



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

REJANE MARIA FERREIRA DA SILVA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS FILAMENTOSOS EM
FOLHAS DE *Sorghum bicolor* (L.) Moench EM PERNAMBUCO, BRASIL**

**RECIFE
2016**

REJANE MARIA FERREIRA DA SILVA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS FILAMENTOSOS EM
FOLHAS DE *Sorghum bicolor* (L.) Moench EM PERNAMBUCO, BRASIL**

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

Área de Concentração: ecologia e taxonomia de fungos

Orientador: Dr. Gladstone Alves da Silva (UFPE)

Co-Orientador: Dr. José Luiz Bezerra (UFRB)

**RECIFE
2016**

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Silva, Rejane Maria Ferreira da
Diversidade de fungos endofíticos filamentosos em folhas de *Sorghum*
***bicolor* (L.) Moench em Pernambuco, Brasil / Recife: O Autor, 2016.**

69 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Gladstone Alves da Silva

Coorientador: José Luiz Bezerra

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Biologia de Fungos,

2016.

Inclui referências

- 1. Fungos endofíticos 2. Sorghum 3. DNA I. Silva, Gladstone Alves da (orientador) II. Bezerra, José Luiz (coorient.) III. Título**

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017- 451

REJANE MARIA FERREIRA DA SILVA

**DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS FILAMENTOSOS EM
FOLHAS DE *Sorghum bicolor* (L.) Moench EM PERNAMBUCO, BRASIL**

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

Aprovada em 24 de fevereiro de 2016

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Gladstone Alves da Silva (Orientador) /UFPE

Dra. Marília de Holanda Cavalcanti Maciel - Examinador Externo – Titular/USP

Dra. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti -Examinador Interno -Suplente/UFPE

Dra. Danielle Karla Alves da Silva-Examinador Externo - Suplente/UNIVASF

Dra. Cristina Maria de Souza Motta - Examinador Interno -Titular/UFPE

DEDICATÓRIA:

A minha família dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre me ajudar e estar sempre ao meu lado, pela força e disposição concedida nos momentos difíceis.

Aos meus queridos irmãos e todos familiares, a minha mãe Maria de Lourdes Ferreira da Silva e meu pai Ivanildo Matias da Silva por estarem sempre ao meu lado, pela ajuda, carinho, amor e compreensão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gladstone Alves da Silva pela ótima orientação, amizade e paciência, agradeço pela confiança e estímulo durante o desenvolvimento do projeto.

A co-orientação do Prof. Dr. José Luiz Bezerra, pela sua confiança e constante ajuda e ensinamentos.

A querida Prof. Dra. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti, pela ajuda e por todo conhecimento oferecido.

Ao doutorando Rafael José Vivalde de Oliveira que me ajudou no desenvolvimento do projeto, sua paciência e amizade.

Aos meus queridos companheiros do Laboratório: Carlos, Diogo, Ana Lúcia, Walter, Camila, May, André, Roger, Stela.

As minhas amigas do Laboratório de Fungos Micorrízicos (UFPE), que muito me apoiaram.

Ao IPA, ao senhor José Nildo Tabosa pela autorização das coletas.

A todos os outros que contribuíram de alguma forma para que eu conseguisse finalizar este trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO GERAL

Os fungos endofíticos são caracterizados por habitarem o interior (intra ou intercelularmente) dos tecidos vegetais, não causando aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros. O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma gramínea de origem africana, pertencente à família Poaceae. Encontra-se em quinto lugar entre os cereais mais plantados no mundo. Devido a importância dos fungos endofíticos em culturas agrônomicas, este trabalho teve por objetivo determinar a diversidade de fungos endofíticos em folhas saudáveis de *S. bicolor* nos períodos de pré e pós-floração, em cultivos de Goiana e Serra Talhada, Pernambuco. No laboratório, as folhas foram lavadas com água corrente e sabão neutro, e com auxílio de um furador esterilizado foram feitos discos foliares (6 mm), posteriormente desinfestados em álcool 70% por 30 segundos, em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% por 3 minutos e realizadas duas lavagens com água destilada esterilizada. Os fragmentos foram transferidos para placa de Petri, em triplicata, contendo ágar malte acrescido de cloranfenicol (50 mg L⁻¹), para posterior identificação taxonômica utilizando literatura especializada para análise morfológica dos táxons. Para confirmação dos táxons, o DNA foi extraído, sendo amplificada e sequenciada a região ITS ("internal transcribed spacer") do rDNA. Foram analisados 1728 fragmentos de folhas. Foram isolados 476 espécimes de fungos endofíticos, distribuídos em 40 morfotipos/filotipos. *Cochliobolus hawaiiensis*, *Colletotrichum falcatum* e *Epicoccum sorghi* foram as espécies mais frequentes. Os táxons identificados são pertencentes ao filo Ascomycota (classes Eurotiomycetes, Dothidiomycetes, Sordariomycetes) e subfilo Mucoromycotina (ordem Mucorales). *Acremonium borodinense*, *Arthrimum* sp., *Cochliobolus hawaiiensis*, *Engyodontium album*, *Epicoccum sorghi*, *Hypoxylon griseobrunneum*, *Phyllosticta capitalensis*, *Mucor irregularis*, *Mucor indicus*, *Mucor* sp., *Paraphaeosphaeria* sp., *Periconia macrospinosa*, *Purpureocillium lilacinum* e *Talaromyces apiculatus* são citadas pela primeira vez como endofíticos de sorgo.

Palavras-chave: Sorgo. rDNA. Fungo endofítico.

ABSTRACT

The endophytic fungi are characterized by inhabiting the interior (intra or intercellularly) of plant tissues, apparently not causing any damage to their hosts. Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) is a grass of African origin belonging to the Poaceae family. It lies in fifth place among the most planted grain in the world. Due to the importance of endophytic fungi in agronomic crops, this study aimed to determine the diversity of endophytic fungi in healthy leaves of *S. bicolor* in periods of pre and post-flowering, collected in Goiana and Serra Talhada, Pernambuco. In the laboratory, the leaves were washed with water and soap, and with the aid of a sterile punch were made leaf discs (6 mm), then disinfected in 70% alcohol for 30 seconds and sodium hypochlorite (NaOCl) 2% for 3 minutes. Two washes with sterile distilled water were performed after disinfection. The fragments were transferred to a petri dish, in triplicate, containing malt agar plus chloramphenicol (50 mg L⁻¹) for further taxonomic identification using specialized literature for morphological analysis of the taxa. To confirmation of the taxa, the DNA was extracted and amplified and sequencing the ITS region (“internal transcribed spacer”) of the rDNA. From 1728 leaf fragments analyzed, 476 specimens of endophytic fungi were isolated including 40 morphotypes/phylotypes. *Cochliobolus hawaiiensis*, *Colletotrichum falcatum* and *Epicoccum sorghi* were the most frequent species. The identified species pertain to the Eurotiomycetes, Dothidiomycetes, Sordariomycetes and Mucorales. *Acremonium borodinense*, *Arthrinium sp.*, *Cochliobolus hawaiiensis*, *Engyodontium album*, *Epicoccum sorghi*, *Hypoxyton griseobrunneum*, *Phyllosticta capitalensis*, *Mucor irregularis*, *Mucor indicus*, *Mucor sp.*, *Paraphaeosphaeria sp.*, *Periconia macrospinosa*, *Purpureocillium lilacinum* and *Talaromyces apiculatus*, are cited for the first time as endophyte to sorghum.

