



**FUNGOS ENDOFÍTICOS DE *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan DE ÁREA DE
CAATINGA: DIVERSIDADE E POTENCIAL ANTIFÚNGICO CONTRA ESPÉCIES DE
*Sporothrix***

APARECIDA CLÉBIA DA SILVA

**RECIFE
JULHO/2023**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

**FUNGOS ENDOFÍTICOS DE *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan DE ÁREA DE
CAATINGA: DIVERSIDADE E POTENCIAL ANTIFÚNGICO CONTRA ESPÉCIES DE
*Sporothrix***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia Aplicada

Nome da aluna: Aparecida Clébia da Silva

Orientador: Prof. Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra

Coorientadora: Profa. Dra. Cristina Maria de Souza-Motta

RECIFE
JULHO/2023

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Silva, Aparecida Clébia da

Fungos endofíticos de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan de área de Caatinga: diversidade e potencial antifúngico contra espécies de *Sporothrix*. / Aparecida Clébia da Silva. – 2023.

63 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Jadson Diogo Pereira Bezerra.
Coorientadora: Cristina Maria de Souza-Motta.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

Inclui referências.

1. Angico. 2. Endófitos. 3. Floresta Tropical Seca. 4. Esporotricose. I. Bezerra, Jadson Diogo Pereira (Orient.). II. Souza-Motta, Cristina Maria de (Coorient.). III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-106

**FUNGOS ENDOFÍTICOS DE *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan DE ÁREA DE
CAATINGA: DIVERSIDADE E POTENCIAL ANTIFÚNGICO CONTRA ESPÉCIES DE
*Sporothrix***

APARECIDA CLÉBIA DA SILVA

Data da defesa: 27/07/2023

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra (Orientador e presidente)
Universidade Federal de Goiás (UFG)

Dr. Rafael José Vilela de Oliveira – Examinador Externo
Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE)

Dra. Laura Mesquita Paiva – Examinador Interno
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

(Isaac Newton).

AGRADECIMENTOS

Encerro mais um ciclo agradecendo a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pois são eles que sempre me deram as forças necessárias para continuar, mesmo diante das adversidades.

A minha mãe Cecília Silva de Carvalho e ao meu pai Joaquim José da Silva, que sempre acreditaram em mim, nos meus sonhos e nas minhas decisões, vocês são minha fortaleza e eu sou eternamente grata por todo amor incondicional que tenho recebido.

Aos meus cinco irmãos e as minhas duas sobrinhas que formam a nossa “Grande Família”, vocês sem dúvidas são minha motivação, obrigada por todo incentivo e carinho que tem me dado. Desejo um futuro cheio de realizações a cada um de vocês.

Agradeço também a minha família da Argentina, a qual desde 2014 vem contribuindo no meu aprendizado, vocês são responsáveis por tornar muitos de meus sonhos realidade. Obrigada a minha irmã Camila Sasia e aos meus pais Andrea Fessia e Gabriel Sasia, vocês são minha família do coração. Aos meus avós e bisavós que sempre estiveram presentes, mesmo que alguns de vocês não estejam mais aqui, espero que estejam orgulhosos da sua neta, eu sempre os marei.

Agradeço aos meus tios, tias, primos, namorado, sogros e membros da família por sempre vibrarem em minhas conquistas. Obrigada por todos os conselhos e incentivo.

Ao meu orientador Professor Jadson Diogo Pereira Bezerra e a minha coorientadora Professora Cristina Souza-Motta, agradeço todo incentivo, confiança e respeito que sempre tiveram comigo e com nossas pesquisas. Vocês são minhas inspirações, são o tipo de pessoa e profissional que eu desejo ser.

Agradeço a todos que fazem parte do programa de pós graduação em Biologia de Fungos, obrigada por fazerem possível o desenvolvimento de minha pesquisa. Em especial, aos amigos que fiz no Laboratório de Micologia Ambiental e no Laboratório de Biotecnologia, vocês sempre estiveram dispostos a me ajudar, me incentivando e mostrando o quão bonito é o que fazemos. Além disso, sou grata a todos os meus amigos que sempre estiveram comigo, inclusive aqueles que estão presentes muito antes do início dessa trajetória. Agradeço em especial a Layanne Ferro, Vitória Santiago, Arthur Vinícius e Isaias Júnior pela rede de apoio científica e por todos os ensinamentos que me proporcionaram, vocês são incríveis.

Ao Laboratório de Micologia Ambiental, em nome dos professores Laura Mesquita Paiva e Alexandre Reis Machado, ao Laboratório de Taxonomia e Biotecnologia de fungos em nome da professora Cristina Souza Motta, ao Laboratório de Biologia Molecular em nome da professora Elaine Malosso e a Micoteca URM, por me ofertarem subsidio e os componentes necessários ao desenvolvimento e conclusão do meu trabalho.

A todos os técnicos e a secretaria do Departamento de Micologia por sempre sanarem nossas dúvidas e resolveram as questões burocráticas.

Agradeço também, a FACEPE pela bolsa de estudos concedida durante esse período para realização da pesquisa.

Por fim, gostaria de agradecer a universidade pública de qualidade, a qual tenho muito orgulho de fazer parte e sempre serei grata a cada oportunidade que me foi dada.

Aos membros da banca examinadora por fazerem parte desse momento e contribuir com nosso estudo.

Sou grata a todos que de alguma forma contribuíram e motivaram direta e indiretamente esse estudo.

Gratidão!

RESUMO GERAL

Fungos endofíticos são microrganismos que habitam o interior dos tecidos sadios de plantas em alguma ou toda parte do seu ciclo de vida sem causar danos aparentes aos seus hospedeiros. Esses fungos podem contribuir com as condições adequadas para que os vegetais sobrevivam a diversos tipos de estresses ambientais. Além disso, são um importante objeto de estudo em relação a diversidade e potencial biotecnológico, incluindo a produção de antifúngicos. Contudo, a complexidade dessas interações ainda é bastante questionada, principalmente em ambientes secos como a Caatinga. O objetivo desse estudo foi estimar a diversidade de fungos endofíticos em folíolos e ramos de *Anadenanthera colubrina* da Caatinga e avaliar o efeito antifúngico dos endófitos contra os agentes etiológicos da esporotricose. Foram coletadas amostras de ramos e folíolos de três indivíduos de *A. colubrina*, que foram desinfestadas em sua superfície e fragmentadas para isolamento de endófitos. Para os testes contra os agentes etiológicos da esporotricose (*S. mexicana* URM301, *S. chilensis* URM 2439, *S. shenckii* URM 4252 e de *S. brasiliensis* URM 8233 e URM 8248) foi utilizado o método de bloco de gelose das culturas de fungos e discos impregnados com antifúngicos (itraconazol e anfotericina B) foram utilizados como controle positivo. A partir dos 406 fragmentos analisados, foram obtidos 126 isolados agrupados em 37 morfoespécies de fungos endofíticos distribuídas em 21 gêneros com base nas análises morfológicas, sequências ITS e LSU rDNA e de outros genes (calmodulina, β -tubulina, actina, *TEF-1 α* , histona, *RPB1*, *RPB2* e *GAPDH*). A taxa de colonização (TC%) foi maior para os ramos (53,88%) do que para folíolos (5,55%). O gênero *Diaporthe* foi o mais frequente seguido de *Didymella* e *Rhytidhysterion*. Os valores dos índices de diversidade de Shannon-Wiener foram de $H' = 1,15$ e $2,71$ para folíolos e ramos, respectivamente. Todos os endófitos isolados foram utilizados para o teste contra agentes etiológicos de esporotricose, porém não obtivemos resultados positivos. Este estudo é pioneiro em relação a fungos endofíticos associados aos ramos e aos folíolos de *A. colubrina* em área de conservação da Caatinga e demonstra uma importante riqueza de fungos associados com esta planta e que contribuem com estimativas nacionais e internacionais de dados da diversidade micológica.

Palavras-chave: Angico, Endófitos, Floresta Tropical Seca, Esporotricose.

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms that inhabit the interior of healthy plant tissues for some or all of their life cycle without causing apparent harm to their hosts. These fungi can contribute to the proper conditions for plants to survive different types of environmental stress. In addition, they are an important object of study in relation to diversity and biotechnological potential, including the production of antifungals. However, their complexity is still questioned, especially in dry environments such as the Caatinga. The aim of this study was to estimate the diversity of endophytic fungi in leaflets and branches of *Anadenanthera colubrina* from the Caatinga and to evaluate the antifungal effect of endophytes against the etiologic agents of sporotrichosis. Samples were collected from branches and leaflets of three individuals of *A. colubrina*, which were superficially disinfected and fragmented for isolation of endophytes. The agar block method of fungal cultures was used for tests against the etiological agents of sporotrichosis (*S. mexicana* URM301, *S. chilensis* URM 2439, *S. shenckii* URM 4252 and *S. brasiliensis* URM 8233 and URM 8248), and discs impregnated with antifungal agents (itraconazole and amphotericin B) were used as positive controls. From the 406 tissue fragments, 126 isolates were obtained and grouped into 37 morphospecies of endophytic fungi distributed in 21 genera based on morphological analyses and on sequences of ITS and LSU rDNA and other genes (calmodulin, β -tubulin, actin, *TEF-1 α* , histone, *RPB1*, *RPB2* and *GAPDH*). The colonization rate (TC%) was higher for branches (53.88%) than for leaflets (5.55%). The genus *Diaporthe* was the most frequent followed by *Didymella* and *Rhytidhysterium*. Shannon-Wiener diversity index values were $H' = 1.15$ and 2.71 for leaflets and branches, respectively. All isolated endophytes were used for the test against etiological agents of sporotrichosis, but we did not obtain positive results. This study is a pioneer in relation to endophytic fungi associated with the branches and leaflets of *A. colubrina* in a conservation area of the Caatinga and demonstrates an important richness of fungi associated with this plant and which created national and international estimates of mycological diversity.

Key-words: Angico, Endophytes, Tropical dry Forest, Sporotrichosis.

Lista de abreviaturas

AB	Anfotericina B
BDA	Ágar Batata Dextrose
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ITS	Internal transcript Spacer
ICZ	Itraconazol
MEA	Ágar Extrato de Malte
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ácido ribonucleico
rRNA	RNA ribossomal
SAB	Ágar Saboraud

Lista de figuras

Pág.

Figura 1 - Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) - Fazenda Tamanduá, Brasil.....	26
Figura 2 - Mapa de distribuição geográfica da espécie <i>A. colubrina</i> (Vell.) Brenan no Brasil.....	27
Figura 3 - <i>A. colubrina</i> (Vell.) Brenan: A: Aspecto geral da espécie. B, C: Detalhe de folhas e ramos.....	27
Figura 4 - Localização geográfica da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) - Fazenda Tamanduá.....	28
Figura 5 - Etapas seguidas para o isolamento dos fungos endofíticos de <i>A. colubrina</i>	29
Figura 6 - Etapas de reativação dos fungos endofíticos de <i>A. colubrina</i>	30
Figura 7 - Etapas seguidas para a avaliação do potencial antifúngico dos fungos endofíticos de <i>A. colubrina</i>	33
Figura 8 - Filograma obtido através de análise de verossimilhança a partir de matriz combinada de sequências da região ITS e LSU do rDNA de fungos endofíticos de folíolos e ramos de <i>A. colubrina</i> em área de Caatinga. <i>Trametes velutina</i> Dai 4636 foi utilizado como grupo externo. Valores de bootstrap acima de 70% são mostrados perto dos nós. Os representantes destacados em negrito foram os obtidos nesse estudo.....	36
Figura 9- Fungos endofíticos isolados de folhas e ramos de <i>A. colubrina</i>	38
Figura 10 - Curva de acumulação e extrapolação de táxons, baseada na diversidade de Simpson, para fungos endofíticos de <i>A. colubrina</i> em uma área Caatinga, Brasil (A). Curva de acumulação e extrapolação de táxons, baseada na diversidade de Simpson, para fungos endofíticos de folíolo e ramo de <i>A. colubrina</i> em uma área Caatinga, Brasil (B).....	43
Figura 11 - Diagrama de Venn mostrando os gêneros de fungos endofíticos únicos e compartilhados entre folíolos e ramos de <i>A. colubrina</i> em uma área Caatinga, Brasil.....	44
Figura 12 - Endófitos de <i>A. colubrina</i> testados contra isolados de A: <i>S. mexicana</i> URM 301, B: <i>S. chilensis</i> URM 2439, C: <i>S. shenckii</i> URM4252, D: <i>S. brasiliensis</i> URM 8233 (isolada de felino) e E: <i>S. brasiliensis</i> URM 8248 (isolado de humano) após 3 dias de incubação a 28 ± 2 °C.....	45
Figura 13 - Teste de suscetibilidade para isolados de A: <i>S. mexicana</i> URM 301, B: <i>S. chilensis</i> URM 2439, C: <i>S. shenckii</i> URM4252, D: <i>S. brasiliensis</i> URM 8233 (isolada de felino) e E: <i>S. brasiliensis</i> URM 8248 (isolado de humano) após 3 dias de incubação a 28 ± 2 °C.....	46

Lista de tabelas

Pág.

Tabela 1 - Taxa de colonização dos ramos e folíolos por indivíduos dos fungos endofíticos isolados de <i>A. colubrina</i> em uma área de preservação da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) – Fazenda Tamanduá, Brasil.....	34
Tabela 2 - Frequência absoluta e relativa (%) de fungos endofíticos de <i>A. colubrina</i>	39

SUMÁRIO

Pág.

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1. Fungos endofíticos: breve histórico, conceitos e características gerais.....	16
2.2. Distribuição e diversidade dos fungos endofíticos.....	18
2.3 Relação dos fungos endofíticos com plantas de ambientes extremos secos.....	20
2.4 Potencial biotecnológico dos fungos endofíticos.....	21
2.4.1 Esporotricose.....	23
2.5 Florestas Tropicais Secas: Caatinga.....	24
2.5.1 <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan.....	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1 Área de coleta.....	28
3.2 Material vegetal.....	28
3.3 Isolamento de fungos endofíticos.....	29
3.4 Reativação dos endófitos de <i>Anadenanthera colubrina</i>	30
3.5 Identificação de fungos endofíticos.....	30
3.5.1 Identificação morfológica dos fungos endofíticos.....	30
3.5.2 Identificação moléculas dos fungos endofíticos.....	30
3.5.2.1 Extração, amplificação de fragmentos do DNA e sequenciamento.....	30
3.5.2.2 Alinhamento das sequências de DNA e análise filogenética.....	31
3.6 Análise dos dados ecológicos.....	31
3.7 Obtenção dos isolados de <i>Sporothrix</i>	32
3.7.1 Avaliação da atividade antifúngica.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1 Diversidade de fungos endofíticos de ramos e folíolos de <i>A. colubrina</i> : análises filogenéticas e ecológicas.....	33
4.2 Teste antifúngico dos endófitos de <i>A. colubrina</i> contra agentes da esporotricose.....	44
5. CONCLUSÕES.....	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

Fungos endofíticos representam um grupo polifilético de microrganismos que habitam os tecidos vivos de possivelmente todas as plantas sem causar evidência de doença (Dastogeer *et al.*, 2017). Sobre a estimativa global da diversidade de fungos, os endófitos representam uma parcela negligenciada (Baucom *et al.*, 2012) e que muitas vezes é subestimada em ambientes de climas tropicais secos, como a Caatinga (Bayman *et al.*, 2006, Bezerra *et al.*, 2017a).

A Caatinga, representante das florestas tropicais secas no Brasil, destaca-se pela alta diversidade biológica, inclusive de fungos com potencial de descoberta de novos táxons e produtos biotecnológicos (Faggin *et al.*, 2017; Pádua *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2021). Com uma vegetação caracterizada pela presença de espécies endêmicas, ocupa grande extensão na região semiárida do Nordeste brasileiro, além de uma pequena parte no norte de Minas Gerais e quase 40% de sua área é recoberta por uma fitodiversidade heterogênea nativa pouco protegida em unidades de conservação (Leal *et al.*, 2005; Pagotto *et al.*, 2015). Diversas plantas medicinais são conhecidas na Caatinga e estudos etnobotânicos demonstram que o maior número das espécies vegetais pertence à família Fabaceae (Falcão *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2015), a qual se difunde em zonas temperadas e tropicais do planeta, possuindo cerca de 19.500 espécies distribuídas em 751 gêneros (Christenhusz & Byng, 2016). Nesta diversidade se destaca *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, que além da Caatinga é encontrada também no Cerrado e na Mata Atlântica (Morim, 2020).

Anadenanthera colubrina, conhecida popularmente como angico, é uma espécie heliófila decídua de porte arbóreo que atinge cerca de 20 a 35 m de altura com distribuição geográfica desde o estado do Ceará até o Paraná (De Medeiros *et al.*, 2016). Suas folhas apresentam efeitos fitoterápicos no tratamento de infecções bacterianas, doenças pulmonares e úlceras externas (Bispo *et al.*, 2017). O extrato hidroalcoólico da casca de *A. colubrina* mostrou baixa toxicidade e alto potencial antifúngico e antibiofilme contra isolados de *Candida* (Silva *et al.*, 2019).

Estudos demonstram que numerosos produtos secundários extraídos de plantas medicinais são produzidos por endófitos e suas atividades medicinais e nutricionais auxiliam a medicina alternativa na descoberta de novos metabólitos para terapias, incluindo antifúngicos (Venieraki, Dimou e Katinakis, 2017). Espécies de *Sporothrix* (Ascomycota) são agentes etiológicos da esporotricose, micose tropical grave que causa lesões linfocutâneas e cutâneas localizadas, que pode acometer humanos e outros animais. O perfil da doença muitas vezes

pode levar a quadros de lesões disseminadas causando morbimortalidades (Oliveira *et al.*, 2015). O diagnóstico precoce e uma abordagem terapêutica apropriada são necessárias, principalmente pela constatação de cepas de espécies de *Sporothrix* resistentes aos fármacos (Rodrigues *et al.*, 2014). A alta incidência e prevalência de novos surtos com transmissão zoonótica desta doença na Região Metropolitana do Recife (Silva *et al.*, 2018) conduziu à ação de saúde pública, e assim a esporotricose está entre as doenças de notificação compulsória desde 2015 (Portaria SES/PE Nº 279 de 23/07/2015). Estudos da suscetibilidade antifúngica *in vitro* de isolados clínicos do complexo *Sporothrix schenckii* têm sido relatados e reforçam a necessidade de novas alternativas terapêuticas frente a resistência de algumas cepas (Trilles *et al.*, 2005).

Considerando que os vegetais são potenciais fontes de riqueza de microrganismos endofíticos e que não se tem conhecimento de nenhum estudo sobre esses endófitos associados com folíolos e ramos de *A. colubrina* em área de Caatinga, acessar a comunidade endofítica associada a essa planta com a possibilidade da descoberta de novos táxons e de isolados com possível potencial contra agentes etiológicos da esporotricose direcionou o estudo dessa micodiversidade. Foi testada a hipótese de folíolos e ramos de *Anadenanthera colubrina* abrigam grande riqueza de espécies de fungos endofíticos capazes de inibir o crescimento *in vitro* de isolados de *Sporothrix*.

- O objetivo geral desse estudo foi estimar a diversidade de fungos endofíticos em folíolos e ramos de *A. colubrina* em uma área de conservação de Caatinga e avaliar o efeito antifúngico desses endófitos contra isolados de *Sporothrix*. Os objetivos específicos foram: 1) Reativar os fungos endofíticos isolados de folíolos e ramos de *A. colubrina* preservados na coleção de trabalho do Laboratório de Micologia Ambiental da UFPE; 2) Identificar esses fungos endofíticos por análises morfológicas e moleculares; 3) Avaliar filogeneticamente os grupos taxonômicos de fungos endofíticos de *A. colubrina*.; 4) Estimar a riqueza e a diversidade e outros índices ecológicos de fungos endofíticos associados com *A. colubrina*; 5) Contribuir com a estimativa global e nacional da diversidade de fungos endofíticos; 6) Testar o potencial antifúngico dos endófitos identificados contra espécies de *Sporothrix*, agentes etiológicos da esporotricose.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Fungos endofíticos: breve histórico, conceitos e características gerais

O termo endófito é originado do grego (*endhon* + *phytón*) e quer dizer “no interior da planta” (Kobayashi e Palumbo, 2000), entretanto diversos conceitos foram propostos com o passar dos anos, direcionando-nos a novos parâmetros dentro da linha temporal. Assim, os primeiros registros sobre esse assunto foram datados ainda no século XIX, em que De Barry no ano de 1866 propôs pela primeira vez o termo “endófito”, o qual hoje é utilizado para designar os microrganismos que estão presentes no interior de planta sem causar danos aparente ao hospedeiro (Azevedo *et al.*, 1998; Hyde e Soytong, 2008).

