostos bioativos, tais como os voláteis. Demonstrando o seu potencial na fabricação e desenvolvimento de novos produtos que podem contribuir para o enriquecimento financeiro e tecnológico da agricultura e do setor de biocombustíveis.

2. Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) Produzidos por Fungos Endofíticos

Mais de 300 compostos orgânicos voláteis (COVs) já foram identificados em fungos. Estes pertencem a diversas classes químicas tais como hidrocarbonetos simples, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, terpenos, compostos aromáticos e outros derivados benzênicos.^{9,14} Os COVs fúngicos são derivados tanto das vias metabólicas primárias quanto das secundárias, principalmente da oxidação metabólica da glicose e são provenientes de diferentes precursores, como acetato, aminoácidos, ácidos graxos e cetoácidos.^{9,15} A literatura que contém a detecção, identificação e quantificação de COVs produzidos por fungos está se expandindo. Uma das fontes mais abrangentes é o banco de dados que contém voláteis bacterianos e fúngicos conhecido como "mVOC" que foi compilado na Universidade de Rostock, Alemanha (consulte <http://bioinformatics.charite.de/mvoc>).^{14,16,17}

Fungos endofíticos de várias linhagens do filo Ascomycota são capazes de produzir COVs, mas membros da família Xylariaceae podem ser uma fonte especialmente rica. Fungos endofíticos produtores de COVs podem estar presentes em uma ampla gama de diferentes espécies vegetais habitando todos os territórios do planeta.¹⁸

A ecologia química tem elucidado o papel de muitos COVs fúngicos, que atuam principalmente como moléculas de sinalização ecologicamente importantes,^{13,19} tais como os semioquímicos, que funcionam como atrativo ou repelem

insetos e outros vertebrados.⁹ Alguns endófitos isolados de raízes produzem COVs que muitas vezes podem parecer ter funções imprecisas, mas provavelmente apresentam uma influência importante na dinâmica do carbono terrestre, química atmosférica e na ecologia subterrânea.^{18,20} Dessa forma os COVs podem reprogramar a arquitetura das raízes de plantas simbiotes ou aumentar o crescimento das plantas para expandir a superfícies de colonização. COVs também são

capazes de aumentar a resistência das plantas contra patógenos ativando vias de sinalização dependentes de fito-hormônios.¹⁹

A Tabela 1 demonstra fungos endofíticos que são capazes de produzir COVs em determinado cultivo, pois a composição das misturas de COVs pode variar de acordo com as condições de cultivo do microrganismo.¹⁷ Alguns COVs foram identificados em mais de um fungo endofítico, enquanto outros são específicos e inéditos de determinado endófito.

Tabela 1. Fungos endofíticos produtores de COVs

Fungo endofítico	Cultivo	Compostos majoritários - COVs
<i>Nodulisporium</i> sp. cepa GS4d2II1	Meio BDA	2-metil-1-butanol, eucaliptol, terpinoleno, 3-metil-1-butanol, ocimeno e outros 65 COVs. ⁴¹
<i>Hypoxylon anthochroum</i> cepa Blaci	Meio BDA	2-metil-1-butanol, eucaliptol, terpinoleno, álcool feniletílico e outros 23 COVs. ¹²
<i>Muscodor albus</i> E6	Meio BDA	Ácido 2-metil-butanoico, ácido 3-metil-butanoico, álcool feniletílico, cariofileno, derivados de naftaleno e outros 15 COVs. ³³
<i>Muscodor suthepensis</i> CMUCib462	Grão de centeio	3-metil-1-butanol, 2-metilpropano e outros 13 COVs. ⁷²
<i>Muscodor suthepensis</i> CMUCib462	Meio BDA	3-metil-1-butanol, 2-metilpropano e outros 24 COVs. ⁷²
<i>Muscodor roseus</i>	Meio BDA	Ácido 2-butenóico, éster etílico; 1,2,4-trimetilbenzeno; 2,3-nonadieno. ⁴⁵
<i>Muscodor crispans</i>	Meio BDA	Ácido 2-metil-propanoico, éster metílico, 3-metil-1-butanol; 3-metil-1-butanolacetato, 2-metilbutilester-2-metil-ácido propanoico, etano. ⁴²
<i>Muscodor cinnamomi</i>	Meio BDA	Azuleno, ácido 2-metil-butanoico metil ester, ácido 2-metil-propanoico metil ester. ⁷³
<i>Muscodor fengyangensis</i>	Meio BDA	Derivados de naftaleno: α -felandreno, β -felandreno, 2-cicloexeno, ácido propanoico. ⁷⁵
<i>Phaeosphaeria nodorum</i>	Meio BDA	3-metil-1-butanol, acetato de etila, ácido acético, 2-propin-1-ol e 2-propenonitrila. ⁴⁴
<i>Hypoxylon anthochroum</i> cepa Blaeg1	Meio arroz	O eucaliptol, limoneno, álcool feniletílico, 8-metileno-triciclo octano, tujeno, sabineno, 4-careno, γ -terpineno, α -terpineol, um composto semelhante a cariofileno, β -tujeno, α -felandreno e 1-etenil-4-metoxi-benzeno. ³²
<i>Hypoxylon anthochroum</i> cepa Gseg1	Meio arroz	O eucaliptol, limoneno, álcool feniletílico, 8-metileno-triciclo octano, tujeno, sabineno, 4-careno, γ -terpineno, α -terpineol, um composto semelhante a cariofileno, β -tujeno, α -felandreno, α -terpinoleno e 1-(1-propinil)-cicloexeno. ³²
<i>Hypoxylon anthochroum</i> cepa Haeg2	Meio arroz	O eucaliptol, limoneno, álcool feniletílico, 8-metileno-triciclo octano, tujeno, sabineno, 4-careno, γ -terpineno, α -terpineol, um composto semelhante a cariofileno, 1-metil-3-(1-metiletil)-benzeno, e 1-etenil-4-metoxi-benzeno. ³²
<i>Hypoxylon anthochroum</i> cepa Smeg4	Meio arroz	O eucaliptol, álcool feniletílico, 8-metileno-triciclo, octano, aristolocheno, β -elemene, guaia-10, 3-metil-1-pentanol, ácido fenilbutanodioico, 2-pentil-furano, aristoleno, valenceno, sesquitujeno além de cinco compostos não identificados. ³²
<i>Neofusicoccum ribis</i>	Meio BDA	Isobutanol, álcool isopentílico, 2-metilbutan-1-ol, álcool feniletílico, undecan-2-ona, β -elemeno, aristoleno, α -cadinol, α -selineno, eremofileno e outros 13 COVs. ³⁴

Continua...

