

**AValiação DA DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA
PLANTA *UNCARIA TOMENTOSA* (Willd.) DC**

**EVALUATION OF THE DIVERSITY OF ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM
THE *UNCARIA TOMENTOSA* PLANT (Willd.) DC**

Caio Cesar Carvalho Santos ¹; Maira Costa de Souza¹; Iasminy Ranielly Silva Ferreira ^{2,3}; Luciane Macedo De Souza³

¹ Centro Universitário Meta (UNIMETA), Bacharel em farmácia;

² Universidade Federal do Acre (UFAC), Doutorado da Rede em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - BIONORTE - Universidade Federal do Acre;

³ Centro Universitário Meta (UNIMETA), Escola de Ciências da Saúde - Farmácia.

*Autor correspondente: iasminyranielly@gmail.com

RESUMO

Os fungos endofíticos constituem uma parte importante da diversidade fúngica inexplorada, e considerada uma fonte importante de metabólitos secundários, que representam uma importante fonte genética para a biotecnologia. Desta forma, este estudo teve como objetivos avaliar a diversidade de fungos endofíticos isolados da planta *Uncaria tomentosa*. Foram coletadas amostras de folha e caule da espécie *U. tomentosa* na EMBRAPA-AC, identificadas no PZUFAC, e posteriormente as amostras passaram pelos processos de desinfecção, isolamento, purificação, identificação macro e micromorfológicas. Os dados foram submetidos a análise do índice de diversidade, riqueza, equidade das espécies, frequência relativa e frequência absoluta. Foram isolados 28 fungos endofíticos de *U. tomentosa* e classificados em 15 morfoespécies, com 18 (64,2%) isolados de amostra de folha e 10 (35,7%) de caule, e a análise de diversidade foi maior para o caule. Foram identificados 10 gêneros fúngicos, com maior frequência dos gêneros *Guignardia* (32,1%), *Nigrospora* (7,1%) e *Penicillium* sp. 1 (7,1%). Foram isolados 28 fungos endofíticos obtidos das folhas e caule da espécie de *U. tomentosa*, sendo *Guignardia* o gênero mais frequente, e ao analisar o índice de diversidade endofítica, o tecido vegetal foliar da espécie *U. tomentosa* apresentou maior diversidade, estando em conformidade com os encontrados em diferentes estudos.

Palavras-chave: Unha-de-gato, diversidade fúngica, plantas medicinais.

ABSTRACT

Endophytic fungi constitute an important part of the unexplored fungal diversity, and are considered an important source of secondary metabolites, which represent an important genetic source for biotechnology. Thus, this study aimed to evaluate the diversity of endophytic fungi isolated from the *Uncaria tomentosa* plant. Samples of leaf and stem of the species *U. tomentosa* were collected at EMBRAPA-AC, identified in PZUFAC, and later the samples went through the processes of disinfection, isolation, purification, macro and micromorphological identification. The data were subjected to analysis of the diversity index, richness, species equity, relative frequency and absolute frequency. 28 *U. tomentosa* endophytic fungi were isolated and classified into 15 morphospecies, with 18 (64.2%) isolated from the leaf sample and 10 (35.7%) from the stem, and the diversity analysis was greater for the stem. Ten fungal genera were identified, most frequently of the genera *Guignardia* (32.1%), *Nigrospora* (7.1%) and *Penicillium* sp. 1 (7.1%). Twenty-eight endophytic fungi obtained from the leaves and stem of the *U. tomentosa* species were isolated, *Guignardia* being the most frequent genus, and when analyzing the endophytic diversity index, the leaf plant tissue of the *U. tomentosa* species showed greater diversity, being in accordance with those found in different studies.

Keywords: Cat's claw, fungal diversity, medicinal plants.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos endofíticos são organismos que vivem em todos os tecidos vegetais saudáveis, sem sinais de doenças ou alterações morfológicas por pelo menos parte ou todo o ciclo de vida da planta. A existência de fungos no interior das plantas é conhecida desde o final do século XIX, e o termo "endófito" foi descrito pela primeira vez em 1866 por De Bary [1, 2].

