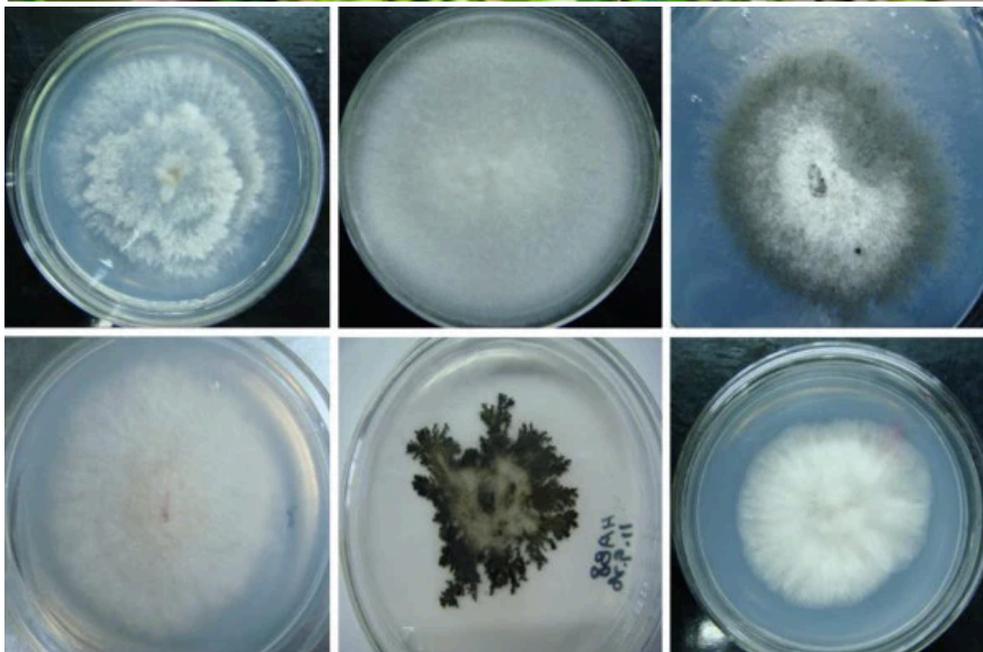


TRABAJO FIN DE GRADO

HONGOS ENDÓFITOS PRODUCTORES DE TAXOL



Curso 2019-2020
Convocatoria de julio

Alumno: Romen Temiño García

Tutora: Cristina Giménez Mariño

Índice

1. Resumen/Abstract	2
2. Introducción	3
2.1 Generalidades de los hongos endófitos	3
2.2 Ventajas de su presencia en el vegetal	4
2.3 Propiedades de los hongos endófitos	5
3. Objetivos.....	7
4. Materiales y métodos.....	7
5. Resultados y discusión.....	8
6. Conclusiones.....	15
7. Bibliografía.....	15

1. Resumen

Los organismos endófitos en particular los hongos, han recibido una creciente atención a lo largo de los últimos años. Este grupo de microorganismos vive asintómicamente y en simbiosis dentro de tejidos vegetales sanos, así permitiendo e incrementando la supervivencia de ambos organismos. Este tipo de hongos proporcionan al vegetal protección frente a diversos factores, capacidad de adaptación a diversos medios, como al estrés salino, temperaturas extremas o presencia de metales; también les otorgan protección frente a insectos, herbívoros y otros microorganismos patógenos. Además, se han observado propiedades antioxidantes con utilidad para la alimentación, y especialmente, los hongos endófitos son estudiados por su posibilidad de producir una serie de metabolitos bioactivos como es el caso del taxol, utilizado para combatir diversas enfermedades, tales como distintos tipos de cáncer. Todo esto constituye una nueva vía para obtener nuevas moléculas que pueden poseer un gran potencial en áreas como la agricultura y la medicina.

Palabras clave: hongos endófitos, simbiosis, protección planta, taxol.

Abstract

Endophytic organisms, in particular fungus, have received increasing attention over the past few years. This group of microorganisms lives asymptotically and in symbiosis within healthy plant tissues, thus allowing and increasing the survival of both organisms. This type of fungus provides the plant with protection against various factors, such as the ability to adapt to various environments, such as salt stress, extreme temperatures or the presence of metals; also give them protection against insects, herbivores and other pathogenic microorganisms. In addition, antioxidant properties have been observed with utility for food, and especially, endophyte fungus are studied for their possibility of producing a series of bioactive metabolites such as taxol, used to combat various diseases such as different types of cancers. All this constitutes a new way to obtain new molecules that can have a great potential in areas such as agriculture and medicine.

Keywords: endophytic fungus, symbiosis, plant protection, taxol.

2. Introducción

La palabra ‘endófito’ etimológicamente significa ‘dentro de la planta’ (*endon*: dentro, *phyton*: planta). El término fue propuesto por primera vez en 1866 por De Bary [1]. En un principio, el término endófito se refería a cualquier organismo que colonice el interior de los tejidos de las plantas, pero fue Wilson en 1995 [2] quien restringió el término únicamente a microorganismos, refiriéndose sólo a bacterias y a hongos que no provocan daño aparente a la planta hospedadora.

2.1 Generalidades de los hongos endófitos

Su presencia dentro de los órganos de las plantas ha sido conocida desde finales del siglo XIX [3]. Desde que se describieron por primera vez en el Darnel (*Lolium temulentum*) [4], se han aislado de varios órganos de diferentes especies de plantas como musgos, licófitos, helechos y espermatofitos desde los trópicos hasta el ártico, y de los ecosistemas silvestres a los agrícolas [5]. Y a fecha de hoy, se ha encontrado que todas las especies de plantas estudiadas albergan al menos un endófito [6].

Actualmente, el término “hongos endófitos” se refiere a bacterias, hongos, algas e insectos [7] en donde los hongos son un grupo polifilético muy diverso de microorganismos que se han aislado con mayor frecuencia como endófitos [6]

Los hongos endófitos pasan la mayor parte o todo su ciclo vital colonizando los tejidos de la planta, pudiendo prosperar asintóticamente en ellos (tanto en la superficie como en el subsuelo, pudiendo incluir los tallos, las hojas y/o raíces), sin causar daño evidente [6].