Continuação...

<i>Botryosphaeria mamane</i>	Meio BDA	Isobutanol, álcool isopentílico, 2-metilbutan-1-ol, álcool fenilético, aristoleno e α -selineno. ³⁴
<i>Geniculosporium</i> sp.	Extrato fúngico	1-cloro-3,4-dimetoxibenzeno e o 1,3- dicloro-4,5-dimetoxibenzeno. ⁷⁶
<i>Phomopsis</i> sp.	Meio BDA	3-metil-1-butanol, benzenoetanol, 2-metil-1-propanol, 2-propanona e sabineno. ³⁸
<i>Muscodor yucatanensis</i>	Meio BDA	2-metilbutil acetato, 2-pentil-furano, cariofileno e aromadendreno e outros 34 COVs. ⁴³
<i>Gliocladium roseum</i> (<i>Ascocoryne sarcoides</i>)	Meio à base de farinha de aveia	Ésteres de acetato e diferentes cadeias lineares com álcoois hexil, heptil, octil e sec-octil, 2,6-dimetil, decano, 3,3,5-trimetil-ciclohexeno, 4-metil-decano. ⁴⁸
<i>Gliocladium roseum</i> (<i>Ascocoryne sarcoides</i>)	Meio à base de celulose	Heptano, octano, benzeno e hidrocarbonetos ramificados. ⁴⁸
<i>Gliocladium roseum</i> (<i>Ascocoryne sarcoides</i>)	Fermentação em biorreator com meio específico	Nonanal, 1-octen-3-ol, 3-metil-1-butanol, benzaldeído, etc. ⁴⁴
<i>Hypoxylon</i> sp. cepa CI-4A	Meio BDA	1,8-cineol, 1-metil-1,4-ciclohexadieno e 3-metoxi-2-naftolenol. ⁷⁷
<i>Hypoxylon</i> sp. cepa CI-4A	Meio BDA + inibidores da DNA metiltransferase e histona desacetilase	α -tujeno, β -mirceno, sabineno, γ -terpineno, α -terpinoleno e β -selineno, além de vários alcanos primários e secundários, alcenos, ácidos orgânicos e derivados do benzeno. ⁷⁷
<i>Daldinia</i> sp. cepa EC-12	Meio BDA	1-metil-4-ciclohexadieno, 1-4-pentadieno e 1-metil-4-(1-metiletênil)-ciclohexeno, juntamente com alguns álcoois e terpenoides. ³⁵
<i>Daldinia</i> sp. cepa EC-12	Fermentação	3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, 1-pentanol, 1-hexanol, 1-heptanol, 1-octanol, 1-nonanol juntamente com álcool fenilético, também produziu álcoois alquílicos, ésteres, cetonas, derivados do benzeno, alguns terpenóides e hidrocarbonetos, etc. ³⁵
<i>Nodulisporium</i> sp.	Meio BDA	2-pentanona, 4-metil-3-hexanona, 2-4-dimetil-3-hexanona e 4-metil-2-hexanona juntamente com diversos álcoois, ésteres e ácido isobutírico. ⁷⁸
<i>Nodulisporium</i> sp. cepa CF016	Meio BDA	5,5-dimetil-1,3-ciclopentadieno, 1-metil-1,4-ciclo- hexadieno, 2-metil-5,6-di-hidro-2H-pirano, ciclo-hexano, β -elemeno, β -selineno, α -selineno. ²²
<i>Myrothecium inundatum</i>	Meio BD	3-octanona, 3-octanol e 7-octen-4-ol. Outros compostos foram identificados terpenos, ácidos orgânicos, cetonas e álcoois. ⁴⁹
<i>Myrothecium inundatum</i>	Condições microaerofílicas	Octano, 1,4- ciclohexadieno, ciclohexano, entre outros. ⁴⁹
<i>Oxyporus latemarginatus</i> EF069	Farelo de trigo e casca de arroz	5-pentil-2-furaldeído. ⁷⁹
<i>Mycelia sterilia</i>	Meio líquido contendo sacarose e diversos sais.	Acetol; 2,3-butanediol, compostos alifáticos (ácido hexadecanoico metil éster, ácido 9-octadecadienoico metil éster, ácido 9,12-octadecadienoico metil éster). ⁸⁰
<i>Aspergillus niger</i>	Meio líquido	2-feniletanol. ⁸¹
<i>Penicillium</i> spp.	Meio BDA	2-metilbuano, 3-metil-1-butanol, β -butirolactona, 2-butenedinitrila. ⁸²
<i>Geotrichum</i> spp.	Meio BDA	3-metil-1-butanol, 1,4-metano-1H-ciclopropa piridazina, ácido acético pentil éster; 2-metil-1-propanol. ⁸²

3. Aplicações Biotecnológicas de COVs de Fungos Endofíticos

Na ecologia química, os COVs produzidos por fungos endofíticos são importantes no funcionamento de ambos ecossistemas, acima e abaixo do solo. Na área de biocombustíveis, esses compostos possuem diversas aplicações biotecnológicas. Na agricultura, são importantes agentes de micofumigação e na indústria alimentícia são utilizados como flavorizantes. Finalmente, em quimiotaxonomia, estes compostos são muito úteis para a diferenciação de fungos, dentre outras aplicações.