Keywords: Sorghum. rDNA. Endophytic fungus

Lista de figuras

	Pag.
FIGURA 1 - CULTIVO DE <i>Sorghum bicolor</i> NO PERÍODO DE PRÉ (A) E PÓS FLORAÇÃO (B) EM GOIANA, PERNAMBUCO.....	26
FIGURA 2 - CULTIVO DE <i>Sorghum bicolor</i> NO PERÍODO DE PRÉ (A) E PÓS-FLORAÇÃO (B) EM SERRA TALHADA, PERNAMBUCO.....	26
FIGURA 3 - GÊNEROS ISOLADOS EM FOLHAS DE <i>Sorghum bicolor</i> COLETADAS NOS MUNICÍPIOS DE GOIANA E SERRA TALHADA, PERNAMBUCO.....	29
FIGURA 4 - DENDROGRAMA DE SIMILARIDADE DOS FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE FOLHAS DAS VARIEDADES IPA SF15 E IPA 2502 de <i>sorghum bicolor</i> NOS PERÍODOS DE PRÉ E PÓS-FLORAÇÃO COLETADOS EM GOIANA E SERRA TALHADA, PERNAMBUCO.....	31
FIGURA 5 - CURVA DE ACUMULAÇÃO DE ESPÉCIES (SOB) E DE ESTIMATIVA DE RIQUEZA PELO ÍNDICE JACKKNIFE 1 PARA FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS EM <i>Sorghum bicolor</i> EM GOIANA.....	34
FIGURA 6 - CURVA DE ACUMULAÇÃO DE ESPÉCIES (SOB) E DE ESTIMATIVA DE RIQUEZA PELO ÍNDICE JACKKNIFE 1 PARA FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS EM <i>Sorghum bicolor</i> EM SERRA TALHADA.....	35
FIGURA 7 - FOTOGRAFIAS MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS DE <i>Colletotrichum gloeosporioide</i> COMPLEX (URM 7419): A - COLÔNIA CULTIVADA EM BDA, B- CONÍDIOS. <i>Cochliobolus hawaiiensi</i> (URM 7418): C - COLÔNIA CULTIVADA EM BDA, D- CONIDIÓFOROS E CONÍDIOS. <i>Acremonium borodinense</i> (URM 741A): E - COLÔNIA CULTIVADA EM BDA, F- FIALIDE E CONÍDIOS.....	36
FIGURA 8 - FOTOGRAFIAS MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS DE <i>Arthrinium</i> sp. (URM 7417): COLÔNIA CULTIVADA EM BDA, F - CONÍDIOS. <i>Exserohilum rostratum</i> (URM 7420): I- COLÔNIA CULTIVADA EM BDA, J- CONÍDIO.....	37
FIGURA 9 - FILOGRAMA OBTIDO A PARTIR DE ANÁLISE BAYESIANA DE SEQUÊNCIAS DA REGIÃO ITS DO RDNA, MOSTRANDO O POSICIONAMENTO DE FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE <i>Sorghum bicolor</i> PERTENCENTES A CLASSE SORDARIOMYCETES. RAMOS ESPessos REPRESENTAM VALORES DE SUPORTE ACIMADE 90%.....	40
FIGURA 10 - FILOGRAMA OBTIDO A PARTIR DE ANÁLISE BAYESIANA DE SEQUÊNCIAS DA REGIÃO ITS DO RDNA, MOSTRANDO O POSICIONAMENTO DE FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE <i>Sorghum bicolor</i> PERTENCENTES A CLASSE DOTHIDIOMYCETES. RAMOS ESPessos REPRESENTAM VALORES DE SUPORTE ACIMA DE 90%.....	42
FIGURA 11 - FILOGRAMA OBTIDO A PARTIR DE ANÁLISE BAYESIANA DE SEQUÊNCIAS DA REGIÃO ITS DO RDNA, MOSTRANDO O POSICIONAMENTO DE	

FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE *Sorghum bicolor* PERTENCENTES A CLASSE EUROTIOMYCETES. RAMOS ESPESSOS REPRESENTAM VALORES DE SUPORTE ACIMA DE 90%..... 43

FIGURA 12 - FILOGRAMA OBTIDO A PARTIR DE ANÁLISE BAYESIANA DE SEQUÊNCIAS DA REGIÃO ITS DO RDNA, MOSTRANDO O POSICIONAMENTO DE FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE *Sorghum bicolor* PERTENCENTES AO GRUPO Hiemalis (MUCORALES). RAMOS ESPESSOS REPRESENTAM VALORES DE SUPORTE ACIMA DE 90%..... 44

FIGURA 13 - FILOGRAMA OBTIDO A PARTIR DE ANÁLISE BAYESIANA DE SEQUÊNCIAS DA REGIÃO ITS DO RDNA, MOSTRANDO O POSICIONAMENTO DO ESPÉCIME F56 ISOLADO COMO ENDÓFITO DE *Sorghum bicolor* PERTENCENTE GRUPO Amphibiorum (MUCORALES). RAMOS ESPESSOS REPRESENTAM VALORES DE SUPORTE ACIMA DE 90%..... 45