Os estudos começaram a ter maior profundidade na década de 1970, e seu principal objetivo foi descobrir e entender qual a real relação sobre a interação entre esses organismos e seus hospedeiros (Carrol *et al.*, 1977). Assim, no ano de 1988 Carrol utilizou o termo endofítico para organismos endosimbiontes que poderiam causar infecções assintomáticas nas plantas, mas que os fungos micorrízicos não participariam dessa organização. Entretanto, no ano de 1991 essa definição foi expandida por Petrini que complementou o conceito informando que esses organismos em algum período de seu ciclo de vida colonizam os tecidos das plantas sem causar danos evidentes ao hospedeiro, acrescentando a definição além dos microrganismos simbiotes, os mutualistas e patógenos latentes (Petrini, 1991; Selosse *et al.*, 2004). Posteriormente, Bouarab *et al.* (1999) propuseram que todas essas interações endofíticas possuíam algo em comum, neste caso, o fornecimento de nutrientes.

Especificidades entre o uso dos termos endofíticos, epifíticos, oportunistas e fitopatógenos deixam dúvidas em relação aos limites existentes entre eles, podendo por sua vez atuar de diferentes formas no hospedeiro a depender do estágio que se encontre e sendo considerados termos puramente didáticos (Azevedo, 2000). Definições artificiais dividem os endofíticos em dois grupos ecológicos, sendo considerados *balansiaceus* e não-*balansiaceus*, o primeiro se refere aos colonizadores de gramíneas (Schulz e Boyle, 2005; White *et al.*, 2000), enquanto o segundo possui a maioria de seus representantes no filo Ascomycota e encontrados diferentes espécies de plantas (Petrini, 1991; Stone *et al.*, 2004). Além disso, sabe-se que os fungos endofíticos podem ser transmitidos para planta de uma forma vertical pelas sementes ou de forma horizontal através dos estômatos, raízes ou aberturas naturais (Aly *et al.*, 2010).

Outras definições foram propostas a partir do estudo de Mendes e Azevedo (2007) em que se afirma que os endófitos são microrganismos capazes de colonizar os órgãos das plantas de uma forma assintomática e sem causar danos aparentes aos hospedeiros, além disso estes não podem produzir estruturas externas emergentes e seu crescimento pode ser obtido ou não em um meio de cultura. Esses autores dividiram esses fungos em dois grupos, onde o primeiro pode ser entendido como os não produtores de estruturas externas na planta e o segundo como os que são capazes de produzir essas estruturas no hospedeiro. Posteriormente, por causa do avanço nos estudos de endófitos, o estudo dos microrganismos endofíticos foi definido como “endofitologia” (Unterseher *et al.*, 2012), sendo a maioria dos fungos endofíticos filamentosos (Azevedo *et al.*, 2002), apesar do isolamento de leveduras (Solis *et al.*, 2015).

A interação entre os endófitos e seus hospedeiros é complexa e ainda pouco compreendida, porém a partir de análises de tecidos fossilizados, alguns estudiosos sugeriram que essas interações possam ter surgido há mais de 400 milhões de anos (Taylor e Taylor, 2000; Krings *et al.*, 2007) admitindo-se que, provavelmente, os fungos foram um dos responsáveis pela migração das plantas para o ambiente terrestre (Pirozynski & Malloch, 1975; Krings *et al.*, 2007). Alguns estudos *in vitro* demonstraram que tanto o fungo endofítico como a planta secretam substâncias que podem ser tóxicas para ambos, algo que é questionável dentro de numa interação considerada como assintomática (Peters *et al.*, 1998) já que o fungo produz metabólitos tóxicos e em consequência a planta produz metabólitos em sua defesa (Agrios, 1997). Outra hipótese é que a colonização de forma assintomática seria uma consequência da interação antagônica balanceada entre a planta e os fungos, ou seja, os endófitos podem produzir exoenzimas e micotoxinas fitotóxicas necessárias no processo de infecção do hospedeiro (Schulz e Boyle, 2005). Schulz *et al.* (2002) explicam que o vegetal em questão pode vir a reagir utilizando da produção de metabólitos e de respostas mecânicas semelhantes às produzidas pelo patógeno, havendo uma relação harmônica entre a virulência dos fungos e a defesa do hospedeiro.

Os fungos endofíticos apresentam distintas relações com seu hospedeiro, de forma que sejam simbióticas, neutras ou antagônicas (PEIXOTO-NETO *et al.*, 2002) e a diversidade e a frequência desses endófitos no vegetal variam de acordo com as condições ambientais encontradas e com o seu hospedeiro (Kumar & Prasher, 2021). Além disso, podem ainda realizar a produção de diversos metabólitos secundários como esteroides, xantonas, terpenóides, compostos aromáticos, fenóis, furandionas, alcalóides, entre outros (Bae *et al.*, 2008). Esses autores ainda informam que, caso este equilíbrio seja afetado, seja por uma

redução ou aumento em relação a defesa da planta e virulência do fungo, pode ocorrer o estabelecimento de doença, pois fungos endofíticos podem ser patógenos latentes (Azevedo, 1998; Azevedo *et al.*, 2000; Qawasmeh *et al.*, 2012).

A micobiota endofítica abre um amplo número de possibilidades de estudos, em razão da sua grande capacidade de colonizar uma ampla diversidade de espécies de vegetais, contribuindo em uma gama de nichos ecológicos (Strobel e Daisy, 2003; Johri, 2006; Sun *et al.*, 2012). A biologia desses organismos é um campo em ascensão, pois há poucos estudos sobre esses endófitos em comparação a grande diversidade existente, tendo em vista seu potencial bioativo (desenvolvimento de compostos naturais), ambiental (descoberta de novas espécies e distribuição ecológica) e agrícola (Strobel *et al.*, 2003, Silva *et al.*, 2022).

2.2 Distribuição e diversidade dos fungos endofíticos

Estima-se que existem mais de 3,8 milhões de espécies de fungos no mundo, embora, apenas cerca de 160 mil tenham sido descritas (Hawksworth e Rossman, 1997; Kirk *et al.*, 2008, Hyde, 2022). Sob a ótica da diversidade dos fungos endofíticos, essa parcela ainda é consideravelmente pouco estudada ou negligenciada (Baucom *et al.*, 2012), o que reforça a necessidade de estudos que ajudem no estabelecimento de novas informações, principalmente em escala global (Suryanarayanan, 2013; Vaz *et al.*, 2014). Menos de 1% das plantas do planeta foram analisadas em relação a diversidade endofítica, além disso, a maioria dos estudos está ligado principalmente ao isolamento de endófitos de folhas, o que sugere dificuldades no entendimento sobre abundância e diversidades desses microrganismos (Arnold *et al.*, 2001). Contudo, das plantas hospedeiras estudadas até o momento, sua maioria é habitada por microorganismos endofíticos (Wang e Dai, 2011).

Os fungos endofíticos podem ser isolados da maioria das plantas e de diferentes tecidos vegetais (Azevedo & Araújo, 2007; Hyde & Soyong, 2008). Visto isso, diversas pesquisas vêm sendo realizadas, e o número de espécies de fungos conhecidos tem crescido, destacando aproximadamente 1,5 milhão de espécies de fungos endofíticos que podem ser descobertos (Hawksworth, 1991; Dreyfuss & Chapela, 1994; Li *et al.*, 2007). Os fungos endofíticos possuem ainda uma distribuição ampla, tendo em vista que podem habitar diferentes tecidos vegetais (Gennaro *et al.*, 2003). Sua abundância ocupa diversos âmbitos, podendo ser encontrados associados com briófitas (Schulz *et al.*, 1993), pteridófitas (Sati *et al.*, 2009), gimnospermas (Legault *et al.*, 1989) e angiospermas (Petrini *et al.*, 1991). Esses

microrganismos podem ainda habitar outros hospedeiros como os líquens (Lin *et al.*, 2007) e as algas (Raghukumar, 2008). Além disso, também estão associados com plantas medicinais (Huang *et al.*, 2001), herbáceas (Taechowisan *et al.*, 2003), aquáticas (Chen *et al.*, 2003) ou até mesmo cultivadas (Melnroy e Klopper, 1995). Uma única planta é capaz de abrigar diversos microrganismos endofíticos (cerca de 33 espécies) e, ao menos uma dessas espécie se evidencia como específica, enfatizando o fato desses fungos serem integrantes indispensáveis na composição da diversidade dentro dos biomas (Tan e Zou, 2001; Strobel e Daisy, 2003). Segundo Perera *et al.* (2018) esses fungos podem habitar os mais variados órgãos vegetais tais como as sementes, as raízes, os frutos e o caule, entretanto, sua frequência é maior nas folhas (Hallmann *et al.*, 1997). Muitos dos gêneros de fungos isolados como patogênicos também podem ser isolados como endófitos. Os exemplos mais comuns são espécies de *Fusarium*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, dentre outros que na sua grande maioria correspondem ao filo Acomycota; contudo, alguns fungos Mucoromycota ou Basidiomycota também podem ser encontrados (Newsham, 2012; Hardoim *et al.*, 2015; Strobel, 2018).

Alguns fatores influenciam na colonização e relação endofítica, entre eles relacionados ao hospedeiro: a espécie da planta, tipo de tecido colonizado, nível de desenvolvimento do tecido vegetal, genótipo, fenótipo e a idade (Arnold & Herre, 2003). Alguns autores acreditam que quanto mais antiga for a planta, maior a quantidade de fungos endofíticos a serem encontrados, pois o tempo de exposição dos esporos fúngicos ao ambiente, assim como as mudanças fisiológicas e estruturais podem possibilitar a infecção e acesso ao hospedeiro (Fisher *et al.*, 1994; Nascimento *et al.*, 2015). Segundo Zheng *et al.* (2016), os fatores relacionados as condições ambientais incluem: poluição ambiental, umidade, precipitação, temperatura, altitude e clima, os quais são de extrema importância, pois definem os padrões para sobrevivência dos organismos. A geografia do local e região também podem interferir nos padrões de distribuição desses microrganismos, tendo em vista que essas especificidades podem sofrer influência dos fatores ecológicos, como a composição da flora e as condições climáticas ambientais (Collado *et al.*, 1999; Sun *et al.*, 2012).

Ainda que os primeiros estudos relacionados com fungos endofíticos tenham sido realizados há mais de sete décadas, os mesmos foram destinados apenas às regiões tropicais úmidas e temperadas (Bose, 1947; Carroll *et al.*, 1977; Petrini e Carroll, 1981; Clay *et al.*, 1985; Carroll, 1986; Rodrigues e Petrini, 1997; Arnold *et al.*, 2000). Entretanto, ainda há muito ao que ser compreendido, principalmente em relação aos microrganismos endófitos de regiões tropicais, exclusivamente os de regiões tropicais secas ou de ambientes áridos e semiáridos, os

quais ainda são menos estudados (Bills, 1996; Fisher *et al.*, 1994; Suryanarayanan *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2012; Bezerra *et al.*, 2012). Hawksworth e Rossman (1997) também enfatizam a hipótese de que as espécies de plantas tropicais são consideradas um grande depósito de muitas espécies fúngicas.

Outras pesquisas têm revelado a existência de uma maior diversidade da comunidade de fungos endofíticos em plantas perenes de regiões tropicais e subtropicais, quando comparadas a de clima temperado (ARNOLD & LUTZONI, 2007; SILVA *et al.* 2022). Arnold *et al.* (2003) explicam que isso pode acontecer pela existência de baixa precipitação nesse tipo de região, fato que pode facilitar a propagação dos esporos fúngicos entre as plantas. Sabendo disso, a diversidade endofítica também sofrer influência em relação a morfologia do hospedeiro, ao tipo de tecido colonizado, as condições climáticas e a composição fisiológica e química da planta (Hardoim *et al.* 2015). Embora essa diversidade seja pouco compreendida, alguns estudos vêm sendo realizados, contribuindo nas investigações sobre os fungos endofíticos em regiões tropicais secas (Bezerra *et al.* 2012, Dastogeer *et al.* 2017; Pádua *et al.* 2019; Silva *et al.* 2019). Hoffman e Arnold (2008) revelaram que microrganismos endofíticos isolados de plantas de áreas secas podem vir a sofrer pressão e serem selecionados como generalistas, demonstrando o benefício de que colonizar a planta pode superar o custo da exposição a fatores como radiação ultravioleta e dessecação. Portanto, é de extrema importância a valorização dos estudos de microrganismos endofíticos e as informações prestadas a respeito dessa interação entre os fungos e seu hospedeiro (Azevedo *et al.*, 2000; Araújo *et al.*, 2001; Bezerra *et al.* 2017a; Bezerra *et al.* 2019).

2.3 Relação dos fungos endofíticos com plantas de ambientes extremos secos

A maioria das plantas vasculares é conhecida como uma reserva para os microrganismos endofíticos, constituindo uma grande diversidade, principalmente em ambientes tropicais (Murali *et al.*, 2007; Suryanarayanan *et al.*, 2011). A diversidade dos endófitos começou a ser investigada a partir dos estudos realizados em sua grande maioria nas regiões úmidas, contudo, para as regiões secas a compreensão dessa transmissão ainda é bastante negligenciada. As regiões secas apresentam baixa densidade em sua vegetação e precipitação pluviométrica reduzida, entretanto, os habitats secos representam um quantitativo promissor de estudos em relação a análise e caracterização de sua estrutura na compreensão da relação entre fungos e plantas de ambientes extremos secos (Khidir *et al.*, 2010).

Loro *et al.* (2012) explicaram que na associação de fungos endofíticos com plantas de ambientes secos, boa parte da comunidade é composta de fungos endofíticos pigmentados, expondo que essa pigmentação nos fungos poderia ajudar à planta quanto a tolerância ao calor prolongado e a seca (Khidir *et al.*, 2010). Sugere-se que essa tolerância das plantas em suportar à seca pode ter sido herdada a partir dos endófitos (Rodriguez *et al.*, 2008), pois segundo alguns autores há um possível e estreito envolvimento de genes na expressão da capacidade de tolerância (Morsy *et al.*, 2010; Krings *et al.*, 2007).

Algumas espécies de fungos endofíticos pigmentados isolados de vegetais de regiões secas e desérticas, são representantes dos gêneros *Cladosporium*, *Alternaria* e “*Phoma*” (Suryanarayanan *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2012). Ainda que os benefícios dos endófitos que possuem pigmentação sejam pouco estudados (Sun *et al.*, 2012), experimentos em condições laboratoriais como o de Redmar *et al.* (2002), demonstram que a melanina encontrada nesses fungos ajuda na proteção térmica ao hospedeiro. Essa pesquisa investigou principalmente a proteção inferida por *Curvularia protuberata* quando isolada de *Dichanthelium* (Poaceae). Segundo Crabtree e Gessner (1982), os fungos com pigmentação absorvem mais radiação quando comparado aos de micélio branco apresentado por outros fungos. Isso é melhor observado em regiões extremas, em que há diversidade reduzida e uma alta colonização de espécies de fungos capazes de produzir pigmento (Suryanarayanan *et al.*, 2005).

Estudos mais recentes têm demonstrado grandes esforços em descobrir mais sobre a diversidade endofítica de plantas em ambientes áridos com altas temperaturas e escassez de nutrientes. Esses trabalhos evidenciam a descoberta de novos táxons de fungos endofíticos em florestas tropicais, principalmente as que fazem parte do domínio Caatinga (Bezerra *et al.*, 2013; Pádua *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2021). Por exemplo, Oliveira *et al.*, (2021) examinaram a diversidade de fungos endofíticos presentes nos folíolos e ramos de uma planta (*Poincianella pyramidalis*) endêmica da Caatinga brasileira. Enquanto isso, outros autores investigaram a comunidade endofítica presentes nas folhas de *Myracrodruon urundeuva*, bem como, seu potencial na produção de L-asparaginase. Sabendo disso, os biomas brasileiros podem ser considerados grandes *hotspots* da diversidade biológica, por possuir características únicas em relação à sua biodiversidade (Nascimento *et al.*, 2015; Noriler *et al.*, 2018; Bezerra *et al.*, 2019).

2.4 Potencial biotecnológico dos fungos endofíticos

A microbiota endofítica vem sendo amplamente estudada, principalmente pela capacidade desses microrganismos em produzir diversos metabólitos secundários e compostos bioativos que podem auxiliar em sua adaptabilidade aos diferentes ambientes, bem como, na defesa contra predadores e em sinalizações químicas (Freire *et al.*, 2014). Alguns desses compostos são conhecidos e utilizados amplamente, tais como enzimas (Hawar, 2022), antibióticos (Pinheiro *et al.* 2017), fitormônios, toxinas, imunossupressores (Azevedo *et al.*, 2000), antitumorais (RAN *et al.*, 2017), antivirais (Khiralla *et al.* 2020), dentre outros. Além disso, os metabólitos secundários podem ainda incluir compostos fenólicos, alifáticos, peptídeos, alcalóides, esteróides e terpenóides (Tan & Zou, 2001; Zheng *et al.* 2021).

Dentre os compostos bioativos produzidos por fungos endofíticos, cerca de 20.000 foram relatados (Ownley *et al.*, 2010), isso sugere um enorme potencial na utilização desses endófitos, uma vez que, novas drogas e substâncias bioativas são produzidas (Kumar *et al.*, 2022). Visto isso, a produção de compostos bioativos se enquadra em diferentes modalidades da indústria, agricultura, saúde e meio ambiente, o que reforça cada vez mais sua importância (Hashem *et al.*, 2022).

Por exemplo, na agricultura os fungos endofíticos são usados principalmente para o controle biológico de pragas agrícolas, sendo vistos como uma alternativa aos pesticidas químicos, uma vez estes que causam muitos danos ao meio ambiente (Volksch *et al.*, 1992). Muvea *et al.* (2014) avaliaram o impacto de alguns endófitos em sementes e mudas de cebola contra o patógeno *Thrips tabaci*, obtendo em suas observações bom desempenho dos endófitos contra a praga. Para o meio ambiente, os fungos endofíticos tem um papel importante na biorremediação e fitorremediação de metais pesados, possibilitando a restauração de diversos locais biológicos (Peng *et al.* 2016; Pietro-Souza *et al.*, 2020). Além disso, também são utilizados como descontaminantes e decompositores de excrementos animais (Strobel *et al.* 2005).

Outras possibilidades na utilização desses microrganismos surgem na indústria, onde sua importância é associada principalmente a produção de detergentes, biocombustíveis, tecidos e produtos de origem alimentícia (Chapman *et al.*, 2018). Essa grande capacidade de utilização qual vem sendo amplamente estudada (Kirk *et al.*, 2002; Correa *et al.* 2014; Batista *et al.* 2022). No campo farmacêutico, é possível observar o uso e aplicações de diversos metabólitos bioativos produzidos pelos fungos endofíticos, algumas delas são a vimcristina (*Talaromyces radicus*), camptotecina (Pu *et al.* 2013) e a vimblastina (Ayob *et al.* 2017). Um fármaco bem conhecido e amplamente utilizado é o taxol (paclitaxe), extraído do fungo

endofítico *Taxomyces andreanae* isolado de folhas de *Taxus brevifolia* que também é capaz de sintetizar esse composto (Stierle, Strobel, Stierle, 1993). A paclitaxe, mostrou resultados positivos nos tratamentos contra cânceres de pulmão, ovários e mamas (Gallego-Jara *et al.*, 2020).

