



FUNGOS ENDOFÍTICOS NA ILHA DE UPAON-AÇÚ, MARANHÃO, BRASIL, E SUA IMPORTÂNCIA NA CONSERVAÇÃO DA FLORA

Juliano dos Santos¹

Elaine dos Santos Piancó

Leandro Souza Silva

Raiza Pacheco Mendonça

Ilisandra Zanandrea

RESUMO

As relações entre plantas e microrganismos são conhecidas há bastante tempo. Assim, é importante ter o conhecimento sobre a diversidade dos organismos que compõe essa interação por inúmeros motivos: pela falta de informações (para elucidar a base biológica dessas interações); para saber se os endofíticos são realmente vantajosos para as plantas, já que diversos benefícios para a planta têm sido atribuídos à presença deles; porque muitos microrganismos são usados como agentes de controle biológico de pragas e doenças, e também porque deve-se a eles a produção de antibióticos e outros metabólicos secundários de interesse farmacológico como agentes redutores do colesterol (estatina), agentes imunossupressores (ciclosporina A) entre outros; sem falar que são ótimos bioindicadores e têm sua importância na indústria agroquímica. Considerando a importância do conhecimento da biodiversidade e necessidade de conservação dos recursos naturais, o objetivo do trabalho foi realizar levantamento da diversidade de fungos associados a plantas da Ilha de Upaon-Açú – MA. Os espécimes férteis coletados durante as excursões de campo ou que floresceram em cultivo foram prensados, secos em estufa, herborizados e depositados no herbário da Universidade Federal do Maranhão. A classificação taxonômica dos fungos endofíticos foi realizada pelo menos a nível de gênero. Identificou-se pelo menos 23 espécies de fungos endofíticos isolados das 12 espécies de plantas coletadas e analisadas, pertencentes a 12 gêneros diferentes. Os isolados identificados estão disponíveis na coleção de fungos do Laboratório de Micologia do DEPAT/NIBA/UFMA e serão usados para futuras pesquisas na área de saúde e/ou ambiental.

Palavras-chave: micologia, microrganismos, ascomycetos, taxonomia, hospedeiro.

ABSTRACT

Endophytic fungi in plants of the island of Upaon-Açú, Maranhão, Brazil, and its importance in plant conservation. The relationships between plants and microorganisms have been known for quite some time. It is important to have knowledge about the diversity of these organisms for a number of reasons: initially because of lack of information (to elucidate the biological basis of these interactions); knowing why endophytes are advantageous, since various benefits to the plant have been attributed to their presence; many are used as agents of biological control of pests and diseases; it is also due to them the production

1 Universidade Federal do Maranhão. E-mail: <julianopatologia@gmail.com>.

of antibiotics and other secondary metabolites of pharmacological interest as cholesterol reducing agents (statin), immunosuppressive agents (cyclosporin A) among others; not to mention that they are excellent bioindicators and have their importance in the agrochemical industry. Considering the importance of knowledge of biodiversity and the need for conservation of natural resources, the objective of this work was to make a survey of the diversity of fungi associated to the plants of Upaon-Açú Island - MA was carried out. Fertile specimens collected during field trips or blooming in cultivation were pressed, dried in an oven, herborized and deposited in the herbarium of the Federal University of Maranhão. The taxonomic classification of endophytic fungi was performed at least at the genus level. At least 23 species of endophytic fungi isolated from the 12 species of plants collected and analyzed belonging to 12 different genera were identified. The identified isolates are available in the collection of fungi from the Laboratory of Mycology of DEPAT / NIBA / UFMA and will be used for future research in the area of health and / or environment.

Keywords: mycology, microorganisms, ascomycetes, taxonomy, host.

INTRODUÇÃO

O Estado do Maranhão tem uma localização privilegiada: fica no extremo leste da Amazônia oriental e no extremo norte/oeste do Nordeste. Seu enorme espaço abriga paisagens e ecossistemas tão diversos, cada um com sua flora e fauna típicas. Dentre eles, uma imensa área de exuberante floresta Amazônica ainda preservada e desconhecida, mas igualmente ameaçada, com muitas espécies endêmicas. (Amazônia Maranhense, 2011).

A Floresta Amazônica Maranhense faz parte do Centro de endemismo Belém, possuindo uma área de 243.000 km², situa-se entre o leste do Pará e oeste do Maranhão, incluindo a capital São Luis (Almeida e Vieira, 2010). De acordo com vários estudos, as florestas estão sendo alteradas profundamente pelo homem, formando pastagens e florestas superexploradas, e remanescentes isolados (Gascon et al., 2001; Silva, Rylands e Fonseca, 2005; Almeida e Vieira, 2010).

O clima da capital São Luís é tropical e semiúmido sendo fortemente influenciado pelo mar e pela Zona de Convergência Intertropical. A cidade apresenta grande quantidade de coqueiros e muita vegetação litorânea. Há pequenas áreas de Floresta Amazônica que resistiram ao processo de urbanização da cidade, todas protegidas por parques ambientais. Pequenos rios nascem na cidade: entre eles, os Rios Anil e Bacanga são os mais importantes economicamente (Brasil, 2006).

Diante deste cenário, a riqueza e a diversidade da flora presente no estado do Maranhão é sem dúvida um aspecto relevante. O estudo da riqueza de plantas presentes nas matas locais e das condições microclimáticas a que estas plantas estão submetidas auxilia na identificação, permite o estabelecimento de estratégias de reintrodução de espécies em áreas degradadas, como também ajuda a entender as condições climáticas ideais para o cultivo dessas espécies para fins econômicos (Cardoso e Israel, 2005). Os trabalhos de prospecção de espécies do Brasil podem ainda auxiliar no estabelecimento de programas nacionais de melhoramento genético de plantas ornamentais (Cardoso, 2013).

Associados as plantas, podemos encontrar diversas espécies de microrganismos, que habitam, principalmente, seus tecidos internos. Estes microrganismos, principalmente bactérias e fungos, estabelecem com as plantas uma relação simbiótica ou neutra. São os microrganismos endofíticos que,

segundo Petrini, Stone e Carroll (1992), colonizam os tecidos sadios de partes aéreas da planta, em algum tempo do seu ciclo de vida, sem lhe causar danos aparentes. Microrganismos endofíticos, portanto, são aqueles que habitam o interior das plantas, geralmente suas partes aéreas como caules e folhas, e não causam nenhum dano aos seus hospedeiros (Azevedo, 1999), se excluindo desse conceito os fungos micorrízicos e as bactérias fixadoras de nitrogênio, que por apresentarem estruturas visíveis externamente, já são bem mais conhecidos (Peixoto Neto, Azevedo e Araújo, 2002).