Nas últimas décadas, os endofíticos, especialmente os fungos, têm se destacado pela produção de metabólitos secundários bioativos, que representam uma importante fonte genética para a biotecnologia [3, 4]. Esses endofíticos podem ser extraídos de uma pequena porção de tecido vegetal, mantendo assim, a produção de compostos vitais que apresentam várias atividades biológicas, incluindo atividades antimicrobiana, antioxidante, antidiabética, anticâncer, anti-hipercolesterolêmica e antiproliferativa e citotoxicidade, e são usados para diferentes processos na indústria [3, 5].

A vasta diversidade genética de plantas que ocorrem no Brasil é indicativa do grande potencial para estudos de espécies vegetais com propriedades terapêuticas, principalmente na Amazônia, onde existe grande diversidade de plantas e microrganismos ainda não estudados, o que inspira a pesquisa por novas substâncias [6, 7]. Nesse contexto, de ampla riqueza vegetal destaca-se a espécie *Unacaria tomentosa* (unha-de-gato) que é uma planta nativa da Amazônia, amplamente utilizada na medicina popular e pela indústria farmacêutica devido a suas atividade anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, antioxidante e imunomoduladora [8-10].

Estudos fitoquímicos tem revelado alcaloides oxindólicos tetracíclico (TOA) e pentacíclico (POA) como principal componente na constituição química da *U. tomentosa*, embora outras classes de compostos químicos como ácidos glicósicos (QAG), polifenóis (PPH), tais como ácidos fenólicos, flavonóides, e proantocianidinas também tem sido relatado para a espécie [8, 11-13]. A composição química da planta pode variar dependendo do local de coleta e do período do ano em que foi coletado [14] . Por essa razão, as diversas propriedades farmacológicas relatadas na literatura de *U. tomentosa* podem ser atribuídas a diferenças quantitativas e qualitativas na composição de diferentes espécimes [6].

Estudos anteriores, utilizando extratos brutos preparados a partir de fungos endofíticos isolados de folhas e caules da planta *U. tomentosa* demonstraram atividade antibacteriana in vitro contra bactérias gram-positivas e gram-negativas [6]. Considerando os

raros registros sobre fungos endofíticos da espécie vegetal *U. tomentosa*, este estudo tem por objetivo avaliar a diversidade de fungos endofíticos isolados da planta *U. tomentosa*.

2. METODOLOGIA

2.1 Coleta

As amostras de folha e caule da espécie *U. tomentosa* foram coletadas no mês de outubro de 2019, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA no município de Rio Branco, Acre, Brasil (10°01'42.4" S 67°42'18.6" W). Foi realizado o registro de coleta no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) com o número 73681-1, e a identificação da espécie no herbário da Universidade Federal do Acre - UFAC, sendo depositada uma exsicata da planta com o número 20.736 (Figura 1).