É importante salientar, que algumas pesquisas nessa área revelam que a relação entre os fungos endofíticos e plantas pode sofrer evolução em sua especificidade, pois, caso seu hospedeiro apresente algum tipo de propriedade medicinal, as substâncias bioativas produzidas pelo vegetal podem também ser sintetizadas pelos fungos, revelando uma maior complexidade desse tipo de interação (Zhao *et al.*, 2011; Venieraki *et al.*, 2017). Outros estudos também visaram demonstrar a produção da enzima L-asparaginase por fungos endofíticos, a qual pode ser utilizada na indústria de alimentos e na medicina (Krishnapura & Belur, 2016; Pádua, 2019; Santos *et al.*, 2022). Com objetivo de estimular a preservação desses fungos, alguns estudos tem ressaltado cada vez a capacidade biotecnológica desses microrganismos na produção de biomoléculas de interesse industrial, como agentes antibacterianos e antifúngicos (Bezerra *et al.* 2012; 2015; Pires *et al.* 2015; Santos *et al.* 2015b; Venieraki *et al.* 2017).

Embora muitos desses compostos sejam amplamente usados em tratamentos e prevenções contra infecções causadas por bactérias e fungos (Arias & Carrilho, 2012), muitos casos de resistência antimicrobiana (RAM) têm sido relatados (WHO, 2027). Alguns trabalhos revelam a resistência de *Candida krusei* e *Candida glabrata* ao fluconazol ou de *Aspergillus terreus* a anfotericina B (Ademe & Girma, 2020; Hoenigl *et al.*, 2021; Denning, 2022). Esse dado é importante pois esses medicamentos, assim como o itraconazol, são bastante utilizados no tratamento de diferentes micoses, inclusive contra fungos do gênero *Sporothrix* responsáveis por causar a esporotricose, doença que tem atingindo humanos e outros animais desde o início do século XX (Gutierrez-Galhardo *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2020). Com isso, é de extrema importância a adoção de medidas que auxiliem na redução de sua incidência, além do controle e prevenção, destacando-se a descoberta de novos compostos contra os agentes etiológicos causadores da esporotricose (Guimarães *et al.*, 2010).

2.4.1 Esporotricose

A esporotricose é uma micose de implantação, na qual o fungo é inoculado traumáticamente, e é causada por espécies do gênero *Sporothrix* encontradas no solo associados à matéria orgânica, principalmente em locais de clima tropical/subtropical úmido e temperado

(Gutierrez-Galhardo *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2020). Essa doença pode acometer tantos os humanos quanto outros animais, como cães, gatos, roedores, peixes, tatus e até aves, causando manifestações cutâneas e extra cutâneas, a partir da sua transmissão que ocorre pela inoculação traumática do fungo por uma fonte infectante (Almeida *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2020).

Essa transmissão pode ocorrer de uma forma ambiental (manipulação do solo, inoculação traumática na pele ou inalação de esporos de *Sporothrix*) ou zoonótica (mordeduras, arranhaduras, ou secreções contaminadas de animais). Tendo isso em vista, são conhecidos como “clado clínico” ou “clado patogênico” as espécies frequentemente isoladas de humanos e animais: *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. globosa* e *S. luriei* (De Beer *et al.*, 2022) e “clado ambiental” as espécies que normalmente se encontram associados a solos, plantas e insetos: complexo *S. inflata*, complexo *S. stenoceras*, complexo *S. gossypina*, complexo *S. candida*, complexo *S. pallida*) e casos raros de algumas espécies do clado ambiental (*S. mexicana*, *S. chilensis* e *S. pallida*) causando infecções em mamíferos (Rodrigues *et al.*, 2020).

Os primeiros indícios da doença no Brasil foram relatados no início do século XX no estado de São Paulo (Lutz & Splendore, 1907), entretanto, atualmente foram relatados casos em praticamente todos os estados brasileiros com maior incidência nas regiões Sul e sudeste (Covisa, 2022). Alguns fármacos com potencial antifúngico (itraconazol e anfotericina B) vêm sendo utilizados em seu tratamento, que normalmente tem uma duração de cerca de três a quatro meses (Stalkup; Bell; Rosen, 2002; Kauffman, 2019). Embora na literatura sejam escassos os estudos em relação a utilização de fungos endofíticos no controle da doença, Qian *et al.* (2013) avaliaram a atividade antifúngica do endófito *Epicoccum nigrum*, responsável por produzir nanopartículas de prata, as quais foram utilizadas contra *Sporothrix schenckii*.

2.5 Florestas Tropicais Secas: Caatinga

As florestas secas são consideradas formações florestais semidecíduas ocorrentes nos trópicos, com uma estação seca definida. Devido ao seu ritmo estacional, que se traduz por um grau avançado de decíduidade foliar ao longo da estação seca, essas florestas, com suas características extremamente diversas, estruturas e composições florais, têm sido assim definidas (Andrade-Lima, 1981).

Holdridge (1967) dividiu os trópicos em zonas ecológicas com base em critérios climáticos como temperatura e umidade, e então definiu florestas secas como aquelas encontradas em áreas sem geadas, onde a temperatura média anual é superior a 17°C e a

precipitação média anual é com base em critérios climáticos como temperatura e umidade, e então definiu florestas secas como aquelas encontradas em áreas sem geadas, onde a temperatura média anual é superior a 17°C e a precipitação média anual está entre 250 e 500 mm.

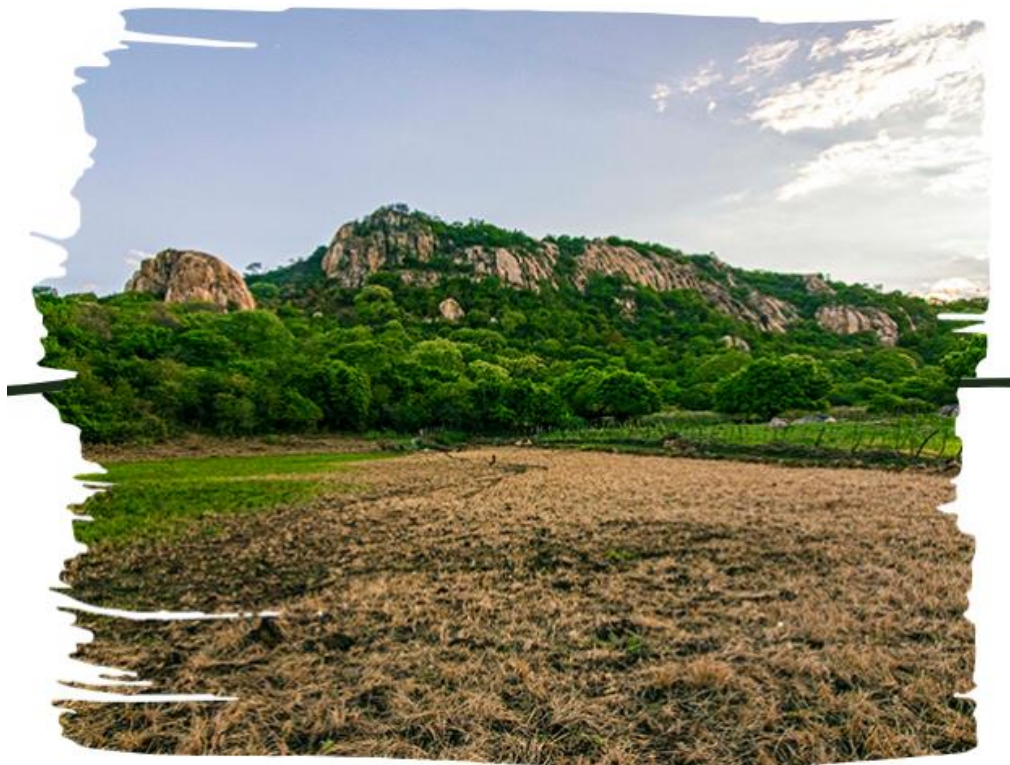
Para Sabogal (1992), as florestas tropicais secas são a terceira maior formação vegetativa dos trópicos nessas regiões. No Brasil, a formação vegetacional seca é conhecida como Caatinga, que significa floresta branca ou mata clara (Faggin; Behagel; Arts, 2017). Ela também é conhecida como uma floresta tropical sazonal seca, com uma baixa estatura composta por diversas espécies de plantas adaptadas e resistentes ao clima seco, algumas dessas características encontradas nessa vegetação são a presença de espinhos, as raízes mais profundas e a perda das folhas nas estações de seca (Cabral, Sampaio; Cortez; 2013; Althoff *et al.*, 2016).

Esse bioma possui um clima predominantemente semiárido, e abrange cerca de 6,83% do território brasileiro (Pereira *et al.*, 1989; Araújo Filho, 1996). Na cobertura botânica das áreas da região Nordeste, a Caatinga representa cerca de 70% de sua área (Maracajá e Benevides, 2006). Assim, a Caatinga é a maior ecorregião tropical semiárida da América do Sul, considerada “uma das florestas tropicais mais biodiversas do mundo” apresentando uma vegetação xerofítica decídua e aproximadamente 4.657 das suas espécies (Faggin, Behagel & Arts, 2017), incluindo plantas com sementes, árvores, arbustos e herbáceas, a qual essa última abrange o maior número em sua fitodiversidade (Moro *et al.*, 2016). No Brasil, essa área é ocupada por uma área de cerca de 912.529 km², sendo de fato representativa em modelos de biodiversidade (Silva *et al.*, 2017).

Diversas espécies de plantas endêmicas também são encontradas na Caatinga, que possuem alto valor econômico, ornamental e industrial (Silva e Souza, 2018). Muitas dessas plantas também são conhecidas pelas suas propriedades medicinais e alguns estudos etnobotânicos realizados nessa região apontam que o maior número de espécies vegetais pertence à família Fabaceae (Silva *et al.*, 2015), com cerca de 19.500 espécies distribuídas em 751 gêneros (Christenhusz e Byng, 2016), incluindo *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, conhecida popularmente como angico (Morim, 2020). Essa espécie é encontrada em diversos locais do país, inclusive em algumas áreas de preservação, como por exemplo na Fazenda tamanduá (Figura 1), situada no estado da Paraíba. Essa região é conhecida por atingir uma altitude média de 240 m, com precipitação média anual de 800 mm e longos períodos de estiagem, caracterizando um clima de regiões tropicais semiáridas (Silva *et al.* 2014). Além da família Fabaceae, essa área também

possui uma diversidade de outras espécies vegetais, tais como Cactaceae e Bromeliaceae (Silva e Souza, 2018).

Figura 1 – Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) - Fazenda Tamanduá, Brasil.



Fonte: Fazenda Tamanduá, 2023.

2.5.1 *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan

Pertencente à família Fabaceae, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, além de fazer parte da fitodiversidade da Caatinga, pode ser encontrada no Cerrado e na Mata Atlântica (Figura 2) (Morim, 2020). Popularmente conhecida como angico (Figura 3), apresenta diversas aplicações, sendo utilizado principalmente pela indústria madeireira e na medicina popular. Essa planta varia de arbustiva a arbórea decídua na estação seca, medindo de 7 a 15 m de altura, com tronco robusto de casca rugosa e espinhos espaçados, com flores de até 3 mm de comprimento, brácteas foliáceas bipinadas, de cor branca a amarelada e de aroma suave, seus frutos são do tipo vagem, contendo até 15 sementes (Weber *et al.*, 2011). *Anadenanthera colubrina* também apresenta grande produção anual de sementes, e sua dispersão autocórica ocorre no final do período seco, normalmente entre agosto e setembro, sendo que a sua principal forma de regeneração é através da germinação de suas sementes (Carvalho, 2003).

Figura 2 - Mapa de distribuição geográfica da espécie *A. colubrina* (Vell.) Brenan no Brasil.



Fonte: Flora e Funga do Brasil, 2020.

Figura 3 – *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan A- Aspecto geral da espécie. B, C - Detalhe de folhas e ramos.



Fonte: A, B: Global Biodiversity Information Facility (GBIF); C: Flora e Funga do Brasil.

Além disso, entre as plantas com potencial fitoterápico, *Anadenanthera colubrina* se destaca na medicina popular, pois é bastante utilizada no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas, assim como doenças pulmonares, através de decocções (Silva *et al.*, 2012). A superfície do caule dessa planta também pode ser utilizada, bem como, seus frutos que possuem propriedades narcóticas (Agra *et al.*, 2007). Além disso, possui outras aplicações na indústria madeireira (construção civil) e também é uma espécie utilizada na recuperação de áreas degradadas (Lorenzi, 2009). *Anadenanthera colubrina* é considerada uma das principais

leguminosas exploradas no Nordeste do Brasil (Silva *et al.*, 2012, Martinotto *et al.*, 2012; Delices *et al.*, 2022).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de coleta

Ramos e folíolos sadios de *A. colubrina* foram coletados durante a estação seca na Fazenda Tamanduá (07°02'20"S, 37°26'43"W), área de preservação particular localizada no município de Santa Terezinha, no Estado da Paraíba (abril de 2013). A propriedade abrange uma área preservada de 900 hectares, dos quais 325 hectares fazem parte de uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) (Figura 4) (Lopes *et al.*, 2013; Oliveira *et al.* 2020). A região possui altitude média de 240 m, com precipitação média anual de 800 mm e longos períodos de estiagem, caracterizando um clima de regiões tropicais semiáridas (Silva *et al.* 2014). Essa área também possui uma diversidade de espécies vegetais, principalmente das famílias Cactaceae, Bromeliaceae e Fabaceae (Silva e Souza, 2018; Cabral *et al.*, 2013).

Figura 4 - Localização geográfica da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) - Fazenda Tamanduá.



Fonte: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), 2023

3.2 Material vegetal

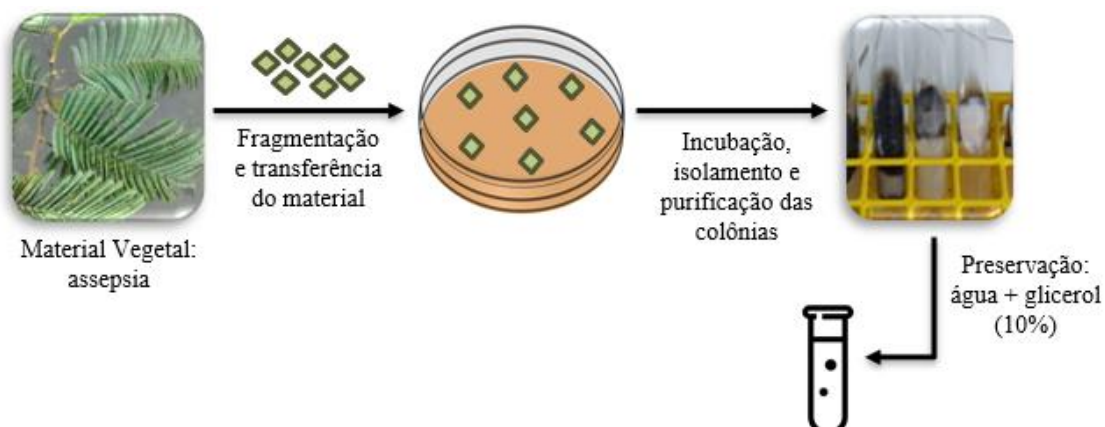
Amostras de folíolos e ramos sadios de três indivíduos de *A. colubrina* (de 5-10 m de altura), foram coletadas aleatoriamente na estação seca na área de preservação de Caatinga. Os

folíolos e ramos foram devidamente acondicionados em sacos de papel e processados no laboratório de Micologia Ambiental do Departamento de Micologia (UFPE) em até 48 horas após a coleta. Para assepsia, realizou-se uma lavagem inicial do material vegetal com água destilada e detergente para eliminação das impurezas. Em seguida, esse material foi mergulhado em uma solução de etanol 70% (1min), hipoclorito de sódio 2 a 2,5% de cloro ativo (3 min) e novamente utilizou-se o etanol 70% durante 30s. Finalmente, a lavagem ocorreu por três vezes em água destilada e esterilizada, sendo que cada uma delas dentro de um período de 1 minuto (Araújo *et al.*, 2002).

3.3 Isolamento de fungos endofíticos

Após a assepsia, 84 fragmentos de folíolos e 60 fragmentos de ramos de cada indivíduo, totalizando 252 de folíolos e 180 de ramos, foram cortados medindo cerca de 0,5-1 cm² com auxílio de uma lâmina esterilizada. Em seguida, foram transferidos para placas de Petri (5 fragmentos por placa) contendo o meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) acrescido com cloranfenicol (100 mg/L) e tetraciclina (50 mg/L) para inibir o crescimento bacteriano. As placas foram incubadas a $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por até 30 dias em um ciclo natural claro-escuro. A eficácia da esterilização da superfície foi realizada a partir da adição de 1 mL de água da última lavagem em placas de Petri contendo o mesmo meio, e sob as mesmas condições de incubação. O crescimento das colônias fúngicas foi observado diariamente e toda colônia foi isolada e purificada. Os endófitos foram preservados em tubos de criopreservação de 2 mL contendo água + glicerol (10%) e mantidos na coleção de trabalho no Laboratório de Micologia Ambiental da UFPE.

Figura 5 - Etapas seguidas para o isolamento dos fungos endofíticos de *A. colubrina*.



3.4 Reativação dos endófitos isolados de *A. colubrina*

Discos contendo o micélio dos endófitos preservados foram transferidos diretamente para placas de Petri contendo BDA e incubados a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ para posterior identificação. Quando necessário, parte do material preservado foi transferido para caldo glicosado contido em tubo de ensaio e incubado nas mesmas condições (Figura 6).

Figura 6 - Etapas de reativação dos fungos endofíticos de *A. colubrina*.



Fonte: Silva, A.C. 2023

3.5. Identificação de fungos endofíticos

3.5.1 Identificação morfológica de fungos endofíticos

Para a identificação dos fungos foram analisadas estruturas macro (cor, diâmetro, textura, aspecto, consistência, presença de pigmento, etc.) e micromorfológicas (estruturas somáticas e reprodutivas) seguindo literatura específica (ex. Seifert *et al*, 2011; Samson *et al.*, 2010; Gomes *et al.*, 2013), além disso, lâminas com ácido láctico 85% foram confeccionadas para análise de estruturas microscópicas. O processo de identificação teve a colaboração da equipe de taxonomistas do Departamento de Micologia da UFPE e do Setor de Micologia da Universidade Federal de Goiás (UFG), culturas tipo de novos táxons e/ou culturas representativas foram depositadas na Micoteca URM da UFPE e na coleção de trabalho (FCCUFG) do Laboratório de Micologia do IPTSP/UFG e lâminas permanentes no Herbário URM da UFPE ou no Herbário UFG.

3.5.2 Identificação molecular de fungos endofíticos

3.5.2.1 Extração, amplificação de fragmentos do DNA e Sequenciamento

A extração do DNA genômico seguiu metodologia proposta pelo fabricante do Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA). Os primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) e LR0R/LR5 (Vilgalys e Hester, 1990) foram utilizados para amplificação das regiões ITS (Internal Transcribed Spacer) e LSU (Partial Large Subunit), respectivamente para todos os isolados. Além disso, de acordo com os dados prévios, após as análises destas regiões, outros loci, como *TEF1*, *RPB2*, *CAL* e β -*TUB* foram selecionados de acordo com cada gênero ou grupo taxonômico dos fungos identificados (Groenewald *et al.*, 2013). As reações de amplificação foram realizadas com volume total de 12,5 µl e seguiram metodologia proposta por Bezerra *et al.* (2017). Para averiguar possíveis contaminações durante os processos, foram utilizados controles negativos. Os produtos das extrações de DNA e das reações de PCR foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose 1% corados com GelRed (Biotium) e purificados utilizando as enzimas Exonuclease/Fosfatase Alcalina contidas no Kit Exo+SAP DPK-100 (Cellco), seguindo as recomendações do fabricante, e posteriormente encaminhados para sequenciamento na Plataforma Multiusuária de Sequenciamento e Expressão Gênica do Centro de Biociências da UFPE. As sequências obtidas neste estudo foram depositadas no GenBank do NCBI (dados não mostrados).