Lista de tabelas

	PAG.
TABELA 1 - FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS EM PLANTAS NO BRASIL.....	21
TABELA 2 - FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE GRAMÍNEAS (ADAPTADO DE MÁRQUEZ et al., 2012)	24
TABELA 3 - DENSIDADE PLUVIOMÉTRICA E TEMPERATURA DAS ÁREAS DE COLETA NOS MUNICÍPIOS DE GOIANA E SERRA TALHADA, PERNAMBUCO.....	26
TABELA 4 - NÚMERO DE ISOLADOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE SORGO NAS VARIEDADES IPA2502, IPASF15 E NOS PERÍODOS FENOLÓGICOS NOS MUNICÍPIOS DE GOIANA E SERRA TALHADA/PE.....	30
TABELA 5 - RIQUEZA DE ESPÉCIES (MORFOTIPOS/FILOTIPOS), NÚMERO DE ISOLADOS E ÍNDICE DE SHANNON DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS EM FOLHAS DE SORGO NOS MUNICÍPIOS DE GOIANA E SERRA TALHADA (S.T) E ENTRE OS PERÍODOS DE PRÉ E PÓS-FLORAÇÃO.....	32
TABELA 6 - RIQUEZA DE ESPÉCIES (MORFOTIPOS/FILOTIPOS), NÚMERO DE ISOLADOS E ÍNDICE DE SHANNON DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS EM FOLHAS DE <i>Sorghum bicolor</i> NAS VARIEDADES IPA 2502 E IPASF15 NOS MUNICÍPIOS GOIANA E SERRA TALHADA.....	32
TABELA 7 - IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE FOLHAS DE <i>Sorghum bicolor</i> , COLETADOS EM GOIANA E SERRA TALHADA, PERNAMBUCO.....	38

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 O SORGO (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) MOENCH)	15
2.1.1 CLASSIFICAÇÃO, ORIGEM E IMPORTÂNCIA DO SORGO.....	15
2.1.2 FENOLOGIA DA PLANTA SORGO.....	17
2.2 FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	18
2.2.1 CONCEITO.....	18
2.2.2 IMPORTÂNCIA E INTERAÇÕES DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	19
2.2.3 FUNGOS ENDOFÍTICOS NO BRASIL.....	20
2.2.4 FUNGOS ENDOFÍTICOS EM GRAMÍNEAS.....	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 LOCAIS DE COLETA	25
3.2 COLETA DO MATERIAL	25
3.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	27
3.4 ANÁLISES DE DADOS	27
3.4.1 DIVERSIDADE.....	27
3.4.2 SIMILARIDADE.....	27
3.5 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO (PCR) E SEQUENCIAMENTO.....	28
3.6 ANÁLISE FILOGENÉTICA.....	28
4 RESULTADOS	29
4.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE FOLHAS DE <i>Sorghum bicolor</i>	29
4.2 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE <i>S. bicolor</i> DURANTE OS PERÍODOS DE PRÉ E PÓS-FLORAÇÃO EM GOIANA E SERRA TALHADA.....	32
4.3 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ENTRE AS VARIEDADES DE SORGO IPA 2502 E IPA SF15 EM GOIANA/PE.....	33
4.4 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ENTRE AS VARIEDADES DE SORGO IPA 2502 E IPA SF15 EM SERRA TALHADA/PE.....	33
4.5 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE <i>S. bicolor</i> POR ÁREA DE COLETA.....	34
4.6 ANÁLISE MOLECULAR DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	38
5 DISCUSSÃO	46
6 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

Os fungos endofíticos são caracterizados por habitarem o interior (intra ou intercelularmente) dos tecidos vegetais, não causando aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros (PETRINI, 1991). Não apresenta especificidade por hospedeiro, sendo encontrados em associação com diversos tipos de plantas (PETRINI; STONE; CARROLL, 1992). Esses fungos podem penetrar nas plantas pelas raízes, por aberturas naturais, tais como estômatos e hidatódios, ou ferimentos, como os ocasionados por insetos (AZEVEDO, 1998).

Os micro-organismos endofíticos têm despertado grande interesse científico pelo potencial de gerar produtos de importância biotecnológica, aplicados na indústria, na agricultura e na medicina. Estes organismos são fontes promissoras de substâncias naturais, tais como toxinas, antibióticos, dentre outros fármacos (AZEVEDO, 1998). Também possuem potencial na produção de substâncias com atividade fungicida e inseticida (SANTOS; RODRIGUES, 2002; SANTOS, 2003).

Diversos estudos têm demonstrado que os fungos endofíticos têm capacidade de estimular o desenvolvimento da planta hospedeira em condições adversas (ARAÚJO et al., 2002), além de serem organismos produtores de uma ou mais classes de alcaloides que atuam no controle de pragas e doenças (CLAY; SCHARD, 2002; SCHULZ et al., 2002).

Atualmente diversos estudos têm abordado a taxonomia e distribuição das espécies de fungos endofíticos em um grande número de hospedeiros. Estes estão associados com diversos tipos de vegetais, desde briófitas e pteridófitas até plantas superiores de diversos ambientes tais como florestas tropicais e temperadas, incluindo regiões do extremo ártico (ARNOLD; HERRE, 2003; FISHER et al., 1992; GAMBOA; BAYMAN, 2001; KUMAR; KAUSHIK, 2013; ARNOLD, 2007; ROSA et al., 2009; PORRAS-ALFARO et al., 2014; SURYANARAYANAN; MURALI; VENKATESAN, 2002; SEENA; SRIDHAR, 2004; SCHULZ, et al., 1993; TAYLOR; HYDE; JONES, 1999; WHITE et al., 1990; WHITE; BALDWIN, 1992; YEH; KIRSCHNER, 2014).

Investigações acerca da diversidade de fungos endofíticos em gramíneas têm sido frequentemente realizadas. Esses estudos revelam novos táxons e novas distribuições de espécies já conhecidas (AZEVEDO; ARAÚJO, 2007; CLAY, 1989; ROSA et al., 2009). A composição de fungos endofíticos em gramíneas varia consideravelmente entre habitats, isso tem sido demonstrado em uma grande variedade de ambientes, desde florestas tropicais e subtropicais até desertos e regiões do extremo ártico (IANNONE et al., 2012; ROSA et al., 2009).

Zida et al., (2014) relataram o único registro de fungos endofíticos associados a *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Esses autores estudaram a ocorrência e distribuição desses fungos em folhas, caules e raízes dessa planta em zonas agroecológicas de Burkina Faso na África.

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma gramínea de origem africana, pertencente à família Poaceae. Encontra-se em quinto lugar entre os cereais mais plantados no mundo (FARIAS et al., 2011). A cultura destaca-se por adaptar-se bem em diversos ambientes, possuindo potencial para se desenvolver e se expandir principalmente em regiões onde há condições de deficiência hídrica (RESENDE et al., 2009; SANTOS et al., 2007). Essas características tornam o sorgo uma opção atrativa para os agricultores, sendo também um cereal de baixo custo de produção e rápido crescimento (MACHADO et al., 2011; PEDREIRA; REIS; BERCHIELI, 2003; RESENDE et al., 2009).