As interações microrganismo/planta, ainda não são muito bem compreendidas, mas, atualmente, sabe-se que o fator ambiente pode alterar estas relações, sendo que um determinado microrganismo pode se comportar como endofítico, mantendo seu estado latente por um determinado período, e tornar-se patogênico sob determinadas condições. Um exemplo clássico destas condições é o cultivo de uma planta em larga escala, que desequilibra o ambiente natural e produz uma pressão de seleção favorável a um determinado microrganismo (novo patógeno – organismos causadores de doenças) (Aly et al., 2010).

Os microrganismos endofíticos associados a plantas representam uma fonte inexplorada de produtos naturais novos e bioativos, com mais de 20.000 substâncias descritas (Ownley, Gwinn e Vega, 2010), sendo que destas 51% apresentam estruturas inéditas e 80% atividade biológica (YANG et al., 2012). Isto pode ser explicado pela teoria ecológica, que estabelece que esta produção metabólica depende do nicho ecológico no qual o microrganismo está inserido e das conseqüentes interações bióticas e abióticas (Carter, 2011). Estes relatos sugerem que a seleção do endófito para estudo, deve ser realizada com espécies vegetais de diferentes biomas, principalmente as que enfrentam frequentes e intensas interações no ambiente como plantas de regiões áridas, florestas tropicais, entre outras (Schulz et al., 2002). De acordo com Chithra et al. (2014) muitos fungos endofíticos têm sido relatados com potencial biossintético para produzir idênticos ou semelhantes metabólitos presentes em plantas hospedeiras.

Com a destruição da Floresta Amazônica e o extrativismo ilegal, muitas espécies correm sério risco de desaparecimento, sendo necessário o desenvolvimento de medidas de conservação, que é importante para uma estratégia integrada de proteção das espécies ameaçadas. Indivíduos de populações cultivadas podem ser introduzidos no ambiente para aumentar a conservação (Primack e Rodrigues, 2001).

Sendo assim, o presente estudo objetivou fazer um levantamento da comunidade de microrganismos endofíticos em algumas plantas da Ilha de Upaon-Açú, visto que essa é uma área de estudo ainda pouco explorada no Estado. Cabe ressaltar que é apenas o início de uma longa jornada, e que os resultados demonstrados aqui pretendem estimular novas pesquisas na temática, de maneira a abranger os conhecimentos a respeito da microbiota endofítica nos diferentes biomas inseridos no território maranhense – floresta amazônica, cerrado, restinga e caatinga. A descrição da biodiversidade da microbiota fúngica endofítica pode levar a obtenção de informações de interesse para novas pesquisas, como por exemplo na área de biotecnologia, farmacêutica e de alimentos já que é sabido que os endofíticos podem produzir toxinas, antibióticos e outros fármacos, além de enzimas e proteínas, sendo assim úteis para a população.

MATERIAL E MÉTODOS

Região de estudo e coleta de material vegetal

O estudo foi conduzido na Ilha de Upaon-Açú, Maranhão, mais precisamente na área dos municípios de São Luis, São José de Ribamar, Paço do Lumiar e Raposa. O clima da região é Equatorial Úmido, quente na maior parte do ano, atingindo facilmente 30°C no verão.

Os pontos de coletas foram determinados de forma aleatória dentro da região proposta (preferência por locais com presença de plantas com flores, para auxiliar na identificação), tanto em zona urbana quanto em zona rural, e os fragmentos foram percorridos sem demarcação de parcelas, porém com registro de posicionamento geográfico via GPS. Imagens, obtidas via satélite pelo software Google Earth, auxiliaram no estudo das áreas visitadas. Dos espécimes coletados, foram registradas informações sobre procedência, período de floração, hábitos, habitats. Todas as amostras coletadas foram fotografadas com câmera digital.

Foi dada prioridade para plantas arbóreas e arbustivas com potencial de uso, seja paisagístico, arborização urbana ou por fornecer frutos comestíveis, O material coletado (flores e folhas) foi devidamente acondicionado em caixas de isopor e imediatamente levado ao Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão e armazenados a 4 °C até o momento do processamento. Os espécimes férteis coletados durante as excursões de campo foram prensados, secos em estufa e herborizados para posterior identificação.

Isolamento de fungos das folhas

O material botânico foi selecionado e as folhas separadas. Este material foi lavado abundantemente com água corrente e detergente neutro para retirar o excesso de microrganismos epifíticos. Em seguida, foi realizada a desinfestação superficial do material em álcool 70% por 30 s, em hipoclorito de sódio 2% por 1 min e novamente em álcool 70% por 30 s, para retirar o excesso de hipoclorito.

Após a assepsia, fragmentos de folhas, medindo aproximadamente 5 mm² foram plaqueados em meio de batata, dextrose e ágar (BDA), acrescido de 50 mg.L⁻¹ de sulfato de estreptomicina e 50 mg.L⁻¹ de cloranfenicol. As placas com os fragmentos foram incubadas a 25 °C (SILVA et al., 2006).

As placas foram observadas diariamente. À medida que foram aparecendo, fragmentos das colônias dos fungos recém desenvolvidas eram transferidos para tubos de ensaios contendo meio BDA inclinado, até que as culturas ficassem puras.

Os isolados foram identificados pelo menos ao nível de gênero, com base nas características macro e micromorfológicas, através de chaves de identificação disponíveis na literatura, de acordo com o grupo taxonômico a que pertencerem.

