

Seleção de fungos endofíticos de sangue-de-dragão (*Croton lechleri* Müll. Arg.) produtores de L-asparaginase

Selection of endophytic fungi from dragon's blood (Croton lechleri Müll. Arg.) producers of L-asparaginase

Fernando José Fernandes Martins Junior¹, Jamilson Oliveira da Silva², Fabiana Silva Machado Rebouças³, Laryssa dos Santos Prado⁴, Clarice Maia Carvalho⁵

RESUMO

Croton lechleri, nativa da Amazônia e popularmente conhecida como sangue de dragão, é utilizada no tratamento de doenças. Os fungos endofíticos desta planta podem ter propriedades medicinais, como a produção da enzima L-asparaginase, utilizada no tratamento de leucemia aguda. O objetivo deste trabalho foi selecionar fungos endofíticos de *Croton lechleri* produtores de L-asparaginase. Os fungos utilizados pertencem à coleção do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Acre (UFAC). Para reativação, foram inoculados em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e identificados em nível de gênero. A produção de L-asparaginase foi detectada em meio Czapek Dox modificado, sendo considerada positiva a mudança de cor de amarelo para azul, com crescimento visível da colônia. Os resultados foram analisados por estatística descritiva. Dos 48 fungos analisados, 40 (83,33%) apresentaram resultado positivo. Os gêneros mais frequentes foram *Paecilomyces* (29,2%), *Penicillium* (12,5%), *Colletotrichum* (4,2%), *Phomopsis* (4,2%), *Xylaria* (4,2%), e 17 fungos não apresentaram estrutura reprodutiva, sendo identificados como Micélio estéril (35,4%). Os fungos endofíticos de *Croton lechleri* mostraram potencial para a produção extracelular da enzima L-asparaginase, podendo ser uma fonte promissora dessa enzima antitumoral.

Palavras-chave: leucemia aguda, *Paecilomyces*, *Penicillium*.

ABSTRACT

Croton lechleri, native to the Amazon and popularly known as dragon's blood, is used to treat diseases. The endophytic fungi of this plant may have medicinal properties, such as the production of the enzyme L-asparaginase, used in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. The objective of this work was to select endophytic fungi from *Croton lechleri* that produce L-asparaginase. The fungi used belong to the collection of the Microbiology Laboratory of the Federal University of Acre (UFAC). For reactivation, they were inoculated on Potato Dextrose Agar (BDA) and identified at the genus level. The production of L-asparaginase was detected in modified Czapek Dox medium, with a change in color from yellow to blue, with visible colony growth, being considered positive. The results were analyzed using descriptive statistics. Of the 48 fungi analyzed, 40 (83.33%) showed a positive result. The most frequent genera were *Paecilomyces* (29.2%), *Penicillium* (12.5%), *Colletotrichum* (4.2%), *Phomopsis* (4.2%), *Xylaria* (4.2%), and 17 fungi did not present reproductive structure, being identified as sterile mycelium (35.4%). The endophytic fungi of *Croton lechleri* showed potential for the extracellular production of the enzyme L-asparaginase, and could be a promising source of this antitumor enzyme.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, *Paecilomyces*, *Penicillium*.

¹ Mestrando no Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia. ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-6291-0111>

² Mestrando no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Universidade Federal do Acre. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9132-8591>

³ Mestranda no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Universidade Federal do Acre. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3200-1867>

⁴ Mestranda no Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazonia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2117-0802>

⁵ Professora Doutora Filiado ao Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1092-738X>

E-mail: clarice.carvalho@ufac.br

1. INTRODUÇÃO

Croton lechleri pertence à família *Euphorbiaceae* conhecida popularmente como sangue de dragão, sangue de grado ou sangue de grada. A planta é nativa do noroeste da América do Sul, onde é encontrado na Amazônia, sendo utilizada na medicina popular e tradicional para tratar uma variedade de condições clínicas (DE MARINO et al., 2008; GUERRA-JÚNIOR et al., 2022).