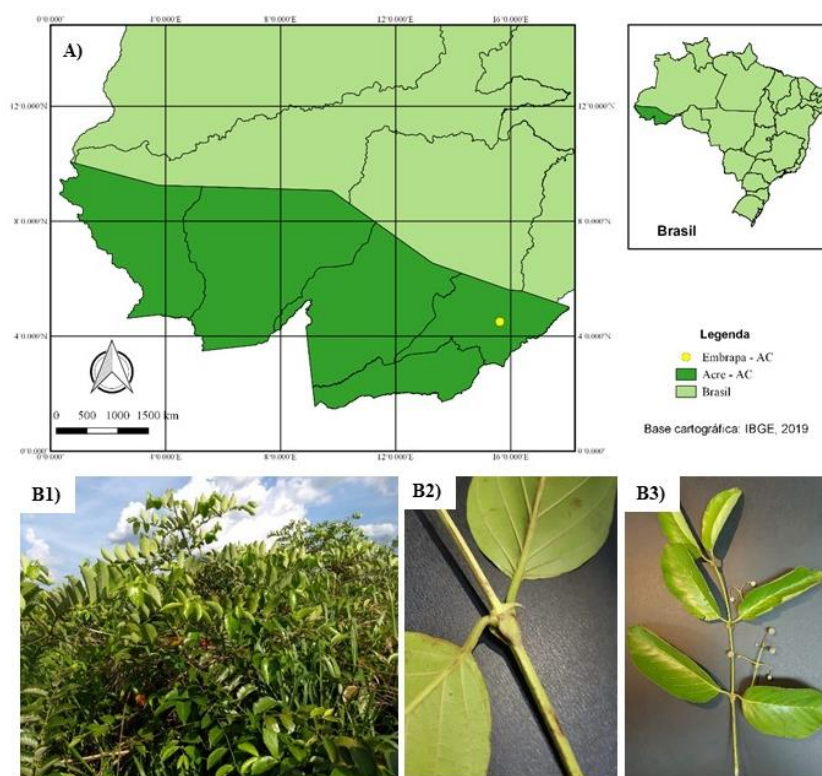


Figura 1 – *U. tomentosa*. A) Local de coleta. B1) Árvore. B2) Espinhos. B3) Inflorescência

2.2 Isolamento e identificação de fungos endofíticos

As amostras foram processadas no prazo de 24 horas, após a coleta. Primeiramente, as amostras foram lavadas com detergente neutro e água corrente por 5 minutos para retirar as possíveis impurezas e microrganismos epifíticos [15].

Em seguida, o material foi submetido ao processo de desinfecção superficial. Essa técnica consiste na imersão das amostras em álcool 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio 4 minutos, álcool 70% por 30 segundos, e lavagem em água destilada estéril por duas vezes [15].

Após a desinfecção, cinco fragmentos de aproximadamente 5x5 mm de diâmetro de folha e caule, foram inoculados em placa de petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA) e em meio ágar aveia, suplementados com cloranfenicol a 1000 µL para inibir o crescimento de bactérias. As placas contendo os fragmentos foram incubadas a 25°C e a 30°C [15].

Após o crescimento das culturas fúngicas, foi realizado a purificação pelo método de estrias por esgotamento, observando o crescimento a cada 24 horas, e após sete dias foi realizada o isolamento das colônias em placas de petri contendo meio BDA e armazenadas em temperatura ambiente. Posteriormente, os fungos endofíticos foram transferidos para os tubos de vidro contendo meio inclinado com BDA e armazenados em estantes a temperatura ambiente por aproximadamente 15 dias [15].

Para identificação dos fungos foram observadas as características macro-morfológica das colônias, como coloração, borda, textura, produção de pigmentação, e micro-morfológicos das estruturas vegetativas e reprodutivas da colônia (Figura 2). Para realizar a observação do micélio e das estruturas de reprodução será utilizada a técnica de microcultivo. As estruturas foram coradas com azul de lactofenol e observadas ao microscópio óptico, classificando-os de acordo com a sua morfologia [16].

2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise do índice de diversidade, riqueza, equidade das espécies, frequência relativa e frequência absoluta. Todos os cálculos serão realizados utilizando o programa de computador *Microsoft Office Excel 2016*.

3. RESULTADOS

Foram isolados 28 fungos endofíticos de *U. tomentosa*. Deste total de fungos endofíticos isolados, 18 (64,2%) foram isolados de amostras de folha e 10 (35,7%) de caule. Foi registrada maior frequência de fungos endofíticos em meio AV 16 (57,1%), com relação as temperaturas utilizadas, 30°C apresentou a maior frequência com 16 (57,1%) (Tabela 1). Os fungos isolados foram agrupados em 15 morfoespécies com base nas características macromorfológicas, e a identificação do gênero foi realizada por meio da observação microscópica das estruturas reprodutivas (Figura 2).