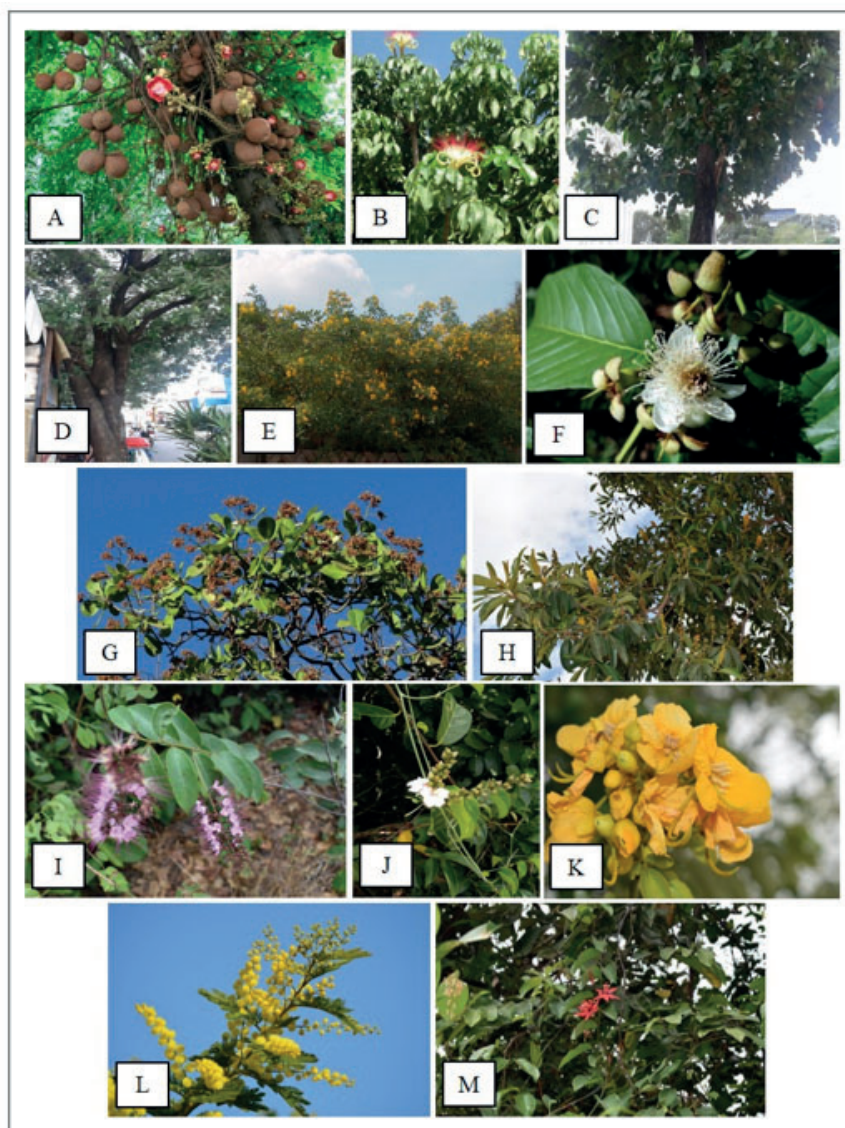
Preservação dos isolados

Fragmentos de micélio dos isolados foram preservados em tubos de ensaio contendo água destilada esterilizada, e armazenados a temperatura ambiente no Laboratório de Ecologia Vegetal da Universidade Federal do Maranhão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amostradas e identificadas 13 espécies de plantas (Figura 1) da região de São Luis, MA, das quais foram isoladas pelo menos 23 espécies de fungos endofíticos diferentes. Cabe ressaltar que a lista de fungos endofíticos apresentada não significa que apenas estes representam a comunidade fúngica da planta. Neste trabalho utilizamos apenas uma metodologia de isolamento e apenas folhas como material vegetal, suficiente para atingir o objetivo inicial de informar os principais fungos endofíticos das plantas no município de São Luis, MA. É importante saber que outros fungos endofíticos, como muitos *Coelomyces* por exemplo, ainda podem ser isolados com metodologias mais específicas, ou ainda, a microbiota fúngica pode apresentar diferença na estrutura da comunidade em outras partes da planta como caule e raiz. Portanto, trabalhos mais detalhados a respeito da diversidade e da estrutura da comunidade fúngica endofítica devem ser feitos mais criteriosamente utilizando mais de uma metodologia e abrangendo a planta toda.

Figura 1: Plantas amostradas na Ilha de Upaon-Açu, MA, Brasil. *Couroupita guianensis* (A), *Pachira aquática* (B), *Terminalia catappa* (C), *Licania tomentosa* (D), *Senna corymbosa* (E), *Psidium guajava* (F), *Anacardium occidentale* (G), *Byrsonima sericea* (H), *Hirtella racemosa* (I), *Phanera outimouta* (J), *Senna spectabilis* (K), *imosa sp.* (L), *Passiflora cincinnata* (M).



Fonte: o próprio autor.

Estudos demonstram que o tamanho dos fragmentos dos tecidos vegetais utilizados no isolamento de fungos endofíticos em meio de cultura tem efeito sobre o número de espécies isoladas, sendo que tamanhos de fragmentos menores aumentam as chances de isolamento de um número maior de espécies por área amostrada. Além do aumento da superfície de contato com o meio de cultura, a redução dos fragmentos poderia reduzir a competição entre os fungos (Costa, 2008). Variantes deste método, como a trituração de folhas, tem sido utilizada com sucesso (Abreu et al., 2010).

Em relação as plantas, foram amostradas 13 espécies diferentes representantes de nove famílias botânicas, consideradas das regiões tropicais da América do Sul, incluído o estado do Maranhão. A lista das plantas amostradas está representada na Tabela 1.

Tabela 1: Espécies de plantas, respectivas famílias botânicas e localização da planta amostrada.

Espécie	Família	Localização
<i>Couroupita guianensis</i> Aubl.	Lecythidaceae	2°31'44.674" S / 44°17'44.344" W
<i>Pachira aquática</i> Aubl.	Bombacaceae	2°31'44.674" S / 44°17'44.344" W
<i>Terminalia catappa</i> L.	Combretaceae	2°31'44.674" S / 44°17'44.344" W
<i>Licania tomentosa</i> Benth.	Chrysobalanaceae	2°31'44.674" S / 44°17'44.344" W
<i>Senna corymbosa</i> (Lam.) Irwin e Barneby	Fabaceae.	2°30'29.034" S / 44°14'37.752" W
<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae	2°33'27.518" S / 43°5'38.22" W
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae	2°33'27.518" S / 43°5'38.22" W
<i>Byrsonima sericea</i> DC.	Malpighiaceae	2°42'06,7" S / 44°18'22.2" W
<i>Hirtella racemosa</i> Lam.	Chrysobalanaceae	2°31'51.5" S / 44°13'19.3" W
<i>Phanera outimouta</i> Aubl.	Fabaceae	2°31'51.5" S / 44°13'19.6" W
<i>Senna spectabilis</i> (DC..) Irwin e Barneby	Fabaceae	2°31'52.0" S / 44°13'20.1" W
<i>Mimosa</i> sp.	Fabaceae	2°31'53.1" S / 44°13'21.1" W
<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Passifloraceae	2°31'52.0" S / 44°13'20.1" W.