O uso de *Croton lechleri* se dá por meio da extração do seu látex de coloração vermelha intensa, que possui diversos componentes químicos medicinais, entre eles está o alcaloide taspina, que possui atividade anti-inflamatória, analgésica e cicatrizante, além de estimular a migração de fibroblastos no processo de cicatrização de feridas (PONA et al., 2018; RODRIGUES et al., 2020).

As propriedades medicinais de *Croton lechleri* são atribuídas aos seus metabólitos secundários (NAIK et al., 2019). Os metabólitos secundários são famílias de moléculas especializadas produzidas por diversas vias metabólicas, entre elas, estão os microrganismos presentes na microbiota da planta (ISAH, 2019). Estes microrganismos podem viver externamente (epifíticos) ou internamente (endofíticos) (GODOY et al., 2021).

Os fungos e bactérias endofíticas são os microrganismos de maior interesse para a produção de metabólitos primários e secundários, já que fazem parte da microbiota definitiva e, assim, compartilham hormônios e moléculas altamente especializadas, únicas de cada espécie vegetal (PANG et al., 2021). Os fungos endofíticos vivem internamente nos tecidos vegetais em uma relação simbiótica singular em que o vegetal e o fungo, ao longo da evolução, aprimoraram o seu desenvolvimento por meio da produção e troca de nutrientes (metabólitos) entre eles (CARUSO et al., 2022).

Os metabólitos produzidos pelos fungos endofíticos possuem aplicações biotecnológicas como, por exemplo, agentes de controle de fitopatógenos e promoção do crescimento vegetal, atividade antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, antitumoral, entre outras características que despertam o interesse em aplicações medicinais e ambientais (SALATINO et al., 2007; ISAH, 2019; CHEN et al., 2021).

Dentre os responsáveis pelas propriedades antitumorais de metabólitos dos microrganismos endofíticos está a enzima L-asparaginase (PARASHIVA et al., 2023). A L-asparaginase é uma enzima que catalisa e promove a hidrólise da L-asparagina em L-

aspartato e amônia, reduzindo a quantidade de asparagina no plasma e, conseqüentemente, reduz a biossíntese de proteínas pelas células tumorais tornando a L-asparaginase muito útil para o tratamento de cânceres linfoproliferativos, principalmente leucemia linfoblástica aguda e linfoma de Hodgkin (CACHUMBA et al., 2016).

A principal forma de produção da L-asparaginase se dá por meio de bactérias em decorrência da maior facilidade da manipulação genética industrial. No entanto, por se tratar de um substrato proveniente de microrganismo procariótico, podem ocasionar reações de hipersensibilidade que variam de exantema cutâneo até choque anafilático (CHOW; TING, 2015; PARASHIVA et al., 2023).

Tendo em vista a ampla aplicabilidade da enzima L-asparaginase no tratamento de diferentes tipos de câncer, detectar a presença desta enzima produzida por fungos endofíticos possibilita a aplicabilidade no tratamento de doenças e a identificação da produção desta enzima por eucarióticos de forma natural poderá ampliar o arsenal terapêutico e diminuir os eventos adversos ocasionados pela L-asparaginase proveniente de bactérias (SOUZA et al., 2017; HATAMZADEH et al., 2020).

Desta forma, este estudo teve como objetivo selecionar fungos endofíticos da planta medicinal amazônica *Croton lechleri* Müll. Arg. produtores da enzima L-asparaginase.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Reativação de fungos endofíticos

Os fungos endofíticos analisados neste estudo foram isolados da espécie amazônica *Croton lechleri*, e estavam depositados na Coleção de Microrganismos do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Acre (UFAC). Os fungos estavam armazenados em água destilada à temperatura ambiente (CASTELLANI, 1963).

Para reativação, os fungos endofíticos foram cultivados em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar-BDA (200 g batata, 20 g dextrose, 15 g ágar para 1 L de água destilada) por 7 dias a temperatura ambiente, e então inoculados em tubos de ensaio contendo meio BDA para a obtenção de culturas puras (AZEVEDO et al., 2010).

