



ARTIGO

Primeiro registro de fungos endofíticos em folhas de *Ixora coccinea* L. em Pernambuco, Brasil

Paula Danielle de Souza Vieira^{1*}, Fabíola Gomes da Silva¹,
Wendell Medrado Teófilo da Silva¹, Priscila de Andrade Cavalcanti¹ e Débora Lima¹

Recebido: 13 de janeiro de 2011 Recebido após revisão: 07 de outubro de 2011 Aceito: 10 de outubro de 2011
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1823>

RESUMO: (Primeiro registro de fungos endofíticos em folhas de *Ixora coccinea* L. em Pernambuco, Brasil). Este estudo teve como objetivo avaliar a micobiota endofítica associada a folhas de *Ixora coccinea* L. (Rubiaceae). Fungos endofíticos foram isolados de folhas saudáveis de dez plantas empregadas como ornamentais em jardins residenciais de quatro cidades da Região da Mata Norte, no estado de Pernambuco, Brasil. Foram isolados 530 fungos endofíticos pertencentes a seis gêneros: *Curvularia*, *Fusarium*, *Guignardia*, *Pestalotiopsis*, *Phoma* e *Xylaria*. Os gêneros mais frequentemente registrados em *Ixora coccinea*, em todas as cidades amostradas, foram *Phoma* e *Curvularia*. Os resultados apresentados neste estudo representam o primeiro relato sobre a composição dos fungos endofíticos associados a *Ixora coccinea* para o estado de Pernambuco, Brasil.

Palavras-chave: Rubiaceae, planta medicinal, micobiota, *Phoma*, *Curvularia*.

ABSTRACT: (First report of endophytic fungi in leaves of *Ixora coccinea* L. in Pernambuco, Brazil). This study evaluated the endophytic mycoflora associated with leaves of *Ixora coccinea* L. (Rubiaceae). Endophytic fungi were isolated from healthy leaves of ten ornamental plants in gardens of private houses of the towns of Região da Mata Norte, in the state of Pernambuco, Brazil. 530 endophytic fungi were isolated, belonging to six genera: *Curvularia*, *Fusarium*, *Guignardia*, *Pestalotiopsis*, *Phoma*, and *Xylaria*. *Phoma* and *Curvularia* were the most frequent fungi recorded from *Ixora coccinea* in all towns surveyed. The results presented in this study represent the first report about the composition of the endophytic fungi associated with *Ixora coccinea* in the state of Pernambuco, Brazil.

Key words: Rubiaceae, medicinal plant, mycobiota, *Phoma*, *Curvularia*

INTRODUÇÃO

A planta ornamental e medicinal conhecida como alfinete-de-soldado (*Ixora coccinea* L., Rubiaceae) é um arbusto denso e ramificado, nativo do sudeste da Ásia. Estudos fitofarmacológicos evidenciam que as folhas dessa planta apresentam atividade antiinflamatória, hepatoprotetora, antimicrobiana, antioxidante e analgésica, sendo utilizada na medicina popular de diferentes países (Anônimo 2002).

Os fungos endofíticos são microrganismos que colonizam o interior de tecidos e órgãos vegetais, de forma assintomática, sem causar prejuízos aparentes ao seu hospedeiro e sem produzir estruturas externas emergindo dos vegetais (Azevedo & Araújo 2007).

Durante a evolução das plantas, os fungos endofíticos ocorreram e promoveram grande potencial adaptativo às espécies hospedeiras frente a condições adversas geradas por fatores abióticos, como a seca, salinidade, estresses oxidativos, solos ácidos com alto teor de Zn e Al, ou bióticos, como ataque de insetos, microrganismos e herbívoros. A produção de uma variedade de compostos secundários, como alcalóides, terpenóides, esteróides e compostos aromáticos repelentes ou tóxicos aos seus inimigos, decorrente desta simbiose, con-

fere maior habilidade competitiva às plantas e permite um pleno desenvolvimento, traduzido por altas taxas de germinação e enraizamento, maior biomassa nos tecidos e maior produção de sementes (Scharld & Phillips 1997, Liu *et al.* 2001).