O sorgo constitui uma das principais fontes de valor nutritivo, apresentando bom rendimento e sendo de fácil processo operacional durante a colheita e armazenagem (NEUMANN; RESTLE; BRONDANI, 2004). Além disso, o sorgo apresenta grande potencial econômico no setor sucroalcooleiro por ser rico em açúcares fermentescíveis. Essa planta também possui ciclo rápido, alta produtividade de biomassa verde, alto rendimento de etanol, além de ter seu bagaço utilizável como fonte de energia (DURÃES, 2011). Devido a importância dos fungos endofíticos em culturas agrônômicas, é fundamental que a ocorrência desses organismos em plantas economicamente importantes seja conhecida. Dessa forma, esse trabalho objetivou conhecer a diversidade desses fungos em folhas saudáveis de sorgo, durante os períodos de pré e pós-floração nos municípios de Goiana e Serra Talhada no estado de Pernambuco.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O SORGO (*Sorghum bicolor* (L.) MOENCH)

2.1.1 CLASSIFICAÇÃO, ORIGEM E IMPORTÂNCIA DO SORGO

O *Sorghum bicolor* (L.) Moench está classificado na família Poaceae (Poales). Em 1753, Linnaeus foi o primeiro a descrever três espécies de sorgo cultiváveis: *Holcus sorgo*, *Holcus saccharatus* e *Holcus tricolor* (DICKO et al., 2006). No entanto em 1974, Moench distinguiu o gênero *Sorghum* do gênero *Holcus* e propôs o nome *Sorghum bicolor*. O atual conceito taxonômico concorda com o estabelecido por Moench, ou seja, os nomes dados por vários taxonomistas são considerados sinônimos de *S. bicolor* (L.) Moench (MEKBIB, 2007).

A cultura é originada da África e Índia, apresenta características de plantas xerófilas, possuindo mecanismos capazes de suportar fatores climáticos diversos, permitindo que seja cultivada em áreas muito secas e/ou muito quentes onde a produtividade de outros cereais não seria econômica (QUEIROZ et al., 2014; TABOSA et al., 1993). O sorgo é o quinto cereal mais produzido no mundo, atrás apenas do trigo, arroz, milho e cevada. Sua maior produção concentra-se nos Estados Unidos e México (CONAB, 2014). No Brasil as regiões Centro-Oeste e Sudeste respondem por mais de 80% da produção nacional de sorgo, o estado de Goiás lidera a produção com (922,5 mil toneladas) seguido por Minas Gerais (507,4 mil toneladas) e Mato Grosso (347,3 mil toneladas). A região Nordeste também tem mostrado investimentos em pesquisas e divulgação dessa cultura (SILVA et al., 2013; CONAB, 2014).

Em alguns países da África e da Ásia, os grãos de sorgo são utilizados no preparo de vários produtos alimentícios, tais como produtos de panificação e bebidas, dentre outros. No Brasil, o sorgo vem sendo cultivado principalmente visando a produção de grãos para suprir a demanda das indústrias de ração animal ou como forragem, para alimentação de ruminantes (QUEIROZ et al., 2014). O sorgo constitui uma das principais fontes de valor nutritivo com alto nível de proteínas, vitaminas e minerais (NEUMANN; RESTLE; BRONDANI, 2004). A cultura vem se transformando em um grande potencial a ser explorado, devido a um conjunto de fatores, como seu alto potencial de produção, a boa adequação à mecanização, a reconhecida qualificação como fonte de energia para animais e facilidade de adaptação às regiões semiáridas (CONAB, 2014).

É uma cultura que apresenta bastante versatilidade, podendo ser utilizada tanto na alimentação humana quanto animal, servindo de matéria-prima para a produção de álcool

anidro, bebidas alcoólicas, colas, tintas, vassouras, açúcar, amido e óleo comestível (CONAB, 2014).

Aproximadamente a metade do Nordeste Brasileiro encontra-se inserida na região semiárida, perfazendo uma extensão de 775 km² (TABOSA et al., 2002). O semiárido é caracterizado pela ocorrência de precipitações que se distribuem de maneira irregular, concentrando-se em um curto período chuvoso, seguido de um longo período de seca (PERAZZO et al., 2013). Em Pernambuco, 83% do estado encontra-se no semiárido (TABOSA et al., 2002). O sorgo, devido a sua eficiência de adaptação a ambientes semiáridos, destaca-se com potencial de crescimento e participação nos sistemas agrícolas no Brasil (SANTOS et al., 2010).

No Brasil são cultivados quatro tipos de sorgo: granífero, sacarino, forrageiro e vassoura. O tipo granífero é caracterizado por apresentar plantas de porte baixo, altura até 170 cm, com densa panícula de grãos, adaptado à colheita mecanizada. O tipo sacarino possui porte alto, com altura superior a dois metros, apropriado para confecção de silagem e/ou produção de açúcar e etanol. O forrageiro possui elevada produção de forragem e está adaptado ao semiárido brasileiro, sendo destinado a alimentação animal. Já o tipo vassoura tem suas panículas destinadas a confecção de vassouras e escovas (RIBAS, 2003).

Devido as adversidades climáticas da Região Nordeste do Brasil e as dificuldades de alimentos para atender o setor agropecuário em consequência das secas prolongadas, torna-se necessário a inserção de novas variedades de sorgo adaptadas às mais variadas condições climáticas (MONTEIRO et al., 2004). Em busca de variedades mais resistentes, os mercados de produtos agrícolas estão cada vez mais investindo em novas tecnologias, entre as principais rotas de inovação está o uso do melhoramento vegetal que potencializa o uso dos recursos agrícolas. A Embrapa Milho e Sorgo destaca-se entre uma das principais instituições de pesquisa do país, por aliar acervo de recursos genético de culturas de sorgo com cultivares potencias a serem utilizados em regiões áridas.

Cultivares de sorgo forrageiro e sacarino, com alto rendimento e tolerância a condições de estresses bióticos e abióticos, têm sido desenvolvidos pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). Esses cultivares são promissores para as mais diversas regiões, principalmente a semiárida, visando abastecer a demanda de grãos e forragem/silagem para a pecuária regional nos períodos secos (TABOSA et al., 2000). As variedades de sorgo têm mostrado alta estabilidade de produção, alta resistência à estiagem, alta qualidade de forragem com alto potencial de produção de massa verde e baixo custo. Dentre as variedades destacam-se para o semiárido pernambucano o sorgo sacarino IPA 2502 e o sorgo forrageiro IPA SF15.