En la Figura 1 [6], aparecen las colonias principales de crecimiento de los hongos endófitos en distintas partes de la planta.

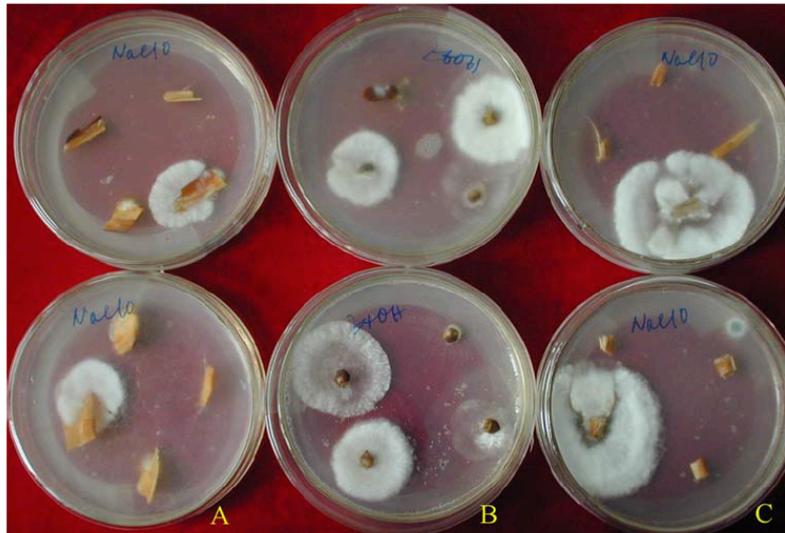


Figura 1. Colonias de crecimiento hongos endófitos en partes de la planta:
A) Trozos de corteza B) semillas y C) Ramas [6]

2.2 Ventajas de su presencia en el vegetal

Existe una estrecha relación entre el hongo y su planta hospedadora, ya que el hongo es capaz de producir metabolitos bioactivos, así como modificar los mecanismos de defensa de su hospedadora, lo que incrementa la supervivencia de ambos organismos. Estudios recientes demuestran la gran capacidad que tienen los hongos endófitos para producir compuestos activos que le confieren protección también al ataque de patógenos herbívoros y de microbios, constituyendo una nueva vía para la obtención de diversos precursores o moléculas novedosas de utilidad en la agricultura [8].

La aplicación de hongos endófitos a raíces ha sido considerada una estrategia con éxito para mantener o mejorar el desempeño ecofisiológico y supervivencia en diferentes especies de árboles y arbustos. En ambientes extremos con condiciones climáticamente estresantes (estrés hídrico), han mostrado proporcionar beneficios en términos de supervivencia y crecimiento a la vegetación que se asocia a ellos [9]. Como ejemplo, la Antártida, que posee bajas temperaturas y un marcado déficit hídrico y nutricional [10]. Se podría esperar que endófitos asociados a raíces de plantas antárticas puedan beneficiar a otras especies expuestas a condiciones estresantes y que formen asociaciones con ellos.

Existen condiciones ambientales que favorecen la presencia de hongos, como los manglares. En ellos la presencia de hongos, típicamente terrestres, se ha relacionado con posibles adaptaciones al impacto de las condiciones ecológicas típicas de dicho ecosistema, como alta concentración de sales, anegamiento y condiciones anaeróbicas [11].

2.3 Propiedades de los hongos endófitos

Los hongos endófitos le confieren a la planta una alta capacidad de actividad antimicrobiana frente al crecimiento de organismos diversos, tales como hongos fitopatógenos, siendo capaces de provocar una inhibición considerable del crecimiento del patógeno. [12].

También, se han hallado algunos hongos endófitos con facultades antioxidantes que facilitan la sustitución de antioxidantes sintéticos en la industria alimentaria, como el ácido ascórbico [12].

Incluso se ha observado que ciertos hongos endófitos producen los precursores o los metabolitos secundarios con actividad biológica, cuya síntesis se le había atribuido a la planta [13-15]. Esto se ha obtenido principalmente en las interacciones entre los hongos endófitos y los pastos. En plantas leñosas (árboles o arbustos) se ha comprobado en escasas ocasiones [14,16,17].

Estos metabolitos bioactivos pueden utilizarse directa o indirectamente como agentes terapéuticos frente a distintos tipos de cáncer [18-22]. Se han descubierto algunos endófitos que producen metabolitos secundarios de la planta hospedadora con gran valor o potencial. Son ejemplos el paclitaxel (también conocido como taxol) [23], podofilotoxina [24], desoxipodofilotoxina [25], camptothecin y análogos estructurales [25,26], la hipericina y la emodina [27] y azadirachtin [28]. También se ha intentado mejorar la eficiencia del taxol en combinación con otros o modificado para desarrollar análogos del taxol [29], como en el Docetaxel (Taxotere), derivado modificado del taxol que es más fácil de formular y de administrar debido a su mayor solubilidad acuosa.

También se han podido aislar compuestos inmunomoduladores a partir de

hongos endofíticos. Debido a la aparición de nuevas enfermedades, en particular las autoinmunes, ha aumentado considerablemente su uso. Se utilizan principalmente para prevenir el rechazo de los injertos en pacientes trasplantados, y también en enfermedades autoinmunes como la diabetes insulínica y la artritis reumatoide [30].

Los hongos endófitos (Figura 2) también son capaces de producir compuestos exclusivos de sus plantas hospedadoras, importantes desde el punto de vista ecológico, bioquímico y molecular. Los hongos endófitos se pueden explotar para la producción de una multitud de nuevos y conocidos metabolitos secundarios biológicamente activos. Por ejemplo, mediante la modificación de parámetros como el tipo de medio y composición, aireación, pO_2 , pCO_2 , pH, temperatura, agitación, muestreo y puntos de cosecha, podría optimizarse la producción de estos compuestos.