3.5.2.2 Alinhamento das sequências e análise filogenética

Para a análise filogenética, as sequências obtidas foram preliminarmente comparadas com sequências depositadas no GenBank, utilizando a ferramenta BLASTn. Posteriormente, foram alinhadas utilizando o MAFFT v.7 (Katoh e Toh, 2013) e editadas manualmente no MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016). As análises de Máxima Verossimilhança (ML) foram realizadas usando o RAxML-BlackBox em XSEDE 8.2.12 (Stamatakis 2014) (www.phylo.org/) com 1.000 bootstrap na plataforma CIPRES (Miller *et al.*, 2010), utilizando o modelo de substituição de nucleotídeos padrão GTR+G+I, e as árvores obtidas foram visualizadas no FigTree v.1.4.4 (Rambaut, 2012) e exportadas para edição. Os alinhamentos obtidos foram depositados no TreeBASE (em processamento).

3.6. Análise dos dados ecológicos

A taxa de colonização (TC) foi obtida através da razão entre o número de fragmentos colonizados (Nf) e o número total de fragmentos (Nt) obtidos do tecido vegetal, multiplicado

por 100 ($TC = N_f/N_t \times 100$) (Araujo *et al.* 2002). As comunidades dos fungos foram avaliadas em termos quantitativos e qualitativos (frequência de ocorrência absoluta e relativa) e sua estruturação, analisada por meio de índices ecológicos de diversidade. A frequência absoluta foi calculada como número total de isolados endofíticos e a frequência relativa de cada espécie foi calculada aplicando-se a fórmula: $Di = (Ni/N) \times 100$, onde Di = abundância da espécie i ; Ni = número de UFC da espécie i ; N = número total de UFC (Photita *et al.*, 2001).

Os índices de riqueza (S) e Shannon-Wiener (H') foram estimados para cada tecido vegetal (folíolos e ramos). A riqueza foi definida como o número de espécies em cada amostra. Para o cálculo da diversidade foi utilizado o índice de diversidade de Shannon-Wiener calculado com base na equação $H' = -\sum Ni \ln(Ni)$ (Shannon & Weaver 1949). Todas as análises foram realizadas usando o software R v. 4.1.0 (R Core Team 2021) nos pacotes R 'vegan', 'agricolae' e 'lsmeans' (Lenth 2016; Oksanen *et al.* 2020; Mendiburu 2021). Os diagramas de Venn foram criados usando o software online InteractiVenn (Heberle *et al.* 2015) e para verificar a suficiência do esforço amostral com base na riqueza observada, curvas de acúmulo e extrapolação de espécies endofíticas foram determinadas usando o iNEXT online (Chao *et al.* 2016).

3.7 Obtenção dos isolados de *Sporothrix*

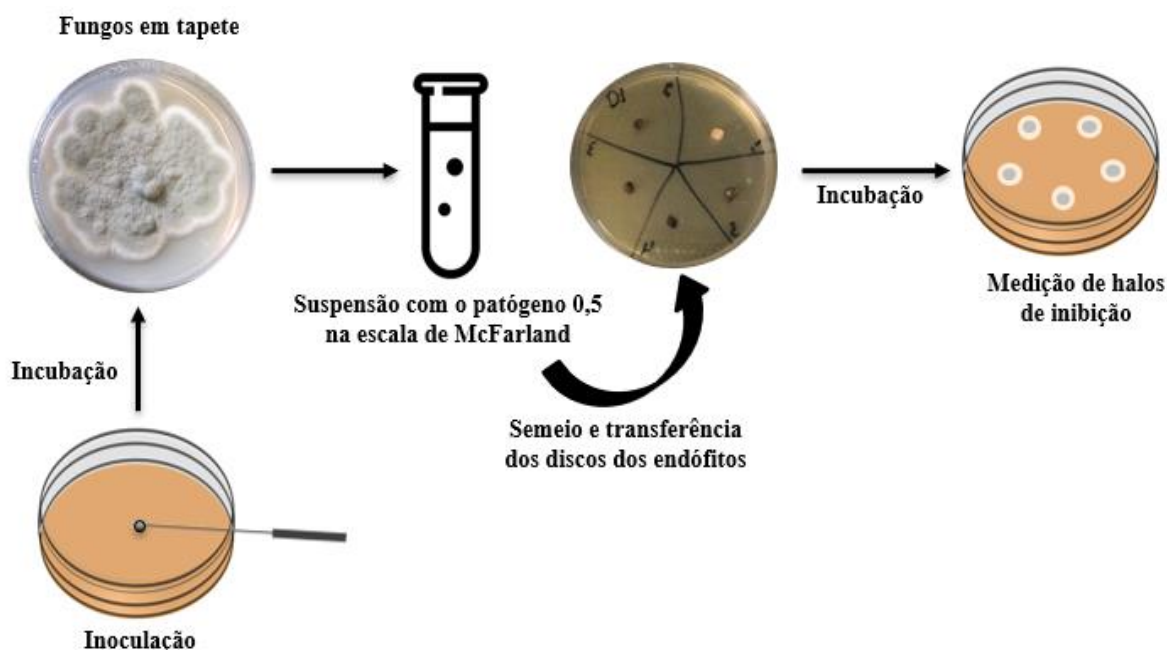
Culturas de interesse clínico de *S. mexicana* (URM 301), *S. chilensis* (URM 2439), *S. shenckii* (URM 4252) e de *S. brasiliensis* (URM 8233 e URM 8248) isolados de origem humana e de outros animais foram cedidos pela coleção de culturas Micoteca URM Prof. Maria Auxiliadora Cavalcanti (URM) do Departamento de Micologia da UFPE e mantidas em BDA a 28 ± 2 °C.

3.7.1 Avaliação da atividade antifúngica

Os fungos endofíticos foram cultivados em forma de “tapete” em placas de Petri contendo 20 mL do meio de cultura BDA e em seguida incubadas a temperatura de 28 ± 2 °C por dez dias em um ciclo natural de claro-escuro. Após este período, com o auxílio de um furador, foram retirados discos de 6 mm de diâmetro das culturas (micélio-ágar) para serem usados contra os isolados de *Sporothrix*.

Suspensões de cada patógeno foram preparadas com base na escala 0,5 de Macfarland em solução fisiológica, sendo usados 100 µL para semeio no meio de cultura ágar Sabouraud (SAB) contido em placa de Petri. Em seguida, os discos (6 mm) dos fungos endofíticos foram transferidos para a superfície das placas com os agentes etiológicos da esporotricose. Para cada placa em triplicata do patógeno, 5 endófitos foram utilizados (Ichikawa *et al.*, 1971; Schmourlo *et al.*, 2005). Todas as placas foram incubadas a 36 °C por 48 horas (Figura 7).

Figura 7 - Etapas seguidas para a avaliação do potencial antifúngico dos fungos endofíticos de *A. colubrina*.



Fonte: Silva A. C. 2023

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Diversidade de fungos endofíticos de ramos e folíolos de *A. colubrina*: análises filogenéticas e ecológicas

Dos 432 fragmentos de folíolos e ramos analisados, 111 foram colonizados (14 de folíolos e 97 de ramos), correspondendo uma taxa de colonização total de 25,69%. A taxa de colonização por tecido vegetal e por indivíduo podem ser visualizadas na Tabela 1. Embora os ramos tenham apresentado uma taxa de colonização superior em relação aos folíolos, essa perspectiva é aceitável quando comparada a outros estudos (Vujanovic; Brisson 2002; Sunayana *et al.*, 2014; Bezerra *et al.*, 2015). Verma *et al.*, (2014) também expõem que, chuvas escassas e temperaturas mais baixas podem desfavorecer a colonização de fungos endofíticos.

Além disso, *A. colubrina* é uma árvore decídua e apresenta caducifólia, perdendo sua folhagem durante a estação seca (Kill e Silva, 2016), o que também pode favorecer uma maior colonização dos ramos pelos fungos endofíticos. Contudo, a taxa de colonização total aqui apresentada foi similar a outros estudos realizados em florestas tropicais secas que apontam uma taxa de colonização baixa, muitas vezes não ultrapassando 50% (Sun *et al.*, 2012; Jin *et al.*, 2013).

Tabela 1 - Taxa de colonização dos ramos e folíolos por indivíduos dos fungos endofíticos isolados de *A. colubrina* em uma área de preservação de Caatinga da Fazenda Tamanduá, Brasil.

Fragmentos Coletados	ID Indivíduo/Tecido	Fragmentos utilizados/colonizados	TC% (por indivíduo)	Total de fragmentos colonizados	TC% (Tecido vegetal)
252 Folíolos	1-R	84/1	1,19%	14	5,55%
	2-T	84/11	13,09%		
	3-V	84/2	2,38%		
180 Ramos	1-Q	60/32	53,33%	97	53,88%
	2-S	60/34	56,66%		
	3-U	60/31	51,66%		
Taxa de Colonização (TC%) total de fragmentos					25,69%

Foram isolados 126 endófitos (111 de ramos e 15 de folíolos) nos fragmentos colonizados de *Anadenanthera colubrina* e estes foram agrupados de acordo com a morfologia em 37 morfoespécies para posteriores análises de identificação molecular. Contudo, após subcultivo dos isolados preservados, não foi possível a identificação de 70 endófitos pois não foram capazes de crescer após o processo de reativação. No total, foram analisados apenas 56 fungos endofíticos (49 de ramos e 7 de folíolos) que foram identificados por letras (Q, S e U para ramos e R, T e V para folíolos). Essa perda no número de isolados pode estar relacionada ao fato de que fungos que possuem desenvolvimento lento, depois de transferidos para meio de cultura, começam apresentar um crescimento ainda mais demorado, podendo até mesmo morrer caso algum dos nutrientes essenciais a sua sobrevivência esteja escasso no meio de cultura durante seu cultivo (Strobel, 2018). Outros estudos de plantas da Caatinga e outras florestas secas também tem relatado resultados semelhantes (ex. Oliveira *et al.* 2020)

São escassos os estudos relacionados a fungos endofíticos isolados de ramos ou folíolos de *A. colubrina*, contudo, foi relatado na literatura inoculação de cinco linhagens de fungos endofíticos isolados a partir da casca do angico, e apenas uma espécie foi identificada como *Aspergillus niger* ANG18, utilizado em um estudo para prospecção de tanases no estado da

Paraíba (Cavalcanti & Guimarães, 2018). Outro estudo relacionado ao mesmo gênero é o de Lócio (2019), que analisou o efeito inibitório das frações purificadas de metabólitos secundários sob ação antiparasitária em *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonenses* na região de Sumé-PB. Os autores isolaram 24 fungos fenotipicamente diferentes de galhos de *Anadenanthera macrocarpa*.

Outros estudos também relataram um número relativamente próximo a riqueza encontrada em nossa pesquisa. Por exemplo, Bezerra *et al.* (2013) isolaram 59 taxóons de fungos endofíticos do cacto *Cereus jamacaru*, dos quais 18 deles foram registrados pela primeira vez no Brasil. Analisando o cacto *Opuntia ficus-indica*, também encontrada na região semiárida do Nordeste brasileiro, Bezerra *et al.* (2012) apontaram uma riqueza de 44 espécies de fungos endofíticos com predominância dos gêneros *Aspergillus*, *Xylaria* e *Penicillium*. Esses estudos demonstram uma alta riqueza de fungos endofíticos presentes em espécies de plantas residentes em regiões tropicais seca; no entanto, essa diversidade endofítica ainda é subestimada e sofre com a falta de pesquisas e políticas de conservação (Phyo e Koike, 2015).

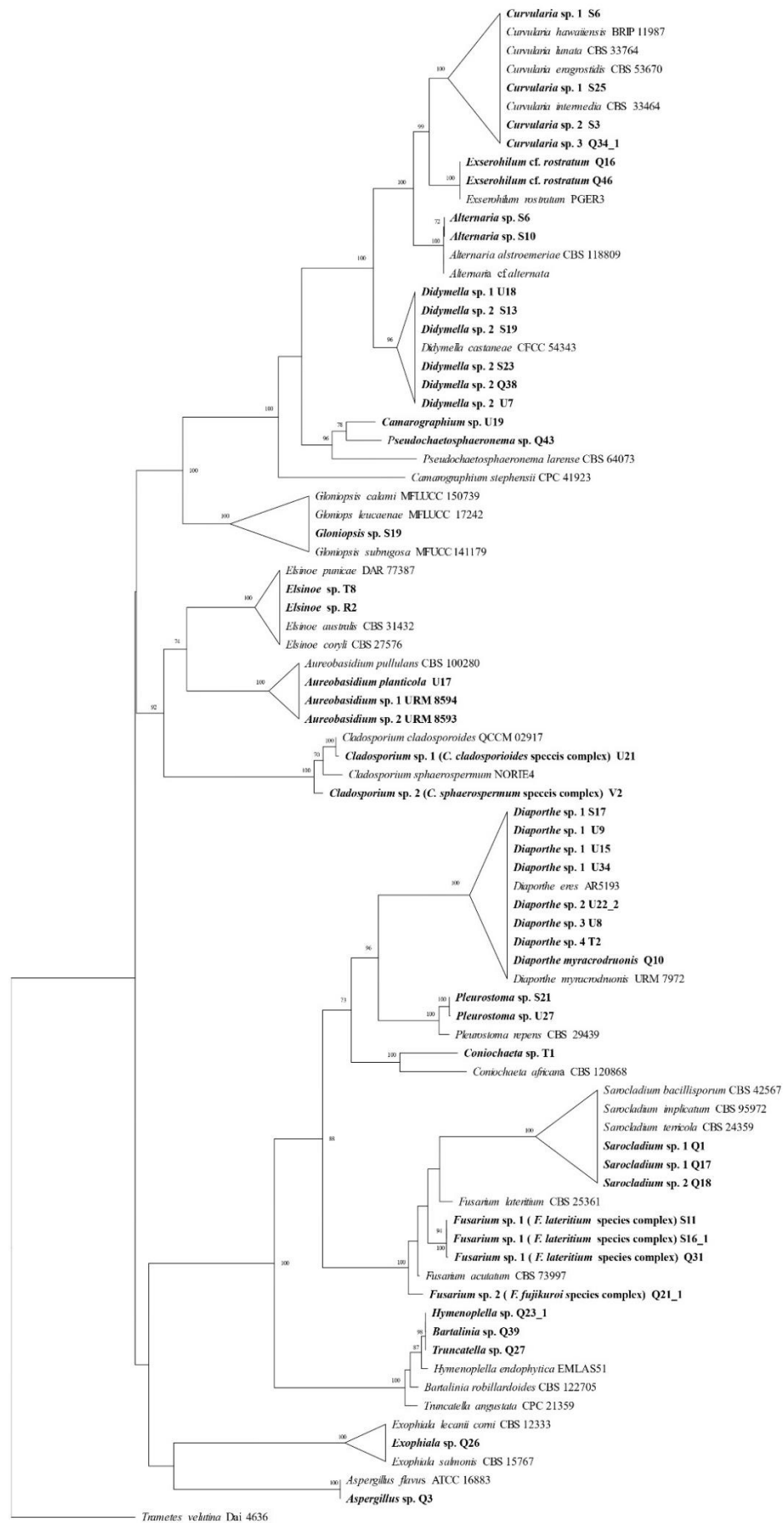
Quando comparamos nosso resultado com estudos em outras florestas tropicais, estes últimos apresentam uma riqueza maior (Bonfim *et al.*, 2016; Correia *et al.*, 2018). Sunayana *et al.* (2014) estudaram fungos endofíticos de *Vitex negundo* e obtiveram 143 isolados a partir de 1.350 fragmentos divididos em ramos com uma taxa de colonização de 22,66%, cascas com uma taxa de 22,22% e de folhas com 21,33% de colonização. Entretanto, na maioria dos trabalhos a quantidade de fragmentos usados foram superiores as utilizadas no nosso estudo, enfatizando diferenças que podem existir sob a perspectiva das taxas de colonização e riqueza. Os estudos sobre endófitos podem sofrer interferência a partir da dinâmica ecossistêmica e das interações entre os endófitos e a planta (Hardoim *et al.*, 2015), além da complexidade da obtenção de dados comparativos em relação a área de coleta, ao tipo de tecido vegetal e a metodologia utilizada (Cannon e Simmins, 2002, Vieira *et al.*, 2011).

Os 56 fungos endofíticos isolados foram agrupados morfológicamente por características macroscópicas e microscópicas confirmadas por microcultivos em lâminas e/ou análises filogenéticas. Devido à dificuldade dos endófitos em produzir estruturas de reprodução em meio de cultura, a identificação apenas com base nas características morfológicas é difícil e em muitos gêneros e espécies não é possível se ter certeza no táxon isolado (Chen *et al.*, 2013; Leite, 2020). Para tentar facilitar os estudos com fungos, principalmente de diversidade, a região ITS do rDNA é utilizada como um código de barras capaz de identificar diversos grupos

fúngicos, entretanto muitos estudos demonstram insuficiência dessa região para delimitar e separar algumas espécies e até mesmo gêneros (Harder *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2017).

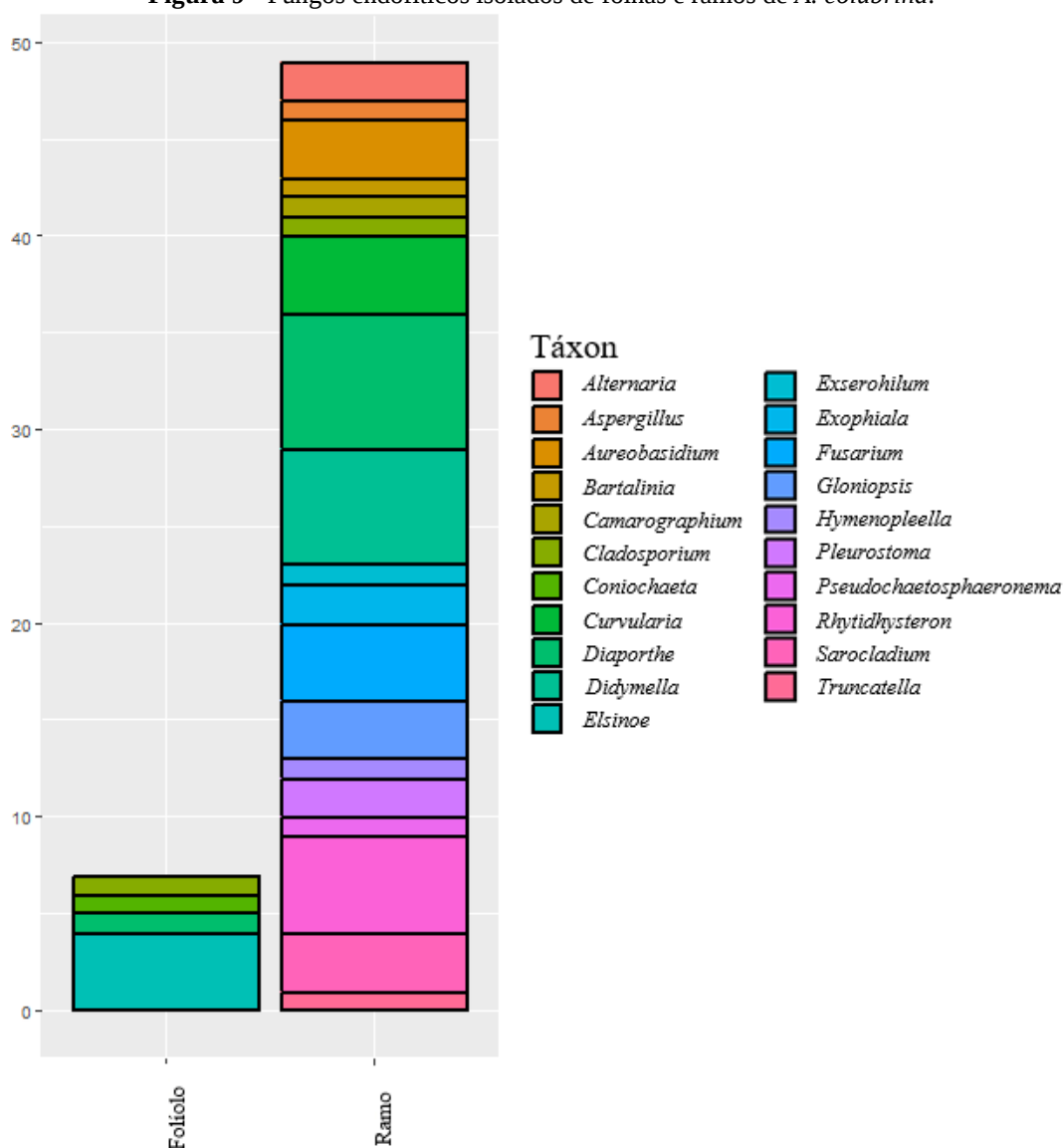
As sequências de DNA obtidas no nosso estudo foram analisadas com base na análise de ML da matriz combinada de ITS e LSU do rDNA juntamente com sequências de referência para cada grupo que foram recuperadas do GenBank. Ao total, foram utilizadas 82 sequências, incluindo *Trametes velutina* (Basidiomycota, Dai 14636) como grupo externo (Figura 8).