A variedade de sorgo forrageiro IPA SF15 é originária a partir do cruzamento entre a variedade sacarina IPA 7301218 e a variedade IPA 7301158. A variedade IPA SF15 foi testada e avaliada em diferentes ambientes da região semiárida dos estados de Alagoas, Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe, sendo obtidos altos valores de rendimento de matéria seca e adaptabilidade (TABOSA et al., 2002). Essa variedade caracteriza-se pela alta produtividade de matéria seca, além de adaptar-se a diversas situações de clima e solo, também apresenta altos valores quanto a produtividade e qualidade da forragem (CONAB, 2014).

A variedade de sorgo sacarino, IPA 2502, possui grande valor para alimentação animal. Seu bagaço possui um valor biológico superior ao da cana de açúcar, com 50% menos lignina e mais carboidratos (SANTOS et al., 1986). Caracteriza-se por apresentar colmos ricos em açúcares fermentescíveis e pode servir para a produção de etanol. Trata-se de uma variedade de sorgo de ciclo rápido, quatro meses, cultura totalmente mecanizável, alta produtividade de biomassa verde (60 a 80 t. ha⁻¹), alto rendimento de etanol (3.000 a 6.000 l. ha⁻¹) e bagaço utilizável na geração de energia, além de ser resistente ao estresse hídrico, adaptando-se bem à escassez de chuvas da região semiárida (DURÃES, 2011).

2.1.2 Fenologia da planta

A fenologia estuda a ocorrência de eventos biológicos periódicos, as causas de sua ocorrência relacionadas com os fatores bióticos e abióticos, e a interrelação entre as fases caracterizadas por estes eventos dentro da mesma ou de espécies diferentes (LIETH, 1974).

O sorgo apresenta metabolismo C₄, de dia curto e com altas taxas fotossintéticas. A maioria das variedades desta planta requerem temperaturas superiores a 21 °C para um bom crescimento e desenvolvimento (MAGALHÃES; DURÃES, 2003). O ciclo do sorgo apresenta três estágios caracterizados pelas etapas de crescimento da cultura, baseados nos dias após a sementeira. O primeiro estágio (EC1) caracteriza-se pelo crescimento da cultura, que vai da germinação até a iniciação da panícula. É o período mais importante para o estabelecimento das plântulas. O segundo estágio (EC2) compreende a iniciação da panícula até o florescimento; nesta fase ocorre vários processos de crescimento tais como, desenvolvimento da área foliar, sistema radicular, acumulação de matéria seca e o estabelecimento de um número potencial de sementes; caso a planta seja afetada neste período, o rendimento poderá ser comprometido. O terceiro estágio (EC3) compreende desde

floração a maturação fisiológica. Os fatores mais importantes neste estágio são aqueles relacionados ao enchimento de grãos (MAGALHÃES; DURÃES, 2003).

As fases de crescimento e desenvolvimento da maioria das culturas são particularmente definidas, porém pode existir variação nesses períodos, em função do local, época de semeadura e das condições climáticas às quais a planta é exposta (COSTA, 2013).

2.2 FUNGOS ENDOFÍTICOS

2.2.1 Conceito

A palavra endófito é de origem grega *éndon* + *python* que significa no “interior da planta” (SCHULZ; BOYLE, 2005). O uso deste termo é tão amplo quanto sua definição. O termo endofítico foi introduzido por A. de Bary em 1866 referindo-se a todos os organismos que colonizam o tecido vegetal (HYDE; SOYTONG, 2008).

Carrol (1986) restringiu o uso da palavra endófito, referindo-se apenas aos organismos que colonizam os tecidos vegetais, retirando os fungos patogênicos e mutualistas como micorrizas. Petrini (1991) propôs uma definição mais abrangente para o termo endofítico, inserindo todos os organismos que colonizam os tecidos vegetais (intra ou intercelularmente) sem causar dano aparente ao seu hospedeiro, bem como patógenos latentes que podem viver de forma assintomática. Uma interpretação feita por de Azevedo; Araújo, (2007) define como micro-organismos endófitos todos aqueles cultiváveis ou não, em meio de cultura, que habitam o interior dos tecidos vegetais sem causar dano aparente ao hospedeiro e sem produzir estruturas externas que emergem nas superfícies das plantas.

A distinção entre micro-organismos endófitos, epifíticos e patogênicos depende do nicho ocupado em um determinado estágio da interação do micro-organismo com o seu hospedeiro (STROBEL et al., 2004). Não há uma exata definição para diferenciar micro-organismos endofíticos de epifíticos e patogênicos, sendo a distinção entre eles apenas didática (AZEVEDO et al., 2000). Um micro-organismo epifítico pode ser encontrado no vegetal como endofítico em certas condições, podendo também tornar-se um patógeno. Em outras circunstâncias, um patógeno é considerado um endófito (AZEVEDO, 1998; AZEVEDO et al., 2000).

No início dos anos 70 surgiram as primeiras publicações mostrando que os micro-organismos endofíticos, neste caso os fungos, podem desempenhar um papel importante no hospedeiro (AZEVEDO, 1999). Esses organismos possuem uma função bem definida nas

plantas que hospedam. Alguns possuem a capacidade de modificar morfológicamente o tecido vegetal, outros provocam modificações fisiológicas, além de aumentar a resistência a herbívoros e patógenos (AZEVEDO, 1999; SAIKKONEN et al., 1998).

Os endófitos podem também aumentar a resistência das plantas contra fatores bióticos e abióticos, e outros compostos de interesse (AZEVEDO, 1999). Além dos aspectos ambientais e biotecnológicos, o estudo desses micro-organismos tem forte interesse da comunidade acadêmica sobre a descoberta de novas espécies. Suas valiosas propriedades combinadas com sua imensa diversidade levou os cientistas a considerarem os fungos endofíticos como micro-organismos de grande destaque na microbiota dos vegetais (ARNOLD et al., 2003).

2.2.2 Importância e interações dos fungos endofíticos

Fungos endofíticos representam uma rica fonte de novos bioativos com grande potencial biotecnológico para ser aplicado na agricultura, na medicina e na indústria (SILVA et al., 2010; STROBEL, 2003). A grande variedade de metabólitos que são produzidos pelos endofíticos ainda não foi completamente estimada, mas avalia-se que seja alta, devido à versatilidade e facilidade de adaptação dos fungos (AZEVEDO et al., 2002).