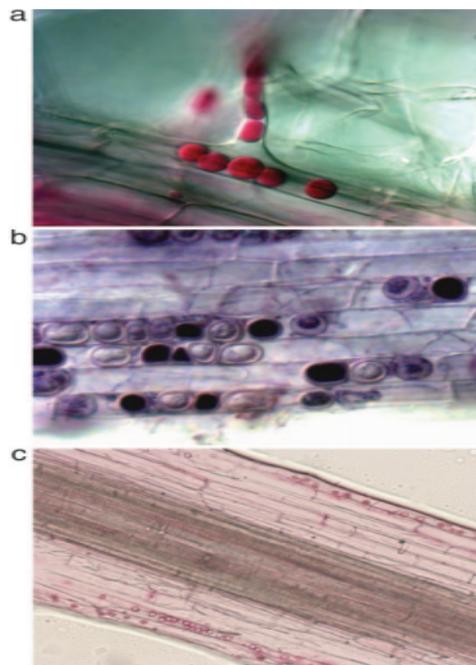


Figura 2. Patrón de colonización en las raíces de cebada. a) Los hongos entran en las raíces a través de los pelos de la planta. b) El hongo crece en el tejido de la corteza de la raíz. c) Sección longitudinal. el hongo no se detectó en la parte central de las raíces más allá de la endodermis [31].

Esto podría conducir a una economía rentable con un rendimiento ecológico, continuo y reproducible. En los endófitos con condiciones de fermentación optimizada, se podrían producir los distintos compuestos que se sintetizan en las plantas hospedadoras, siendo una producción independiente de las cantidades variables generadas por las plantas influenciadas por las condiciones ambientales [28]. Su cultivo

en fermentadores proporcionaría un suministro inagotable de compuestos bioactivos, pudiendo ser explotado comercialmente.

Las plantas al ser una fuente continua de nuevos metabolitos bioactivos tienen gran impacto en la medicina. Alrededor del 68 % de los compuestos antibacterianos y el 34% de los productos utilizados en la terapia del cáncer son productos naturales o sus derivados [32]. Los productos naturales surgidos de las plantas medicinales han sido explotados durante miles de años para facilitar la vida humana [30].

Que sean una fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos hace que los hongos endófitos estén siendo explorados por la industria farmacéutica y agrícola ya que representan un conjunto de metabolitos secundarios sin explotar [33]. En los últimos años, la búsqueda del aislamiento de nuevos compuestos de las plantas medicinales se ha convertido en un área de gran interés dentro de la investigación [34].

3. Objetivos

General: Mostrar la importancia de los hongos endófitos como fuente potencial de metabolitos secundarios con un amplio espectro de actuación en diversos campos de la ciencia.

Específico: analizar la capacidad que tienen diversos géneros de hongos endófitos para producir taxol, compuesto inicialmente extraído a partir de especies vegetales. Estudiar los métodos de mayor rendimiento para la obtención de dicho compuesto, ya sea el sistema de extracción a partir de la misma planta, por síntesis química, por medio de cultivos *in vitro* en células, o mediante sistemas de fermentación de hongos *in vitro*.

4. Materiales y métodos

Al tratarse de una revisión bibliográfica, el método empleado para redactar el trabajo ha sido mediante la búsqueda de artículos de investigación en revistas acerca del

tema expuesto. La recopilación de información ha sido a través de *Google Académico* un buscador especializado en contenido y bibliografía científico-académica mediante la utilización de palabras clave como “endophytic fungus”, “bioactive metabolites”, “cancer”, “taxol”, etc.

5. Resultados y discusión

El género *Taxus* pertenece a la clase *Pinopsida*, la Orden *Taxales* y la Familia *Taxaceae*. Como las especies son muy similares, a menudo son más fáciles de separar geográficamente que morfológicamente. Existen más de 30 tipos de tejo, siendo las más usuales: *T. baccata* (tejo europeo o inglés), *T. brevifolia* (tejo del Pacífico o tejo occidental), *T. canadensis* (tejo canadiense), *T. chinensis* (chino tejo), *T. cuspidata* (tejo japonés), *T. floridana* (Florida tejo), *T. globosa* (tejo mexicano) y *T. wallichiana* (Himalaya tejo) [35], que podemos ver en la Figura 3 [36]. Según Cope [37] también hay dos híbridos reconocidos: $Taxus \times media = T. baccata \times T. cuspidata$ y $Taxus \times hunnewelliana = T. cuspidata \times T. canadensis$.

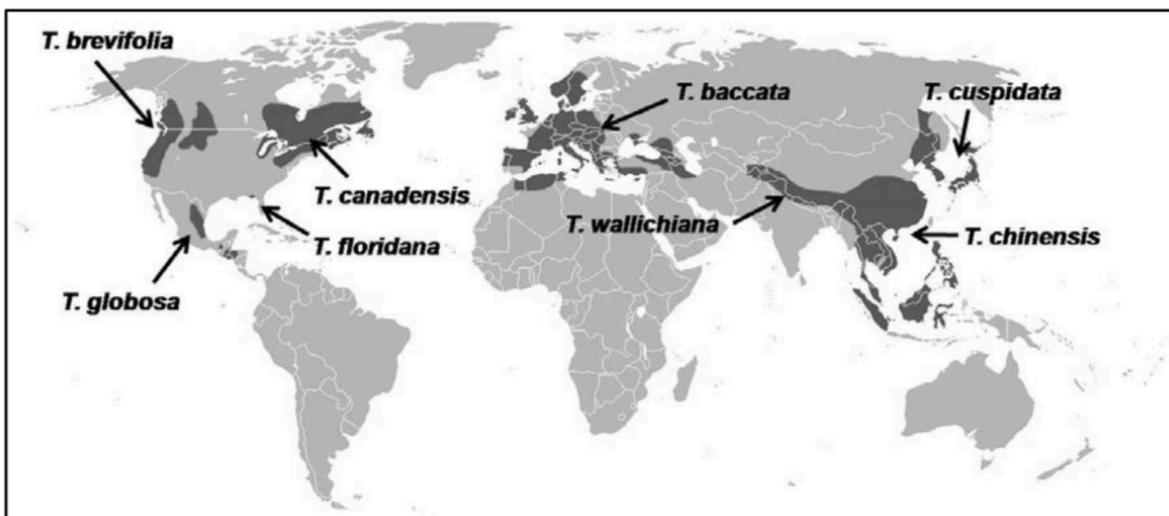


Figura 3. Especies reconocidas de tejo [36]

A esto se podría añadir que el planteamiento de Cope [37] sobre la distinción geográfica de las plantas del género *Taxus* podría llevarnos a perder información sobre aspectos morfológicos comunes o diferenciales y en algunos casos puede finalizar con posibles errores de clasificación.