Figura 8 - Filograma obtido através de análise de verossimilhança a partir de matriz combinada de sequências de ITS e LSU do rDNA de fungos endofíticos de folíolos e ramos de *Anadenanthera colubrina* em área de Caatinga. *Trametes velutina* Dai 4636 foi utilizado como grupo externo. Valores de bootstrap acima de 70% são mostrados perto dos nós. Os representantes destacados em negrito foram os obtidos nesse estudo.



Além disso, codificadores de proteínas (ex. calmodulina, β -tubulina, actina, TEF-1 α , histona e RPB1, RPB2 e GAPDH) para determinados grupos fúngicos foram sequenciados e analisados separadamente (dados não mostrados) para auxiliar na separação dos táxons que foram distribuídos em 21 gêneros (Figura 9), todos pertencentes a 13 ordens do filo Ascomycota, sendo *Pleosporales* a ordem com maior predominância, com 5 gêneros (*Alternaria*, *Curvularia*, *Didymella*, *Exserohilum* e *Pseudochaetosphaeronema*), seguido de *Amphisphaeriales* (*Bartalinia*, *Hymenopleella* e *Truncatella*), *Hypocreales* (*Fusarium* e *Sarocladium*) e as demais ordens com um gênero cada (*Capnodiales*, *Calosphaeriales*, *Chaetothyriales*, *Coniochaetales*, *Diaporthales*, *Dothideales*, *Eurotiales*, *Hysteriales*, *Myrangiiales* e *Patellariales*) e o gênero *Camarographium* foi identificado como *incerta sedis* em *Pleosporales*.

Figura 9 - Fungos endofíticos isolados de folhas e ramos de *A. colubrina*.



A grande frequência de isolados do filo Ascomycota pode ser explicada pelo fato que os gêneros pertencentes a esse filo possuem característica específicas dentro da comunidade endofítica capaz de habitar o interior de distintos hospedeiros em diferentes ecossistemas (Arnold; Lutzoni 2007; Gazis; Chaverri 2010; Sunayana *et al.*, 2014; Pádua *et al.*, 2018). A classe de fungos Ascomycota mais predominante, *Dothideomycetes*, é representada por diversos fungos cosmopolitas conhecidos como saprotróficos necrotróficos e biotróficos, os quais fazem parte principalmente a ordem *Pleosporales*, mais frequente também em nosso estudo, assumindo uma grande variedade de níveis ecológicos (Ohm *et al.*, 2012).

Os gêneros mais frequentes foram *Diaporthe* (8 táxons), *Didymella* (6 táxons), *Rhytidhysterium* (5 táxons), e *Curvularia*, *Elsinoe* e *Fusarium* (4 táxons cada). As frequências absoluta e relativa dos gêneros em cada tecido vegetal pode ser observada na Tabela 2.

Tabela 2 - Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) (%) de fungos endofíticos de *A. colubrina*. (t) = valor total.

Fungos endofíticos	Folículo	Ramo	FA	FR (%) (t)
<i>Alternaria</i> sp.		2	2	3,56
<i>Aspergillus</i> sp.		1	1	1,79
<i>Aureobasidium</i> sp. nov. 1		1	1	1,79
<i>Aureobasidium</i> sp. nov. 2		1	1	1,79
<i>Aureobasidium planticola</i> Wang, Wu & Wang		1	1	1,79
<i>Bartalinia</i> sp.		1	1	1,79
<i>Camarographium</i> sp.		1	1	1,79
<i>Cladosporium</i> sp. 1 (complexo <i>C. cladosporioide</i>)		1	1	1,79
<i>Cladosporium</i> sp. 2 (complexo <i>C. sphaerospermum</i>)	1		1	1,79
<i>Coniochaeta</i> 1	1		1	1,79
<i>Curvularia</i> sp. 1		2	2	3,56
<i>Curvularia</i> sp. 2		1	1	1,79
<i>Curvularia</i> sp. 3		1	1	1,79
<i>Diaporthe myracrodruonis</i> Pádua, Oliveira, Souza-Motta, Fan & Bezerra		1	1	1,79
<i>Diaporthe</i> sp. 1		4	4	7,13
<i>Diaporthe</i> sp. 2	1		1	1,79
<i>Diaporthe</i> sp. 3		1	1	1,79
<i>Diaporthe</i> sp. 4		1	1	1,79
<i>Didymella</i> sp. 1		1	1	1,79
<i>Didymella</i> sp. 2		5	5	8,92
<i>Elsinoe</i> sp.	4		4	7,13
<i>Exophiala</i> sp.		1	1	1,79

<i>Exserohilum</i> cf. <i>rostratum</i>	2	2	3,56
<i>Fusarium</i> sp. 1 (complexo <i>F. lateritium</i>)	3	3	5,36
<i>Fusarium</i> sp. 2 (complexo <i>F. fujikuroi</i>)	1	1	1,79
<i>Gloniopsis</i> sp. 1	1	1	1,79
<i>Gloniopsis</i> sp. 2	1	1	1,79
<i>Gloniopsis</i> sp. 3	1	1	1,79
<i>Hymenoplectra</i> sp.	1	1	1,79
<i>Pleurostoma</i> sp.	2	2	3,56
<i>Pseudochaetosphaeronema</i> sp.	1	1	1,79
<i>Rhytidhysterium</i> sp. 1	2	2	3,56
<i>Rhytidhysterium</i> sp. 2	2	2	3,56
<i>Rhytidhysterium</i> sp. 3	1	1	1,79
<i>Sarocladium</i> sp. 1	2	2	3,56
<i>Sarocladium</i> sp. 2	1	1	1,79
<i>Truncatella</i> sp.	1	1	1,79
Total	7	49	56

O gênero mais frequente, *Diaporthe* (14,3%), é cosmopolita e apresentam uma ampla distribuição em diversos hospedeiros, com espécies atuando como sapróbias, patogênicas e endofíticas (Gomes *et al.*, 2013). O isolamento de *Diaporthe* foi possível tanto a partir dos folíolos (1) quanto dos ramos (7), sugerindo aptidão das espécies em colonizar os diferentes tecidos do hospedeiro (Noriler *et al.*, 2018). Além disso, é um dos gêneros de fungos endofíticos mais encontrados, como por exemplo em *Costus spiralis* (Costaceae) (Marson-Ascêncio *et al.*, 2014), em *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae) e em *Delonix regia* representante da família Fabaceae (Zhou *et al.*, 2014), a mesma família da planta utilizada nesse estudo. Outros estudos também obtiveram este gênero como o mais frequente, Oliveira *et al.*, (2020) analisaram folíolos e ramos de *Poincianella pyramidalis*, uma espécie de planta endêmica Caatinga, e verificaram que 111 dos isolados eram endófitos de *Diaporthe*, distribuídas em cinco espécies. Semelhantemente, Pádua *et al.*, (2018) avaliaram folhas da planta medicinal *Myracrodruon urundeuva* em brejo de altitude e Caatinga e obtiveram 66 isolados pertencentes a 15 morfoespécies de *Diaporthe*. Além disso, várias espécies de *Diaporthe* têm sido descritas a partir de estudos com endófitos da Caatinga (Bezerra *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2020; Araújo-Magalhães, 2018). Além disso, alguns autores relatam que esse gênero é bastante conhecido pela utilização na produção de metabolitos secundários (GOMES *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2021).

Didymella, o segundo gênero mais frequente nesse estudo, pertence a uma das principais famílias de *Pleosporales* na classe *Dothideomycetes* (Hyde *et al.* 2013; Hongsanan *et al.* 2020). Algumas das espécies do gênero são relatadas como patógenos oportunistas de plantas (Rouxel & Balesdent 2005; McDonald & Peck 2009; Salam *et al.* 2011; de Gruyter *et al.* 2013), humanos e outros animais (Boerema *et al.* 2004; de Hoog *et al.* 2011). Contudo, algumas espécies são conhecidas como endofíticas ou até mesmo saprofíticas vivendo em associação com outros organismos (Schulz e Boyle 2005; Tahtamouni *et al.* 2016). Recentemente, Ahmadpour *et al.* (2022) descreveram novos membros da família Didymellaceae isoladas a partir de várias plantas no Irã, enquanto que Scarpari *et al.*, (2020) descreveram *Didymella corylicola* como sendo um fungo associado à frutificação da avelã (*Corylus avellana*), estando presente durante todos os seus estágios de desenvolvimento. O gênero também foi relatado por Shen *et al.* (2012) em ramos de *Phyllostachys edulis*.

É interessante o fato de *Rhytidhysterion*, terceiro gênero mais predominante, ter sido encontrado nos ramos de *A. colubrina*, pois espécies desse gênero são capazes de degradar madeira, sendo sapróbio como uma alternativa nutricional. Isso é relatado por De Silva *et al.* (2020) que coletaram algumas espécies de *Rhytidhysterion* em galhos mortos de *Magnolia grandiflora* e de madeira em decomposição de *Morus australis* na China.

Outros gêneros não muito seletivos, como *Curvularia*, *Elsinoe* e *Fusarium*, costumam ser relatados com alta frequência em diferentes hospedeiros de plantas tropicais (Arnold; Lutzoni 2007; Hyde; Soyong 2008; Siqueira *et al.*, 2011; Kharwar *et al.*, 2011; Chowdhary; Kaushik 2015; Verekar *et al.*, 2017). Gêneros também conhecidos como fitopatógenos foram isolados em nosso estudo (ex.: *Fusarium* e *Diaporthe*) e possuem alta importância econômica em ambientes naturais e culturas agrícolas (Udayanga *et al.*, 2011; Thompson *et al.*, 2015). Isso sugere uma correspondência nas definições para fungos endofíticos que possuem relação com o endofitismo como uma etapa do ciclo de vida fúngico dependente das condições entre as interações entre planta x fungo (Azevedo e Araújo, 2007; Hyde e Soyong, 2008; Suryanarayanan *et al.*, 2005; White Jr. e Bacon, 2012, Hardoim *et al.*, 2015).

Gêneros como *Cladosporium*, também encontrado nesse estudo, além de possuírem importância taxonômica para estimativa da diversidade endofítica, também apresentam potencial como produtores de metabólitos bioativos, como demonstrado por Gonçalves, Freire e Lima (2013) em várias plantas da Caatinga do estado do Ceará. Outras morfoespécies aqui relatadas pertencem aos gêneros *Alternaria* e *Truncatella*, e mesmo que sua frequência tenha sido

menor com relação as demais, eles são mencionados na literatura como endófitos de folhas, caules, pecíolos e raízes (Purmale *et al.*, 2012; Rana *et al.*, 2017).

Outro gênero que é importante ser destacado é *Aureobasidium* (Sacrotheciaceae, Dothideales, *Dothideomycetes*) (Thambugala *et al.* 2014; Wijayawardene *et al.* 2022; Lee *et al.*, 2021). Embora a frequência de *Aureobasidium* em nosso estudo tenha sido de apenas três isolados, dois deles estão sendo descritos como novas espécies e *A. planticola* como nova ocorrência. Espécies de *Aureobasidium* podem ser encontradas em diferentes substratos como solo, gelo e água, além de habitar diferentes hospedeiros. Se apresentam principalmente de maneira saprofítica, patogênica e endofítica, devido a sua grande capacidade de adaptação às diferentes condições (Zalar *et al.* 2008). Por exemplo, Bezerra *et al.* (2013) demonstram a capacidade de isolados de *Aureobasidium* em habitar cactos da floresta tropical seca brasileira (Caatinga). Os autores isolaram endófitos de *C. jamacaru* revelando que boa parte dos fungos identificados no estudo pertenciam a *Aureobasidium*.

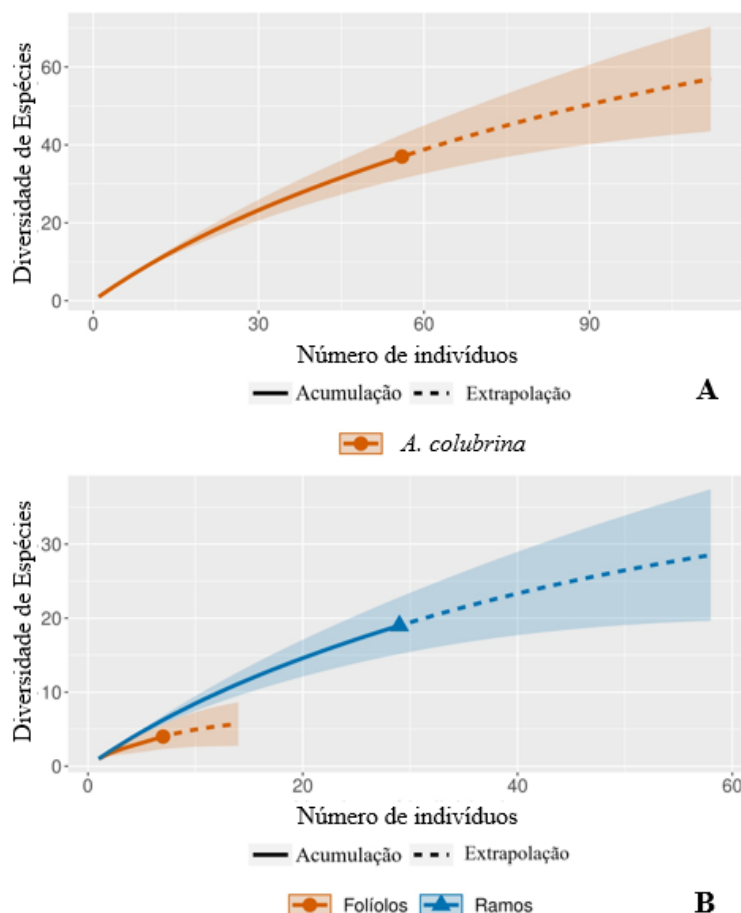
Alguns táxons relatados no nosso estudo foram considerados raros ou de isolamento ocasional, pois foram encontrados pelo menos uma vez (*Aspergillus*, *Bartalania*, *Camarographium*, *Coniochaeta*, *Exophiala*, *Pseudochaetosphaeronema* e *Truncatella*). Resultados semelhantes também foram observados em outros estudos de comunidades endofíticas, onde um número reduzido de alguns isolados pode estar associado a frequência de algum gênero que atua como dominante (Gazis; Chaverri 2010; Hilarino *et al.*, 2011; Bezerra *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2015, Oliveira *et al.*, 2020).

A diversidade estimada no nosso estudo com base no índice de Shannon demonstrou diferença entre folíolos ($H' = 1,15$) e ramos ($H' = 2,71$), seguindo o que foi observado para a taxa de colonização dos fragmentos e riqueza de espécies. Semelhantemente, quando Oliveira *et al.* (2020) analisaram a diversidade de fungos endofíticos em planta (*Poincianella pyramidalis*) da mesma área de Caatinga do nosso estudo, os autores obtiveram índice de $H' = 1,04$ de folíolos e ramos. Outros estudos na Caatinga também demonstraram índices de diversidade semelhantes. Por exemplo, estudando a comunidade de endófitos de *Myracrodruon urundeuva*, Pádua *et al.* (2019) obtiveram um índice de diversidade de $H' = 2,10$ na Caatinga e de $H' = 3,41$ em brejo de altitude; os autores atribuíram essa diferença ao fato de que brejos são áreas no meio da Caatinga com entaves de floresta tropical úmida. Ainda na Caatinga, a diversidade de fungos endofíticos de cactos foi estimada em $H' = 2,991$ (Bezerra *et al.*, 2013); os mesmos autores demonstraram uma diversidade de endófitos em folhas ($H' = 1,842$) e ramos

($H' = 2,206$) da planta *Bauhinia forficata* (Bezerra *et al.*, 2015) semelhantes aos obtidos no nosso estudo; contudo, o estudo de *B. forficata* foi em área de Floresta Atlântica.

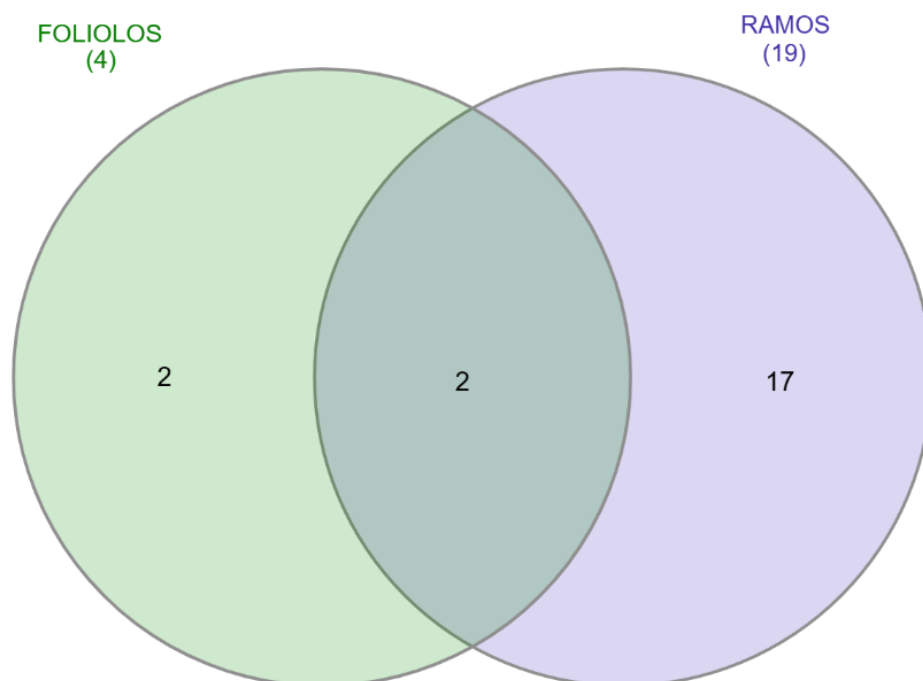
A curva de acumulação e extrapolação de espécies no nosso estudo foi calculada com base no índice de diversidade de Simpson e demonstrou que o esforço de amostragem não foi suficiente para chegar à riqueza esperada, sendo possível recuperar 54% da riqueza esperada para os dois tecidos vegetais (Figura 10a); contudo, quando analisados os tecidos vegetais separadamente foi possível recuperar uma riqueza de 63% para folíolos e de 56% para ramos (Figura 10b), sugerindo que a riqueza possa ter sido subestimada em *A. colubrina*, e algum fator pode ter sido limitante impedindo o crescimento de endófitos, além do método de isolamento para estimativa da diversidade. Técnicas dependentes de meio de cultura podem impactar no crescimento de alguns fungos devido as suas especificidades, reforçando a necessidade de também serem incluídos técnicas independentes de cultura para estimativa total da diversidade endofítica (Singh *et al.*, 2017; Sapkota *et al.*, 2017; Collinge *et al.*, 2019).

Figura 10- Curva de acumulação e extrapolação de táxons, baseada na diversidade de Simpson, para fungos endofíticos de *A. colubrina* em uma área Caatinga, Brasil (A). Curva de acumulação e extrapolação de táxons, baseada na diversidade de Simpson, para fungos endofíticos de folíolo e ramo de *A. colubrina* em uma área Caatinga, Brasil (B).



No nosso estudo, foi observado que a comunidade de fungos endofíticos dos dois tecidos vegetais compartilham apenas dois gêneros, *Cladosporium* e *Diaporthe*, enquanto *Coniochaeta* e *Elsinoe* foram exclusivos de folíolos e os demais gêneros exclusivos de ramos (Figura 11). Essa peculiaridade também é relatada em trabalhos como o de Bezerra *et al.*, (2015) em o caule de *Bauhinia forficata* apresentou alguns gêneros de fungos endofíticos (ex. *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Gibberella*, *Penicillium*) também isolados em suas sementes, sépalas e folhas, enquanto que alguns outros gêneros obtiveram frequência exclusiva em apenas um desses tecidos (ex. *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Talaromyces*).