3.1. Micofumigação

Os COVs produzidos por fungos endofíticos podem ser usados para micofumigação, que é um processo que envolve a aplicação das misturas de COVs a fim de controlar outros microrganismos ou matá-los. É utilizada como uma alternativa ao uso de pesticidas tóxicos sintéticos ou quando os fitopatógenos são resistentes a eles. Além disso os COVs apresentam efeito sinérgico na inibição de organismos alvo.²¹⁻²⁶

A mistura de COVs produzida por *Muscodor albus*, um fungo endofítico obtido da planta *Cinnamomum zeylanicum*, apresentou propriedades antibióticas, além de matar uma variedade de fitopatógenos no processo de micofumigação.²⁷ *M. albus* foi a primeira espécie na qual o processo de micofumigação foi descrito. O acetado de isoamila (**1**, Tabela 2) foi identificado como sendo o composto biologicamente mais ativo. Contudo, a atividade antimicrobiana é um efeito sinérgico da mistura de COVs que incluem classes de ésteres, álcoois, ácidos e lipídeos.^{28,29}

Apesar de os COVs produzidos por *M. albus* terem demonstrado serem eficazes para a micofumigação, estes compostos exibiram propriedades toxigênicas em estudos utilizando *E. coli*,³⁰ sendo o composto *N*-metil-*N*-nitrosoisobutiramida (**2**) o responsável pela toxicidade, atuando principalmente na metilação do DNA.³¹ Outros estudos em relação ao mecanismo de ação dos COVs produzidos pelo gênero *Muscodor* devem ser realizados a fim de estabelecer uma aplicação apropriada como micofumigante industrial.^{30,31}

Diversos fungos endofíticos produzem diferentes misturas de COVs que têm demonstrado atividade antifúngica contra uma ampla gama de

fungos fitopatogênicos.^{13,22,23,38-42} É o caso dos COVs produzidos por *Muscodor yucatanensis* que foram letais para *Guignardia mangifera*, *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., *Alternaria solani*, *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora capsici* e *P. parasítica*, além de inibir o alongamento da raiz em amaranto, tomate e capim-arroz.⁴³ Assim como os COVs de *Hypolon anthochroum* cepa Blaci, que possuem efeito inibitório *in vitro* contra plantas daninhas e microrganismos fitopatogênicos. Estes COVs podem ser utilizados como agente de micofumigação com sucesso no controle de doenças pós-colheita.¹² Já os COVs produzidos por *Nodulisporium* sp. cepa CF016 foram agentes eficazes de micofumigação contra doenças de pós-colheita causadas pelos fitopatógenos *B. cinerea* e *P. expansum* em maçãs.²²

Os COVs encontrados nas quatro cepas de *H. anthochroum* evidenciaram o seu potencial como agentes de micofumigação para o controle de *F. oxysporum* em infecções de tomates pós-colheita.²⁷ Já os COVs produzidos por *Phaeosphaeria nodorum* tem efeito antifúngico contra *M. fructicola*, inibindo o crescimento do fitopatógeno e modificando sua morfologia.⁴⁴

O álcool feniletílico (**3**, Tabela 2) é um COV produzido por diferentes fungos endofíticos, como distintas cepas de *Hypoxyton anthochroum*,^{12,32} *Muscodor albus* E6,³³ *Botryosphaeria mamane*, *Neofusicoccum ribis*³⁴ e *Daldinia* sp. cepa EC-12.³⁵ É um composto ativo contra *F. oxysporum* em tomates cereja, causando vazamento de eletrólitos, deformação das hifas fúngicas e inibição de respiração fúngica.⁸ Também apresenta atividade antifúngica contra *R. solani* e *Fusarium solani*,³⁶ inibe o crescimento micelial de *A. flavus* e a produção de aflatoxina B1.³⁷ Desta forma o álcool feniletílico pode ser utilizado como um potente agente de micofumigação.

3.2. Biocombustíveis (Micodiesel)

A busca por fontes renováveis para a obtenção de biocombustíveis é uma área promissora que está em expansão. A descoberta de microrganismos capazes de produzir hidrocarbonetos relacionados a combustível é útil, e está comprovada. Fungos endofíticos produzem COVs identificados como hidrocarbonetos, que são os principais componentes dos combustíveis fósseis. Desta forma, eles apresentam potencial aplicação biotecnológica na produção de biocombustível.^{13,18,35}

A idéia de que os fungos endofíticos podem produzir hidrocarbonetos relacionados a combustíveis surgiu do endófito *Muscodor albus* que é capaz de produzir COVs identificados como hidrocarbonetos.⁴⁵ Com isso os COVs receberam o nome de “micodiesel” e o conceito de que os fungos endofíticos podem produzir biocombustível foi proposto.³⁵ A partir deste momento os fungos endofíticos começaram a ser estudados em relação a produção de COVs que poderiam ser utilizados como biocombustíveis.

Os COVs de *Gliocladium roseum*, que são derivados de hidrocarbonetos e hidrocarbonetos ramificados, podem ser utilizados como potencial combustível,⁴⁶⁻⁴⁸ bem como os compostos produzidos por *Hypoxylon* sp. cepa EC-12, que apresentam altas densidades de energia.³⁵ Já os COVs produzidos por *Daldinia* sp. cepa CI-4A possuem potencial biológico e de biocombustível.³⁵

O endófito *Nodulisporium* sp. produziu COVs que possuem tanto potencial biológico quanto de biocombustível. Os COVs mais abundantes identificados foram o 1,8-cineol e o 2-metil-1-butanol (Tabela 2), além do propilciclohexano, que é um componente do biocombustível. O cineol, um éter bicíclico saturado utilizado como biocombustível, foi também produzido pelo endófito *Nodulisporium* sp. *Phoma* sp., que também produz voláteis que tem potencial como biocombustível.²¹

O potencial dos fungos endofíticos como produtores de micodiesel tem sido estudado. Diferentes espécies foram descritas capazes de produzir hidrocarbonetos, com é o caso de *Phomopsis* sp., *Myrothecium inundatum* e *Gliocladium* spp.,^{38,39,49,50} e muitas outras descritas nas revisões de^{9,13,18,51-53}.