Una de las más típicas y con mayor importancia es *T. baccata* o el tejo europeo que se distribuye por las zonas templadas del hemisferio norte. Es un árbol de tamaño medio, que históricamente se ha utilizado para la fabricación de armas, medicina, siendo toda venenosa, excepto su fruto [38]. También se encuentra abundantemente en la naturaleza *T. brevifolia* [39].



Figura 4. *Taxus baccata* [40]



Figura 5. *Taxus brevifolia* [41]

Al ser estas dos plantas las más abundantes, podría ser interesante fomentar la extracción de taxol a partir de ellas, ya que, dentro de este género, son las plantas de más fácil crecimiento.

De acuerdo con lo anterior, a nivel científico se debe seguir potenciando el estudio de nuevos métodos que ayuden a un análisis más en profundidad de los hongos endófitos, con métodos no sólo más económicos, sino que permitan desarrollar

resultados que lleven además de a un mayor conocimiento, a potenciar los beneficios de estos hongos.

Actualmente el taxol es el compuesto más utilizado frente al cáncer por sus propiedades anticancerígenas. Entre ellos: el carcinoma de ovario avanzado, carcinoma gástrico, carcinoma de colon, carcinoma escamoso de cabeza y cuello, adenocarcinoma metastásico de mama, carcinomas testiculares, carcinoma de pulmón de células pequeñas, melanoma metastásico, leucemia linfoblástica aguda y leucemia mielocítica aguda [42].

También está siendo estudiado para el tratamiento de taupatías (afecciones en las proteínas tau), como el Alzheimer, reduciendo el desarrollo de la neurofibrilación que lleva a la pérdida de la integridad neuronal [43,44], o el parkinsonismo, entre otros [45]. Siendo un alcaloide natural de alta eficiencia, baja toxicidad y de amplio espectro [46].

El taxol es una sustancia química diterpeno lactámico tetracíclico. La primera vez que se aisló a partir de *T. brevifolia*, fue a finales de los 60 [47]. La fuente más común es la corteza de los árboles pertenecientes a la familia Taxaceae y existe en baja concentraciones, de 0,01%-0,05% [48]. Desafortunadamente, estos árboles son raros, de crecimiento lento, y es necesario procesar una gran cantidad de corteza para obtener una pequeña cantidad de este metabolito, lo que contribuye a su alto precio en el mercado. Aunque con sus aplicaciones farmacológicas, la demanda sigue aumentando anualmente entorno al 5-8%.

Esto lleva a analizar otras posibilidades, como la síntesis química del taxol, lo que hacía necesario el conocimiento de su estructura química (Figura 6 [49]).

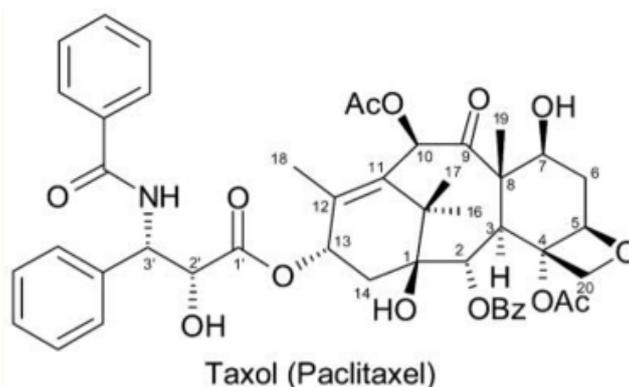


Figura 6. Estructura química del taxol [49]

Las enfermedades comentadas tienen una gran incidencia en la población general yendo en aumento en los últimos años. De ahí la importancia de la búsqueda de sustancias eficaces para combatir las. Aquí el taxol tiene un importante papel, siendo fundamental potenciar investigaciones que promuevan el crecimiento y la producción de esta planta.

El mecanismo de acción del taxol es algo único, involucra la unión en la β -subunidad de la tubulina, al promover la polimerización de la tubulina e inhibir la despolimerización o el desensamblamiento de los microtúbulos [50]. En concentraciones subnanomolares bloquea la mitosis e inhibe la proliferación celular. La determinación de la conformación del complejo microtúbulo-taxol se complica ante la imposibilidad de cristalizar microtúbulos [51]. Además, se ha demostrado que taxol también reprime angiogénesis alterando las estructuras citoesqueléticas e inhibiendo a la célula endotelial la migración *in vitro* e *in vivo* [52,53].

Este mecanismo de acción se puede observar en la Figura 7 [54], en la que se utilizó inmunofluorescencia indirecta en células del tejido conectivo.