Identificação de fungos endofíticos

Para identificação dos fungos endofíticos foram analisadas as suas características macro e micromorfológicas. Para a análise macromorfológica foi feita uma suspensão do fungo em 1 mL de água destilada e 10 µL da suspensão inoculada em BDA em três pontos

e incubados a 28 °C, e após 7 dias observadas as características das colônias fúngicas, como a cor, textura do micélio e produção de pigmento (AZEVEDO et al., 2010).

Para a análise micromorfológica, os fungos foram submetidos ao microcultivado em meio BDA e Aveia (30 g aveia, 15 g ágar para 1 L água destilada) e as placas incubadas à temperatura ambiente por um período de 7 dias (LACAZ et al., 1998). As lamínulas foram coradas com o corante azul de lactofenol para facilitar a visualização das estruturas reprodutivas e comparadas com literatura específica (BARNETT; HUNTER, 1998).

Seleção de fungos endofíticos produtores de L-asparaginase

Para avaliar a capacidade de produção de L-asparaginase por fungos endofíticos de *Croton lechleri*, foi feita uma suspensão do fungo em 1 mL de água destilada e 10 µL da suspensão inoculada em Czapek Dox modificado (McDox) (ágar 20 g, glicose 2 g, L-asparagina 10 g, KH₂PO₄ 1,52 g, KCl 0,52 g, MgSO₄.7H₂O 0,52 g, CuNO₃.3H₂O 0,001 g, ZnSO₄.7H₂O 0,001 g, FeSO₄.7H₂O 0,001 g, pH 7,3) suplementado com o indicador azul de bromotimol 0,009% (CHOW; TING, 2015). As placas foram incubadas à 28 °C por 7 dias, e então avaliado se produziram L-asparaginase pela mudança na coloração do meio de cultura de amarelo para azul, indicando alcalinização do meio pela hidrólise da L-asparagina em aspartato e amônia. Foram feitas três repetições de cada fungo.

Análise dos dados

Para análise dos dados foi realizada a estatística descritiva, sendo calculado o número absoluto e relativo de fungos endofíticos identificados e produtores de L-asparaginase. Os resultados foram apresentados graficamente por meio do software Microsoft Excel.

3. RESULTADOS

3.1 Reativação de fungos endofíticos e identificação de fungos endofíticos

Um total de 48 fungos endofíticos de *Croton lechleri* foram reativados da coleção de fungos endofíticos do Laboratório de Microbiologia da UFAC (Tabela 1), identificados em nível de gênero pela análise de suas características macro e micromorfológicas (Figura 1). Os gêneros de fungos endofíticos mais frequentes foram *Paecilomyces* (29,2%), *Penicillium* (12,5%), *Colletotrichum* (4,2%), *Phomopsis* (4,2%), *Xylaria* (4,2%), e 35,4% não apresentaram estrutura reprodutiva, sendo identificados como Micélio estéril (Figura 2).