Atualmente várias técnicas, reunindo conhecimentos em química, bioquímica, microbiologia e biologia molecular, têm sido utilizadas para aprimorar o uso de micro-organismos no isolamento de novos princípios ativos (SPECIAN et al., 2015). Bioativos naturais obtidos de endofíticos incluem principalmente: esteróides, xantonas, fenóis, isocumarinas, quinonas, furandionas, terpenóides, depsipeptídeos e citocalasinas (KROHN et al., 2001; SCHULZ et al., 1999; SCHULZ et al., 2002). Dentre as funções biológicas de alguns desses compostos pode-se destacar as ações: antibacteriana, antiviral, antioxidante, antifúngica, anti-helmíntica, antitumoral, antimalárica, anti-inflamatória, antituberculose, laxativa, antidiabética, imunossupressora e antiparasitária, dentre outras (ALMEIDA et al., 2014; GUIMARÃES et al., 2009; WANG; CHAO-DAI, 2010; STROBEL; DAISY, 2004). A produção desses bioativos pode conferir ao hospedeiro o controle biológico de doenças e pragas, além da capacidade de estimular o desenvolvimento da planta em condições adversas (SCHULZ et al., 2002). Os fungos endofíticos também podem produzir enzimas extracelulares incluindo, pectinase, celulase, lipoidase, proteinase, fenoloxidase, enzimas catabólicas, ligninase, dentre outras (OSES et al., 2006; TAN; ZOU, 2001). Todas essas

enzimas são necessárias para penetração e colonização na planta hospedeira, além de participarem da degradação de resíduos vegetais (CHAO-DAI, 2010).

A colonização endofítica pode ser intercelular e intracelular, qualquer tecido ou órgão do vegetal pode ser colonizado: raiz, caule, ramos, folhas, flores e frutos (MARINHO et al., 2005; SCHULZ; BOYLE, 2005).

Os mecanismos envolvidos na relação endófito-planta não são bem compreendidos, porém sabe-se que as interações podem ser simbióticas, neutras ou antagônicas (SPECIAN et al., 2015). A associação endófito-planta proporciona a existência de um ambiente sem perturbações, além do fornecimento de energia, nutrientes, abrigo, bem como proteção a estresse ambiental (SELIM et al., 2012). Por outro lado, os fungos endofíticos beneficiam a planta hospedeira através da produção de substâncias, tais como metabólitos secundários e enzimas, que são responsáveis pela adaptação das plantas aos estresses abióticos como a luz, a seca e estresses bióticos, como o ataque de herbívoros e agentes patogênicos, dentre outros benefícios (KOGEL; FRANKEN; HÜCKELHOVEN, 2006).

Em geral os fungos endofíticos podem ser transmitidos horizontalmente utilizando aberturas naturais, tais como estômatos e hidatódios presentes nas partes aéreas da planta, verticalmente pelas sementes ou penetrando através da zona radicular por ferimentos causados pela abrasão das raízes com o solo durante o crescimento (AZEVEDO, 1998).

2.2.3 Fungos endofíticos no brasil

Os fungos endofíticos apresentam uma elevada diversidade de espécies pertencentes aos filos Ascomycota e Basidiomycota, e ao subfilo Mucoromycotina. Esses organismos são descritos em associação com diferentes plantas ao redor do mundo (FERREIRA et al., 2015). Vários estudos já têm discutindo a diversidade, ecologia e aplicação biotecnológica desses fungos associados a diferentes vegetais, de diversos ambientes como florestas tropicais e temperadas, incluindo regiões do extremo ártico (ARNOLD; HERRE, 2003; FERREIRA et al., 2015; ROSA et al., 2010).

A associação endofítico-hospedeiro proporciona benefícios aos vegetais, tais como; maior resistência a herbívoros, patógenos, secas, estresse, bem como a planta associada tem habilidades competitivas melhoradas (CLAY; SCHARD, 2002). Em estudo realizado por Schulz et al. (2002), os endofíticos encontrados colonizando as raízes do hospedeiro possuíam o potencial de crescimento na rizosfera, e assim poderia melhorar a oferta de nutrientes para hospedeiro.

No Brasil, os fungos endofíticos vêm sendo encontrados associados a uma grande variedade de vegetais como briófitas, pteridófitas e plantas superiores (BEZERRA et al., 2013; COSTA; MAIA; CAVALCANTI, 2012; HILARINO et al., 2011; LIMA et al., 2014; MAGALHÃES et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014b; PEREIRA et al., 1999; STUART et al., 2010). A evidência da importância ecológica dos fungos endofíticos tem despertado o crescente interesse em relação a estes organismos nas últimas décadas (ARNOLD, 2007), demonstrando a rica diversidade desses fungos associados as plantas das florestas tropicais brasileiras. A Tabela 1 apresenta alguns dos fungos endofíticos comumente isolados em plantas no Brasil.

Tabela 1- Fungos endofíticos isolados em plantas no Brasil.

Planta hospedeira	Fungos endofíticos	Referência
<i>Avicennia schaueriana</i> , <i>Laguncularia racemosa</i> e <i>Rhizophora mangle</i>	<i>Guignardia</i> sp. e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	COSTA; MAIA; CAVALCANTI, 2012
<i>Anacardium occidentale</i> , carnaúba, aceroleira, <i>Mangifera indica</i> , <i>Manihot esculenta</i> , <i>Punica granatum</i> , <i>Ricinus communis</i> , <i>Spondias purpurea</i> , <i>S. tuberosa</i> , <i>Syagrus picrophylla</i> e <i>Syzygium jambolanum</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Guignardia</i> sp. e <i>Phaeotrichoconis crotalaria</i>	FREIRE; BEZERRA, 2001
<i>Anacardium occidentale</i>	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	CARDOSO et al., 2009
<i>Bauhinia forficata</i>	<i>Acremonium curvulum</i> , <i>Gibberella fujikuroi</i> e <i>Myrothecium verrucaria</i>	BEZERRA et al., 2015
<i>Bauhinia brevipes</i>	<i>Phomopsis</i> sp. e <i>Dothiorella</i> sp.	HILARINO et al., 2005
<i>Bactris gasipaes</i> Kunth	<i>Fusarium oxysporum</i>	ALMEIDA; YARA; ALMEIDA, 2005
<i>Caesalpinia echinata</i> Lam	<i>Pestalotiopsis maculans</i> e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	LIMA; CAVALCANTI, 2014
<i>Calotropis procera</i>	<i>Phaeoramularia calotropidi</i> e <i>Guignardia bidwellii</i>	NASCIMENTO et al., 2015
<i>Cereus jamacarcu</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Fusarium oxysporum</i>	BEZERRA et al., 2013

Continuação da Tabela 1- Fungos endofíticos isoladas em plantas no Brasil.