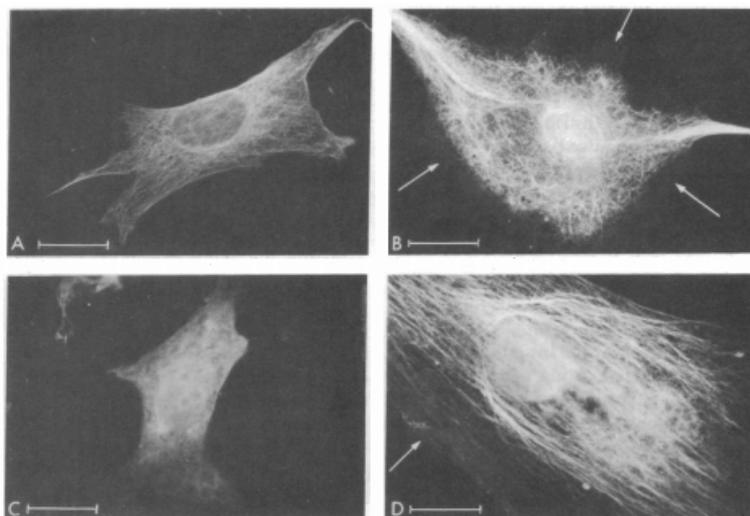


Figura 7. Inmunofluorescencia indirecta de las células fibroblásticas BALB/c, usando anticuerpos contra la tubulina. (A) Célula de control, (B) célula expuesta a 10 microMolar(μ M) de taxol, (C) célula de control mantenida a 4°C. (D) célula incubada con 10 microMolar(μ M) de taxol, y luego cambiada a 4°C. Barras de escala:20 micrometros(μ m). Las flechas indican el borde de la membrana de plasma en el plano de enfoque [54].

En cuanto al mecanismo de acción frente al cáncer, los medicamentos disponibles poseen enormes efectos secundarios y no son eficaces contra muchas

formas de cáncer. El taxol presenta un amplio espectro de actividad frente a tumores sólidos y ha sido prescrito para numerosos tipos de cáncer, ya que tiene un modo de acción único cuando se compara con otros compuestos anticancerígenos [34]. Existe amplia evidencia sobre la inducción de la apoptosis en diversas células cancerosas tratadas con taxol, tales como cáncer de mama, glioblastoma y cáncer de ovario, pulmón, próstata e hígado [55,56].

En las últimas décadas ha habido un interés creciente en descubrir otros hongos que produzcan este metabolito, llevando a conseguir un producto más barato a través de la fermentación industrial [57,58]. *Taxomyces andreanae*, fue el primer organismo endófito a partir del cual se obtuvo el taxol [57]. Sin embargo, los rendimientos de taxol han sido bajos. Pero, hay que tener en cuenta que, aunque la cantidad de taxol producida por los hongos endofíticos asociados a los árboles de *Taxus* es relativamente pequeña, al compararla con la de los árboles, el corto tiempo de generación y la alta tasa de crecimiento de los hongos, hace que valga la pena continuar con la investigación de estas especies [34].

Aunque la producción de este metabolito se puede obtener por síntesis química total, es muy costosa. Los procesos de cultivo *in vitro* de células se perfilan como una buena estrategia, pero con bajo rendimiento. Por tanto, es urgente generar alternativas debido a la creciente demanda del taxol y la escasez del recurso vegetal. El método más prometedor a gran escala es la producción de sistemas de fermentación de hongos *in vitro*.

La Figura 8 [59], muestra la efectividad de las distintas concentraciones de taxol en la apoptosis de células de diferentes tipos de cáncer.

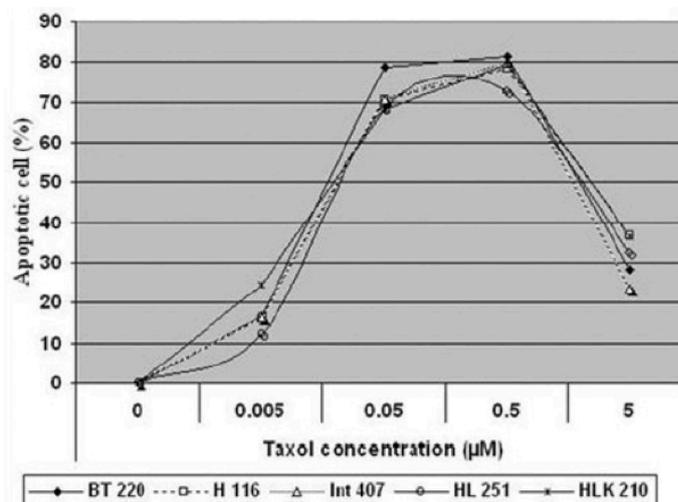


Figura 8. Relación entre la concentración de taxol por *P. Terminaliae* y la apoptosis de células tumorales [59]

La extracción del taxol a través de la planta se puede realizar a partir de las hojas o de los callos. Estos se obtienen del cultivo *in vitro* y se secan en una estufa de secado durante 48h, se homogenizan en un mortero, y se transfieren a un tubo de centrifugación añadiéndole metanol y se deja reposar durante 48h. Posteriormente se filtra y se centrifuga de nuevo. El residuo se diluye en un embudo de separación, el extracto se filtra y posteriormente se evapora el disolvente a presión reducida, hasta obtener un extracto crudo sin disolvente orgánico y la solución se filtra a través de un cartucho de extracción. Y finalmente, los extractos se colocan en viales y se mantienen en refrigeración [60].

Este tipo de extracción tiene como desventaja principal, que se necesita un gran volumen de material vegetal para poder adquirir una pequeña cantidad del taxol, aunque se puede recurrir al cultivo *in vitro*, es una técnica bastante costosa.

En cambio, en la extracción del taxol a partir de los hongos, sus ventajas son sumamente importantes, pudiéndose cultivar en un laboratorio de un modo sencillo, siendo posible modificar los medios en los que se encuentren, la temperatura, pH, luz, etc., lo que favorecería en mayor medida su crecimiento. Estos poseen un rápido crecimiento, condiciones de cultivo reproducible, alta densidad celular, fácil manipulación genética y la posibilidad de escala a nivel industrial de la producción del compuesto. Frente a esto, la desventaja de producir taxol fúngico en cultivos *in vitro* se ve limitado porque se atenúa con el tiempo, aunque está la posibilidad de reactivarlos mediante la adición de elicitores de tipo biótico o abiótico [61].

El descubrimiento de *T. andreanae*, en 1993 por parte de Stierle, Strobel y Stierle [55] a partir del tejo del Pacífico (*T. brevifolia*) supuso un importante hallazgo y demostró que los hongos endofíticos de la planta también tenían la capacidad de producir taxol, dándonos un novedoso y prometedor enfoque para producir este valioso compuesto.