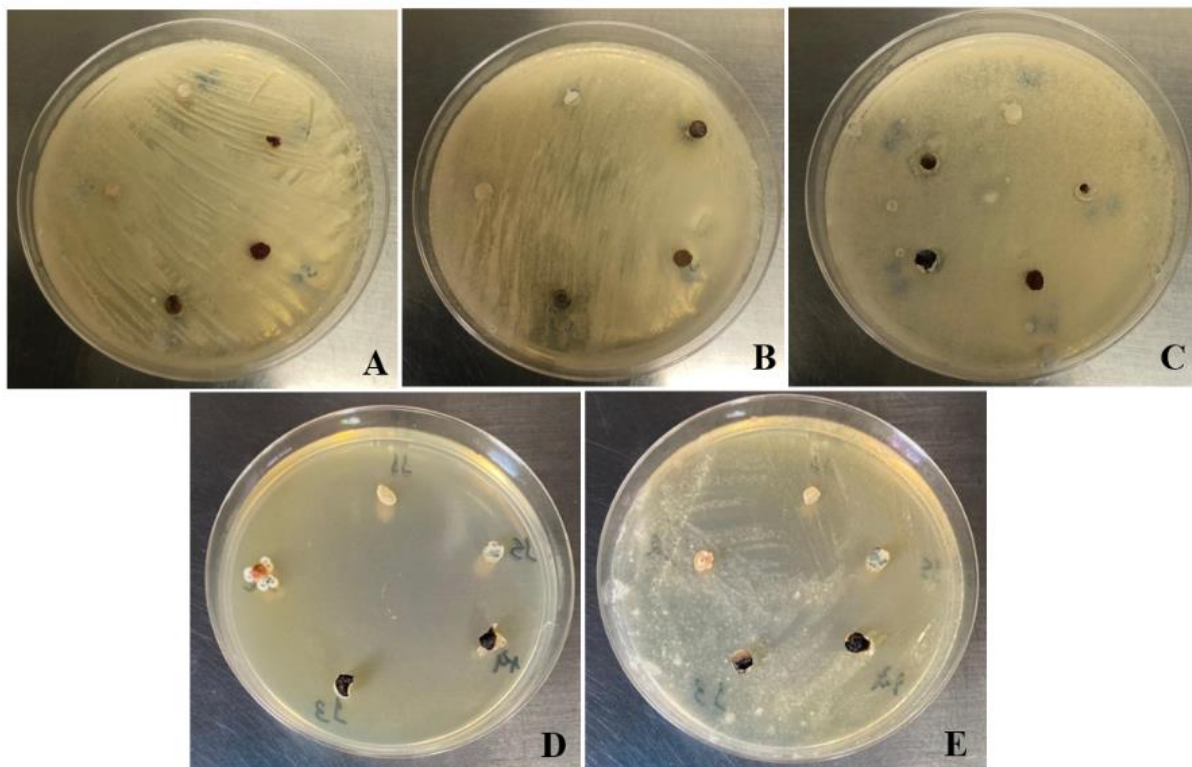
Figura 11 - Diagrama de Venn mostrando os gêneros de fungos endofíticos únicos e compartilhados entre folíolos e ramos de *A. colubrina* em uma área Caatinga, Brasil.



4.2 Teste antifúngico dos endófitos de *A. colubrina* contra agentes da esporotricose

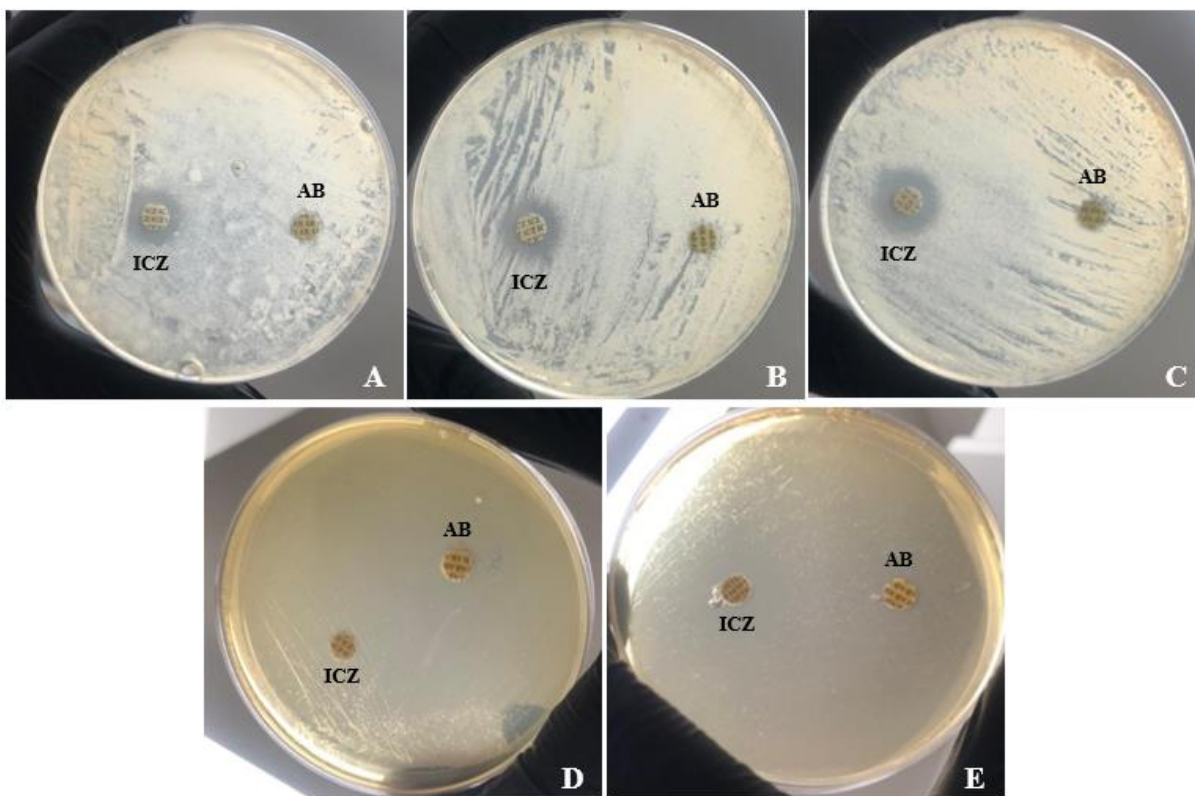
Para o teste antifúngico, todos os 56 fungos endofíticos isolados nesse estudo foram testados, porém nove não cresceram durante o sub-cultivo, totalizando 47 endófitos representando todos os gêneros, com exceção de *Bartalinia* e *Pleurostoma*. Não foi obtido sucesso nos testes antifúngicos realizados com os fungos endofíticos isolados de *A. colubrina* contra os agentes etiológico da esporotricose (Figura 12). Entretanto, esse resultado não o torna os endófitos inviáveis para outras possíveis análises, inclusive a utilização de outras metodologias com o mesmo objetivo.

Figura 12 - Endófitos de *A. colubrina* testados contra isolados de A: *S. mexicana* URM 301, B: *S. chilensis* URM 2439, C: *S. shenckii* URM4252, D: *S. brasiliensis* URM 8233 (isolada de felino) e E: *S. brasiliensis* URM 8248 (isolado de humano) após 3 dias de incubação a 36 ± 2 °C.



Embora alguns dos gêneros encontrados (ex. *Aspergillus*, *Diaporthe* e *Fusarium*) sejam também relacionados como produtores de metabólitos secundários com atividade biológica (ex. alcalóides, compostos fenólicos, peptídeos e terpenos), nenhum deles apresentou potencial contra os agentes etiológicos da esporotricose testados no nosso estudo (Freire *et al.* 2014; Sobreira *et al.* 2018; Oliveira & Nogueira, 2022). Outro fator que corrobora com esse resultado, é o fato de que as cepas dos agentes etiológicos da esporotricose foram utilizadas na sua fase filamentosa para o teste (Figura 12), e desse ponto de vista, possivelmente poderíamos ter obtido melhores resultados com a fase leveduriforme, que é a fase considerada infectiva (Rodrigues *et al.*, 2020). Entretanto, com base nessas informações, o nosso estudo parece ser o primeiro trabalho com dados sobre o potencial antifúngico de fungos endofíticos isolados de *A. colubrina* de uma área de preservação da Caatinga. A obtenção desses dados ajuda no direcionamento sobre as pesquisas nesse âmbito (DANTAS; ALVES; CHAPLA, 2021).

Figura 13: Teste de suscetibilidade para isolados de A: *S. mexicana* URM 301, B: *S. chilensis* URM 2439, C: *S. shenckii* URM4252, D: *S. brasiliensis* URM 8233 (isolada de felino) e E: *S. brasiliensis* URM 8248 (isolado de humano) após 3 dias de incubação a 36 ± 2 °C.



*AB: anfotericina B e ICZ: itraconazol.

5. CONCLUSÕES

Embora sejam escassas na literatura informações sobre os fungos endofíticos relacionados aos ramos e folíolos de *A. colubrina* (angico), nosso estudo parece ser o primeiro a tratar sobre a riqueza, abundância e potencial antifúngico de endófitos isolados dessa planta em uma área de preservação de Caatinga.

Partindo desse princípio, o estudo com fungos endofíticos de folíolos e ramos de *A. colubrina* contribui para um melhor entendimento sobre padrões de diversidade endofítica na Caatinga. Além disso, contribui com estimativas nacionais e internacionais de dados da diversidade micológica a partir da descrição de novas espécies e relato de espécies conhecidas que ainda não tinham sido relatadas como endófitos na Caatinga. Além disso, foi possível a constatação da existência de diferença na diversidade endofítica de angico entre os tecidos foliares e os ramos, demonstrando o impacto deles na comunidade de fungos endofíticos. Foi observado que o padrão de frequência de isolamento da maioria dos fungos endofíticos de *A. colubrina* é de espécies raras. Além disso, ainda que os testes com os endófitos contra agentes etiológicos da esporotricose não tenha obtido atividade, os mesmos servem como subsídio na coleta de informações sobre o potencial biotecnológico de fungos da Caatinga.

6. REFERÊNCIAS

- Ademe M., Girma F. 2020. *Candida auris*: From Multidrug Resistance to PanResistant Strains. *Infection and Drug Resistance*, 13:1287–1294.
- Agrios, G.H. 1997. Plant Pathology. *Academy Press*, London.
- Ahmadpour, S.A., Mehrabi-Koushki, M., Farokhinejad, R. *et al.* New species of the family *Didymellaceae* in Iran 2022. *Mycol Progress* 21, 28. <https://doi.org/10.1007/s11557-022-01800-5>
- Almeida, A. et al. 2018. Esporotricose em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em Campos dos Goytacazes, RJ. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(7): 1438-1443.
- Althoff, T. D.; Menezes, R. S. C.; Carvalho, A. L.; Pinto, A. A.; Santiago, G. A. C. F.; Ometto, J. P. H. B.; Randow, C.; Sampaio, E. V. S. B. (2016) Climate change impacts on the sustainability of the firewood harvest and vegetation and soil carbon stocks in a tropical dry forest in Santa Terezinha Municipality, Northeast Brazil. *Forest Ecology and Management*, v. 360, p. 367-375.
- Aly, Amal H. et al 2010. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal diversity*, v. 41, n. 1, p. 1- 16.
- Andrade-Lima, D. 1981. The caatinga dominium. *Revista Brasileira e Botânica* 4:149-53.
- Araújo Filho, J.A. 1996. Desenvolvimento sustentável da caatinga. Sobral: Ministério da Agricultura/EMBRAPA/CNPC.
- Araújo, W. L.; Marcon, J.; Maccheroni Junior, W.; Elsas, J. D. V.; Vuurde, J. W. L.; Azevedo, J. L. 2002 Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 10, p. 4906-4914.
- Arias, M.V.B.; Carrilho, C.M.D. 2012. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? *Semina: Ciências Agrárias*, 33(2): 775-790.
- Arnold, A. E.; Lutzoni, F. 2007. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecological Society of America*, v. 88, n. 3, p. 541- 549.
- Arnold, A.E., Maynard, Z., Gilbert, G.S. 2001. Fungal endophytes in dicotyledonous neotropical trees: patterns of abundance and diversity. *Mycological Research* 105(12):1502-1507.
- Arnold, A.E., Maynard, Z., Gilbert, G.S., Coley, P.D., Kursar, T.A. 2000. Are tropical endophytes fungi hyperdiverse? *Ecology Letters* 3:267-274.
- Arnold, A.E.; Herre, E.A. 2003. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). *Mycologia*, 95: 388-398.

Ayob, F.W.; Simarani, K.; Zainal, A.N.; Mohamad, J. 2017. First report on a novel *Nigrospora sphaerica* isolated from *Catharanthus roseus* plant with anticarcinogenic properties. *Microbial Biotechnology*, 10(4): 926–932.

Azevedo, J. L., Araújo, W. L. 2007. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: Ganguli, B. N., Deshmukh, S. K. (eds.) *Fungi: multifaceted microbes*. Boca Raton: CRC Press, p. 189-207.

Azevedo, J.L. Microrganismos endofíticos. 1998. In: Melo, I.S., Azevedo, J.L. (eds.) *Ecologia Microbiana*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, pp.117-137.

Azevedo, J.L., Araújo, W.L. 2007. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: Ganguli BN, Deshmukh SK (eds.) *Fungi: multifaceted microbes*. CRC Press, Boca Raton, pp. 189-207.

Azevedo, J.L., Maccheroni, Jr.W., Pereira, J.O., Araújo, W.L. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology* 3(1), 40-65.

Azevedo, J.L., Serafine, L.A., Barros, N.M. 2002. Microrganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: Serafine, L.A., Barros N.M., Azevedo, J.L. (eds.) *Biotecnologia: avanços na agricultura e na indústria*. Caxias do Sul, Editora da Universidade de Caxias do Sul, pp. 233-265.

Bae, H. et al. 2008. The beneficial endophyte, *Trichoderma hamatum*, delays the onset of drought stress in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, v. 46, p. 24-35.

Batista, B.N.; Matias, R.R.; Oliveira, R.L.E.; Albuquerque, P.M. 2022. Hydrolytic enzyme production from açai palm (*Euterpe precatoria*) endophytic fungi and characterization of the amylolytic and cellulolytic extracts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(2): 30.

Baucom, D. L., Romero, M., Belfon, R., & Creamer, R. (2012). Two new species of *Undifilum*. fungal endophytes of *Astragalus* (locoweeds) in the United States. *Botany*, 90(9), 866–875. <https://doi.org/10.1139/b2012-056>.

Bayman, P. 2006. Diversity, scale and variation of endophytic fungi in leaves of tropical plants. *Microbial ecology of aerial plant surfaces* 37-50.

Bezerra, J. D. P.; Nascimento, C. C. F.; Barbosa, R. N.; Silva, D. C. V.; Svedese, V. M.; Silva-Nogueira, E. B.; Gomes, B. S.; Paiva, L. M.; Souzamotta, C. M. 2015. Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: diversity and biotechnological potential. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 49- 57.

Bezerra, J. D. P.; Oliveira, R. J. V.; Paiva, L. M.; Silva, G. A.; Groenewald, J. Z.; Crous, P. W.; Souza-Motta, C. M. 2017b. *Bezerromycetales* and *Wiesneriomycetales* ord. nov. (class *Dothideomycetes*), with two novel genera to accommodate endophytic fungi from Brazilian cactus. *Mycological progress*, v. 16, n. 4, p. 297-309,

Bezerra, J. D. P.; Pádua, A. P. S. L.; Oliveira, T. G. L.; Paiva, L. M.; Guarnaccia, V.; Fan, X.; Souza-Motta, C. M. 2019. *Pseudoplagiostoma myracrodruonis* (Pseudoplagiostomataceae,

Diaporthales): a new endophytic species from Brasil. *Mycological progress*, v. 18, p. 1329-1339.

Bezerra, J. D. P.; Sandoval-Denis, M.; Paiva, L. M.; Silva, G. A.; Groenewald, J. Z.; Souza-Motta, C. M.; Crous, P. W. New endophytic *Toxicocladosporium* species from cacti in Brazil, and description of *Neocladosporium* gen. nov. 2017a. *Ima Fungus*, v. 8, n. 1, p. 77-97,

Bezerra, J. D. P.; Santos, M. G. S.; Barbosa, R. N.; Svedese, V. M.; Lima, D. M. M.; Fernandes, M. J. S.; Gomes, B. S.; Paiva, L. M.; Almeida-Cortez, J. S.; Souza-Motta, C. M. 2013. Fungal endophytes from cactos *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study. *Symbiosis*, v. 60, n. 2, p. 53-63.

Bezerra, J. D. P.; Santos, M. G. S.; Svedese, V. M.; Lima, D. M. M.; Fernandes, M. J. S.; Paiva, L. M.; Souza-Motta, C. M. 2012. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminar screening for enzyme production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 28, n. 5, p. 1989- 1995.

Bills, G.F. 1996. Isolation and analysis of endophytic fungal communities from woody plants. In: Redlin, S.C., Carris, L.M. (eds.) *Endophytic fungi in grasses and woody plants: systematics, ecology, and evolution*. American Phytopathological Society Press, Saint Paul, pp.31–65.

Bispo, J. D. S., Costa, D. C. C. D., Gomes, S. E. V., Oliveira, G. M. D., Matias, J. R., Ribeiro, R. C., & Dantas, B. F. 2017. Size and vigor of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan seeds harvested in Caatinga areas. *Journal of Seed Science*, 39: 363-373.

Boerema GH, de Gruyter J, Noordeloos ME 2004. *Phoma* identification manual. CABI Publishing, USA, Differentiation of specific and infra- specific taxa in culture CABI.

BONFIM, Joice Andrade et al. 2016. Dark septate endophytic fungi of native plants along an altitudinal gradient in the Brazilian Atlantic forest. *Fungal Ecology*, v. 20, p. 202-210.

Bose, S.R. 1947. Hereditary (Seed-Borne) Symbiosis in *Casuarina equisetifolia* Forst. *Nature* 159:512-514.

BOUARAB, Kamal et al. 1999. Sulfated oligosaccharides mediate the interaction between a marine red alga and its green algal pathogenic endophyte. *The Plant Cell*, v. 11, n. 9, p. 1635-1650.

Cabral, G. A. L.; Sampaio, E. V. S. B.; Cortez, J. S. A. 2013. Estrutura espacial e biomassa da parte aérea em diferentes estádios sucessionais de Caatinga, em Santa Terezinha, Paraíba. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 6, n. 3, p. 566-574.

Cannon, Paul F.; Simmons, Coralie M. 2002. Diversity and host preference of leaf endophytic fungi in the Iwokrama Forest Reserve, Guyana. *Mycologia*, v. 94, n. 2, p. 210-220.

Carroll, F.E., Müller, E., Sutton, B.C. 1977. Preliminary studies on the incidence of needle endophytes in some European conifers. *Sydowia* 29:87–103.

Carroll, G.C. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 69:2-9.

Carvalho, P. 2003. Angico-branco: *Anadenanthera colubrina* var. *colubrina*.

Cavalcanti, R. M. F., & Guimarães, L. H. S. 2018. Produção e caracterização parcial de tanase pelo fungo endofítico *Aspergillus niger* ANG18 em fermentação em estado sólido. *Revista Saúde & Ciência Online*, 7(2), 426-440.

Chao A, Ma KH, Hsieh TC. 2016. Inext (iNterpolation and EXTrapolation) Online: Software for interpolation and Extrapolation of species diversity. Code 30043: 1-14.

Chapman, J.; Ismail, A.; Dinu, C. 2018. Industrial Applications of Enzymes: Recent Advances, Techniques, and Outlooks. *Catalysts*, 8: 238.

Chen, G., Lin, Y., Wen, L., Vrijmoed, L.L.P., Jones, E.B.G. 2003. Two new metabolites of a marine endophytic fungus from an estuarine mangrove on the South China Sea Coast. *Tetrahedron* 59:4907-4909.