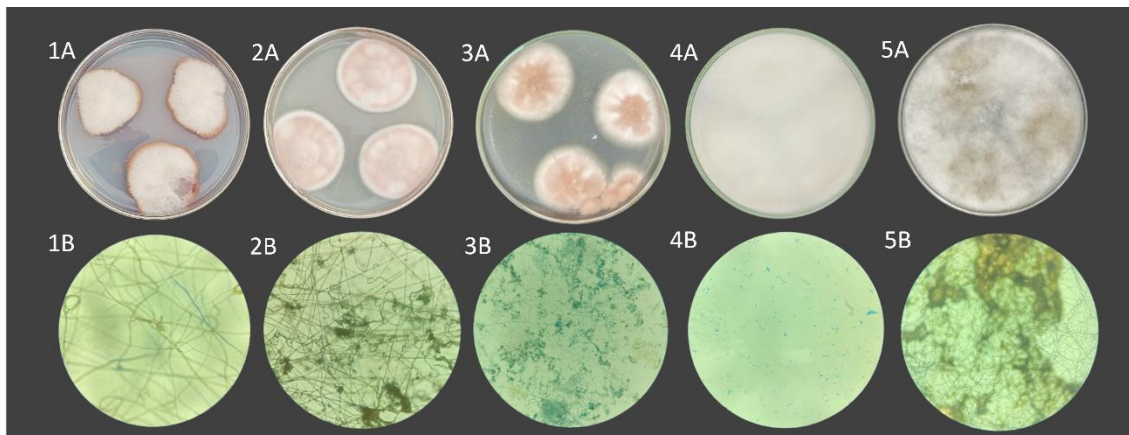


Figura 1. Análise macro e micromorfológica de fungos endofíticos de *Croton lechleri*. 1A, B. *Curvularia* sp. 1 (2.1391); 2A, B. *Paecilomyces* sp. 9 (2.1550); 3A, B. *Paecilomyces* sp. 6 (2.1331); 4A, B. *Geotrichum* sp. 1 (2.2247); 5A, B. Micélio estéril sp. 12 (2.2609).

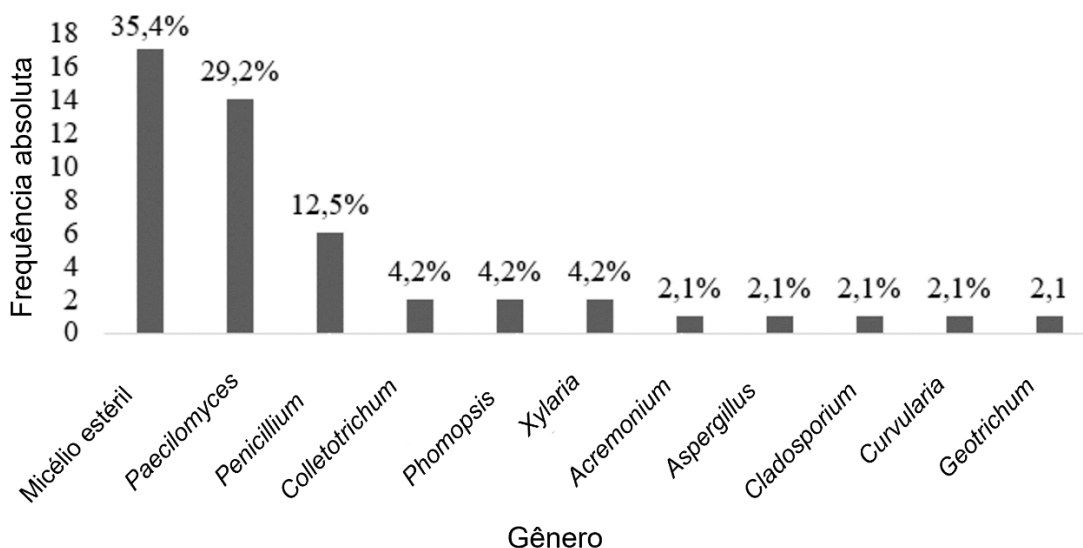


Figura 2. Frequência de gêneros de fungos endofíticos de *Croton lechleri*.

3.2 Seleção *in vitro* de fungos endofíticos produtores de L-asparaginase

Dos 48 fungos endofíticos de *Croton lechleri* avaliados quanto à capacidade de produção da enzima L-asparaginase, 40 (83,33%) tiveram resultado positivo (Tabela 1), visualizado pela mudança de coloração do meio Czapek Dox (McDox) de amarelo para azul, devido à alcalinização do meio ocasionado pela liberação de amônia (Figura 3). Os fungos dos gêneros *Paecilomyces*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* tiveram 100% resultados positivos para a produção de L-asparaginase, e apenas 8 (16,67%) isolados fúngicos não apresentaram produção de L-asparaginase.

Tabela 1. Código do fungo, identificação morfológica e produção de L-asparaginase por fungos endofíticos isolados da planta amazônica *Croton lechleri*.