3.3. Aleloquímicos produzidos por endófitos

Os compostos aleloquímicos são substâncias químicas produzidas por certos organismos e que, no ambiente, afetam outros componentes da comunidade. As características dos aleloquímicos como a inibição da germinação das sementes e/ou a interferência no desenvolvimento das plântulas próximas, os tornam promissores para serem aplicados em biotecnologia. Como herbicidas e inseticidas, no controle orgânico de ervas daninhas e pragas. O uso de substâncias naturais garante menor ou nenhuma contaminação do ambiente e oferece um produto com maior qualidade alimentar.⁵⁴⁻⁵⁶

Alguns autores estudam o efeito do uso de fungos endofíticos na germinação de plântulas e no crescimento de fitopatógenos, elucidando o potencial da alelopatia na agricultura. Rubalcava et al.⁴³ examinaram o efeito aleloquímico dos COVs produzidos pelo fungo endofítico *Muscodor yucatanensis* frente as dicotiledôneas, amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) e tomate (*Lycopersicon esculentum* var. Pomodoro; Solanaceae), e a monocotiledônea, o capim arroz (*Echinochloa crus-galli*). A atividade fitoinibitória teve maior efeito após 10 dias de crescimento. Os resultados demonstram que *M. yucatanensis*, assim como outras espécies de *Muscodor*, produzem compostos voláteis em condições *in vitro* tóxicas para outros microrganismos e raízes de plantas.⁴³

Hao et al.⁵⁷ estudaram o efeito aleloquímico do fungo endofítico *Alternaria* J46 frente a dezenove diferentes espécies vegetais, o fungo inibiu fortemente a germinação das monocotiledôneas testadas, e não mostrou inibição às dicotiledôneas, exceto a glória da manhã e bedros. Entretanto, houve alta inibição das culturas de trigo e arroz, o que impossibilita o uso deste fungo no campo.⁵⁷

Estudos demonstram que os COVs produzidos por fungos também podem atuar com efeito aleloquímico de promoção de crescimento, como é o caso do endófito *F. oxysporum* (MSA 35) que promoveu o crescimento de alface (*Lactuca sativa*). O composto volátil β -cariofileno (Tabela 2) foi considerado um dos responsáveis pela promoção do crescimento da planta.⁹

Alguns autores também relatam a inibição do crescimento de microrganismos como sendo causado por aleloquímicos,^{43,58} porém existem poucos trabalhos que relatam compostos aleloquímicos provenientes de fungos endofíticos. Isto consiste em um campo vasto de pesquisas, uma vez que os fungos vivem em associação direta com as plantas e podem ter um papel ecológico importante na competição e defesa das plantas hospedeiras.

3.4. Flavorizantes fúngicos

De modo geral, o sabor é o resultado da existência de diversos componentes voláteis e não voláteis. Enquanto os compostos não voláteis estão intimamente ligados ao sabor, os voláteis são capazes de influenciar tanto o sabor como o aroma. Uma ampla gama de compostos podem ser responsáveis pelo aroma, como: aldeídos,

ésteres, álcoois, compostos fenólicos, lactonas, dentre outros.⁵⁹

Apesar de grande parte dos aditivos alimentares ser produzida através de síntese química e ser incrementada de forma artificial, pesquisas recentes demonstram que o consumidor vem preferindo alimentos produzidos e rotulados como naturais. A organização representante da indústria mundial de sabor (*International Organization of the Flavor Industry*) englobou o uso de microrganismos como bactérias, fungos filamentosos, leveduras e enzimas como um processo natural de produção de enzimas e flavorizantes.⁶⁰

A produção de flavorizantes fúngicos é uma das características mais notórias desses microrganismos. Diferentes espécies de microrganismos foram descritas como produtores de COVs importantes para a indústria alimentícia, como a de aromas e flavorizantes.^{9,61,62} Um exemplo são espécies de *Trichoderma* que produzem o aroma de coco.⁶³ *T. viride* foi relatada como produtora do composto 6-pentil- α -pirona (Tabela 2), de grande interesse da indústria alimentícia, sendo o principal responsável pelo aroma de coco nesta espécie.^{64,65}

Iamanaka et al.⁶⁶ estudaram a produção de COVs por fungos isolados do café e seus potenciais em modificar a qualidade sensorial da bebida. As espécies estudadas foram *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus luchuensis* e *Penicillium crustosum*. Estas espécies produziram diferentes COVs e de forma geral receberam avaliação positiva e características sensoriais desejáveis, como o aroma floral e caramelado além do sabor doce. Somente para a espécie *A. luchuensis* foi detectado o oct-1-en-3-ol, que é caracterizado por apresentar propriedades negativas à bebida de café.

Apesar dos microrganismos serem relatados com potencial biotecnológico para a produção de COVs flavorizantes, estudos com fungos endofíticos ainda são escassos e faz-se necessário um maior número de pesquisas envolvendo este tipo de aplicação.

3.5. Quimiotaxonomia

Os marcadores químicos são compostos bioativos produzidos pelos microrganismos e são importantes para a confirmação e diferenciação de espécies. Além disso, são fundamentais para a regulação da qualidade de agentes de controle

biológico, incluindo a detecção de materiais nocivos ou tóxicos, tais como metais pesados e microrganismos. Sendo assim, os COVs podem ser utilizados para a identificação e classificação de espécies e isolados de diferentes gêneros de fungos.^{67,68} Por exemplo Berger et al.⁶⁹ foram capazes de caracterizar diferentes basidiomicetos pelos odores característicos, enquanto Polizzi et al.⁷⁰ foram capazes de distinguir espécies de *Chaetominum* spp. e *Epicoccum* spp. de um grupo de setenta e seis cepas fúngicas utilizando a produção de compostos voláteis.

Mas foi a partir dos estudos de Larsen e Frisvad⁷¹, sobre a distinção de espécies do gênero *Penicillium* pela produção de COVs, que se deu maior importância a essa ferramenta para caracterizar espécies fúngicas.^{13,34}

O eucaliptol é o COV mais encontrado em fungos endofíticos do gênero *Hypoxyton* e uma cepa de *Nodulisporium*, sugere-se que este composto possa ser usado como marcador químico destes gêneros.³² Os COVs produzidos por quatro cepas de *Hypoxyton anthochroum* apresentaram efeito inibitório contra *F. oxysporum*. Estes COVs também podem ser usados para a identificação quimiotaxonômica dos isolados de *H. anthochroum*, pois sua morfologia colonial varia e nem sempre é útil para a identificação.³²