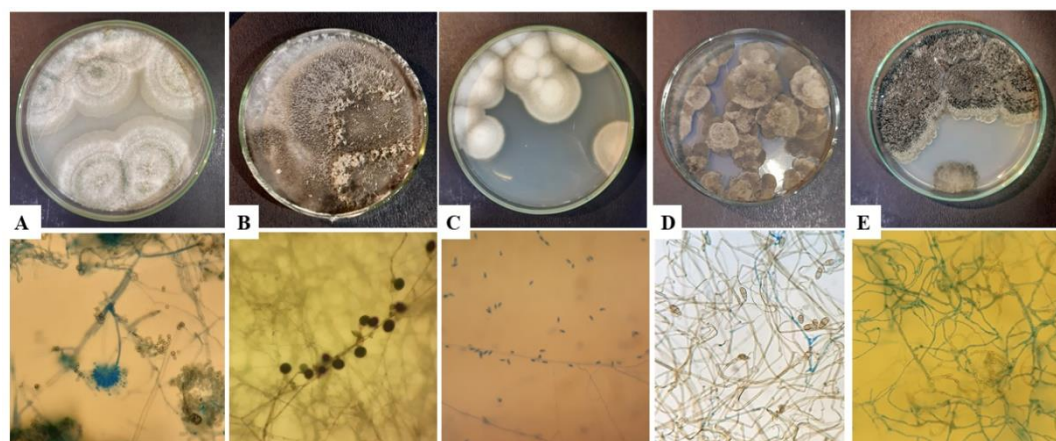


Figura 2 - Análise de características macro e microscópica dos fungos isolados de *U. tomentosa*. A) *Penicillium* sp. B) *Nigrospora*. C) *Colletotrichum*. D) *Curvularia*. E) *Guignardia*.

Tabela 1 - Frequência absoluta e relativa de fungos endofíticos isolados de *U. tomentosa* de acordo com tecido vegetal, meio de cultura e a temperatura de isolamento

| Gênero | Tecido Vegetal | | Meio de Cultura | | Temperatura | | Frequência | |
|--------------------------|----------------|-------|-----------------|-------|-------------|-------|------------|-------|
| | Folha | Caule | BDA | AV | 25°C | 30°C | Total | (%) |
| <i>Colletotrichum</i> | 1 | — | 1 | — | — | 1 | 1 | 3,57 |
| <i>Curvularia</i> | — | 1 | 1 | — | 1 | — | 1 | 3,57 |
| <i>Fusarium</i> | 1 | — | — | 1 | — | 1 | 1 | 3,57 |
| <i>Guignardia</i> | 9 | — | 3 | 6 | 3 | 6 | 9 | 32,14 |
| <i>Nigrospora</i> | 2 | 0 | 1 | 1 | 2 | — | 2 | 7,14 |
| <i>Penicillium</i> sp. 1 | — | 2 | — | 2 | 0 | 2 | 2 | 7,14 |
| <i>Penicillium</i> sp. 2 | 1 | — | 1 | — | — | 1 | 1 | 3,57 |
| <i>Penicillium</i> sp. 3 | — | 1 | — | 1 | — | 1 | 1 | 3,57 |
| <i>Phomopsis</i> | — | 1 | 1 | — | 1 | — | 1 | 3,57 |
| <i>Xylaria</i> | — | 1 | 1 | — | 1 | — | 1 | 3,57 |
| NI | 4 | 4 | 3 | 5 | 4 | 4 | 8 | 28,57 |
| Total | 18 | 10 | 12 | 16 | 12 | 16 | 28 | |
| FR(%) | 64,29 | 35,71 | 42,86 | 57,14 | 42,86 | 57,14 | | |

FR(%)=Frequência relativa; NI= Não identificados

A diversidade da comunidade endofítica isolada de diferentes tecidos de *U. tomentosa* foi comparada usando índices de diversidade (Tabela 2). Os índices de Simpson, Shannon-Wiener, Evenness e a riqueza foram maiores no caule.