Código do Fungo	Identificação	Produção de L-asparaginase
2.2256	<i>Acremonium</i> sp. 1	+
2.1377	<i>Aspergillus</i> sp. 1	+
2.2704	<i>Colletotrichum</i> sp. 1	+
2.22	<i>Colletotrichum</i> sp. 2	+
2.2441	<i>Cladosporium</i> sp. 1	+
2.1391	<i>Curvularia</i> sp. 1	+
2.2247	<i>Geotrichum</i> sp. 1	-
2.728	<i>Paecilomyces</i> sp. 1	+
2.1477	<i>Paecilomyces</i> sp. 2	+
2.1249	<i>Paecilomyces</i> sp. 3	+
2.1262	<i>Paecilomyces</i> sp. 4	+
2.2409	<i>Paecilomyces</i> sp. 5	+
2.1331	<i>Paecilomyces</i> sp. 6	+
2.1114	<i>Paecilomyces</i> sp. 7	+
2.2237	<i>Paecilomyces</i> sp. 8	+
2.1550	<i>Paecilomyces</i> sp. 9	+
2.1296	<i>Paecilomyces</i> sp. 10	+
2.1339	<i>Paecilomyces</i> sp. 11	+
2.1147	<i>Paecilomyces</i> sp. 12	+
2.2835	<i>Paecilomyces</i> sp. 13	+
2.2205	<i>Paecilomyces</i> sp. 14	+
2.1611	<i>Penicillium</i> sp. 1	+
2.2433	<i>Penicillium</i> sp. 2	+
2.2810	<i>Penicillium</i> sp. 3	+
2.1612	<i>Penicillium</i> sp. 4	+
2.1157	<i>Penicillium</i> sp. 5	+
2.2402	<i>Penicillium</i> sp. 6	+
2.1631	<i>Phomopsis</i> sp. 1	+
2.2870	<i>Phomopsis</i> sp. 2	-
2.813	<i>Xylaria</i> sp. 1	-
2.1210	<i>Xylaria</i> sp. 2	+
2.1111	Micélio estéril sp. 1	-
2.2831	Micélio estéril sp. 2	+
2.2502	Micélio estéril sp. 3	-
2.2522	Micélio estéril sp. 4	+
2.2174	Micélio estéril sp. 5	-
2.2826	Micélio estéril sp. 6	+
2.3013	Micélio estéril sp. 7	-
2.2809	Micélio estéril sp. 8	+
2.2219	Micélio estéril sp. 9	+
2.2199	Micélio estéril sp. 10	+
2.2869	Micélio estéril sp. 11	+
2.2609	Micélio estéril sp. 12	+
2.2332	Micélio estéril sp. 13	-
2.541	Micélio estéril sp. 14	+
2.2721	Micélio estéril sp. 15	+
2.2711	Micélio estéril sp. 16	+
2.421	Micélio estéril sp. 17	+
Total		48