Foram identificadas pelo menos 23 espécies de fungos endofíticos isolados das 13 espécies de plantas coletadas e analisadas, pertencentes a 12 gêneros diferentes (Tabela 2). Alguns deles estão ilustrados na Figura 2. A maioria dos fungos endofíticos isolados e identificados neste trabalho pertencem ao filo Ascomycota recuperados em sua fase anamórfica, apesar de que fungos pertencentes ao grupo dos basidiomicetos, são mais frequentemente isolados de caules em plantas arbóreas (Bills, 1996). Fungos oomicetos e zigomicetos são isolados como endofíticos esporadicamente (Costa, 2008).

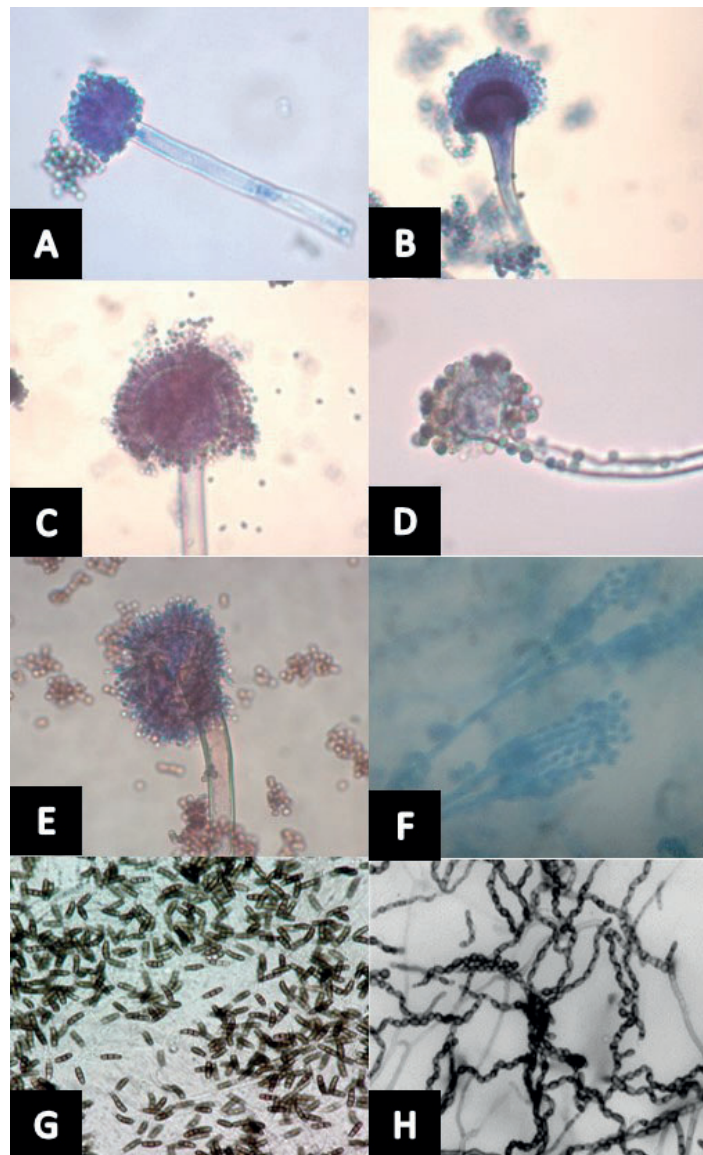
Tabela 2: Fungos endofíticos isolados na Ilha de Upaon-Açú, MA, e seus respectivos hospedeiros.

Espécie	Filo/Classe/ordem	Hospedeiros
<i>Aspergillus flavus</i> Link.	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Couroupita guianensis</i> <i>Anacardium occidentale</i> <i>Hirtella racemosa</i> <i>Phanera outimouta</i> <i>Passiflora cincinnata</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Anacardium occidentale</i> <i>Byrsonima sericea</i> <i>Mimosa</i> sp. <i>Passiflora cincinnata</i>
<i>Aspergillus japonicus</i> Saito	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Phanera outimouta</i>
<i>Aspergillus nidulans</i> Eidam	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Psidium guajava</i>
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Couroupita guianensis</i> <i>Pachira aquática</i> <i>Terminalia catappa</i> <i>Senna corymbosa</i> <i>Psidium guajava</i> <i>Anacardium occidentale</i> <i>Hirtella racemosa</i> <i>Phanera outimouta</i> <i>Senna spectabilis</i>
<i>Aspergillus</i> sp.	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Couroupita guianensis</i> <i>Pachira aquática</i> <i>Licania tomentosa</i>
<i>Aspergillus tamarii</i> Kita	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Phanera outimouta</i>
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Licania tomentosa</i> <i>Senna corymbosa</i> <i>Senna spectabilis</i>
<i>Cladophialophora</i> sp.	Ascomycota/Eurotiomycetes/ Chaetothyriales	<i>Terminalia catappa</i>
<i>Coletotrichum</i> sp.	Ascomycota/Sordariomycetes/ Glomerellales	<i>Senna spectabilis</i>
<i>Fusarium</i> sp.	Ascomycota/Sordariomycetes/ Hypocreales	<i>Pachira aquática</i> <i>Senna corymbosa</i> <i>Anacardium occidentale</i>
<i>Nigrospora</i> sp.	Ascomycota/Sordariomycetes/ Trichosphaeriales	<i>Anacardium occidentale</i>
<i>Penicillium comune</i> Thom	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Phanera outimouta</i> <i>Mimosa</i> sp. <i>Passiflora cincinnata</i>
<i>Penicillium purporogenum</i> Stoll	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Licania tomentosa</i>