Tabela 2 - Índice de diversidade de fungos endofíticos de *U. tomentosa*, de acordo com o tecido vegetal, meio de cultura e temperatura de isolamento

| Índice de diversidade | Abundância | Riqueza das espécies | Diversidade de Shannon-Weiner | Diversidade de Simpson | Evenness |
|-----------------------|------------|----------------------|-------------------------------|------------------------|----------|
|-----------------------|------------|----------------------|-------------------------------|------------------------|----------|

| Tipo de Tecido | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-------------|-------------|-------------|
| Folha | 18 | 6 | 1,41 | 0,68 | 0,49 |
| Caule | 10 | 7 | 1,61 | 0,76 | 0,70 |
| Meio de Cultura | | | | | |
| BDA | 12 | 8 | 1,94 | 0,83 | 0,78 |
| Aveia | 16 | 6 | 1,51 | 0,73 | 0,55 |
| Temperatura | | | | | |
| 25°C | 14 | 7 | 1,53 | 0,84 | 0,58 |
| 30°C | 14 | 6 | 1,75 | 0,69 | 0,66 |
| Total | 28 | 13 | 1,93 | 0,80 | 0,58 |

Foram identificados dez gêneros fúngico, com maior frequência dos gêneros *Guignardia* (32,1%), *Nigrospora* (7,1%) e *Penicillium* sp. 1 (7,1%) (Figura 3).

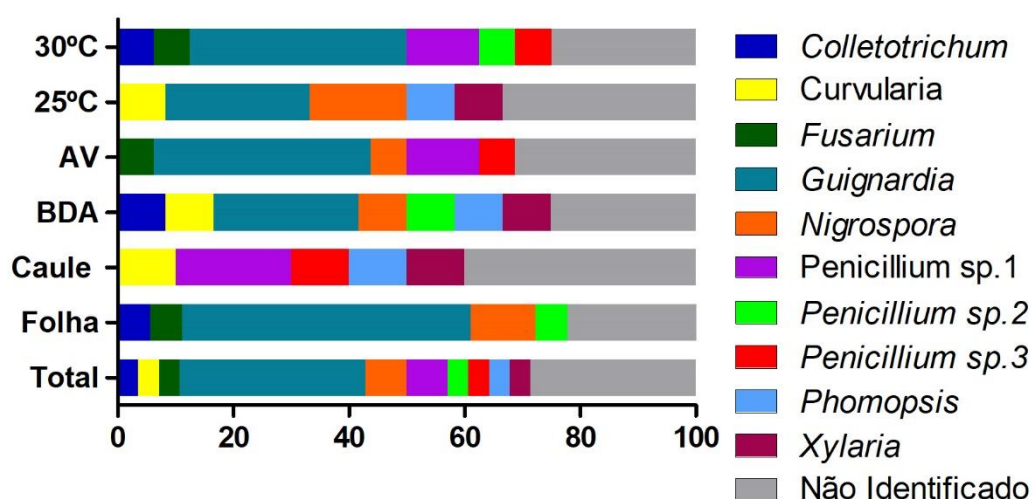


Figura 3 - Frequência relativa de fungos endofíticos isolados da espécie vegetal *U. tomentosa*

4. DISCUSSÕES

Um total de 28 fungos endofíticos foram isolados da *U. tomentosa*, 28,57% não puderam ser identificados, pois eram estéreis e não possuíam micélios. Em estudo semelhante com a *U. tomentosa* isolaram 170 endofíticos, um índice mais elevado, todavia foram utilizadas amostras de três vegetais, temperaturas e meios de culturas distintas, que influenciam na variedade e quantidade de fungos isolados [6].

Estudos prévios também indicam diferentes taxas de colonização de fungos endofíticos, como 17 na espécie *Clitoria guianensis* [17], 29 na espécie *Acacia decurrens* [18], 86 na espécie *Kalanchoe pinnata* [19], e outros. A comunidade de fungos endofíticos em um vegetal pode ser

afetado por diversos fatores, como condições fisiológicas do hospedeiro e climáticas do local de estudo [1, 20].