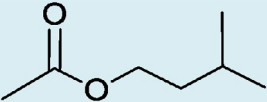
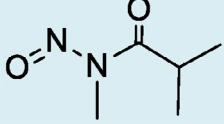
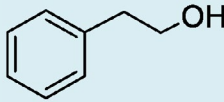
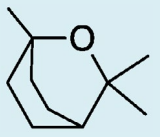
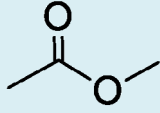
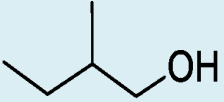
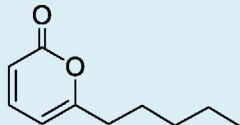
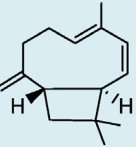
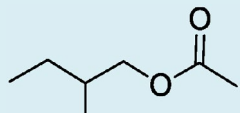
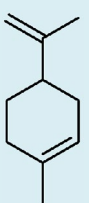
Os COVs α -bisabolol, α -selineno, α -cedrene epóxido e acetato de guaiol foram sugeridos como biomarcadores de dez espécies de fungos endofíticos da família *Botryosphaeriaceae*.³⁴ Os COVs de *Neofusicoccum parvum* e *Neofusicoccum ribis* são uma ferramenta auxiliar para a identificação destas espécies, sendo os sesquiterpenos os principais.³⁴

O sesquiterpeno α -bisabolol produzido unicamente por *Pseudofusicoccum stromaticum*, sugere ser um potencial biomarcador para essa espécie. Além disso o α -bisabolol também tem sido utilizado em formulações cosméticas devido a suas atividades anti-inflamatória, anti-irritante, antibacteriana, antiespasmódico, antialérgica e vermífuga. Da mesma forma, o α -selineno pode ser utilizado como biomarcador para a espécie *Botryosphaeria mamane*.³⁴

4. Conclusões

Os fungos endofíticos produzem uma grande quantidade de COVs. Ainda há muito a ser

Tabela 2. COVs produzidos por fungos endofíticos e suas respectivas atividades biológicas

Numero	Composto	Atividade encontrada
1	 <p>Acetato de isoamila</p>	Antimicrobiana ^{28,29}
2	 <p>N-metil-N-nitrosoisobutiramida</p>	Antimicrobiana ³¹
3	 <p>Álcool feniletílico</p>	Antifúngica contra fitopatogenos ³³⁻³⁷
4	 <p>1,8-cineol</p>	Antimicrobiana ³⁵ e potencial biocombustível ²¹
5	 <p>Acetato de metila</p>	Antifúngica ⁷²
6	 <p>2-metil-1-butanol</p>	Atividade antifúngica ^{28,29} e potencial biocombustível ²¹
7	 <p>6-pentil-α-pirona</p>	Antibiótico e aroma de coco ^{64,65}
8	 <p>β-cariofileno</p>	Promotor de crescimento de plantas ⁹
9	 <p>Acetato de 2-metilbutila</p>	Aleloquímica ⁴³
10	 <p>Limoneno</p>	Antimicrobiana ³²

explorado tendo em vista a quantidade existente destes microrganismos, os quais podem atuar como fontes de compostos novos e bioativos. As aplicações citadas neste estudo abrangem a conservação da biodiversidade, redução dos problemas com a matéria-prima não renovável referente aos biocombustíveis, a substituição dos pesticidas químicos por biológicos, pelos processos de microfumigação e aleloquímico, o potencial para aplicação na indústria alimentícia e ainda a identificação de espécies por marcadores químicos. Os COVs de fungos endofíticos apresentam inúmeras aplicabilidades biotecnológicas que precisam ser estudadas a nível industrial devido sua importância.

Agradecimentos

O desenvolvimento desta pesquisa contou com benefícios do Programa Institucional de Produtividade em Pesquisa da UFT (PROPESQ/UFT). GKAM e LFF agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelas bolsas de estudo.

Referências Bibliográficas

- ¹ Azevedo, J. L.; Maccheroni Jr., W.; Pereira, O. J.; Araújo, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recente advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology* **2000**, *3*, 40. [Link]
- ² Chapla, V. M.; Biasetto, C. R.; Araujo, A. R. Fungos endofíticos uma nova fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. *Revista Virtual de Química* **2013**, *5*, 421. [CrossRef]
- ³ Lacava, P. T.; Sebastianes, F. L. S.; Azevedo, J. L. Em: *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*; Esposito, E.; Azevedo, J. L., eds.; 2a ed.; EDUCS: Caxias do Sul, 2010, cap. 5.
- ⁴ Ribeiro, A. S.; Pamphile, J. A. Micro-organismos endofíticos e seu potencial biotecnológico. *Revista UNINGÁ* **2017**, *29*, 88. [Link]
- ⁵ Azevedo, J. L.; Maccheroni Jr., W.; Araujo, W. L.; Pereira, J. O. Em *Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria*; Serafini, L. A.; Barros, N. M.; Azevedo, J. L., eds.; EDUCS: Caxias do Sul, 2002, cap. 3. [Link]
- ⁶ Araujo, W. L.; Lacava, P. T.; Marcon, J.; Lima, A. O. S.; Sobral, J. K.; Pizzirani-Kleiner, A. A.; Azavedo, J. L.; *Guia prático: isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos*, Piracicaba: CALO, 2010. [Link]
- ⁷ Herrmann, A.; *The Chemistry and Biology of Volatiles*, Wiley: Chichester, 2010. [CrossRef]
- ⁸ Medina-Romero, Y. M.; Roque-Flores, G.; Macías-Rubalcava, M. L. Volatile organic compounds from endophytic fungi as innovative postharvest control of *Fusarium oxysporum* in cherry tomato fruits. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2017**, *101*, 8209. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹ Morath, S. U. Bennett, R. W. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal biology reviews* **2012**, *26*, 73. [CrossRef]
- ¹⁰ Banerjee, D.; Strobel, G. A.; Booth, E. Geary, B.; Sears, J.; Spakowicz, D.; Busse, S. An endophytic *Myrothecium inundatum* producing volatile organic compounds. *Mycosphere* **2010**, *1*, 229. [Link]
- ¹¹ Effmert, U. Volatile mediated interactions between bacteria and fungi in the soil. *Journal of Chemical Ecology* **2012**, *38*, 665. [CrossRef] [PubMed]
- ¹² Ulloa-Benítez, Á.; Medina-Romero, Y. M.; Sánchez-Fernández, R. E.; Lappe-Oliveras, P.; Roque-Flores, G.; Duarte Lisci, L.; Herrera Suárez.; Macías-Rubalcava, M. L. Phytotoxic and antimicrobial activity of volatile and semi-volatile organic compounds from the endophyte *Hypoxyton anthochroum* strain Blaci isolated from *Bursera lancifolia* (Burseraceae). *Journal of Applied Microbiology* **2016**, *121*, 380. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³ Hung, R.; Lee, S.; Bennett, J. W. Fungal volatile organic compounds and their role in ecosystems. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2015**, *99*, 3395. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴ Lemfack, M.C.; Nickel, J.; Dunkel, M.; Preissner, R.; Piechulla, B. VOC: A database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Reserch* **2014**, *42*, 744. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁵ Korpi, A.; Järnberg, J.; Pasanen, A.-L. Microbial Volatile Organic Compounds. *Critical Reviews in Toxicology* **2009**, *39*, 139. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶ Lemfack, M. C.; Gohlke, B.; Toguem, S. M. T.; Preissner, S.; Piechulla, B.; Preissner, R. mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Research* **2018**, *46*, 1261. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷ Bennett, J. W.; Inamdar, A. A. Are Some Fungal Volatile Organic Compounds (VOCs) Mycotoxins? *Toxins* **2015**, *7*, 3785. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Zhi-Lin, Y.; Yi-Cun, C.; Bai-Ge, X.; Chu-Long, Z. Current perspectives on the volatile-producing fungal endophytes. *Critical Reviews in Biotechnology* **2012**, *32*, 363. [CrossRef]
- ¹⁹ Werner, S.; Polle, A.; Brinkmann, N. Belowground communication: impacts of volatile organic compounds (VOCs) from soil fungi on other soil-inhabiting organisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2016**, *100*, 8651. [CrossRef] [PubMed]