Planta hospedeira	Fungos endofíticos	Referência
<i>Coffea arabica</i> e <i>Vitis labrusca</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	LIMA et al., 2013
<i>Coffea arábica</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Phyllosticta capitalensis</i>	OLIVEIRA et al., 2014b
<i>Coffea arábica</i>	<i>Colletotrichum</i> sp. e <i>Cladosporium</i> sp.	BONGIORN et al., 2015
<i>Euterpe oleracea</i>	<i>Xylaria cubensis</i> e <i>Letendaeopsis palmarum</i>	RODRIGUES, 1994
<i>Eremanthus erythropappus</i>	<i>Phomopsis</i> sp. e <i>Xylaria</i> sp.	MAGALHÃES et al., 2008
<i>Gossypium</i> spp.	<i>Phomopsis archeri</i> e <i>Phoma destructiva</i> ,	VIEIRA et al., 2011
<i>Glycine max</i> L. Merrill	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. e <i>Penicillium</i> sp.	PIMENTEL et al., 2006
<i>Indigofera suffruticosa</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ,	SANTOS et al., 2015
<i>Lippia sidoides</i> Cham.	<i>Pseudocochliobolus pallescens</i>	SIQUEIRA et al., 2011
<i>Melia azedarach</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	SANTOS, 2003
<i>Musa acuminata</i>	<i>Aspergillus</i> sp. e <i>Penicillium</i> sp.	PEREIRA; VIEIRA; AZEVEDO, 1999
<i>Malus domestica</i>	<i>Xylaria</i> sp. e <i>Colletotrichum musea</i>	SARTORI et al., 2005
<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Xylaria</i> sp. e <i>Botryosphaeria</i> sp.	BEZERRA et al., 2012
<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill.	<i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>C. sphaerospermum</i>	FREIRE et al., 2015
<i>Pinus taeda</i> L.	<i>Chrysonilia sitophila</i> , <i>Penicillium funiculosum</i>	PIMENTAL; FIGURA; AUER, 2010
<i>Rhizophora mangle</i> , <i>Avicennia schaueriana</i> e <i>Laguncularia racemosa</i>	<i>Xylaria</i> sp.	SEBASTIANES et al., 2013
<i>Saccharum</i> L.	<i>Diaporthe</i> sp., <i>Colletotrichum</i> sp. e <i>Fusarium</i> sp.	STUART et al., 2010
<i>Spondias mombin</i>	<i>Fusarium</i> sp. e <i>Xylaria</i> sp.	RODRIGUES; SAMUELS, 1999
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Guignardia</i> sp.	CARVALHO et al., 2012
<i>Theobroma cacao</i> L.	<i>Diaporthe phaseolorum</i> e <i>Guignardia camelliae</i> ,	RUBINI et al., 2005
<i>Vitis labrusca</i>	<i>Fusarium</i> spp.	LIMA; BEZERRA; CAVALCANTI, 2012
<i>Vitis labrusca</i>	<i>Phaeotrichoconis crotalariae</i>	LIMA et al., 2014
<i>Vitis labrusca</i>	<i>Khuskia oryzae</i> e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	BRUM et al., 2012
<i>Vitis labrusca</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e <i>Diaporthe helianthi</i>	RODRIGUES; MENEZES, 2002
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Aspergillus niger</i> e <i>Penicillium variable</i>	

2.2.4 Fungos endofíticos em gramíneas

Espécies pertencentes a família Poaceae são coabitadas por uma rica fonte de fungos endofíticos (CLAY, 1990; LORO et al., 2012). Estudos demonstram a atuação desses microorganismos no condicionamento físico e ecológico dos vegetais, além de produzirem diversos metabólitos essenciais para o desenvolvimento da planta hospedeira (KULDAU; BACON, 2008; RODRIGUEZ; REDMAN, 2008; RODRIGUEZ et al., 2009; WHITE; TORRESWHITE, 2010).

No geral, fungos endofíticos são onipresentes e extremamente diversificados no hospedeiro, habitando tecidos de plantas, folhas, caules, cascas, pecíolos e estruturas reprodutivas (FAETH; FAGAN, 2002). A diversidade de espécies de fungos endofíticos isolados no vegetal é afetada por vários fatores, tais como temperatura, salinidade, fauna, flora, distribuição geográfica, idade da planta, condições fisiológicas do vegetal e condições sazonais (GAMBOA; BAYMAN, 2001; PETRINI; STONE; CARROLL, 1992).

Sabe-se também que o método de isolamento utilizado em cada estudo influencia na diversidade da comunidade endofítica (ARNOLD; HERRE, 2003; HYDE; SOYTONG, 2008; MÁRQUEZ et al., 2012). Esses fatores podem intervir nas interações endofítico-hospedeiro, causando algum efeito sobre as atividades fisiológicas dos tecidos vegetais (MÁRQUEZ et al., 2012). A interação endofítico-gramínea pode proteger a planta hospedeira de herbívoros e patógenos, e também melhorar a aptidão e habilidades competitivas das plantas, tal como aumentar a tolerância à seca (LATCH, 1997).

A composição da micobiota de gramíneas varia consideravelmente entre plantas e seus habitats (MÁRQUEZ et al., 2012). A Tabela 2 apresenta alguns dos fungos endofíticos comumente isolados de gramíneas. Esses micro-organismos podem apresentar preferência de colonização de acordo com a textura do tecido e alterações na fisiologia e química do vegetal (PHOTITA et al., 2001). Recentes estudos têm mostrado que espécies de fungos endofíticos pertencentes a família Clavicipitaceae (CLAY, 1990), principalmente pertencentes aos gêneros *Neotyphodium* e *Epichloë*, estão comumente associadas a gramíneas, e são caracterizadas como simbiontes intercelulares e biotróficos obrigatórios (KULDAU; BACON, 2008). Vários trabalhos já têm mostrado que a maioria ou todas as espécies de gramíneas são infectadas por fungos endofíticos (KULDAU; BACON, 2008; MARQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2007, PORRAS-ALFARO et al., 2008).

Na literatura é conhecido apenas um estudo da associação de fungos endofíticos em *S. bicolor* (L.) Moench (ZIDA et al., 2014). Esses autores estudaram a ocorrência e distribuição de fungos endofíticos em folhas, caules e raízes de sorgo em zonas agroecológicas de Burkina Faso na África. Outros estudos de fungos endofíticos associados a gramíneas foram realizados nos Estados Unidos por Khidir et al., (2010) que estudaram a comunidade desses organismos associadas com raízes de *Bouteloua gracilis* e *Sporobolus cryptanthus*. Morakotkarn; kawasaki; Seki, (2007) avaliaram a comunidade de fungos endofíticos associados com bambu no Japão e Saikkonen et al., (2000) examinaram a comunidade desses fungos em gramíneas de interesse econômico e nativas na Finlândia. Na Argentina, a associação de fungos

endofíticos tem sido relatada em 36 espécies de gramíneas nativas, pertencentes aos seguintes gêneros: *Briza*, *Bromus*, *Festuca*, *Melica*, *Phleum* e *Poa* (IANNONE et al., 2012).