Dos fungos isolados, 64,2% foram de folha e 35,7% de caule. Essa diferença pode estar relacionada com a anatomia do vegetal, que é de arbusto trepador com mais hastes de folhas, facilitando a entrada nos estômatos e ranhuras de microrganismos [6]. Estudos anteriores também demonstram que as folhas são a porta de entrada para fungos, pois possuem tecidos frágeis e expostos [21]. Ao penetrar a planta, os fungos podem manter-se próximos ao local de entrada ou disseminarem-se pelo sistema vascular [21].

Foram isolados 15 morfoespécies de fungos endofíticos, com maior índice no caule, resultado semelhante a um estudo anterior [6]. Essa variedade assemelha-se com estudos anteriores, onde foram encontradas uma grande diversidade de espécies fúngicas em uma única espécie hospedeira [22]. Já em relação a preferência pelo caule, os grupos endofíticos estão distribuídos especificamente em cada tecido ou órgão de maior afinidade, pois as diferentes partes dos vegetais podem exibir microhabitats distintos, funcionando como ecossistemas variados [20, 22].

Um dos fatores fundamentais para isolamento de fungos endofíticos é a composição do meio de cultura, pois favorece os nutrientes adequados para o crescimento. Os meios extrato de malte, batata-dextrose-ágar (BDA), aveia-dextrose-ágar (AV) e extrato da planta de onde o fungo foi isolado são os mais utilizados para o isolamento de endofíticos [23]. No experimento foi utilizado BDA e AV e os fungos tiveram preferência pela AV, não se sabe ao certo porque houve essa diferença, pois em outros trabalhos semelhantes, a prevalência de crescimento ocorreu em meio BDA, pois é mais rico em nutrientes [23].

Outro fator importante é a temperatura, já que no habitat natural o clima influencia a germinação de esporos dos fungos [20, 24]. O maior índice de diversidade de fungos foi utilizando a temperatura de 30°C (57,14%), este fator pode ser justificável pois estudos prévios afirmam que temperaturas elevadas estimulam o crescimento fúngico da maioria das espécies isoladas [6].

A diversidade da população endofítica da *U. tomentosa* do caule e folha foram comparados utilizando índices diversidade de Shannon-Weiner, Simpson e Evenness e demonstraram maiores valores para o caule. Em estudo anterior, os valores de Shannon-Weiner e de riqueza também foram maiores para o caule, já o de Simpson foram iguais para ambos os tecidos [6].

Dos dez gêneros fúngico isolados, a maior frequência foram de *Guignardia* (32,1%), *Nigrospora* (7,1%) e *Penicillium* sp. 1 (7,1%), todos são fungos tipicamente tropicais e frequentemente isolados como endofíticos, sendo chamados generalistas [25]. Estudos prévios, realizaram o isolamento de fungos endofíticos da *U. tomentosa* e identificaram outros gêneros como *Pestalotiopsis*, *Aspergillus*, *Asterosporium*, *Aureobasidium*, *Botrytis* e *Didymostilbe* fungos menos comuns, conhecidos como especialistas, que não foram encontrados nesse estudo, provavelmente porque foi utilizada amostra de apenas um vegetal, o que diminui a probabilidade [6].

A gênero *Guignardia* sp. foi o mais frequente dos endofíticos isolados (32,1%), esses fungos possuem duas variantes, o patogênico e o endofítico, com características fisiológicas, genéticas, coloração de colônias e morfologia distintas, também possuem taxas de desenvolvimento vegetativo em meios de cultura diferentes [26]. São geralmente encontrados em importantes espécies vegetais, como no café (*Coffea arabica*), laranja (*Citrus* spp.) e soja (*Glycine max*) [25].

Já o gênero *Nigrospora* sp. foi o segundo mais frequente (7,1%), e é um fungo largamente disseminado no solo, sementes e plantas. Geralmente são patógenos de grãos e frutos, ocorrendo em países tropicais, subtropicais e em regiões temperadas [27]. São encontrados em espécies como a banana (*Musa* spp.), morango (*Fragaria* spp.) e soja (*Glycine max*) [25].