- ²⁰ Bäck, J.; Aaltonen, H.; Hellén, H.; Kajos, M. K.; Patokoski, J.; Taipale, R.; Pumpanen, J.; Heinonsalo, J. Variable emissions of microbial volatile organic compounds (MVOCs) from root-associated fungi isolated from *Scots pine*. *Atmospheric Environment* **2010**, *44*, 3651. [CrossRef]
- ²¹ Strobel, G. A. *Muscodor* species—endophytes with biological promise. *Phytochemistry Review* **2011**, *10*, 165. [CrossRef]
- ²² Park, M. S.; Ahn, J.; Choi, G. J.; Choi, Y. H.; Jang, K. S.; Kim, J. C. Potential of the volatile-producing fungus *Nodulisporium* sp. CF016 for the control of postharvest diseases of apple. *The Plant Pathology Journal* **2010**, *26*, 253. [Link]
- ²³ Suwannarach, N.; Kumla, J.; Bussaban, B.; Nuangmek, W.; Matsui, K.; Lumyong, S. Biofumigation with the endophytic fungus *Nodulisporium* spp. CMU-UPE34 to control postharvest decay of citrus fruit. *Crop Protection* **2013**, *45*, 63. [CrossRef]
- ²⁴ Butt, T. M.; Jackson, C.; Magan, N. Introduction—Fungal biological control agents: progress, problems and potential. In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.), *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. *CAB International* **2002**, *1*. [CrossRef]
- ²⁵ Strobel, G.A.; Dirkse, E.; Sears, J.; Markworth, C. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology* **2001**, *147*, 2943. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁶ Strobel, G. A. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection* **2003**, *5*, 535. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁷ Strobel, G. A. *Muscodor albus*- the anatomy of an important biological discovery. *Microbiology Today* **2012**, *39*, 108.
- ²⁸ Strobel, G. *Muscodor albus* and its biological promise. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **2006a**, *33*, 514. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁹ Strobel, G. Harnessing endophytes for industrial microbiology. *Current Opinion in Microbiology* **2006b**, *9*, 240. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁰ Alpha, C. J.; Campos, M.; Jacobs, W. C.; Strobel, A. S. Mycofumigation by the Volatile Organic Compound-Producing Fungus *Muscodor albus* Induces Bacterial Cell Death through DNA Damage. *Applied and Environmental Microbiology* **2015**, *81*, 1147. [Link]
- ³¹ Hutchings, M. L.; Alpha, C. C. J.; Hiller, D. A.; Berro, J. Strobel, S. A. Mycofumigation through production of the volatile DNA-methylating agent N-methyl-N-nitrosoisobutyramide by fungi in the genus *Muscodor*. *Journal of Biological Chemistry* **2017**, *292*, 7358. [CrossRef] [PubMed]
- ³² Macías-Rubalcava, M. L.; Sánchez-Fernández, R. S. Roque-Flores, G.; Lappe, O. P.; Medina-Romero, M. Y. Volatile organic compounds from *Hypoxyton anthochroum* endophytic strains as postharvest mycofumigation alternative for cherry tomatoes. *Food Microbiology* **2018**, *76*, 363. [CrossRef]
- ³³ Strobel, G. A.; Kluck, K.; Hess, W. M.; Sears, J.; Ezra, D.; Vargas, P. N. *Muscodor albus* E-6, an endophyte of *Guazuma ulmifolia* making volatile antibiotics: isolation, characterization and experimental establishment in the host plant. *Microbiology* **2007**, *153*, 2613. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁴ Oliveira, F. C.; Barbosa, F. G.; Mafezoli, J.; Oliveira, M. C. F.; Camelo, A. L. M.; Longhinotti, E.; Lima, Ari, C. A.; Câmara, M. P. S.; Gonçalves, F. J. T. Volatile Organic Compounds from Filamentous Fungi: a Chemotaxonomic Tool of the *Botryosphaeriaceae* Family. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2015**, *26*, 11. [CrossRef]
- ³⁵ Strobel, G. A. The use of endophytic fungi for the conversion of agricultural wastes to hydrocarbons. *Natural Product Report*, **2014**, 447. [CrossRef]
- ³⁶ Chang, H. T.; Cheng, Y. H.; Wu, C. L.; Chang, S. T.; Chang, T. T.; Su, Y. C. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresource Technology* **2008**, *99*, 6266. [CrossRef]
- ³⁷ Singh, S. K.; Shukla, R.; Prakash, B.; Kumar, A.; Singh, S.; Mishra, P. K.; Dubey, N. K. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, dL-limonene. *Food and Chemical Toxicology* **2010**, *48*, 1734. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁸ Singh, S. K.; Strobel, A. G.; Knighton, B.; Geary, B.; Sears, J.; Ezra, D. An Endophytic *Phomopsis* sp. Possessing Bioactivity and Fuel Potential with its Volatile Organic Compounds. *Microbial Ecology* **2011**, *61*, 729. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁹ Tomscheck, A. R.; Strobel, G. A.; Booth, E.; Geary, B.; Spakowicz, D.; Knighton, B.; Floerchinger, C.; Sears, J.; Liarzi, O.; Ezra, D. *Hypoxyton* sp., an endophyte of *Persea indica*, producing 1, 8-cineole and other bioactive volatiles with fuel potential. *Microbial Ecology* **2010**, *60*, 903. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁰ Kudalkar, P.; Strobel, G.; Riyaz-Ul-Hassan, S.; Geary, B.; Sears, J. *Muscodor sutura*, a novel endophytic fungus with volatile antibiotic activities. *Mycoscience* **2012**, *53*, 319. [CrossRef]