<i>Penicillium simplicissimum</i> Thom	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Byrsonima sericea</i>
<i>Penicillium</i> sp.	Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales	<i>Couroupita guianensis</i> <i>Anacardium occidentale</i> <i>Senna spectabilis</i>
<i>Pestalotiopsis microspora</i> (Speg.) Zhao e Li	Ascomycota/Sordariomycetes/Xylariales	<i>Hirtella racemosa</i> <i>Phanera outimouta</i> <i>Mimosa</i> sp.
<i>Phoma</i> sp.	Ascomycota/Dothideomycetes/ Pleosporales	<i>Passiflora cincinnata</i>
<i>Rhizopus</i> sp.	Zygomycota/Zygomycetes/Mucorales	<i>Psidium guajava</i>
<i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	Ascomycota/Leotiomycetes/Helotiales	<i>Hirtella racemosa</i> <i>Phanera outimouta</i>
<i>Scytalidium</i> sp.	Ascomycota/Leotiomycetes/Helotiales	<i>Terminalia catappa</i> <i>Psidium guajava</i>
<i>Syncephalastrum</i> sp.	Zygomycota/Zygomycetes/Mucorales	<i>Psidium guajava</i>
<i>Trichoderma</i> sp.	Ascomycota/Sordariomycetes/ Hypocreales	<i>Anacardium occidentale</i>

Dos fungos isolados, podemos destacar um n3mero consider3vel de representantes dos g3neros *Aspergillus* e *Penicillium*. At3 2011 os g3neros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* entre outros estavam compreendidos dentro da fam3lia Trichocomaceae. Contudo, com a mudanç3 do novo C3digo Internacional de Nomeclatura para algas, fungos e plantas esta fam3lia foi subdividida em: Aspergillaceae (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Hamigera*, *Leiothecium*, *Monascus*, *Penicillioopsis*, *Phialomyces*, *Sclerocleista*, *Warcupiella* e *Xeromyces*), Trichocomaceae (*Rasamsonia*, *Sagenomella*, *Talaromyces*, *Thermomyces* e *Trichocoma*) e Thermoascaceae (*Byssochlamys*/*Paecilomyces* e *Thermoascus*) (Houbraken e Samson, 2011; Visagie et al., 2014).

Figura 2: Fotomicrografias de fungos endofíticos isolados de plantas na Ilha de Upaon-Açu, MA, Brasil. *Aspergillus flavus* (A), *A. fumigatus* (B), *A. japonicus* (C), *A. tamarii* (D), *A. niger* (E), *Penicillium* sp. (F), conídios de *Pestalotiopsis microspora* (G), *Scytalidium* sp. (H).



Fonte: o próprio autor.

A família Aspergillaceae está compreendida na ordem Eurotiales, classe Eurotiomycetes e filo Ascomycota. Ambos, *Aspergillus* e *Penicillium* são considerados os gêneros economicamente mais importantes desse filo, e são conhecidos por apresentarem impactos positivos e negativos sobre as atividades humanas. Algumas espécies pertencentes à família Aspergillaceae possuem propriedades fisiológicas bastante diversas como, por exemplo: crescem em baixa atividade de água, em baixas ou altas temperaturas, além de níveis de baixa acidez e oxigênio (Houbraken, De Vries e Samson, 2014). Devido à sua ampla distribuição geográfica *Aspergillus* e *Penicillium* são sempre encontrados em solos no mundo todo, onde são caracterizados como decompositores de matéria orgânica e bons produtores de enzimas (Coutinho et al., 2012).

Comumente encontrado habitando o interior de plantas, o gênero *Aspergillus* foi o mais representativo em número de espécies e isolado de todas as espécies de plantas. Este gênero tem sido descrito como

endofítico em uma série de trabalhos (Aly et al., 2011). Além disso, faz parte de importantes espécies estudadas em diversas áreas do conhecimento por serem patogênicas, fitopatogênicas ou micotoxigênicas, ou ainda por serem produtoras de uma ampla variedade de enzimas e metabólitos secundários utilizados na indústria química, farmacêutica e alimentícia (Silva, 2009).

Dentre os representantes deste gênero, *Aspergillus niger* apareceu em fragmentos de nove das 12 espécies, indicando ser um habitante comum do interior de plantas. Pode provocar uma doença chamada mofo-preto em uvas, cebolas e amendoim, e é um contaminante comum de alimentos. Ele é onipresente no solo e é comumente relatado em ambientes internos, onde suas colônias pretas podem ser confundidas com as de *Stachybotrys* (cujas espécies são também chamadas de “bolor-negro”). Macroscopicamente, este fungo pode ser identificado crescendo em substratos produzindo colônias com hifas brancas a amareladas, tornando-se pretas com a formação de conídios. Microscopicamente, *A. niger* pode ser identificado por suas hifas hialinas e septadas. Os conidióforos são longos (400-3000 µm) com vesículas esféricas no ápice. É bisseriado, a métula cobre toda a superfície da vesícula a partir da qual as fiáldes se estendem. Conídios são globosos, de cor marrom a preto com superfície rugosa (Pitt e Hocking, 2009).

Aspergillus flavus, por sua vez, também foi isolado em alta frequência nas amostras de plantas nativas. Na natureza, *A. flavus* é capaz de crescer em muitas fontes de nutrientes. É predominantemente uma espécie saprófita e cresce em plantas mortas e tecido animal no solo. Por este motivo, é muito importante na ciclagem de nutrientes. O crescimento do fungo é favorecido em condições de calor seco. Os limites de temperatura para crescimento variam de 10 a 43 °C, sendo a temperatura de 33 °C considerada a ótima. Pode produzir micotoxinas chamadas Aflatoxinas, que tem efeitos tóxicos e carcinogênicos. A presença do fungo não necessariamente é um indicador da presença da micotoxina em grãos. Os conidióforos são hialinos, bem desenvolvidos com produção abundante de conídios. Última célula do conidióforo apresenta formato ampuliforme, na qual emergem dezenas de fiáldes que produzirão os conídios. Quando jovem, essa célula é globosa, de cor clara e não pulverulenta. Os conídios são hialinos, esféricos, ameroseptados e produzidos em cadeias (Andrade e Lima, 2010).

Assim como *A. flavus*, foi relatada a presença da espécie *A. tamarii*. Ambas as colônias são semelhantes morfológicamente, porém *A. flavus* possui colônias de coloração verde oliva claro em MEA enquanto *A. tamarii* as colônias vão do verde oliva escuro até um marrom esverdeado. *Aspergillus fumigatus* e *A. japonicus* foram as duas espécies unisseriadas do gênero.