Desde entonces, ha aumentado el interés de muchos grupos de investigación en el estudio de los hongos endófitos como candidatos potenciales para producir taxol. Amplias investigaciones se han desarrollado, como la búsqueda de hongos endófitos

productores de taxol dentro del propio género *Taxus*, así como de otras especies de plantas afines, y se ha avanzado mucho en las dos últimas décadas. En la actualidad, se conoce un número amplio de hongos endófitos productores del compuesto (Tabla 1 [62]).

Tabla 1. Especies de hongos endófitos productores de taxol y sus plantas hospedadoras

	Familia	Género	Especie	Hongo endófito	Concentración Taxol (µg/L)
Especies que no pertenecen al género <i>Taxus</i>	<i>Sapindaceae</i>	<i>Cardiospermum</i>	<i>Cardiospermum helicacabum</i>	<i>Pestalotiopsis pauciseta</i>	113.3
	<i>Rutaceae</i>	<i>Citrus</i>	<i>Citrus medica</i>	<i>Phyllosticta citricarpa</i>	265
	<i>Cupressaceae</i>	<i>Cupressus</i>	<i>Cupressus sempervirens</i>	<i>Phyllosticta spinarum</i>	235
	<i>Ginkgoaceae</i>	<i>Ginkgo</i>	<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Alternaria sp.</i>	0.12-0.26
	<i>Malvaceae</i>	<i>Hibiscus</i>	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	<i>Phyllosticta dioscoreae</i>	298
	<i>Podocarpaceae</i>	<i>Podocarpus</i>	<i>Podocarpus sp</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	557.8
	<i>Xylariaceae</i>	<i>Pestalotiopsis</i>	<i>Taxodium distichum</i>	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	0.05-1.49
	<i>Combretaceae</i>	<i>Terminalia</i>	<i>Terminalia arjuna</i>	<i>Pestalotiopsis terminaliae</i>	211.1
	<i>Taxaceae</i>	<i>Torreya</i>	<i>Torreya grandifolia</i>	<i>Periconia sp.</i>	0.03-0.83
	<i>Araucariaceae</i>	<i>Wollemia</i>	<i>Wollemia nobilis</i>	<i>Pestalotiopsis guepinii</i> <i>Pestalotiopsis sp</i>	0.49 0.17
Especies que pertenecen al género <i>Taxus</i>	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. baccata</i>	<i>Botryodiplodia theobroma</i> <i>Fusarium lateritium</i> <i>Pestalotia bicilia</i>	280.5 0.13 1.08
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. brevifolia</i>	<i>T. andreanae</i>	0.024-0.05
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. celebica</i>	<i>Fusarium solani</i>	1.6
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. chinensis</i>	<i>Fusarium solani</i> <i>Metarhizium anisopliae</i>	163.35 846.1
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. chinensis var. mairei</i>	<i>Ectostroma sp.</i> <i>Fusarium mairei</i> <i>Botrytis sp.</i>	276.75 286.4 161
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. cuspidata</i>	<i>Aspergillus niger var. taxi</i> <i>Botrytis sp.</i> <i>Fusarium arthrosporioides</i>	273.6 206.34 131
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. sumatrana</i>	<i>Pithomyces sp.</i>	0.095
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. wallichiana</i>	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	0.34-1.83
	<i>Taxaceae</i>	<i>Taxus</i>	<i>T. Yunnanensis</i>	<i>Taxomyces sp.</i>	2.3

Un número tan grande y una gama tan amplia, implica que tanto los hongos productores de taxol como sus hospedadoras tienen una gran diversidad biológica. Estos resultados abren nuevos caminos en la búsqueda de alternativas para la producción de fármacos, mostrando que la naturaleza tiene mucho que ofrecer dentro del campo de la medicina y farmacología, proporcionando un abanico amplio de metabolitos con prometedoras propiedades.

6. Conclusiones

En la actualidad, se conocen más de 20 géneros de plantas con la facultad de producir taxol. Gracias al primer descubrimiento del hongo *T. adrianae*, se pudo observar su grandísima capacidad y así poner en marcha la búsqueda de otros hongos endófitos, y de este modo, desarrollar distintos procedimientos para su obtención.

Una de las ventajas que poseen los hongos endófitos frente al rendimiento de la planta en la producción de taxol, es su cultivo en laboratorios, siendo de suma importancia por su sencillez, la capacidad de controlar su crecimiento y la posibilidad de explotación industrial.

Las especies de árboles del género *Taxus* están en peligro de extinción, como consecuencia de su difícil reproducción, lento crecimiento y la tala incontrolada; esta situación no hace más que corroborar la idea de que el futuro del taxol se encuentra en la producción de estos hongos endófitos en cultivos.

No podemos obviar, por la importancia de estos compuestos, la necesidad de mejorar la producción biotecnológica, con la intención de optimizarla, teniendo en cuenta que aún se desconocen algunos aspectos de su biosíntesis.

Queda patente la necesidad de generar nuevas alternativas para la producción de este fármaco, ya que la demanda de taxol va en aumento y los recursos vegetales son escasos.

7. Bibliografía

- [1] De Bary, A. Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten, und Myxomyceten. Hofmeister's Handbook of Physiological Botany, Vol. 2, Leipzig; 1866.
- [2] Wilson, D. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. Oikos, 1995; 73(2):274-276. Disponible en: doi:10.2307/3545919