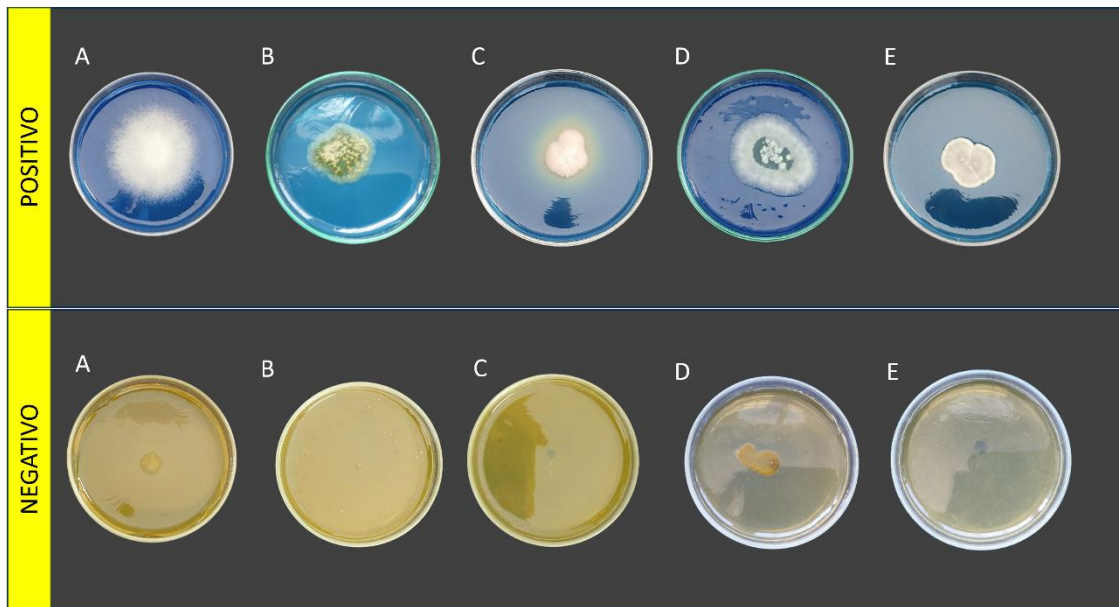


Figura 3. Produção da enzima L-asparaginase por fungos endofíticos da planta medicinal amazônica *Croton lechleri*. Positivo: A. Micélio estéril sp. 4 (2.2522); B. *Colletotrichum* sp. 1 (2.2704); C. *Curvularia* sp. 1 (2.1391); D. *Penicillium* sp. 1 (2.1611); E. *Xylaria* sp. 2 (2.1210). Negativo: A. *Geotrichum* sp. 1 (2.2247); B. Micélio estéril sp. 5 (2.2174); C. Micélio estéril sp. 1 (2.1111); D. *Phomopsis* sp. 2 (2.2870); E. *Xylaria* sp. 1 (2.813).

4. DISCUSSÃO

Um total de 48 fungos endofíticos foram reativados de *Croton lechleri* da coleção de fungos do Laboratório de Microbiologia da UFAC, sendo identificados 10 gêneros, mostrando a capacidade da espécie medicinal amazônica apresentar associação com diversos gêneros de fungos endófitos como *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phomopsis* e *Xylaria*. Os fungos endofíticos dos gêneros *Paecilomyces* e *Penicillium* foram os mais frequentes, totalizando 20 isolados (41,67%).

Paecilomyces foi o gênero mais frequente de fungo, pertencente ao filo *Ascomycota*, encontrado em solo, florestas, desertos, sedimentos, entre outros. Podem viver em uma ampla faixa de temperatura e pH, além de diferentes substratos, sua ampla distribuição e resistência podem justificar o motivo de ter sido o mais encontrado (MORENO-GAVÍRA et al., 2020). Em geral, o gênero *Paecilomyces* não é patogênico aos humanos, sendo utilizados tradicionalmente em aplicações na agricultura para controle de pragas e vetores, no tratamento de doenças como infecções parasitárias e cânceres (DAI et al., 2020). Estas características são atribuídas a sua ampla produção de metabólitos secundários, como

policetídeos, terpenóides, esteróides, peptídeos, alcalóides e outros compostos nitrogenados (LI et al., 2020).

Penicillium foi o segundo gênero mais identificado dentre os fungos analisados. É um fungo filamentosos com mais de 200 espécies reconhecidas, fazendo com que seja um dos maiores grupos de fungos. Estão presentes no solo, ar, água, alimentos, e como endofíticos de diversas espécies vegetais em decorrência da sua pouca exigência nutricional e da sua capacidade de crescer sob condições adversas (VISAGIE et al., 2014). São produtores de diversos metabólitos secundários de importância para a saúde com propriedades antimicrobianas, antiparasitária, antiviral, antidiabético, anti-inflamatório, antioxidante, anticancerígeno, fibrinolítico, imunossupressor e neuroprotetor (TOGHUEO; BOYOM, 2020).