A. fumigatus e *A. japonicus*, apesar de menos frequentes, também foram identificados como endófitos de plantas deste trabalho. *A. fumigatus* é o agente etiológico mais comum, sendo responsável por aproximadamente 90% das infecções humanas, porém, não é o único patógeno neste gênero. *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* e *A. nidulans* também podem causar infecções humanas (Latgé, 1999). *A. japonicus*, assim como *A. niger* pertence a seção Nigri (Klich, 2002) e tem sido muito estudado devido a produção de enzimas denominadas tanases, importantes para o tratamento de efluentes de curtumes, cujas frações parcialmente purificadas ou purificadas também podem ser empregadas para produzir ácido gálico, um produto químico usado em farmacêuticos. A enzima já foi isolada de fungos como *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *A. flavus* e *Candida* sp., além de *A. japonicus*.

A n-acetilação de aminas aromáticas por *Aspergillus japonicus* é uma ferramenta para biorremediação

e preparação de produtos bioativos. Adicionalmente, o processo de biotransformação empregando o fungo se apresenta como um processo de baixo impacto ambiental para a preparação dos importantes produtos para a indústria farmacêutica acetanilida e acetaminofeno (Lima et al., 2017).

O gênero *Penicillium*, por sua vez, é importante no que se refere a contaminação alimentar, são amplamente distribuídos no mundo todo, estão presentes em solos, no ar, vegetação em deterioração e algumas espécies tem sido relatadas como endofíticas (Pitt e Hocking, 2009). As espécies deste gênero têm sido utilizadas como modelo em estudos básicos, porém muitas pesquisas aplicadas têm demonstrado seu enorme potencial biotecnológico. Algumas espécies podem ser utilizadas no biocontrole, micoparasitismo, utilização de seus metabólitos secundários para diversas indústrias, são fontes de enzimas de interesse industrial e novos fármacos para a indústria farmacêutica (Pallu, 2010). Além disso, muitas delas podem produzir micotoxinas prejudiciais à saúde de animais e humanos (Pitt e Hocking, 2009).

Além de *Aspergillus* e *Penicillium*, outros fungos isolados como endofíticos no Maranhão também possuem importante aplicação biotecnológica. *Pestalotiopsis*, por exemplo, é um gênero anamórfico conidial portador de apêndices (Coelomycetes) na família Amphifiseriaceae (Kang, Kong e Hyde, 1998; Kang, Hyde e Kong, 1999). Estudos moleculares mostraram que *Pestalotiopsis* é monofilética (Jeewon et al. 2002, 2003). As espécies de *Pestalotiopsis* são comuns em ecossistemas tropicais e temperados e podem causar doenças nas plantas (Das Ranjana et al., 2010), mas são frequentemente isoladas como endófitas (Liu et al., 2006; Wei et al., 2007; Watanabe et al. 2010), ou ocorrem como saprófitas (Agarwal, Chauhan 1988; Yanna et al., 2002; Hu et al. 2007; Liu et al., 2008).

Pestalotiopsis microspora tem recebido muita atenção da comunidade científica. No entanto, isso não é por sua natureza patogênica, mas sim porque suas espécies demonstraram produzir muitos metabólitos secundários importantes (Strobel e Daisy, 2003; Aly et al., 2010). Um destes metabólitos é o Taxol, um importante fármaco quimioterapêutico utilizado no tratamento de câncer de mama e ovário (Kumaran, Kim e Hur, 2010).

Russel et al. (2011) verificaram que dois isolados amazônicos de *Pestalotiopsis microspora* (E2712A e E3317B) conseguiram degradar poliéster poliuretano (PUR) quando cultivados anaerobicamente. Para estes dois organismos, o nível de atividade foi o mesmo quando cultivado em condições aeróbicas ou anaeróbicas. Esta observação pode ter significado prático em que este fungo pode ser usado em sistemas de fermentação anaeróbica para degradar PUR. Devido a essa capacidade, *P. microspora* já vem sendo chamado de “fungo comedor de plástico”.

Scytalidium spp. é um fungo filamentoso, sapróbio do solo e plantas, mas que pode ser considerado patógeno oportunista. Segundo Cursi et al. (2011), a prevalência das infecções ungueais causadas por este fungo vem aumentando nas últimas décadas, embora ainda sejam poucos os trabalhos publicados sobre sua epidemiologia (Cursi et al., 2011).

A síntese de fitormônios por microrganismos maximiza o crescimento vegetal, quando comparado aos indivíduos que não mantêm relação simbiótica com os mesmos. Dentre as auxinas, o ácido indolacético (AIA) é o mais estudado, essa substância afeta a morfologia das raízes, aumenta o comprimento e o número de pelos radiculares, permite explorar novas regiões e aumentado a área de captação radicular (Piccoli et

al., 2011). Isolados endofíticos de *Trichoderma* testados por Badawi, Biomy e Desoky (2011) e Oliveira et al. (2012) foram capazes de produzir AIA in vitro e o uso do precursor L-triptofano proporcionou efeito positivo como indutor para a síntese deste fitormônio. Segundo Vitorino et al., (2012) 52% dos isolados endofíticos de *Hyptis marrubioides* EPLING (Lamiaceae), foram capazes de sintetizar AIA in vitro.

Rhizopus sp exibe uma ampla gama de espécies de fungos zigomicetos que são saprotróficos comuns e cosmopolitas. Algumas espécies, como *Rhizopus oryzae*, por exemplo, são usadas benéficamente para a produção de alimentos asiáticos fermentados, mas também podem atuar como patógenos humanos oportunistas (Gryganskyi et al., 2010).

Nigrospora é um fungo filamentosos dematiáceos amplamente distribuídas no solo, plantas em decomposição e sementes. É um dos contaminantes comuns de laboratório. Este fungo possui uma importante fonte de drogas para o tratamento de diversas patologias. A afidicolina, um metabólito isolado do fungo, que é descrita como tendo ação de inibição da divisão celular por atuar impedindo a função da DNA polimerase, foi testada contra promastigotas e amastigotas que causam Leishmaniose (Kayser et al., 2001).

Fusarium é um dos mais abundantes gêneros de fungos de solo, englobando espécies de importância ambiental, agrícola e, até mesmo, relacionadas a doenças em humanos e animais (Wakelin et al., 2008). Podem ser patogênicos a uma grande variedade de plantas, muitas delas de interesse econômico, provocando doenças como murcha vascular, *damping off* e podridões de raiz e colo (Agrios, 2005; Wakelin et al., 2008).