- [3] Guerin, P. Sur la présence d'un champignon dans l'ivraie. *J Botanique*. 1898; 12:230-238.
- [4] Freeman, E.M. I.—The seed-fungus of *Lolium temulentum*, L., the Darnel. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character* 196.214-224 1904;1-27. Disponible en: <https://doi.org/10.1098/rstb.1904.0001>
- [5] Arnold A.E, Lutzoni F. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology*. 2007; 88(3):541-549. Disponible en: <https://doi.org/10.1890/05-1459>
- [6] Kusari S, Hertweck C, Spiteller M. Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chem. & Biol*. 2012; 19:792-798. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>
- [7] Rodriguez RJ, White Jr JF, Arnold AE, Redman, ARA. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*. 2009; 182(2):314-330. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- [8] Sánchez-Fernández RE, Sánchez-Ortiz B L, Sandoval-Espinosa YKM, et al. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Rev Esp Cienc Quim Biol*. 2013; 16(2):132-146. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72084-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72084-9)
- [9] Gamboa MA, Laureano S, Bayman P. Measuring diversity of endophytic fungi in leaf fragments: does size matter? *Mycopathologia*. 2003; 156(1):41-45. Disponible en: <https://doi.org/10.1023/A:1021362217723>
- [10] Chwedorzewska KJ. Terrestrial Antarctic ecosystems in the changing world: an overview. *Polish Polar Research*. 2009; 263-276. Disponible en: <https://doi:10.4202/ppres.2009.13>
- [11] Sosa-Rodríguez T, Sánchez Nieves J, Melgarejo LM. Papel funcional de los hongos en ecosistemas de manglar. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR-(Colombia)*. 2009; 38(1):39-57. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-97612009000100003&lng=en
- [12] García-Latorre-Nieto C. Determinación de la actividad fungicida, bactericida y antioxidante de metabolitos secundarios extraídos de hongos endófitos. Repositorio institucional Universidad de Extremadura (2017). (Consultado el 25 de junio de 2020). Disponible en: <http://hdl.handle.net/10662/6877>
- [13] Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J. Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural products*. 2004; 67(2):257-268. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/np030397v>

- [14] Herre EA. In Biotic interactions in the tropics: Their role in the maintenance of species diversity. Burslem, DFRP, Pinard, MA & Hartey, SE. 2005; 226-227.
- [15] Méndez-Vilas A. Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. 2010.
- [16] Schulz B, Boyle C. The endophytic continuum. *Mycological Research*. 2005; 109(6):661-686. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>
- [17] Herre EA, Mejía LC, Kyllö DA, Rojas E, Maynard Z, Butler A, Van Bael SA. (Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. *Ecology*. 2007; 88(3):550-558. Disponible en: <https://doi.org/10.1890/05-1606>
- [18] Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J. Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural products*. 2004; 67(2):257-268. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/np030397v>
- [19] Staniek A, Woerdenbag HJ, Kayser O. Endophytes: exploiting biodiversity for the improvement of natural product-based drug discovery. *Journal of Plant Interactions*. 2008; 3(2):75-93. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/17429140801886293>
- [20] Aly AH, Debbab A, Kjer J, Proksch P. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Diversity*. 2010; 41(1):1-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0034-4>
- [21] Kharwar RN, Mishra A, Gond SK, Stierle A, Stierle D. Anticancer compounds derived from fungal endophytes: their importance and future challenges. *Natural Product Reports*. 2011; 28(7):1208-1228.
- [22] Kusari,S, Spiteller M. Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites: progress, challenges and opportunities. *Metabolomics*. 2012; 241-266.
- [23] Stierle A, Strobel G, Stierle D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science* 1993; 260(5105):214-216. Disponible en: [https://doi: 10.1126/science.8097061](https://doi.org/10.1126/science.8097061)
- [24] Eyberger AL, Dondapati R, Porter JR. Endophyte fungal isolates from *Podophyllum peltatum* produce podophyllotoxin. *Journal of natural products*. 2006; 69(8):1121-1124. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/np060174f>
- [25] Kusari S, Zühlke S, Spiteller M. An endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* that produces camptothecin and analogues. *Journal of Natural*

- Products. 2009; 72(1):2-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/np800455b>
- [26] Shweta S, Zuehlke S, Ramesha BT, Priti V, Kumar PM, Ravikanth G, et al. Endophytic fungal strains of *Fusarium solani*, from *Apodytes dimidiata* E. Mey. ex Arn (Icacinaceae) produce camptothecin, 10-hydroxycamptothecin and 9-methoxycamptothecin. *Phytochemistry*. 2010; 71(1):117-122. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.09.030>
- [27] Kusari S, Lamshöft M, Zühlke S, Spiteller M. An endophytic fungus from *Hypericum perforatum* that produces hypericin. *Journal of Natural Products*. 2008; 71(2):159-162. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/np070669k>
- [28] Kusari S, Hertweck C, Spiteller M. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry & biology*. 2012; 19(7):792-798. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>
- [29] Ojima I, Das M. Recent advances in the chemistry and biology of new generation taxoids. *Journal of natural products*. 2009; 72(3):554-565. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/np8006556>
- [30] Kaul S, Gupta S, Ahmed M, Dhar MK. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. *Phytochemistry Reviews*. 2012; 11(4), 487-505. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9260-6>
- [31] Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102(38):13386-13391. Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.0504423102>
- [32] Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of natural products*. 2007; 70(3):461-477. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/np068054v>
- [33] Dreyfuss MM, Chapela IH. Potential of fungi in the discovery of novel, low-molecular weight pharmaceuticals. In *Discovery of Novel Natural Products with Therapeutic Potential*. Newnes. 1994; 49-80. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-9003-4.50009-5>
- [34] Gangadevi V, Muthumary J. Preliminary studies on cytotoxic effect of fungal taxol on cancer cell lines. *African Journal of biotechnology*. 2007; 6(12):1382-1386. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/57553>
- [35] Malik S, Cusidó RM, Mirjalili MH, Moyano E, Palazón J, Bonfill M. Production of the anticancer drug taxol in *Taxus baccata* suspension cultures: a review. *Process Biochemistry*. 2011; 46(1):23-34. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.09.004>