- ⁴¹ Sánchez-Fernández, R. E.; Diaz, D.; Duarte, G.; Lappe-Oliveras P.; Macías-Rubalcava, M. L. Antifungal Volatile Organic Compounds from the Endophyte *Nodulisporium* sp. Strain GS4d2II1a: a Qualitative Change in the Intraspecific and Interspecific Interactions with *Pythium aphanidermatum*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2016**, *96*, 339. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Mitchell, A. M.; Strobel, G. A.; Moore, E.; Robison, R.; Sears, J. Volatile antimicrobials from *Muscodor crispans*, a novel endophytic fungus. *Microbiology* **2010**, *156*, 270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴³ Macías-Rubalcava, M. L.; Hernández-Bautista, B. E.; Oropeza, F.; Duarte, G.; González, M. C.; Glenn, A. E.; Hanlin, R. T.; Anaya, A. L. Allelochemical Effects of Volatile Compounds and Organic Extracts from *Muscodor yucatanensis*, a Tropical Endophytic Fungus from *Bursera simaruba*. *Journal of Chemical Ecology* **2010**, *36*, 1122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁴ Pimenta, R. S.; Silva, J. F. M.; Buyer, J.S.; Janisiewicz, W. J. Endophytic Fungi from Plums (*Prunus domestica*) and Their Antifungal Activity against *Monilinia fructicola*. *Journal of Food* **2012**, *75*, 1883. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Worapong, J. *Muscodor albus* anam. Gen. Et sp. Nov., an endophyte from *Cinnamomum zeylanicum*. *Mycotaxon* **2001**, *79*, 67. [[Link](#)]
- ⁴⁶ Mallette, N. Volatile Fuel and Organic Compound Production by *Ascocoryne sarcoides*: Exploration of Environmental Variables and Analytical Methods, PhD thesis, *Montana State University*, Bozeman, Mt, **2013**, 1. [[Link](#)]
- ⁴⁷ Gianoulis, T. A.; Griffin, M. A.; Spakowicz, D. J.; Dunican, B. F.; Alpha, C. J. Sboner, A.; Sismour, M. A.; Kodira, C.; Egholm, M.; Church, G. M.; Gerstein, M. B.; Strobel, S. A. Genomic Analysis of the Hydrocarbon-Producing, Cellulolytic, Endophytic Fungus *Ascocoryne sarcoides*. *Plos Genetics* **2012**, *8*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ Strobel, G. A.; Knighton, B.; Kluck, K.; Ren, Y.; Livinghouse, T.; Griffin, M.; Spakowicz, D. Sears, J. The production of myco-diesel hydrocarbons and their derivatives by the endophytic fungus *Gliocladium roseum* (NRRL 50072). *Microbiology* **2008**, *154*, 3319. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁹ Banerjee, D.; Strobel, G. A.; Booth, E.; Geary, B.; Sears, J.; Spakowicz, D.; Busse, S. An endophytic *Myrothecium inundatum* producing volatile organic compounds. *Mycosphere* **2010**, *1*, 229. [[Link](#)]
- ⁵⁰ Ahamed, A.; Ahring, B. K. Production of hydrocarbon compounds by endophytic fungi *Gliocladium* sp., grown on cellulose. *Bioresource Technology* **2011**, *102*, 9718. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Strobel, G. A. Methods of discovery and techniques to study endophytic fungi producing fuel-related hydrocarbons. *Natural Product Reports* **2014a**, *39*, 259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵² Strobel, G. A. The story of mycodiesel. *Current Opinion Microbiology* **2014b**, *19*, 52. [[CrossRef](#)]
- ⁵³ Strobel, G. A. The use of endophytic fungi for the conversion of agricultural wastes to hydrocarbons. *Biofuels* **2014c**, *5*, 447. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁴ Ferreira, A. G.; Aquila, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **2000**, *12*, 175. [[Link](#)]
- ⁵⁵ Magiero, E. C.; Assmann, J. M.; Marchese, J. A.; Capelin, D.; Paladini, M. V.; Trezzi, M. M. Allelopathic effect of *Artemisia annua* L. on the germination and initial development of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla* L.) seedlings. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2009**, *11*, 3, 317. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁶ Holighaus, G.; Rohlf, M.; Fungal allelochemicals in insect pest management. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2016**, *100*, 5681. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁷ Hao, S. H.; Wei, Y.; Wang, J.; Zhou, Y. M. Allelopathy and the active metabolites of the endophytic fungus, *Alternaria* J46, from *Platyclus orientalis*. *Weed Biology and Management* **2015**, *15*, 95. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Macías-Rubalcava, M. L.; Hernández-Bautista, B. E.; Jiménez-Estrada, M.; González, M. C.; Glenn, A. E.; Hanlin, R. T.; Hernández-Ortega, S.; Saucedo-García, A.; Muria, J. M.; Anaya, A. L. Naphthoquinone spiroketal with allelochemical activity from the newly discovered endophytic fungus *Edenia gomezpompae*. *Phytochemistry* **2008**, *69*, 1185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Longo, M. A.; Sanromán, M. A.: Production of Food Aroma Compounds: Microbial and Enzymatic Methodologies. *Food Technology and Biotechnology* **2006**, *44*, 335. [[Link](#)]
- ⁶⁰ Chiappini, C. C. J. Aromas naturais produzidos por microrganismos. *Food Ingredients Brasil* **2008**, *4*, 22. [[Link](#)]