Os resultados aqui apresentados, apesar de poucas espécies de plantas amostradas, reforçam a hipótese de uma grande riqueza de fungos endofíticos ocorrendo nas plantas na Ilha de Upaon-Açú, que pode fornecer uma fonte ampla de recursos naturais para futuros estudos na área da saúde, da biotecnologia e das ciências agrárias. Estes resultados também reforçam a necessidade de ampliar os esforços referentes a preservação e conservação dos recursos naturais, estimulando o uso sustentável dos mesmos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Prof^ª. Dra. Geusa Felipa de Barros Bezerra e ao Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada (NIBA) da Universidade Federal do Maranhão pela disponibilização do espaço físico, material e equipamentos que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho. O primeiro autor agradece a Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA - pela concessão de bolsa Professor/Pesquisador Visitante no Brasil.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M., ALMEIDA, R., SALGADO, M., PFENNING, H. 2010. Fungal endophytes associated with the mistletoe *Phoradendron perrottettii* and its host tree *Tapirira guianensis*. **Mycological Progress**, 9, 559-566.
- AGARWAL, A.K.; CHAUHAN, S. 1988. A new species of the genus *Pestalotiopsis* from Indian soil. **Indian Phytopathology** 41:625-627.
- AGRIOS, G.N. 2005. **Plant Pathology** (5.^a ed.). Burlington: Elsevier Academic Press, 922 p.

- ALMEIDA, S., VIEIRA, G. 2010. Centro de Endemismo Belém: status da vegetação remanescente e desafios para a conservação da biodiversidade e restauração ecológica. **Revista de Estudos Universitários**, 36, 95-111.
- ALY, A. H.; DEBBAD, A.; KJER, J.; PROKSCH, P. 2010. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. **Fungal Diversity**, 41, 1-16.
- ALY, A. H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. **Applied microbiology and biotechnology**, 90(6), 1829–1845.
- ANDRADE, J.M.S.; LIMA, M.P 2010. **Aspectos gerais e morfológicos de *Aspergillus flavus***. Disponível em: http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/12/aspectos-gerais-e-morfologicos-de_13.html. Acesso em: 01/12/ 2017.
- AZEVEDO, J. L. 1999. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? **Revista Brasileira de Botânica**, 22(2), 225-229.
- AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JUNIOR, 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.
- BADAWI, F. S. F.; BIOMY, A. M. M.; DESOKY, A. H. 2011. Peanut plant growth and yield as influenced by co-inoculation with Bradyrhizobium and some rhizo-microorganisms under sandy loam soil conditions. **Annals of Agricultural Science**, 56(1),17-25.
- BILLS, G. F. 1996. Isolation and analysis of endophytic fungal communities from woody plants. **Endophytic fungi in grasses and woody plants**, 31-65.
- BRASIL. Caderno da Região Hidrográfica Atlântico Nordeste Ocidental / Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Recursos Hídricos. – Brasília: MMA, 2006. 128 p.
- CARDOSO, J. C. 2013. Melhoria de espécies ornamentais como estratégia para o desenvolvimento e autossuficiência do setor. **Horticultura Brasileira**, 31(1), 1.
- CARDOSO, J. C. e ISRAEL, M. 2005. Levantamento de espécies da família Orchidaceae em Águas de Sta. Bárbara (SP) e seu cultivo. **Horticultura Brasileira**, 23(2), 169-173.
- CARTER, G. T. 2011. Natural products and Pharma: Strategic changes spur new opportunities. **Natural product reports**, 28(11), 1783-1789.
- CHITHRA, S.; JASIM, B.; SACHIDANANDAN, P.; JYOTHIS, M.; RADHAKRISHNAN, E. K. 2014. Piperine production by endophytic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from *Piper nigrum*. **Phytomedicine**, 21(4), 534-54.
- COSTA, L. A. 2008. **Comunidade de fungos endófitos associados ao cacauzeiro em vegetação nativa e sob o sistema de monocultivo. Fungos endófitos associados ao cacauzeiro**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil. 61 p.
- COUTINHO, F. P.; FELIX, W. P.; YANO-MELO, A. M. 2012. Solubilization of phosphates in vitro by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. **Ecological Engineering**. 42, 85–89.
- CURSI, I.B.; FREITAS, L.B.C.R.; NEVES, M.L.P.F., SILVA, I.C.; OROFINO-COSTA, R. 2011. Onychomycosis due to *Scytalidium* spp.: A clinical and epidemiologic study at a University Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. Brasil, 689-693.
- DAS, R.; CHUTIA, M.; DAS, K.; JHA, D.K. 2010 Factors affecting sporulation of *Pestalotiopsis disseminata* causing grey blight disease of *Persea bombycina* Kost., the primary food plant of muga silkworm. **Crop Protection** 29:963–968
- GASCON, C.; BIERREGAARD JR, R. O.; LAURANCE, W. F., e RANKIN-DE-MERONA, J. (2001). Deforestation and forest fragmentation in the Amazon. Lessons from Amazonia. **The ecology and conservation of a fragmented forest**, 22-30.
- GRYGANSKYI, A. P.; LEE, S. C.; LITVINTSEVA, A. P.; SMITH, M. E.; BONITO, G.; PORTER, T. M.; VILGALYS, R. 2010. Structure, function, and phylogeny of the mating locus in the *Rhizopus oryzae* complex. **PLoS One**, 5(12).
- HOUBRAKEN, J.; DE VRIES, R.P.; SAMSON, R.A. 2014. Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. **Advances in Applied Microbiology**, 86, 199-249.