A alta frequência de fungos dos gêneros *Penicillium* e *Paecilomyces* pode ser pois estes fungos são encontrados em diversos ambientes, devido a capacidade desses gêneros de adaptação às suas mínimas exigências nutricionais, variabilidade de espécies e sua alta produção enzimática (VISAGIE et al., 2014; DAI et al., 2020; LI et al., 2020; MORENO-GAVÍRA et al., 2020; TOGHUEO; BOYOM, 2020).

Além dos gêneros *Penicillium* e *Paecilomyces*, o gênero *Aspergillus* também foi produtor de asparaginase neste trabalho. No isolamento de fungos do mangue de Bhitarkanika, costa leste da Índia, de 208 fungos isolados da filosfera, rizosfera e amostras de ar do local, dos sete gêneros identificados como produtores de L-asparaginase, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Paecilomyces* estavam entre eles (GUPTA et al., 2009).

Cladosporium foi um gênero produtor de L-asparaginase neste estudo. A partir de sete plantas medicinais da família Asteraceae localizadas na província de Golestan, no oeste do Irã, do total de 84 morfotipos isoladas do caule, folha, raiz e flor, 13 gêneros foram produtores de L-asparaginase, sendo o gênero *Cladosporium* classificado como produtor moderado de L-asparaginase (espécie *Cladosporium limoniforme* 0,309 U/mL) (HATAMZADEH et al., 2020). Neste estudo, foi utilizado método qualitativo para identificação da produção da enzima, sendo importante a realização de novos estudos com análise quantitativa para verificar quantificação da produção de L-asparaginase como no estudo descrito.

Assim como os gêneros *Colletotrichum* e *Aspergillus* tiveram produção de L-asparaginase no presente trabalho, do total de 35 fungos endofíticos isolados de plantas medicinais da família Rutaceae, os maiores produtores de L-asparaginase foram os

gêneros *Aspergillus*, *Colletotrichum* e *Fusarium* (de 7,58 U/mL até 8,84 U/mL) (UDAYAN; GNANADOSS, 2023). O gênero *Aspergillus* também teve destaque na produção de L-asparaginase no isolamento de fungos endofíticos de *Sueada monoica*, a partir de 17 isolados, a espécie *Aspergillus terreus* foi responsável pela maior quantidade de produção enzimática (35,28 U/mL) (KALYANASUNDARAM et al., 2015).

Fungos dos gêneros *Acremonium*, *Curvularia*, *Phomopsis* e *Xylaria* também produziram L-asparaginase nos ensaios *in vitro* neste trabalho. Esses gêneros, estão presentes em plantas da família Asteraceae, a qual a espécie *Croton lechleri* pertence, e esses gêneros não são encontrados com frequência em outras famílias de plantas, justificando a ocorrência desses gêneros na família Asteraceae a sua grande produção de biocomponentes (vitaminas, hormônios, antibióticos e outros) (CARUSO et al., 2020).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A planta medicinal amazônica *Croton lechleri* possui vários fungos endofíticos produtores da enzima L-asparaginase, mostrando assim o potencial biotecnológico de seus fungos endofíticos, sendo os principais gêneros produtores *Paecilomyces*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, J.L. et al. Meios de cultura utilizados para o estudo de microrganismos, em: Pizzirani-Kleiner, A.A. et al. **Guia prático: isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos**. CALO, Piracicaba, p. 167, 2010.
- BARNETT, H.; HUNTER, B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St. Paul, MN, The American Phytopathological Society, p. 218, 1998.
- CACHUMBA, J. J. M. et al. Current applications and different approaches for microbial L-asparaginase production. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 77-85, 2016.
- CARUSO, G. et al. Linking Endophytic Fungi to Medicinal Plants Therapeutic Activity. A Case Study on Asteraceae. **Agriculture**, v. 10, n. 7, p. 286-308, 2020.
- CARUSO, D. et al. Exploring the Promise of Endophytic Fungi: A Review of Novel Antimicrobial Compounds. **Microorganisms**, v. 10, n. 10, p. 1990-2011, 2022.
- CASTELLANI, A. The "water cultivation" of pathogenic fungi. **The Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 66, p. 283-284, 1963.