Alguns autores sugerem que certos fungos endofíticos produzem compostos igualmente presentes em suas plantas hospedeiras, como algumas enzimas (celulases e ligninases), produzidas por fungos do gênero *Xylaria* e fitormônios de crescimento, como a giberelina, produzidos por *Fusarium moniliforme* (Strobel 2003).

Os metabólitos bioativos de microrganismos endofíticos têm mostrado capacidade de inibir ou matar uma ampla variedade de fitopatógenos, incluindo fungos, bactérias e vírus, além de apresentarem ação antibacteriana, antifúngica e antitumoral e atuarem como agentes antidiabéticos e imunossuppressores, evidenciando sua importância para a indústria farmacêutica (Strobel *et al.* 1999, Zhang *et al.* 1999, Guo *et al.* 2000, Li *et al.* 2000, Lu *et al.* 2000, Wagenaar *et al.* 2000, Strobel & Daisy 2003, Strobel *et al.* 2004, Gunatilaka 2006).

Estudos sobre fungos endofíticos são de extrema relevância por fornecerem informações fundamentais para a avaliação da diversidade e distribuição fúngica global,

1. Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas/CCB, Universidade Federal de Pernambuco/UFPE. Av. Professor Nelson Chaves s/n, CEP 50676-420, Recife, PE, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: pdani_vieira@hotmail.com

além de revelarem novas taxa e novas ocorrências para as espécies já existentes (Stone et al. 2004).

Ixora coccinea foi selecionada, para identificação de sua micobiota endofítica, por ser uma espécie de uso medicinal, pois sabe-se que é possível que as propriedades medicinais a ela atribuídas sejam consequência da capacidade de seus microrganismos endofíticos produzirem metabólitos secundários biologicamente ativos, como no caso do Taxol, anticancerígeno produzido por *Taxus brevifolia* Nutt. e por seu endofítico *Taxomyces andreanae* (Stierle et al. 1993).

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi conhecer a micobiota endofítica associada à *Ixora coccinea*, mediante o uso de técnicas convencionais de isolamento e identificação. Os resultados deste estudo poderão contribuir para pesquisas futuras direcionadas para a descoberta de novos compostos bioativos derivados de algumas das espécies endofíticas presentes nesta planta de uso medicinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material vegetal

As coletas do material vegetal foram realizadas no setor urbano das cidades de Goiana (07°33'38"S; 35°00'09"W; 13m de altitude), Timbaúba (07°30'19"S; 35°19'06"W; 102m de altitude), Nazaré da Mata (07°44'30"S; 35°13'40"W; 89m de altitude) e Carpina (07°51'03"S; 35°15'17"W; 184m de altitude), situadas na Região da Mata Norte do estado de Pernambuco, Brasil, durante o período de maio a novembro de 2009.

Foram coletadas folhas de dez plantas adultas de alfinete-de-soldado cultivadas como ornamentais em jardins residenciais, não tratadas com fungicidas. De cada planta foram retiradas seis folhas sadias, sem sintomas de doenças causadas por fungos, que foram utilizadas para o isolamento dos fungos endofíticos.

As amostras foram conduzidas para o laboratório de Fungos Fitopatogênicos do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil e processadas em até 24 horas após a coleta.

Isolamento dos fungos endofíticos

O material vegetal foi submetido ao processo de desinfecção superficial de acordo com Araújo et al. (2005), para a eliminação de microrganismos epifíticos, por meio de lavagens seriadas em etanol (70%) por 1 minuto, hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) por 4 minutos, etanol (70%) por 30 segundos e duas lavagens em água destilada esterilizada.

A eficácia do processo de desinfecção superficial foi avaliada através do plaqueamento de alíquotas da água destilada e esterilizada utilizada na última lavagem, em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA, pH 6,8; contendo 200 g de batata, 20 g de dextrose e 15 g de ágar para cada 1000 mL de água; autoclavado por 25 min. a 120 °C).