O gênero *Penicillium* sp. 1 também foi o segundo mais frequente (7,1%), cuja a maioria das espécies são sapróbias, encontradas em solos, grãos, sementes, no ar e até mesmo em ambientes aquáticos. Após a descoberta da penicilina, foram amplamente estudados com aplicações biotecnológicas devido a diversidade fisiológica e morfológica. São comumente isolados no arroz (*Oryza sativa*), café (*Coffea arabica*) e trigo (*Triticum aestivum*) [25].

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram isolados 28 fungos endofíticos de *U. tomentosa*, sendo os gêneros *Guignardia*, *Nigrospora* e *Penicillium* sp. 1 os mais frequentes. Os índices de Simpson, Shannon – Wiener, Evenness e a riqueza foram maiores no caule, mostrando que há mais afinidade das espécies encontradas por esse tecido, pois os endofíticos se distribuem especificamente em cada tecido ou órgão de maior afinidade.

REFERÊNCIAS

1. RAJAMANIKYAM, M., VADLAPUDI, V., UPADHYAYULA, S. M. Endophytic fungi as novel resources of natural therapeutics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. v. 60, n. p. 1-26, 2017.
2. SUDHA, V., GOVINDARAJ, R., BASKAR, K., AL-DHABI, N. A., DURAIKANDIYAN, V. Biological properties of endophytic fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. v. 59, n. p. 1-7, 2016.
3. SPECIAN, V., ORLANDELLI, R. C., FELBER, A. C., AZEVEDO, J. L., PAMPHILE, J. A. Metabólitos Secundários de Interesse Farmacêutico Produzidos por Fungos Endofíticos. *Journal of Health Sciences*. v. 16, n. 4, p., 2015.
4. TEIXEIRA, T. R., SANTOS, G. S. D., ARMSTRONG, L., COLEPICCOLO, P., DEBONSI, H. M. Antitumor Potential of Seaweed Derived-Endophytic Fungi. *Antibiotics*. v. 8, n. 4, p. 205, 2019.
5. RANA, K. L., KOUR, D., SHEIKH, I., DHIMAN, A., YADAV, N., YADAV, A. N., et al. Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. *Recent advancement in white biotechnology through fungi*: Springer; 2019. p. 1-62.
6. ASFURY, R. A., DE ARAUJO, A. V., DA CUNHA, R. M., CARVALHO, C. M. Antibacterial activity of endophytic fungi from the medicinal plant *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Journal of Medicinal Plants Research*. v. 12, n. 15, p. 179-85, 2018.
7. VALLI, M., RUSSO, H. M., BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. v. 90, n. 1, p. 763-78, 2018.
8. ZHANG, Q., ZHAO, J. J., XU, J., FENG, F., QU, W. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Uncaria*. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 173, n. p. 48-80, 2015.
9. PERREIRA JUNIOR, J. B., DANTAS, K. G. Evaluation of inorganic elements in cat's claw teas using ICP OES and GF AAS. *Food chemistry*. v. 196, n. p. 331-7, 2016.
10. GUPTA, S., CHATURVEDI, P., KULKARNI, M. G., VAN STADEN, J. A critical review on exploiting the pharmaceutical potential of plant endophytic fungi. *Biotechnology advances*. v. n. p. 107462, 2019.
11. LOCK, O., PEREZ, E., VILLAR, M., FLORES, D., ROJAS, R. Bioactive compounds from plants used in Peruvian traditional medicine. *Natural product communications*. v. 11, n. 3, p. 315-37, 2016.
12. MONTSERRAT-DE LA PAZ, S., DE LA PUERTA, R., FERNANDEZ-ARCHE, A., QUILEZ, A., MURIANA, F. J., GARCIA-GIMENEZ, M., et al. Pharmacological effects of mitraphylline from *Uncaria tomentosa* in primary human monocytes: Skew toward M2 macrophages. *Journal of ethnopharmacology*. v. 170, n. p. 128-35, 2015.
13. PEÑALOZA, E. M. C., KAISER, S., RESENDE, P. E. D., PITTOL, V., CARVALHO, Â. R., ORTEGA, G. G. Chemical composition variability in the *Uncaria tomentosa* (cat's claw) wild population. *Química Nova*. v. 38, n. 3, p. 378-86, 2015.
14. URDANIBIA, I., TAYLOR, P. *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC. and *Uncaria guianensis* (Aubl.) JF Gmel. *Medicinal and Aromatic Plants of South America*: Springer; 2018. p. 453-63.
15. AZEVEDO, J. L. D., ARAÚJO, W. L., LACAVALA, P. T., MARCO, J., LIMA, A. O. D. S., SOBRAL, J. K., et al. Meios de cultura utilizados para o estudo de microrganismos. In: Pizzirani-Kleiner AA et al. (eds) *Guia prático: isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos*. n. p., 2010.