Chen, Juan et al. 2013. Diversity and taxonomy of endophytic *xylariaceous* fungi from medicinal plants of *Dendrobium* (Orchidaceae). *PloS one*, v. 8, n. 3, p. e58268.

Chowdhary, K.; Kaushik, N. 2015. Fungal endophyte diversity and bioactivity in the Indian medicinal plant *Ocimum sanctum* Linn. *Plos One*, v. 10, n. 11, p. 1-25.

Christenhusz, M. J., & Byng, J. W. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, 261(3): 201-217.

Clay, K., Hardy, T.N., Hammond, A.M. Jr. 1985. Fungal endophytes of grasses and their effects on an insect herbivore. *Oecologia* 66:1-5.

Collado, J., Platas, G., Gonzales, I., Pelaéz, F. 1999. Geographical and seasonal influence on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. *New Phytologist* 143:525–532.

Collinge, David B. et al. 2019. Searching for novel fungal biological control agents for plant disease control among endophytes. *Endophytes for a Growing World*, p. 25-51,

Corrêa, R.C.G.; Rhoden, S.A.; Mota, T.R.; Azevedo, J.L.; Pamphile, J.A.; De Souza, C.G.M. et al. 2014. Endophytic Fungi: Expanding the Arsenal of Industrial Enzyme Producers. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 41: 1467–1478.

Correia, Ana ML et al. 2018. Fungal endophyte communities in *Begonia* species from the Brazilian Atlantic rainforest. *Current microbiology*, v. 75, n. 4, p. 441-449.

COVISA. 2020. Vigilância e Manejo Clínico da Esporotricose Humana no município de São Paulo.

Crabtree, S.L., Gessner, R.V. 1982. Growth and nutrition of the salt marsh fungi *Pleospora gaudefroyi* and *Camarosporium roumeguerii*. *Mycologia* 74:640–647.

Dantas, S. B. S.; Alves, F. A. M.; Chapla, V. M. 2021. Química, diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas do Cerrado Brasileiro. *Biota Neotropica*, 21(2): e20201069.

Dastogeer, K.M.G., Li, H., Sivasithamparam, K., Jones, M.G.K., Wylie, S.J. 2017. Host Specificity of Endophytic Mycobiota of Wild Nicotiana Plants from Arid Regions of Northern Australia. *Microbial Ecology* 75: 74-87.

De Beer, Z. W., Procter, M., Wingfield, M. J., Marincowitz, S., & Duong, T. A. 2022. Generic boundaries in the *Ophiostomatales* reconsidered and revised. *Studies in Mycology*, 101(1), 57–120. <https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.02>

De Gruyter J., Woudenberg J.H.C., Aveskamp M.M., Verkley G.J.M., Groenewald J.Z, Crous P.W. 2013. Redisposition of phoma-like anamorphs in *Pleosporales*. *Stud Mycol* 75:1–36.

De Hoog GS, Guarro J., Gené J., Figueras M.J. 2011. Atlas of clinical fungi. CD-ROM v. 3.1. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands.

De Medeiros, R. L. S., de Souza, V. C., Neto, M. A. B., de Araújo, L., da Silva Barbosa, A., & de Medeiros, R. L. S. 2016. Estrutura da regeneração natural de *Anadenanthera colubrina* em fragmento de brejo de altitude em Bananeiras, PB. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 36(86): 95-101.

De Silva, N.I.; Tennakoon, D.S.; Thambugala, K.M.; Karunarathna, S.C.; Lumyong, S.; Hyde, K.D. Morphology and multigene phylogeny reveal a new species and a new record of *Rhytidhysterium* (*Dothideomycetes*, *Ascomycota*) from China. *Asian J. Mycol.* 2020, 3, 295–306

Delices, M., Muller, J. D. A. I., Arunachalam, K., & de Oliveira Martins, D. T. 2022. *Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan: Ethnobotanical, phytochemical, pharmacological and toxicological aspects. *Journal of Ethnopharmacology*, 115745.

Denning, D.W. 2022. Antifungal drug resistance: an update. *European Journal of Hospital Pharmacy*, 29: 109–112.

Dreyfuss, M.M., Chapela, I.H. 1994. Potential of fungi in the discovery of novel, low molecular weight pharmaceuticals. In: Gullo, V.P. (ed.). *The Discovery of Natural Products with Therapeutic Potential*. *Butterworth-Heinemann*, London, UK, pp. 49-80.

Faggin, J. M.; Behagel, J. H; Arts, B. 2017. Sustainable Forest Management and SocialEcological Systems: An Institutional Analysis of Caatinga, Brazil. *Forests*, v. 8, n. 454, p. 1-17.

Falcão, H. M.; Medeiros, C. D.; Silva, B. L. R.; Sampaio, E. V. S. B.; AlmeidaCortez, J. S.; Santos, M. G. 2015. Phenotypic plasticity and ecophysiological strategies in a tropical dry forest chronosequence: A study case with *Poincianella pyramidalis*. *Forest Ecology and Management*, v. 340, p. 62-69.

Fazenda Tamanduá, Guia de Plantas. <<https://www.fazendatamandua.com.br/fauna-flora/>> Acesso em 29 de junho, 2023.

Ferreira, A.P.; Mateus, N.J.; Oliveira, J.A.S.; Pamphile, J.A.; Azevedo, J.L. 2021. Bio-prospecting endophytic *Diaporthe* species associated with *Pachystachys lutea* (Acanthaceae) with antagonistic effect against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Luminária*, União da Vitória, 23(2): 13 –21.

Fisher, P.J., Sutton, B.C., Petrini, L.E., Petrini, O. 1994. Fungal endophytes from *Opuntia stricta*: a first report. *Nova Hedwigia* 59:195–200.

Flora e Funga do Brail, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB18071>> Acesso em 29 de junho,2023.

Freire, F. C.; Vasconcelos, F. R.; Coutinho, I. B. 2014. Fungos endofíticos: uma fonte de produtos bioativos de importância para a humanidade. *Essentia*, 16(1): 61–102.

Freire, K. T. L. S. et al. 2015. Fungos endofíticos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.(Cactaceae) sadia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896)(Hemiptera: Dactylopiidae). *Gaia scientia*, v. 9, n. 2, p. 104-11.

Gallego-Jara, J.; Lozano-Terol, G.; Sola-Martínez, R.A.; Cánovas-Díaz, M.; Puente, T. A. 2020. Compressive Review about Taxol®: History and Future Challenges. *Molecules*, 25(24):5986.

Gazis, R.; Chaverri, P. 2010. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru. *Fungal ecology*, v. 3, n. 3, p. 240-254.

Gennaro, M., Gonthier, P., & Nicolotti, G. 2003. Fungal endophytic communities in healthy and declining *Quercus robur* L. and *Q. cerris* L. trees in northern Italy. *Journal of Phytopathology*, 151(10), 529-534.

Gomes, R. R.; Glienke, C.; Videira, S. I. R.; Lombard, L.; Groenewald, J. Z.; Crous, P. W. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*, v. 31, p. 1-41.

Gonçalves, F. J. T.; Freire, F. C. O.; Lima, J. S. 2013. Fungos endofíticos e seu potencial como produtores de compostos bioativos. *Essentia*, v. 15, n. 1, p. 71-92.

Groenewald, J. Z.; Nakashima, C.; Nishikawa, J.; Shin, H. D.; Park, J. H.; Jama, A. N.; Groenewald, M.; Braun, U.; Crous, P. W. 2013. Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. *Studies in Mycology*, v. 75, n. 1, p. 115- 170.

Guimaraes, D. O.; Momesso, L. S.; Pupo, M. T. 2010. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Química Nova*, 33(3): 667-679.

Gutierrez-Galhardo, M.C. et al. 2015. Epidemiological aspects of sporotrichosis epidemic in Brazil. *Current Fungal Infection Reports*, 9: 238-245.

Hallmann, J.A., Quadt-Halman, W., Mahaffee, F., Kloepper, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43:895-914.

Harder, Christoffer B. et al. 2013. A three-gene phylogeny of the *Mycena pura* complex reveals 11 phylogenetic species and shows ITS to be unreliable for species identification. *Fungal biology*, v. 117, n. 11-12, p. 764-775.

Hardoim, P. R.; Overbeek, L. S. V.; Berg, G.; Pirttilä, A. M.; Compant, S.; Campisano, A.; Döring, M.; Sessitsch, A. 2015. The hidden world within plants: ecological and evolutionary

considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 79, n. 3, p. 293-320.

Hashem, A.H.; Shehabeldine, A.M.; Abdelaziz, A.M.; Amin. B.H.; Sharaf, M.H. 2022. Antifungal Activity of Endophytic *Aspergillus terreus* Extract Against Some Fungi Causing Mucormycosis: Ultrastructural Study. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(8): 3468-3482.

Hawar, S.N. 2022. Extracellular Enzyme of Endophytic Fungi Isolated from *Ziziphus spina* Leaves as Medicinal Plant. *International Journal of Biomaterials*.

Hawksworth, D.L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycology Research* 95:641-655.

Hawksworth, D.L., Rossman, A.Y. 1997. Where are all the undescribed fungi? *Phytopathology* 87:888-891.

Hawksworth DL, Lücking R. 2016. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol Spectr*. 2017 Jul;5(4). doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052.

Heberle H, Meirelles GV, da Silva FR, et al. 2015. *BMC Bioinformatics* 16:169.

Hilario, M. P. A.; Silveira, F. A. O.; Oki, Y.; Rodrigues, L.; Santos, J. C.; Junior, A. C.; Fernandes, G. W.; Rosa, C. A. 2011. Distribution of the endophytic fungi Community in leaves of *Bauhinia brevipes* (Fabaceae). *Acta Botanica Brasilica*, Feira de Santana, v. 25, n. 4, p. 815-821.

Hoenigl, M.; Salmanton-García, J.; Walsh, T.J. et al. 2021. Global guideline for the diagnosis and management of rare mould infections: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology and the American Society for Microbiology. *Lancet Infectious Diseases*, 21: e246–57.

Hoffman, M.T., Arnold, A.E. 2008. Geographic locality and host identity shape fungi endophyte communities in cupressaceous trees. *Mycological Research* 112:31–344.

Holdridge, L.R. 1967. Life zone ecology. *Tropical Science Center*, San Jose.

Hongsanan S., Hyde K.D., Phookamsak R, Wanasinghe D.N. et al. 2020. Refined families of Dothideomycetes. *Fungal Diversity* (in prep.).

Huang, Y., Wang, J., Li, G., Zheng, Z., Su, W. 2001. Tumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortune* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 31:163-167.

Hyde K.D., Jones E.B.G., Liu J.K., Ariyawansa H.A. et al. 2013 – Families of Dothideomycetes. *Fungal Diversity* 63, 1–313.

Hyde, K. D. 2022. The numbers of fungi. *Fungal Diversity* 114(1): 1-1.

Hyde, K.D., Soyong, K. 2008. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity* 33:163-173.

ICMBio, Reservas Particulares Do Patrimônio Natural – Rppn - Fazenda Tamanduá <<https://www.fazendatamandua.com.br/fauna-flora/>> Acesso em 29 de junho, 2023.

Jacobson, E.S., Hove, E., Emery, H.S. 1995. Antioxidant function of melanin in black fungi. *Infect. Immun.* 63:4944-4945.

Ichikawa, T. et al. 1971. A. Improvement of Kasugamycin – producing strain by the agar piece method and the prototroph method. *Folia Microbiologica*, 16(3): 218- 224.

JIN, H., YAN, Z., LIU, Q., YANG, X., CHEN, J., QIN, B. 2013. Diversity and dynamics of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Stellera chamaejasme* L. in northwestern China. *Antonie Leeuwenhoek*, v. 104, p. 949–963.

Johri, B.N. 2006. Endophytes to the rescue of plants! *Current Science* 90(10):1315-1316.

Katoh, K., Standley, D. M. Mafft. 2013. multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, p. 772–780.

Kharwar, R. N.; Verma, S. K.; Mishra, A.; Gond, S. K.; Sharma, V. K.; Afreen, T.; Kumar, A. 2011. Assessment of diversity, distribution and antibacterial activity of endophytic fungi isolated from a medicinal plant *Adenocalymma alliaceum* Miers. *Symbiosis*, v. 55, n. 1, p. 39-46.

Khidir, H.H., Eudy, D.M., Porras-Alfaro, A., Herrera, J., Natvig, D.O., Sinsabaugh, R.L. 2010. A general suite of fungal endophytes dominate the roots of two dominant grasses in a semiarid grassland. *Journal of Arid Environmental* 74:35–42.

Khiralla, A.; Spina, R.; Varbanov, M.; Philippot, S.; Lemiere, P.; Slezack-Deschaumes, S. 2020. Evaluation of Antiviral, Antibacterial and Antiproliferative Activities of the Endophytic Fungus *Curvularia papendorfii*, and Isolation of a New Polyhydroxyacid. *Microorganisms*, 8(9): 1353.

Kiill, L., & Da Silva, T. A. 2016. Fenologia e biologia floral de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (Fabaceae) no Município de Petrolina, PE.

Kirk, O.; Borchert, T.V.; Fuglsang, C. C. 2002. Industrial enzyme applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4): 345-351.

Kirk, P., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A. 2008. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 10th edn. CAB International, Wallingford, UK.

Kobayashi, DY, & Palumbo, JD 2000. Endófitos bacterianos e seus. *Endófitos microbianos*, 99-233.

Krings, M., Taylor, T.N., Hass, H., Kerp, H., Dotzler, N., Hermsen. E.J. 2007. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New Phytologist* 174:648–657

Krishnapura, Prajna Rao; Belur, Prasanna D. 2016. Partial purification and characterization of L-asparaginase from an endophytic *Talaromyces pinophilus* isolated from the rhizomes of *Curcuma amada*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 124, p. 83-91.

Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, v. 33, n. 7, p. 1870-1874.

Kumar, V.; Prasher, I.B. 2021. Seasonal variation and tissues specificity of endophytic fungi of *Dillenia indica* L. and their extracellular enzymatic activity. *Archives of Microbiology*, 204: 341.

Kumar, V.; Prasher, I.B. 2022. Antimicrobial potential of endophytic fungi isolated from *Dillenia indica* L. and identification of bioactive molecules produced by *Fomitopsis meliae* (Undrew.) Murril. *Natural Product Research*, 36(23): 6064- 6068.

Leal, I.R., Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Lacher Jr., T. E. 2005. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. *Megadiversidade* 1(1):139-146.

Lee, L. C., Rizman-Idid, M., Alias, S. A., Palaniveloo, K., & Gu, H. 2022. First record of the fungal genus *Neodevriesia* Quaedvl. & Crous (Ascomycota, Dothideomycetes, Neodevriesiaceae) isolated from scleractinian corals of Perhentian Islands, Malaysia. *Biodiversity Data Journal*, 10.

Legault, D., Dessureault, M., & Laflamme, G. 1989. Mycoflora of *Pinus banksiana* and *Pinus resinosa* needles. II. Epiphytic fungi. *Canadian journal of botany*, 67(7), 2061-2065.

Leite, L. N. 2020. Molecular identification and characterization of filamentous fungi and yeasts isolated in a pharmaceutical industry environment. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 10, n. 7, p. 027-036.

Lenth RV. 2016. Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *Journal of Statistical Software* 69: 1-33.

Li, W.C., Zhou, J., Guo, S.Y., Guo, L.D. 2007. Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity* 25:69–80

Lima, R.M.; Silva, W.L.; Lazzarini, J. A.; Raposo, N. R. 2019. Esporotricose brasileira: desdobramentos de uma epidemia negligenciada. *Revista de Atenção Primária à Saúde*, 22: 16496.

Lin, X., Lu, C., Huang, Y., Zheng, Z., Su, W., Shen, Y. 2007. Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: isolation, identification and bioactivity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 23:1037–1040.

Lócio, C. J. F. D. 2019. Avaliação das atividades antibióticas e antiparasitária de metabólitos secundários de fungos endofíticos da *Anadenanthera macrocarpa*.

Lopes, H. L.; Cabral, J. J.; Araújo Filho, J. C. D.; Montenegro, S. M. 2013. Mapeamento de áreas aluvionares no semiárido brasileiro por meio de dados colaterais e imagens orbitais. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 17, (7), 763-769.

Loro, M., Valero-Jiménez, C.A., Nozawac, S., Márquez, L.M. 2012. Diversity and composition of fungal endophytes in semiarid Northwest Venezuela. *Journal of Arid Environmental* 85:46-55

Maracajá, P.B., Benevides, D.S. 2006. Estudo da Flora Herbácea da Caatinga no Município de Caraúbas no Estado do Rio Grande do Norte. *Revista de Biologia e Ciências da Terra* 6:165-175.

Martinotto, F., Martinotto, C., Coelho, M. D. F. B., Azevedo, R. A. B., & Albuquerque, M. C. D. F. 2012. Sobrevivência e crescimento inicial de espécies arbóreas nativas do Cerrado em consórcio com mandioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47, 22-29.

McDonald GK, Peck D 2009. Effects of crop rotation, residue retention and sowing time on the incidence and survival of ascochyta blight and its effect on grain yield of field peas (*Pisum sativum* L.). *Field Crop Res* 111:11–21.

Melnroy, J.A., Kloepper, J.W. 1995. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and Soil* 173:337-342.

Mendes, R., Azevedo, J.L. 2007. Valor biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas de interesse econômico. In: *Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia*, pp. 129-140.

Mendiburu F. 2021. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.3-5. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>

Miller, M. A.; Pfeiffer, W.; Schwartz, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the gateway computing environments workshop (GCE)* 14 Nov 2010. Institute of Electrical and Electronics Engineers, New Orleans, LA, 2010.

Morim, M.P. 2020. *Anadenanthera* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: Acesso em: 12 de junho 2023.

Morsy, M.R., Oswald. J., He, J., Tang, Y., Roossinck, M.J. 2010. Teasing apart a threeway symbiosis: transcriptome analyses of *Curvularia protuberata* in response to viral infection and heat stress. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 401:225-230.

Murali, T.S., Suryanarayanan, T.S., Venkatesan, G. 2007. Fungal endophytes communities in two tropical forest of southern India: diversity and host affiliation. *Mycological Progress* 6:191-199.

Muvea, A.M.; Meyhöfer, R.; Subramanian, S.; Poehling, H.M.; Ekesi, S. et al. 2014. Colonization of Onions by Endophytic Fungi and Their Impacts on the Biology of Thrips tabaci. *PLoS One*, 9(9): e108242.

Nascimento, T. L., Oki, Y., Lima, D. M. M., Almeida-Cortez, J. S., Fernandes, G. W., & Souza-Motta, C. M. 2015. Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of *Calotropis procera* and their antimicrobial activity. *Fungal ecology*, 14, 79-86.

Newsham, K.K. 2012. Fungi in extreme environments. *Fungal Ecology* 5:379-380

Noriler, Sandriele A. et al. 2018. Bioprospecting and structure of fungal endophyte communities found in the Brazilian biomes, Pantanal, and Cerrado. *Frontiers in microbiology*, v. 9, p. 1526.

Ohm, R. A.; Feau, N.; Henrissat, B.; Schoch, C. L.; Horwitz, B. A.; Barry, K. W.; Condon, B. J.; Copeland, A. C.; Dhillon, B.; Glaser, F.; Hesse, C. N.; Kosti, I.; Babutti, K.; Lindquist, E. A.; Lucas, S.; Salamov, A. A.; Bradshaw, R. E.; Ciuffetti, R.; Hamelin, R. C.; Kema, G. H. J.; Lawrence, C.; Scott, J. A.; Spatafora, J. W.; Cirurgião, B. G.; Wit, P. J. G. M.; Zhong, S.; Goodwin, S. B.; Grigiriev, I. V. 2013. Diverse lifestyles and strategies of plant pathogenesis encoded in the genomes of eighteen Dothideomycetes fungi. *Plos Pathogens*, v. 9, n. 3.

Oksanen J.F.G., Blanchet M., Friendly R., et al. 2020. Vegan: Community Ecology Package (R package Version 2.5-5) <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

Oliveira, D.C., Loreto, E.S., Mario, D.A.N., Lopes, P.G.M., Neves, L.V., Rocha, M.P., Santurio, J.M., Alves, H. 2015. *Sporothrix schenckii* complex: Susceptibilities to combined antifungal agents and characterization of enzymatic profiles. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 57: 289-294.