Após a desinfecção superficial, com auxílio de bisturi flambado, as amostras de folhas foram cortadas em fragmentos com 0,3 cm². Estes fragmentos foram transferidos, em condições assépticas, para placas de Petri (sendo um total de seis fragmentos por placa), contendo o meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) suplementado com o antibiótico cloranfenicol (100 µg/mL) para inibir o crescimento bacteriano.

Todas as placas contendo o material vegetal foram incubadas a 30°C e observadas diariamente durante 30 dias de forma a isolar tanto os microrganismos com crescimento rápido quanto os com crescimento lento. As colônias emergentes foram purificadas e preservadas em BDA para posterior identificação.

A frequência de colonização (FC%) foi calculada segundo Petrini (1991), onde FC = número total de fragmentos com um ou mais isolados/total de fragmentos da amostra multiplicado por 100.

Identificação dos fungos endofíticos

A identificação foi realizada no Departamento de Micologia da UFPE, Recife, Brasil, onde os fungos com esporulação abundante nas condições de cultivo foram identificados em nível de gênero ou espécie, baseando-se nas características morfológicas, por meio da observação das características macroscópicas das colônias (cor, aspecto, consistência, presença de pigmento, etc) e características microscópicas (morfologia de estruturas somáticas e reprodutivas). Para tanto, foram preparadas lâminas com fragmentos das colônias dos fungos, que foram observadas sob microscópio óptico. Para maior riqueza de detalhes das estruturas morfológicas dos fungos, foram preparados microcultivos. Os fungos que não esporularam quando cultivados em BDA foram, ainda, transferidos para os meios de cultura Ágar Extra-to de Malte e V8 Juice a fim de induzir a esporulação.

Os aspectos morfológicos e fisiológicos das culturas foram comparados com os descritos em chaves taxonômicas, com base em literatura específica (Booth 1971, Ellis 1971, Ellis 1976, Button 1980, Barnett & Hunter 1987, Hanlin 2000).

Análises estatísticas

A análise de variância das frequências de colonização registradas (porcentagem do total de folhas com fungo endofítico pelo total da população encontrada) foi realizada usando o programa Statistical Analysis Systems version 8.1 (SAS Institute, Inc. Cary, NC). As médias das frequências foram comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As colônias cresceram nas placas de Petri a partir do terceiro dia até o trigésimo dia, depois deste tempo não houve mais nenhum isolamento. Foram isolados 530 fungos endofíticos, sendo 497 identificados como pertencentes a seis gêneros: *Curvularia*, *Fusarium*, *Guig-*

Tabela 1. Incidência de fungos endofíticos em *Ixora coccinea* L., cultivada em quatro cidades da Mata Norte do estado de Pernambuco, Brasil.

Cidades	Fungos Endofíticos							Total
	<i>Phoma</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Xylaria</i>	<i>Guignardia</i>	<i>Pestalotiopsis</i>	<i>Mycelia sterilia</i>	
Goiana	50	30	10	3	10	3	10	116
Timbaúba	62	77	69	0	0	0	15	223
Nazaré da Mata	46	27	27	0	0	0	0	100
Carpina	17	25	0	25	8	8	8	91
Total	175	159	106	28	18	11	33	530

nardia, *Pestalotiopsis*, *Phoma* e *Xylaria*. Alguns isolados não esporularam não sendo possível identificá-los (Tab. 1).

Phoma e *Curvularia* foram os gêneros registrados em folhas de *Ixora coccinea* em todas as cidades analisadas. Neste estudo, a maior incidência de fungos endofíticos em *I. coccinea* foi observada na cidade de Timbaúba (223 isolados) e a menor incidência ocorreu na cidade de Carpina (91 isolados) (Tab. 1).