- [36] Onrubia M, Moyano E, Bonfill M, Expósito O, Palazón J, Cusidó RM. An approach to the molecular mechanism of methyl jasmonate and vanadyl sulphate elicitation in *Taxus baccata* cell cultures: The role of txs and bap gene expression. *Biochem Eng J.* 2010; 53:104–11 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2010.10.001>
- [37] Cope EA. Taxaceae: the genera and cultivated species. *The Botanical Review.* 1998; 64(4):291-322. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/BF02857621>
- [38] Abella I. La magia de los arboles (Simbolismo, Mitos y tradiciones, Plantacion y cuidados). Barcelona: Ediciones Integral; 1996. 99–121.
- [39] Bolsinger CL, Jaramillo AE. *Taxus brevifolia* Nutt., Pacific yew. *Silvics of North America.* 1990; 1:573-579. Disponible en: <http://dendro.cnre.vt.edu/dendrology/USDAFSSilvics/259.p>
- [40] *Taxus baccata* [Internet]. 2016 [citado el 5 de julio de 2020]. Disponible en: <https://www.floresyplantas.net/taxus-baccata/>
- [41] *Taxus brevifolia* [Internet]. 2018 [citado el 5 de julio de 2020]. Disponible en: <https://botanyphoto.botanicalgarden.ubc.ca/2018/07/taxus-brevifolia/>
- [42] Barrales-Cureño HJ, Roa AF, Reyes CR, Flores IYH, Arzate EG, Salinas SC. Generalidades del fármaco Taxol: una revisión sistemática. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana.* 2016; 16(1):75-91. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780750690034500095>
- [43] Michaelis ML, Ranciat N, Chen Y, Bechtel M, Ragan R, Hepperle M, et al. Protection against β -amyloid toxicity in primary neurons by paclitaxel (taxol). *Journal of Neurochemistry.* 1998; 70(4):1623-1627. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.70041623>.
- [44] Shemesh OA, Spira ME. Rescue of neurons from undergoing hallmark tau-induced Alzheimer's disease cell pathologies by the antimitotic drug paclitaxel. *Neurobiol Dis.* 2011; 43:163–175. Disponible en: doi:10.1016/j.nbd.2011.03.008 70:1623–1627
- [45] Zhang B, Maiti A, Shively S, Lakhani F. Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102:227–31. Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.0406361102>
- [46] Wani MC, Taylor HL, Wall ME, Coggon P, McPhail AT. Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical*

- Society. 1971; 93(9):2325-2327. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/ja00738a045>
- [47] Wani MC, Wall, ME. Plant antitumor agents. II. Structure of two new alkaloids from *Camptotheca acuminata*. *The Journal of Organic Chemistry*. 1969; 34(5):1364-1367. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jo01257a036>
- [48] Wheeler AW. Hypersensitivity to the allergens of the pollen from the olive tree (*Olea europaea*). *Clinical & Experimental Allergy*. 1992; 22(12):1052-1057. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.1992.tb00129.x>
- [49] Croteau R, Ketchum RE, Long RM, Kaspera R, Wildung MR. Taxol biosynthesis and molecular genetics. *Phytochemistry Reviews*. 2006; 5(1):75-97. Disponible en: DOI: 10.1007/s11101-005-3748-2
- [50] Xiao H, Verdier-Pinard P, Fernandez-Fuentes N, Burd B, Angeletti R, Fiser A, et al. Insights into the mechanism of microtubule stabilization by Taxol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006; 103(27):10166-10173. Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.0603704103>
- [51] Löwe J, Li H, Downing KH, Nogales E. Refined structure of $\alpha\beta$ -tubulin at 3.5 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*. 2001; 313(5):1045-1057. Disponible en: <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5077>
- [52] Cai J, Zheng T, Masood R, Smith DL, Hinton DR, Kim CN, et al. Paclitaxel induces apoptosis in AIDS-related Kaposi's sarcoma cells. *Sarcoma*. 2000; 4:37-45. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/S1357714X00000074>
- [53] Belotti D, Vergani V, Drudi T, Borsotti P, Pitelli MR, Viale G, et al. The microtubule-affecting drug paclitaxel has antiangiogenic activity. *Clinical Cancer Research*. 1996; 2(11):1843-1849. Disponible en: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/2/11/1843.short>
- [54] Schiff PB, Horwitz SB. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1980; 77(3):1561-1565. Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.77.3.1561>
- [55] Bröker LE, Huisman C, Span SW, Rodriguez JA, Kruyt FA, Giaccone G. Cathepsin B mediates caspase-independent cell death induced by microtubule stabilizing agents in non-small cell lung cancer cells. *Cancer research*. 2004; 64(1):27-30. Disponible en: DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3060
- [56] Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Lopez-Diaz MJ, Piñeiro A, Garcia-Porrúa C, Miranda-Filloo JA, et al. HLA-DRB1 and persistent chronic inflammation contribute to cardiovascular events and cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care & Research*:

Official Journal of the American College of Rheumatology. 2007; 57(1):125-132. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/art.22482>

- [57] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*. 1993; 260(5105):214-216. Disponible en: DOI: 10.1126/science.8097061
- [58] Yang X, Strobel G, Stierle A, Hess WM, Lee J, Clardy J A fungal endophyte-tree relationship: *Phoma* sp. in *Taxus wallachiana*. *Plant Science*. 1994; 102(1):1-9. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(94\)90017-5](https://doi.org/10.1016/0168-9452(94)90017-5)
- [59] Gangadevi V, Muthumary J. Taxol production by *Pestalotiopsis terminaliae*, an endophytic fungus of *Terminalia arjuna* (arjun tree). *Biotechnology and applied biochemistry*. 2009; 52(1):9-15. Disponible en: <https://doi.org/10.1042/BA20070243>
- [60] Barrales-Cureño HJ, De la Rosa R. Uso de hongos endófitos en la producción del fármaco anti-cáncer taxol. *Biotecnología Vegetal*. 2014; 14(1):3-13. Disponible en: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/23>
- [61] Cureño H, Hernández RS, Valdivia AR, Télle LT, Martínez M, Vázquez ME, et al. Extracción y cuantificación de taxoides por HPLC en hojas in situ y en callos inducidos in vitro de *Taxus globosa* Schlecht. III Jornadas Internacionales sobre el Tejo (*Taxus baccata* L.).
- [62] Zhao J, Zhou L, Wang J, Shan T, Zhong L, Liu X, Gao X. Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. *Curr Res, Technol Educ Trop Appl Microbiol Microbial Biotechnol*. 2010; 1:567-576.