Oliveira, J. A. S.; Nogueira, D. G. 2022. Fungos endofíticos *Diaporthe*: uma fonte promissora de metabólitos para a área da saúde. *Arquivos do Mudi*, 26(1), 39-50.

Oliveira, T. G., Bezerra, J. D., Silva, I. R. D., Souza-Motta, C. M., & Magalhães, O. 2021. Diversity of endophytic fungi in the leaflets and branches of *Poincianella pyramidalis*, an endemic species of Brazilian tropical dry forest. *Acta Botanica Brasilica*, 34, 755-764.

Ownley, B. H.; Gwinn, K. D.; Vega, F. E. 2010. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*, 55(1): 113-128.

Pádua, A. P. S. L. de, Freire, K. T. L. de S., Oliveira, T. G. L. de, Silva, L. F. da, Araújo-Magalhães, G. R., Agamez-Montalvo, G. S., Silva, I. R. da, Bezerra, J. D. P., & Souza-Motta, C. M. de. 2019. Fungal endophyte diversity in the leaves of the medicinal plant *Myracrodruon urundeuva* in a Brazilian dry tropical forest and their capacity to produce L-asparaginase. *Acta Botanica Brasilica*, 33(1), 39–49. <https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0108>.

Pagotto, M. A.; Roig, F. A.; Ribeiro, A. S.; Lisi, C. S. Influence of regional rainfall and Atlantic sea surface temperature on tree-ring growth of *Poincianella pyramidalis*, semiarid forest from Brazil. *Dendrochronologia*, v. 35, p. 14-23, 2015.

Peixoto-Neto, Pa De S.; Azevedo, J. L.; Araújo, WL de. 2002. Microrganismos endofíticos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v. 29, p. 62-77.

Peng K.; Wen T.; Xiong R.; Tian S.; Chen C.; Zhong Z. et al. 2016. *Fusarium Oxysporum* and Its Application in Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soil.

Pereira, R.M.A., Filho, J.A.A., Lima, R.V., Paulino, F.D.G., Lima, A.O.N., Araújo, Z.B. 1989. Estudos fenológicos de algumas espécies lenhosas e herbáceas da caatinga. *Ciência Agrônômica* 20:11-20.

Pernambuco. Portaria SES/PE Nº 279 de 23 de julho de 2015. Acrescenta doenças, agravos e eventos estaduais à Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória e de outras providências. Recife, Pernambuco, 2015.

Peters, S., Aust, H.J., Draeger, S., Schulz, B. 1998. Interactions in dual cultures of endophytic fungi with host and nonhost plant calli. *Mycologia* 90:360-367.

Petrini, O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews, J.H., Hirano, S.S. (eds.). Microbial ecology of leaves. Springer, New York.

Photita, W. et al. Fungi on *Musa acuminata* in Hong Kong. Fungal Diversity, 2001.

Photita, W.; Lumyong, S.; Lumyong, P.; Hyde, K. D. 2001. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. *Mycological Research*, v. 105, n. 12, p. 1508-1513.

Phyo, W.; Koike, F. 2015. Dry forest community types and their predicted distribution based on a habitat model for the central dry zone of Myanmar. *Forest Ecology and Management*, v. 358, p. 108-121.

Pietro-Souza, W.; Pereira, F. C.; Mello, I. S.; Stachack, F. F.; Terezo, A. J.; Cunha, C. N. et al. 2020. Mercury resistance and bioremediation mediated by endophytic fungi. *Chemosphere*, 240: 124874.

Pinheiro, E.A.; Pina, J.R.; Feitosa, A.O.; Carvalho, J.M.; Borges, F.C.; Marinho, P.S.; Marinho, A.M. 2017. Bioprospecting of antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi from *Bauhinia guianensis*. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(1): 3-6.

Pires, I. M. et al. 2015. Potencial Antibacteriano de Fungos Endofíticos de Cactos da Caatinga, uma Floresta Tropical Seca no Nordeste do Brasil. *Gaia Scientia*, 9: 155–161.

Pirozynski, K.A., Malloch, D.W. 1975. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. *Biosystems* 6:153–164.

Pu, X.; Qu, X.; Chen, F.; Bao, J.; Zhang, G.; Luo, Y. 2013. Camptothecin producing endophytic fungus *Trichoderma atroviride* LY357: isolation, identification, and fermentation conditions optimization for camptothecin production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(21): 9365–9375.

Purmale, L.; Apine, I.; Nikolajeva, V.; Grantina, L.; Verkley, G.; Tomsone, S. 2012. Endophytic fungi in evergreen rhododendrons cultivated in vitro and in vivo. *Environmental and Experimental Biology*, v. 10, p. 1-7.

Qawasmeh, Abdelqader et al. 2012. Influence of fungal endophyte infection on phenolic content and antioxidant activity in grasses: interaction between *Lolium perenne* and different strains of *Neotyphodium lolii*. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 60, n. 13, p. 3381-3388.

Qian, Y.; Yu, H.; He, D.; Yang, H.; Wang, W.; Wan, X.; Wang, L. 2013. Biosynthesis of silver nanoparticles by the endophytic fungus *Epicoccum nigrum* and their activity against pathogenic fungi. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36: 1613–1619.

R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>

Raghukumar, S. 2008. Thraustochytrid marine protists: production of PUFAs and other emerging technologies. *Marine biotechnology*, 10(6), 631-640.

RAMBAUT, A. FigTree (version 1.4.0). 2012. Disponível em <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>

Ran, X.; Zhang, G.; Li, S.; Wang, J. 2017. Characterization and antitumor activity of camptothecin from endophytic fungus *Fusarium solani* isolated from *Camptotheca acuminata*. *African Health Sciences*, 17(2): 566-574.

Rana, P.; Boonchird, C.; Koirala, M.; Bhujju, D. R. 2017. Impact of altitude on the colonization frequency of endophytic fungi isolated from *Rhododendron campanulatum* D. Don of Sagarmatha National Park, Nepal. *Journal of Basic and Applied Plant Sciences*, v. 1, n. 2, p. 109.

Rodrigues, A.M., Hoog, G.S., Cássia Pires, D.; Brihante, R.S.N.; Costa Sidrim, J.J., Gadelha, M.F., Colombo, A.L, Camargo, Z.P. 2014. Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. *BMC infectious diseases* 14: 219.

Rodrigues, A.M.; Della Terra, P.P.; Gremião, I.D.; Pereira, S.A.; Orofino-Costa, R.; De Camargo, Z.P. 2020. The threat of emerging and reemerging pathogenic *Sporothrix* species. *Mycopathologia*, 185(5): 813-842.

Rodrigues, K.F., Petrini, O. 1997. Biodiversity of Endophytic Fungi in Tropical Regions. Hyde, K.D. (ed.). Biodiversity of Tropical Microfungi. Hong Kong, China: Hong Kong University Press, pp. 57-69.

Rodriguez, R.J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim, Y., Redman, R.S. 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *International Society of Microbial Ecology* 2: 404–416.

Rouxel T, Balesdent MH 2005. The stem canker (blackleg) fungus, *Leptosphaeria maculans*, enters the genomic era. *Mol Plant Pathol* 6:225–24.

Sabogal, C. 1992. Regeneration of tropical dry forest in Central America, with examples from Nicaragua. *Journal of Vegetation Science* 3:407–416.

Salam M.U., MacLeod W.J., Maling T., Prichard I., Seymour M. et al. 2011. A meta-analysis of severity and yield loss from ascochyta blight on field pea in Western Australia. *Australas Plant Pathol* 40:591–600.

Samson, R.A. et al. 2010. Food and indoor fungi. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 390.

Santos, M.G.S.; Maciel, M. H. C.; Sousa, M. A.; Bomfim, A. G. J.; Bezerra, J. D. P. et al. 2022. Characterization and partial purification of L-asparaginase produced by endophytic fungi from cactus *Cereus jamacaru*. *Sydowia*, 74: 303- 313.

SANTOS, MG da S. et al. 2015. Screening of endophytic fungi from cactus of the Brazilian tropical dry forest according to their L-asparaginase activity. *Sydowia*, v. 67, p. 147- 156.

Sapkota, Rumakanta; Jørgensen, Lise N.; Nicolaisen, Mogens. 2017. Spatiotemporal variation and networks in the mycobiome of the wheat canopy. *Frontiers in plant science*, v. 8, p. 1357.

Scarpari, M., Vitale, S., Di Giambattista, G. et al. *Didymella corylicola* sp. nov., a new fungus associated with hazelnut fruit development in Italy. *Mycol Progress* 19, 317–328 2020. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01562-y>.

Schmourlo, G.; Mendonça-Filho, R.R.; Alviano, C.S.; Costa, S.S. 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(3): 563–568.

Schulz, B., Boyle, C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research* 109(06):661-686.

Schulz, Barbara et al. 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological research*, v. 106, n. 9, p. 996-1004.

Seifert, K. A., & Gams, W. 2011. The genera of Hyphomycetes–2011 update. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 27(1), 119-129.

Selosse, M.-A., Baudoin, E., Vandenkoornhuyse, P. 2004. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *Comptes Rendus Biologies* 327(7):639-648.

Shannon C, Weaver W. 1949. The mathematical theory of communication. *Urbana/ Chicago, University of Illinois Press*.

Shen, X.; Zheng, D.; Gao, J.; Hou, C. 2012. Isolation and evaluation of endophytic fungi with antimicrobial ability from *Phyllostachys edulis*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, v. 7, n. 4, p. 249-257.

Silva, A. C.; Souza, A. F. 2018. Aridity drives plant biogeographical sub regions in the Caatinga, the largest tropical dry forest and woodland block in South America. *Plos One*, v. 13, n. 4, p. 1-22.

Silva, A. V.; Neto, J. D.; Francisco, P. R. M. 2014. Estudo da sustentabilidade ecológica em agricultura biodinâmica em região semiárida. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 7, n. 3, p. 497-512.

Silva, B. L. R.; Tavares, F. M.; Cortez, J. S. A. 2012. Composição florística do componente herbáceo de uma área de Caatinga – Fazenda Tamanduá, Paraíba, Brasil. *Revista de Geografia*, v. 29, n. 3, p. 54-64.

Silva, C. G., Marinho, M. G. V., Lucena, M. F. A., & Costa, J. G. M. 2015. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17(1), 133–142. https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_055.

Silva, D. R., Rosalen, P. L., Freires, I. A., Sardi, J. de C. O., Lima, R. F., Lazarini, J. G., Costa, T. K. V. L. da, Pereira, J. V., Godoy, G. P., & Costa, E. M. M. de B. 2019. *Anadenanthera Colubrina* vell Brenan: anti-Candida and antibiofilm activities, toxicity and therapeutical action. *Brazilian Oral Research*, 33. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0023>.

Silva, G.M., Howes, J.C.F., Leal, C.A.S., Mesquita, E.P., Pedrosa, C.M., Oliveira, A.A.F., Silva, L.B.G., Mota, R.A. 2018. Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. *Pesquisa veterinária brasileira* 38: 1767-1771.

Silva, S. G. M. da, Melo, B. A. de, Santos, M. T. dos, Rios, R. R. S., Santos, C. M. de S., Júnior, K. A. L. R., Maranhão, F. C. de A., Santos, T. M. C. dos, & Fraga, A. B. 2022. Endophytic fungi: Benefits for plants and biotechnological potential. *Research, Society and Development*, 11(4), e9211427008. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i4.27008>.

Singh, Dheeraj K. et al. 2017. Diversity of endophytic mycobiota of tropical tree *Tectona grandis* Linn. f.: Spatiotemporal and tissue type effects. *Scientific reports*, v. 7, n. 1, p. 1-14.

Siqueira, V. M.; Conti, R.; Araújo, J. M.; Souza-Motta, C. M. 2011. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. *Symbiosis*, v. 53, n. 2, p. 89-95.

Sobreira, A.C.M. et al. 2018. Endophytic fungus *Pseudofusicoccum stromaticum* produces cyclopeptides and plant-related bioactive rotenoids. *Royal Society of Chemistry Advances*, 8(62): 35575-35586.

Solis, M. J. L., Yurkov, A., dela Cruz, T. E., & Unterseher, M. 2015. Leaf-inhabiting endophytic yeasts are abundant but unevenly distributed in three *Ficus* species from botanical garden greenhouses in Germany. *Mycological Progress*, 14(1), 1019. <https://doi.org/10.1007/s11557-014-1019-6>.

Stierle, Andrea; Strobel, Gary; Stierle, Donald. 1993. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, v. 260, n. 5105, p. 214-216.

Stone, J.K., Polishook, J.D., White, Jr.F. 2004. Endophytic Fungi. In: Muller, J.M., Bills, G.F., Foster, M.S. Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods. San Diego: *Elsevier Academic Press*, pp.241-270.

Strobel, G.A., Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67(4):491-502.

Strobel, G. A. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, v. 5, n. 6, p. 535-544.

Strobel, G. 2018. The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *Journal of Fungi*, v. 4, n. 2, p. 57.

Sun, X.; Guo, L. D. 2012. Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. *Mycology*, v. 3, n. 1, p. 65-76.

Sun, Y.; Wang, Q.; Lu, X.; Okane, I.; Kakishima, M. 2012. Endophytic fungal Community in stems and leaves of plants from desert areas in China. *Mycological Progress*, v. 11, n. 3, p. 781-790.

Sunayana, N.; Nalini, M. S.; Sampath Kumara, K. K.; Prakash, H. S. 2014. Diversity studies on the endophytic fungi of *Vitex negundo* L. *Mycosphere*, v. 5, n. 4, p. 578-590.

Suryanarayanan, T. S., Wittlinger, S. K., Faeth, S. H. 2005. Endophytic fungi associated with cacti in Arizona. *Mycological Research*, v. 109, n. 635–639.

Suryanarayanan, T.S., Murali, T.S., Thirunavukkarasu, N., Rajulu, M.B.G., Venkatesan, G., Sukumar, R. 2011. Endophytic fungal communities in woody perennials of three tropical forest types of the Western Ghats, southern India. *Biodiversity and Conservation* 20:913-928.

Suryanarayanan, T. S. 2013. Endophyte research: going beyond isolation and metabolite documentation. *Fungal ecology*, v. 6, n. 6, p. 561-568.

Taechowisan, T., Peberdy, J.F., Lumyong, S. 2003. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 19:381-385.

Tahtamouni ME, Khresat S, Lucero M, Sigala J, Unc A 2016. Diversity of endophytes across the soil-plant continuum for *Atriplex* spp. in arid environments. *J Arid Land* 8:241–253

Tan, R.X.; Zou, W.X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*, 18(4): 448-459.

Taylor, T.N., Taylor, E.L. 2000. The rhynie chert ecosystem: a model for understanding fungal interactions. In: Bacon, C.W., White, J.F. (eds.) Microbial endophytes. *Marcel Decker*, New York.

Thambugala, K.M., Ariyawansa, H.A., Li, Y.M. et al. 2014. *Dothideales*. *Fungal Diversity* 68, 105–158. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0303-8>

Thompson, S.M. et al. 2015. Green and brown bridges between weeds and crops reveal novel *Diaporthe* species in Australia. *Persoonia*, 35: 39-49.

Trilles, L., Fernández-Torres, B., dos Santos Lazéra, M., Wanke, B., de Oliveira Schubach, A., de Almeida Paes, R., Inza, I., & Guarro, J. 2005. In Vitro Antifungal Susceptibilities of *Sporothrix schenckii* in Two Growth Phases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(9), 3952–3954. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.9.3952-3954.2005>.

Udayanga, D.; Liu, X.; McKenzie, E. H.; Chukeatirote, E.; Bahkali, A. H.; Hyde, K. D. 2011. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. *Fungal Diversity*, v. 50, n. 1, p. 189-225.

Unterseher, Martin; Petzold, Anne; Schnittler, Martin. Xerotolerant. 2012. foliar endophytic fungi of *Populus euphratica* from the Tarim River basin, Central China are conspecific to endophytic ITS phylotypes of *Populus tremula* from temperate Europe. *Fungal Diversity*, v. 54, n. 1, p. 133-142.

Vaz, Aline B.M. et al. 2014. Fungal endophyte β -diversity associated with Myrtaceae species in an Andean Patagonian forest (Argentina) and an Atlantic forest (Brazil). *Fungal Ecology*, v. 8, p. 28-36.

Venieraki, A., Dimou, M., Katinakis, P. 2017. Endophytic fungi residing in medicinal plants have the ability to produce the same or similar pharmacologically active secondary metabolites as their hosts. *Hellenic Plant Protection Journal* 10: 51-66.

Verekar, S. A.; Prakash, V.; Chavan, Y. G.; Deshmukh, S. K. 2017. Isolation, Characterization of Endophytic Fungi of *Mimusops elengi* (Bakul). *Kavaka*, v. 48, n. 2, p. 21-25.

Verma, S.K.; Gond, S.K.; Mishra, A. et al. 2014. Impact of environmental variables on the isolation, diversity and antibacterial activity of endophytic fungal communities from *Madhuca indica* Gmel. at different locations in India. *Annals of Microbiology*, 64: 721–734.

Vieira, P.D.S. et al. 2011. Endophytic fungi associated with transgenic and non-transgenic cotton. *Mycology*, v. 2, n. 2, p. 91-97.

Vilgalys, R.; Hester, M. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*, v. 172, n. 8, p. 4239-4246.

Völksch, B., Ullrich, M., & Fritsche, W. 1992. Identification and population dynamics of bacteria in leaf spots of soybean. *Microbial ecology*, 24, 305-311.

Vujanovic, V.; Brisson, J. 2002. A comparative study of endophytic mycobiota in leaves of *Acer saccharum* in eastern North America. *Mycological Progress*, v. 1, n. 2, p. 147-154.

Wang, C. B., Jiang, N., Tu, Y., Zhu, Y. Q., Xue, H., & Li, Y. 2022. *Aureobasidium aerium* (Sacrotheciaceae, Dothideales), a new yeast-like fungus from the air in Beijing, China. *Phytotaxa*, 544(2), 185-192.

Wang, Y., Dai, C-C. 2011. Endophytes: a potencial resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. *Annals of Microbiology* 61:207–215.

Weber, C. R., Soares, C. M., Lopes, A. B., Silva, T. S., Nascimento, M. S., & Ximenes, E. C. 2011. *Anadenanthera colubrina*: um estudo do potencial terapêutico. *Revista Brasileira de Farmácia*, 92(4), 235-244.

White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, L. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics. San Diego: Academic Press.

Who. 2017. Antimicrobial resistance in the Asia Pacific region: a development agenda. Geneva: WHO Regional Office for the Western Pacific.

Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Dai, D. Q., Sánchez-García, M., Goto, B. T., & Magurno, F. 2022. *Outline of Fungi and fungus-like taxa–2021*.

Yadav, AN, Kour, D., Kaur, T., Devi, R., & Yadav, A. 2022. Comunidades de fungos endofíticos e suas implicações biotecnológicas para a sustentabilidade agroambiental. *Folia Microbiologica*, 67 (2), 203-232.

Zalar, P., Gostinčar, C., de Hoog, G. S., Uršič, V., Sudhaham, M., & Gunde-Cimerman, N. 2008. Redefinition of *Aureobasidium pullulans* and its varieties. *Studies in Mycology*, 61, 21–38. <https://doi.org/10.3114/sim.2008.61.02>

Zheng, R.; Li, S.; Zhang, X.; Zhao, C. 2021. Biological Activities of Some New Secondary Metabolites Isolated from Endophytic Fungi: A Review Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 22: 959.

Zheng, Y.K.; Qiao, X.G.; Miao, C.P. et al. 2016. Diversity, distribution and biotechnological potential of endophytic fungi. *Annals of Microbiology*, 66: 529– 542.

Zhou, Z., Zhang, C., Zhou, W., Li, W., Chu, L., Yan, J., Li, H. 2014. Diversity and plant growth-promoting ability of endophytic fungi from the five flower plant species collected from Yunnan, Southwest China. *Journal of Plant Interactions*, v. 9, n. 1, p. 585-591.