16. BARNETT, H. L., HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing. v. 64, n. 3rd ed, p. 930-2, 1972.
17. FERRAZ, L. F., RAMOS, A. C. C., LOPES, J. C., JÚNIOR, A. F. C., CHAPLA, V. M. CB. Isolamento de fungos endofíticos associados a *Clitoria guianensis* e utilização como antagonistas de fungos fitopatogênicos. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*. v. 37, n. 1, p., 2016.
18. DUIN, I. M., COELHO, T. A. D. V., CAROLINA GRACIA, P., SANTOS, Á. F. D., PIMENTEL, I. C., AUER, C. G. Identificação de fungos endofíticos em miniestacas de acácia-negra. *Summa Phytopathologica*. v. 44, n. 3, p. 278-80, 2018.
19. SOUZA, B. D. S., OLIVEIRA, D. R. D., ROCHA, F. V. R. D., CANTO, E. S. M., OLIVEIRA, D. P. D., SANTOS, T. T. D. FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À PLANTA MEDICINAL CORAMA (*Kalanchoe pinnata* [LAM.] PERS.). *DESAFIOS-Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins*. v. 5, n. 3, p. 30-45, 2018.
20. JIA, M., CHEN, L., XIN, H.-L., ZHENG, C.-J., RAHMAN, K., HAN, T., et al. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in Microbiology*. v. 7, n. p. 1-14, 2016.
21. SKALTSAS, D. N., BADOTTI, F., VAZ, A. B. M., DA SILVA, F. F., GAZIS, R., WURDACK, K., et al. Exploration of stem endophytic communities revealed developmental stage as one of the drivers of fungal endophytic community assemblages in two Amazonian hardwood genera. *Scientific reports*. v. 9, n. 1, p. 1-14, 2019.
22. GONÇALVES, F. J. T., FREIRE, F. D. C. O., LIMA, J. S. Fungos endofíticos e seu potencial como produtores de compostos bioativos. *Essentia-Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia da UVA*. v. 15, n. 1, p., 2013.
23. ARNOLD, A. E., MAYNARD, Z., GILBERT, G. S., COLEY, P. D., KURSAR, T. A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology letters*. v. 3, n. 4, p. 267-74, 2000.
24. POTSHANGBAM, M., DEVI, S. I., SAHOO, D., STROBEL, G. A. Functional Characterization of Endophytic Fungal Community Associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. *Frontiers Microbiology*. v. 8, n. p. 1-15, 2017.
25. FELIX, T. Fungos endofíticos em espécies agrícolas de importância econômica. n. p., 2019.
26. PINHATI, A. C. O. D. S., GOES, A. D., WICKERT, E., ALMEIDA, T., MACHADO, M. Mancha Preta dos Citros: epidemiologia e manejo. *Laranja*. v. 30, n. 1-2, p. 45-64, 2009.
27. TONATO, D. Produção de óleo e material adsorvente a partir da biomassa do fungo *Nigrospora* sp: Universidade Federal de Santa Maria; 2019.