- HOUBRAKEN, J. e SAMSON, R.A. 2011. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. **Studies in Mycology**, 70, 1-51.
- HU, H.L.; JEEWON, R.; ZHOU, D.Q.; ZHOU, T.X.; HYDE, K.D. 2007. Phylogenetic diversity of endophytic *Pestalotiopsis* species in *Pinus armandii* and *Ribes* spp.: evidence from rDNA and β -tubulin gene phylogenies. **Fungal Diversity**. 24:1-22.
- JEEWON, R.; LIEW, E.C.Y.; HYDE, K.D. 2002. Phylogenetic relationships of *Pestalotiopsis* and allied genera inferred from ribosomal DNA sequences and morphological characters. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 25: 378-392.
- JEEWON, R.; LIEW, E.C.Y.; SIMPSON, J.A.; HODGKISS, I.J.; HYDE, K.D. 2003. Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *pestalotiopsis* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 27: 372-383.
- KANG, J.C.; HYDE, K.D.; KONG, R.Y.C. 1999. Studies on the Amphisphaeriales. The Amphisphaeriaceae (sensu stricto). **Mycological Research**, 103, 53-54.
- KANG, J.C.; KONG, R.Y.C.; HYDE, K.D. 1998. Studies on the Amphisphaeriales I. Amphisphaeriaceae (sensu stricto) and its phylogenetic relationships inferred from 5.8S rDNA and ITS2 sequences. **Fungal Diversity**, 1, 147-157.
- KAYSER, O.; KLDERLEN, A. F.; BERTELS, S.; SLEMS, K. 2001. Antileishmanial Activities of Aphidicolin and its Semisynthetic Derivatives. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45(1):288-292.
- LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. 2002. **Tratado de micologia médica**. (9.ª ed.). São Paulo: Sarvier.
- LIU, Y. G. et al. 2006. Removal of cadmium and zinc ions from aqueous solution by living *Aspergillus niger*. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, 16(3): 681-686.
- KLICH, M.A. **Identification of common Aspergillus guide**. 2000. American Society for Microbiology: 116 p.
- KUMARAN, R.S.; KIM, H.J.; HUR, B.K. 2010. Taxol-producing [corrected] fungal endophyte, *Pestalotiopsis* species isolated from *Taxus cuspidata*. **Journal of Bioscience and Bioengineering** 110(5), 541-546.
- LATGÉ, J.P. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. 1999. **Clinical Microbiology Reviews**, 12(2), 310-350.
- LIMA, D.P.; GIANNESI, G.C.; DOS SANTOS, E.A.; FREITAS, T.S.E.; LOPES, R.S.; LOPO, M.N.; BEATRIZ, A.; MARQUES, M.R.; MARCHETTI, C.R. 2017. N-Acetylation of Aromatic Amines by the Soil Fungus *Aspergillus japonicus* (UFMS 48.136), **Letters in Organic Chemistry**, 14, 227.
- LIU, L.; LIU, S.; JIANG, L.; CHEN, X.; GUO, L.; CHE, Y. 2008 Chloropupukeananin, the first chlorinated pupukeanane derivative, and its precursors from *Pestalotiopsis fici*. **Organic Letters**. 10:1397-1400
- MARTINS, M. B., e DE OLIVEIRA, T. G. 2011. **Amazônia Maranhense: diversidade e conservação**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 328 p.
- OLIVEIRA, A. G.; JUNIOR, A. F. C.; SANTOS, G. R.; MILLER, L. O.; CHAGAS, L. F. B. 2012. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. **Revista Verde**, 7(3) 149-155.
- OWNLEY, B. H.; GWINN, K. D.; VEGA, F. E. 2010. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. **BioControl**, 55, 113-118.
- PALLU, A. P. S. 2010. **Potencial biotecnológico de fungos do gênero e interação com cana-de-açúcar**. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil. 129 p.
- PEIXOTO-NETO, P.A.S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. 2002. Microrganismos endofíticos: interações com plantas e potencial biotecnológico. **Biociência** 29, 62-76.
- PETRINI, O., STONE, J. e CARROLL, F.E. 1992. Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. **Canadian Journal of Botany**, 60, 789-796.

- PICCOLI, P.; TRAVAGLIA, C.; COHEN, A.; SOSAL, L.; CORNEJO, P.; MASUELLI, R.; BOTTINI, R. 2011. An endophytic bacterium isolated from roots of the halophyte *Prosopis strombulifera* produces ABA, IAA, gibberellins A1 and A3 and jasmonic acid in chemically-defined culture medium. **Plant Growth Regulation**, 64(2), 207-210.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. 2009. **Fungi and food spoilage** (3.^a ed.). Dordrecht: Springer.
- PRIMACK, R. B. e RODRIGUES, E. 2006. **Biologia da conservação**. Londrina: Planta. 328 p.
- RUSSELL, J. R. et al. 2011 Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. **Applied Environmental Microbiology**, 77: 6076-6084.
- SCHULZ, B., BOYLE, C., BRAEGER, S., ROMMERT, A., KROHN, K. 2020. Endophytic fungi: a source of biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, 106, 996-1004.
- SILVA, J. M. C.; RYALANDS, A. B.; FONSECA, G. A. B. 2005. O destino das áreas de endemismo da Amazônia. **Megadiversidade**, 1,124-131.
- SILVA, R. L. O.; LUZ, J. S.; SILVEIRA, E. B.; CAVALCANTE, U. M. T. 2006. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). **Acta Botanica Brasilica**, 20(3), 649-655.
- SILVA, D.M. 2009. **Identificação de espécies de *Aspergillus* Seção *Nigri* por taxonomia polifásica e descrição de duas novas espécies do gênero**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil. 76 p.
- STROBEL, G. e DAISY, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 67(4), 491-502.
- VISAGIE, C. M., HOUBRAKEN, J., FRISVAD, J. C., HONG, S. B., KLAASSEN, C. H. W., PERRONE, G., ... e SAMSON, R. A. 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies in mycology**, 78, 343-371.
- VITORINO, L. C.; SILVA, F. G.; SOARES, M. A.; SOUCHIE, E. L.; COSTA, A. C.; LIMA, W. C. 2012. Solubilization of calcium and iron phosphate and in vitro production of Indoleacetic acid by Endophytic isolates of *Hyptis marruboides* Epling (Lamiaceae). **International Research Journal of Biotechnology**, 3(4), 47-54.
- WAKELIN, S.A.; WARREN, R.A.; KONG, L; HARVEY, P.R. 2008. Management factors affecting size and structure of soil *Fusarium* communities under irrigated maize in Australia. **Applied Soil Ecology**, 39(2), 201-209.
- WATANABE, K.; MOTOHASHI, K.; ONO, Y. 2010. Description of *Pestalotiopsis pallidotheae*: a new species from Japan. **Mycoscience** 51:182-188
- YANG, X.; ZHANG, J.; LUO, D. 2012. The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. **Natural Products Report**, 29, 622-641.
- YANNA, HO, W.H. e HYDE, K.D. 2002. Fungal succession on fronds of *Phoenix hanceana* in Hong Kong. **Fungal Diversity** 10:185-211.