CHEN, Z. et al. Effects of *Croton lechleri* sap (Sangre de drago) on AGEs formation, LDL oxidation and oxidative stress related to vascular diseases. **Natural Product Research**, v. 36, n. 16, p. 4165-4169, 2021.

CHOW, Y.; TING, A. Endophytic L-asparaginase-producing fungi from plants associated with anticancer properties. **Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 6, p. 869-876, 2015.

DAI, Z.-B; WANG, X; LI, G.-H. Secondary Metabolites and Their Bioactivities Produced by *Paecilomyces*. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5077-5094, 2020.

DE MARINO, S. et al. Identification of Minor Secondary Metabolites from the Latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and Evaluation of Their Antioxidant Activity. **Molecules**, v. 13, n. 6, p. 1219-1229, 2008.

GODOY, F. et al. Abiotic Stress in Crop Species: Improving Tolerance by Applying Plant Metabolites. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 186-204, 2021.

GUERRA-JÚNIOR, J. I. et al. *Croton* sp.: a review about Popular Uses, Biological Activities and Chemical Composition. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 1-15, 2022.

GUPTA, N; DASH, J. S; BASAK. C. U. L-asparaginases from fungi of Bhitarkanika mangrove ecosystem. **Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 27-30, 2009.

HATAMZADEH, S. et al. Isolation and identification of L-asparaginase-producing endophytic fungi from the *Asteraceae* family plant species of Iran. **PeerJ**, v. 8, n. 309, p. e8309, 2020.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, v. 52, n. 39, p. 1-25, 2019.

KALYANASUNDARAM, I. et al. Production, purification and characterisation of extracellular L-asparaginase from salt marsh fungal endophytes. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 663-677, 2015.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; VACCARI, E.M.H.; MELO, N.T. **Guia para identificação de Fungos, Actinomicetos e Algas de interesse médico**. São Paulo: Sarvier, p. 445, 1998.

LI, X.-Q. et al. A Systematic Review on Secondary Metabolites of *Paecilomyces* Species: chemical diversity and biological activity. **Planta Medica**, v. 86, n. 12, p. 805-821, 2020.

MORENO-GAVÍRA, A et al. *Paecilomyces* and Its Importance in the Biological Control of Agricultural Pests and Diseases. **Plants**, v. 9, n. 12, p. 1746-1774, 2020.

NAIK, S. et al. How and why do endophytes produce plant secondary metabolites? **Symbiosis**, v. 12, n. 78, p. 193-201, 2019.

PANG, Z. et al. Linking Plant Secondary Metabolites and Plant Microbiomes: A Review. **Frontiers in Plant Science**. v. 12, n. 1, p. 621276, 2021.

PARASHIVA, J. et al. Endophytic Fungi as a Promising Source of Anticancer L-Asparaginase: a review. **Current Microbiology**, v. 80, n. 282, p. 1-13, 2023.

PONA, A. et al. Review of future insights of Dragon's Blood in dermatology. **Dermatologic Therapy**, v. 32, n. 2, p. e12786, 2018.

RODRIGUES et al. Avaliar o efeito de dois diferentes produtos naturais a base seiva do dragão (*Croton lechleri*), no tratamento de feridas por segunda intenção de equinos. **Revista Ciência e Saúde Animal**, v. 2, n. 2, p. 34-49, 2020.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (*Euphorbiaceae*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SOUZA, P. M. et al. Optimization and purification of L-asparaginase from fungi: A systematic review. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 120, n. 1, p. 194-202, 2017.

TOGHUEO, R. M. K.; BOYOM, F. F. Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications. **3 Biotech**, v. 10, n. 3, p. 107-141, 2020.

UDAYAN, E; GNANADOSS, J. J. Isolation and Characterization of L-asparaginase Producing Endophytic Fungi from Medicinal Plants of Rutaceae Family. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 20, n. 1, p. 241-253, 2023.

VISAGIE, C.M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies In Mycology**, v. 78, n. 1, p. 343-371, 2014.