Os gêneros encontrados foram *Phoma* (175 isolados), *Curvularia* (159 isolados), *Fusarium* (106 isolados), *Xylaria* (28 isolados), *Guignardia* (18 isolados) e *Pestalotiopsis* (11 isolados). *Phoma* e *Fusarium* são fungos endofíticos comuns em plantas de climas tropicais e temperados (Schulz & Boyle 2005). A prevalência desses fungos neste estudo corrobora as observações realizadas em outras plantas (Schulz *et al.* 1998, Bussaban *et al.* 2001, Vieira *et al.* 2011). Dentre as quatro cidades amostradas, as maiores incidências foram de *Curvularia* (77 isolados), *Fusarium* (69 isolados) e *Phoma* (62 isolados) registradas na cidade de Timbaúba. As menores incidências foram de *Xylaria* e *Pestalotiopsis* (3 isolados) no município de Goiana (Tab. 1).

A frequência dos fungos endofíticos variou entre as cidades estudadas. O gênero *Phoma* apresentou as maiores frequências de colonização, sendo a mais elevada destas registrada na cidade de Goiana (23,5%) (Tab. 2). Esse resultado corrobora dados anteriores que registram esse fungo como um dos mais frequentes em plantas brasileiras (Peixoto-Neto *et al.* 2002).

Fusarium é conhecido como um fungo endofítico cosmopolita que ocorre em diversas plantas cultivadas, sendo descrito na literatura como saprófita e fitopatógeno, podendo ocorrer como patógeno latente endofiticamente e, sob condições de estresse, manifestar doenças na planta (Saikkonen *et al.* 1998). Além do *Fusarium*, também há registros de que *Phoma* e *Phomopsis*. Além

de serem endofíticos, também podem causar fitopatologias em seus hospedeiros (Chakrabarty *et al.* 1991). A detecção desses fungos como endofíticos, nesse estudo, indica que provavelmente esses organismos estejam em equilíbrio com outros componentes da microbiota, impedindo a caracterização de doenças em folhas de *Ixora coccinea*.

Nos locais analisados, não foram observadas diferenças significativas nas frequências de *Guignardia*, *Phoma* e *Pestalotiopsis* ($P=0,3198$; $0,1801$ e $0,9073$, respectivamente). Entretanto, diferenças significativas ocorreram na frequência de *Curvularia* ($P=0,0069$), *Fusarium* ($P=0,0011$) e *Xylaria* ($P=0,0415$). Os dois primeiros foram mais frequentes em Timbaúba (9,6 e 10,9%, respectivamente), enquanto que *Xylaria* foi mais frequente em Carpina (2,5%), não tendo sido registrada em Timbaúba e Nazaré da Mata. *Curvularia* foi menos frequente em Carpina (1,6%) e *Fusarium* não foi registrado nesta cidade.

A distinta distribuição dos fungos, obtidos em plantas de *I. coccinea* nas diferentes cidades, pode ser explicada pela influência de diversos fatores, como: idade da espécie vegetal coletada, diferenças na oferta nutricional do tecido do hospedeiro e variabilidade das condições microclimáticas, tais como umidade relativa do ar e intensidade de exposição à luz (Petrini 1991, Vieira *et al.* 2011). Além disso, a elevada frequência de determinados gêneros poderia estar ocasionando o decréscimo de outros, sugerindo um possível efeito antagônico entre os fungos endofíticos obtidos.

O registro de uma alta incidência de fungos endofíticos mostra que estes microrganismos são comuns em folhas de *Ixora coccinea* cultivadas na Região da Mata Norte do estado de Pernambuco. Apesar de que no presente estudo não se tenha buscado explicar o custo e o benefício da presença de fungos endofíticos nas folhas da espécie analisada, sabe-se que os mesmos exercem

Tabela 2. Registro da frequência de fungos endofíticos em folhas de *Ixora coccinea* L., coletadas em quatro cidades da Mata Norte do estado de Pernambuco, Brasil.

Cidades	Frequência de Colonização dos Fungos Endofíticos (%)					
	<i>Phoma</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Xylaria</i>	<i>Guignardia</i>	<i>Pestalotiopsis</i>
Goiana	23,5	3,4b	0,8c	0,4b	1,0	0,7
Timbaúba	12,3	9,6a	10,9a	0	0	0
Nazaré da Mata	13,5	2,9bc	7,1b	0	0	0
Carpina	4,5	1,6c	0*	2,5a	0	0,4

*Dado não incluído na análise estatística.