- ⁶¹ Schoen, H. R.; Knighton, W. B.; Peyton, B. M. Endophytic fungal production rates of volatile organic compounds are highest under microaerophilic conditions. *Microbiology* **2017**, *163*, 1767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶² Khoyratty, S.; Dupont, J.; Lacoste, S.; Palama, T. L.; Choi, Y. H.; Kim, H. K.; Payet, B. Grisoni, M.; Fouillaud, M.; Verpoorte, R.; Kodja, H. Fungal endophytes of *Vanilla planifolia* across Réunion Island: isolation, distribution and biotransformation. *Plant Biology* **2015**, *15*, 142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ⁶³ Penha, M. P.; Rocha-Leao, M. H. M.; Leite, S. G. F. Sugarcane bagasse as support for the production of coconut aroma by solid state fermentation (SSF). *Bioresources* **2012**, *7*, 2366. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁴ Collins, R. P.; Halim, A. F. Characterization of the major aroma constituent of the fungus *Trichoderma viride*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1972**, *20*, 437. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁵ Talapatra, K.; Das A. R.; Saha A. K.; Das P. In vitro antagonistic activity of a root endophytic fungus towards plant pathogenic fungi. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* **2017**, *5*, 68. [[Link](#)]
- ⁶⁶ Iamanaka, B. T.; Teixeira, A. A.; Teixeira, A. R. R.; Vicente, E.; Frisvad, J. C.; Taniwaki, M. H.; Bragagnolo, N. Potential of volatile compounds produced by fungi to influence sensory quality of coffee beverage. *Food Research International* **2014**, *64*, 166. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁷ Martín, J. F.; García-Estrada, C.; Zeilinger, S. Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites. *Fungal Biology* **2014**, *1*. [[Link](#)]
- ⁶⁸ Müller, A.; Faubert, P.; Hagen, M.; Zu Castell, W.; Polle, A.; Schnitzler, J. P.; Rosenkranz, M. Volatile profiles of fungi-chemotyping of species and ecological functions. *Fungal Genetic and Biology* **2013**, *54*, 25. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁹ Berger, R. G.; Neuhauser, K.; Drawert, F. Characterization of the Odour Principles of Some Basidiomycetes: *Bjerkandera adusta*, *Po& aurea*, *Tyromyces sambuceus*. *Flavour and fragrance journal* **1986**, *1*, 181. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁰ Polizzi, V.; Adams, A.; Malysheva, S. V.; Saeger, S.; Peteghem, C. V.; Moretti, A.; Picco, A. M.; Kimpe, N. Identification of volatile markers for indoor fungal growth and chemotaxonomic classification of *Aspergillus* species. *Fungal biology* **2012**, *116*, 941. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷¹ Larsen, T. O.; Frisvad, J. C. Chemosystematics of *Penicillium* based on profiles of volatile metabolites. *Mycological Research* **1995**, *99*, *10*, 1167. [[CrossRef](#)]
- ⁷² Suwannarach, N.; Bussaban, B.; Nuangmek, W.; Pithakpol, W.; Jirawattanakul, B.; Matsui, K.; Lumyong, S. Evaluation of *Muscodor suthepensis* strain CMU-Cib462 as a postharvest biofumigant for tangerine fruit rot caused by *Penicillium digitatum*. *Journal of the Science Food and Agriculture* **2016**, *96*, 339. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷³ Suwannarach, N.; Bussaban, B.; Hyde, K. D.; Lumyong, S. *Muscodor cinnamomi*, a new endophytic species from *Cinnamomum bejolghota*. *Mycotaxon* **2010**, *114*, 15. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁴ Worapong, J.; Strobel, G. A.; Daisy, B. H.; Castillo, U.; Baird, G.; Hess, W. M. *Muscodor roseus* sp. nov., an endophyte from *Grevillea pteridifolia*. *Mycotaxon* **2002** *81*, 463. [[Link](#)]
- ⁷⁵ Zhang, C. L.; Wang, G. P.; Mao, L. J.; Komon-Zelazowska, M.; Yuan, Z. L.; Lin, F. C.; Druzhinina, I. S.; Kubicek, C. P. *Muscodor fengyangensis* sp. nov. from southeast China: morphology, physiology and production of volatile compounds. *Fungal Biology* **2010**, *114*, 797. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁶ Wang, T.; Rabe, P.; Citron, C. A.; Dickschat, J. S. Halogenated volatiles from the fungus *Geniculosporium* and the actinomycete *Streptomyces chartreusis*. *Journal of Organic Chemistry* **2013**, *9*, 2767. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁷ Ul-Hassan, S. R.; Strobel, G. A.; Booth, E.; Knighton, B.; Floerchinger, C.; Sears, J. Modulation of volatile organic compound formation in the Mycodiesel-producing endophyte *Hypoxyton* sp. Cl-4. *Microbiology* **2012**, *158*, 465. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁸ Riyaz-Ul-Hassan, S.; Strobel, L.; Geary, B.; Sears, J. One *Nodulisporium* sp. Central American endophytic producing volatile organic compounds with biological and fuel potential. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **2013**, *1*, 29. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁹ Lee, S. O.; Kim, H. Y.; Choi, G. J.; Lee, H. B.; Jang, K. S.; Choi, Y. H.; Kim, J. C. Mycofumigation with *Oxyporus latemarginatus* EF069 for control of postharvest apple decay and *Rhizoctonia* root rot on moth orchid. *Journal of Applied Microbiology* **2009**, *106*, 1213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁰ Huang, W. Y.; Cai, Y. Z.; Hyde, K. D.; Corke, H.; Sun, M. Endophytic fungi from *Nerium oleander* L. (*Apocynaceae*): main constituents and antioxidant activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2007**, *23*, 1253. [[CrossRef](#)]
- ⁸¹ Wani, M. A.; Sanjana, K.; Kumar, D. M.; Lal, D. K. GC-MS analysis reveals production of 2-phenylethanol from *Aspergillus niger* endophytic in rose. *Journal of Basic Microbiology* **2010**, *50*, 110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸² Ting, A. S. Y.; Mah, S. W.; Tee, C. S. Identification of volatile metabolites from fungal endophytes with biocontrol potential towards *Fusarium oxysporum* F. sp. *cubense* Race 4. *American Journal of Agricultural and Biological Science* **2010**, *5*, 177. [[CrossRef](#)]