Dados seguidos por diferentes letras sobrescritas indicam que eles são significativamente diferentes pelo teste de Duncan ($P=0,05$).

Dados com ausência de letras sobrescritas não apresentam diferenças significativas pelo teste de Duncan ($P=0,05$).

Valores de P : *Phoma* $P=0,1801$; *Curvularia* $P=0,0069$; *Fusarium* $P=0,0011$; *Xylaria* $P=0,0415$; *Guignardia* $P=0,3198$; *Pestalotiopsis* $P=0,9073$.

um papel fundamental na manutenção da estrutura e do funcionamento dos órgãos vitais da planta e aumentam a resistência a inimigos naturais (Read 1999). De acordo com Redman *et al.* (2001), as chances de sobrevivência das plantas seriam mínimas sem essas associações simbióticas, uma vez que existe uma pressão muito grande por parte dos fungos fitopatogênicos. Clay (1992) sugeriu que os fungos endofíticos sobrevivem primariamente sobre o fluxo de nutrientes dos tecidos da planta. No entanto, os mecanismos dessa interação endofítico-hospedeiro ainda não estão bem esclarecidos (Müller *et al.* 2001).

Este estudo representa o primeiro relato qualitativo e quantitativo sobre a comunidade de fungos endofíticos associada à *Ixora coccinea*. Trabalhos como este, associados à identificação da biodiversidade da micobiota associada a vegetais, representam, além da perspectiva taxonômica, de conhecimento e proteção da biodiversidade, uma grande alternativa para a obtenção de fungos com potenciais diferenciados para investigações científicas e utilização na biotecnologia e indústria.

REFERÊNCIAS

- ANÔNIMO. 2002. *The Wealth of India. a Dictionary of Indian Raw Materials and Industrial products*. New Delhi: National Institute of Science Communication. 351 p.
- ARAÚJO, W.L., LIMA, A.O.S., AZEVEDO, J.L., MARCON, J., SOBRAL, J.K. & LACAVA, P.T. 2005. *Manual: Isolamento de microorganismos endofíticos*. 3ª reimpressão. Piracicaba: Departamento de Genética, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".
- AZEVEDO, J. L. & ARAÚJO, W.L. 2007. Endophytic fungi of tropical plants: diversity and biotechnological aspects. In: GANGULI, B.N. & DESHMUKH, S.K. (Eds.). *Fungi: multifaceted microbes*. New Delhi: Anamaya Publishers. p. 189-207.
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. 1987. *Illustrated genera of Imperfect Fungi*. Minnesota: APS Press. The American Phytopathological Society.
- BOOTH, C. 1971. *The genus Fusarium*. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- BUSSABAN, B., LUMYONG, S., LUMYONG, P., MCKENZIE, E.H. & HYDE, K.D. 2001. Endophytic fungi from *Amomum siamense*. *Canadian Journal of Microbiology*, 47: 943-948.
- BUTTON, C.B. 1980. *The Coelomycetes Fungi Imperfect with pycnidia, acervuli and stromata*. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- CHAKRABARTY, P.K., SHEO, R.A.J., TANEJA, N.K. & RAJ, S. 1991. A new record of late *Phoma* blight of cotton (*Gossypium* species). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 61: 223-224.
- CLAY, K. 1992. Fungal endophytes of plants: biological and chemical diversity. *Natural Toxins*, 1: 147-149.
- ELLIS, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- ELLIS, M.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- GUNATILAKA, A.A.L. 2006. Natural products from plant associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of Natural Products*, 69: 509-526.
- GUO, L.D., HYDE, K.D. & LIEW, E.C.Y. 2000. Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences. *New Phytologist*, 147: 617-630.
- HANLIN, R.T. 2000. *Illustrated genera of Ascomycetes*. Minnesota: APS Press. The American Phytopathological Society.
- LI, J.Y., STROBEL, G.A., HARPER, J.K., LOBKOVSKY, E. & CLARDY, J. 2000. Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Organic Letters*, 2: 767-770.
- LIU, C.I., ZOU, W.X., LU, I. & TAN, R.X. 2001. Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi. *Journal of Biotechnology*, 88: 277-282.
- LU, H., ZOU, W.X., MENG, J.C., HU, J. & TAN, R.X. 2000. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science*, 151: 67-73.
- MÜLLER, M.M., VALJAKKA, R., SUOKKO, A. & HANTULA, J. 2001. Diversity of endophytic fungi of single Norway spruce needles and their role as pioneer decomposers. *Molecular Ecology*, 10: 1801-1810.
- PEIXOTO-NETO, P.A.S., AZEVEDO, J.L. & ARAÚJO, W.L. 2002. Microorganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. *Biociência, Ciência e Desenvolvimento*, 29: 32-37.
- PETRINI, O. 1991. Fungal endophyte of tree leaves. In: ANDREWS, J. & HIRANO, S.S. (Eds.). *Microbial Ecology of Leaves*. New York: Springer-Verlag. p. 179-197.
- READ, D.J. 1999. Mycorrhiza-the state of the art. In: VARMA A. & HOCK, B. (Eds.). *Mycorrhiza*. Berlin: Springer-Verlag. p. 3-34.
- REDMAN, R.S., DUNIGAN, D.D. & RODRIGUEZ, R.J. 2001. Fungal symbiosis: from mutualism to parasitism, who controls the outcome, host or invader? *New Phytologist*, 151: 705-716.
- SAIKKONEN, K., FAETH, S.H., HELANDER, M. & SULLIVAN, T.J. 1998. Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 319-343.
- SCHARDL, C.L. & PHILLIPS, T.D. 1997. Protective grass endophytes: Where are they from and where are they going? *Plant Disease*, 81: 430-438.
- SCHULZ, B. & BOYLE, C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109: 661-686.
- SCHULZ, B., GUSKE, S., DAMMANN, U. & BOYLE, C. 1998. Endophyte-host interactions. II. Defining symbiosis of the endophyte-host interaction. *Symbiosis*, 25: 213-227.
- STIERLE, A., STROBEL, G. & STIERLE, D. 1993. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreaneae* an endophytic fungus of pacific yew. *Science*, 260: 214-216.
- STONE, J.K., POLISHOOK, J.D. & WHITE Jr, J.F. 2004. Endophytic Fungus. In: MUELLER, J.M., BILLS, G.F. & FOSTER, M.S. (Eds.). *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*. San Diego: Elsevier Academic Press. p. 241-270.
- STROBEL, G.A. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, 5: 535-534.
- STROBEL, G. & DAISY, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: 491-502.
- STROBEL, G., DAISY, B., CASTILHO, U. & HARPER, J. 2004. Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*, 67: 257-268.
- STROBEL, G.A., FORD, E., LI, J.Y., SEARS, J., SIDHU, R.S. & HESS, W.M. 1999. *Seimatoantherium tepuiense* gen. nov. a unique endophytic fungus producing taxol from the Venezuelan-Guayana System. *Applied Microbiology*, 22: 426-433.
- VIEIRA, P.D.S., MOTTA, C.M.S., LIMA, D., TORRES, J.B., QUECINE, M.C., AZEVEDO, J.L. & OLIVEIRA, N.T. 2011. Endophytic fungi associated with transgenic and non-transgenic cotton. *Mycology*, 2: 91-97.
- WAGENAAR, M., CORWIN, J., STROBEL, G.A. & CLARDY, J. 2000. Three new chytocalasins produced by an endophytic fungi in the genus *Rhinochadiella*. *Journal of Natural Products*, 63: 1692-1695.
- ZHANG, B., SALITURO, G., SZALKOWSKI, D., LI, Z., ZHANG, Y., ROYO, L., VILELA, D., DEZ, M., PELAEZ, F., RUBY, C., KENDALL, R.L., MAO, X., GRIFFIN, P., CALAYCAY, J., ZIERATH, J.R., HECK, J.V., SMITH, R.G. & MOLLER, D.E. 1999. Discovery of small molecule insulin mimetic with antidiabetic activity in mice. *Science*, 284: 974-981.