Os fungos endofíticos podem conferir diversos benefícios aos hospedeiros, incluindo o aumento da capacidade de sobreviverem em ambientes extremos, tais como regiões áridas, desérticas e regiões árticas. Redman et al., (2011) relataram o potencial de *Fusarium* sp. e *Cochliobolus* sp. associados ao arroz, demonstrando a capacidade que esses fungos possuem de colonizar e conferir tolerância as plantas a baixas temperaturas e alta salinidade, além de aumentar o crescimento, biomassa e rendimento do vegetal.

Tabela 2- Fungos endofíticos isolados de gramíneas (adaptado de MÁRQUEZ et al., 2012).

Gramíneas	Táxon dominante	Referência
<i>Ammophila arenaria</i>	<i>Alternaria</i> sp. e <i>Podospora</i> sp.	MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGÉAZCOA, 2008
<i>Bouteloua gracilis</i>	<i>Pleosporales</i> , <i>Sordariales</i> e <i>Agaricales</i>	PORRAS ALFARO et al., 2008
<i>Bouteloua gracilis</i>	<i>Paraphaeospheria</i> sp., <i>Moniliophthora</i> sp. e	KHIDIR et al., 2010
<i>Sporobolus cryptandrus</i>	<i>Fusarium</i> sp.	
<i>Bothriochloa macra</i>	<i>Alternaria</i> sp., <i>Periconia</i> sp. e <i>Phoma</i> sp.	WHITE; BACKHOUSE, 2007
<i>Bambu spp.</i>	<i>Xylariales</i>	MORAKOTKARN; KAWASAKI; SEKI, 2007
<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Cladosporium</i> sp., <i>Helgardia</i> sp. e <i>Acremonium</i> sp.	MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGÉAZCOA, 2007
<i>Deschampsia antarctica</i>	<i>Alternaria</i> sp. e <i>Phaeosphaeria</i> sp.	ROSA et al., 2009
<i>Elymus farctus</i>	<i>Alternaria</i> sp., <i>Podospora</i> sp. e <i>Acremonium</i> sp.	MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGÉAZCOA, 2008
<i>Festuca arizonica</i>	<i>Neotyphodium</i> sp.	SCHULT; FAETH, 1998
Gramíneas tropicais	<i>Phoma</i> sp. e <i>Cochliobolus</i> sp.	LORO et al., 2012
Gramíneas tropicais	<i>Acremonium</i> sp.	WHITE, 1987
Gramíneas tropicais	<i>Xylariales</i> , <i>Halosphaeriales</i> e <i>Phyllachlorales</i>	HIGGINS et al., 2011
<i>Hordeum comosum</i>	<i>Epichloë</i> sp.	IANNONE et al., 2015
<i>Holcus lanatus</i>	<i>Alternaria</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp e <i>Penicillium</i> sp.	MÁRQUEZ et al., 2010
<i>Hyparrhenia hirta</i>	<i>Khuskia</i> sp., <i>Periconia</i> sp. e <i>alternaria</i>	WHITE; BACKHOUSE, 2007
<i>Oryza</i>	<i>Alternaria</i> sp. e <i>Cladosporium</i> sp.,	FISHER; PETRINI, 1992
<i>Oryza rufipogon</i> Griff	<i>Phoma</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp. e <i>Penicillium</i> sp.	WANG et al., 2015
<i>Oryza granulata</i>	<i>Sordariomycetes</i> e <i>Dothideomycetes</i>	YUAN et al., 2011
<i>Phragmites australis</i>	<i>Microdochium</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp. e <i>Trichoderma</i> sp.	WIRSEL et al., 2002
<i>Sorghum bicolor</i>	<i>Fusarium</i> sp. e <i>Curvularia</i> sp.,	ZIDA et al., 2014
<i>Phragmites australis</i>	<i>Alternaria</i> sp., <i>Sporormiella</i> sp. e <i>Rhizoctonia</i> sp.	PELAEZ et al., 1998
<i>Stipa grandis</i>	<i>Pyrenopora</i> sp., <i>Alternaria</i> sp. e <i>Phialophora</i> sp.	SU et al., 2010
<i>Stipa tenacissima</i>	<i>Alternaria</i> sp., <i>Sporormiella</i> sp. e <i>Rhizoctonia</i> sp.	PELAEZ et al., 1998
<i>Stipa tenacissima</i>	<i>Alternaria</i> sp., <i>Epicoccum</i> sp. e <i>Idriella</i> sp.	SIEBER et al., 1988
<i>Zea</i>	<i>Alternaria</i> sp., <i>Aureobasidium</i> sp. e <i>Acremonium</i> sp.	FISHER et al., 1992
<i>Triticum</i>	<i>Neotyphodium</i> sp. e <i>Acremonium</i> sp.	MARSHALL et al., 1999

Estudos da associação de fungos endofíticos com gramíneas de regiões semiáridas foram realizados nos Estados Unidos por Porrás-Alfaro et al., (2008) que observaram uma alta diversidade de fungos endofíticos associados a raízes de *Bouteloua gracilis*. Loro et al., (2012) avaliaram a diversidade desses organismos em 13 gramíneas na Venezuela. Em estudo realizado por Rosa et al., (2009) em *Deschampsia antarctica* Desv. no continente antártico, apenas 26 isolados de fungos endófitos foram obtidos a partir de 273 fragmentos de folhas, sugerindo que a baixa frequência e diversidade desses fungos pode ser devido as condições extremas dos ecossistemas antárticos.

O estudo da diversidade de fungos endofíticos em gramíneas é de extrema importância, de modo a descobrir novos táxons e seus efeitos benéficos ao vegetal. Assim, uma visão mais abrangente da ecologia e da diversidade desses fungos, bem como suas interações entre plantas hospedeiras torna-se essencial (WEI et al., 2007).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAIS DE COLETA

As folhas de sorgo foram coletadas em cultivos irrigados localizados nas Estações Experimentais de Itapirema (Goiana) e Serra Talhada, pertencentes ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizadas nas mesorregiões da Zona da Mata e do Sertão de Pernambuco, respectivamente.

3.2 COLETA DO MATERIAL

Nos meses de agosto e outubro/2014 e dezembro e março/2015 foram realizadas quatro coletas nas duas áreas. As características climáticas para cada área (durante o período de coleta) foram registradas (Tabela 3). Cada coleta compreendeu o período de pré e pós-floração em Goiana (Figura 1) e em Serra Talhada (Figura 2). As coletas foram realizadas em duas variedades de sorgo, IPA 2502 e IPA SF15. Para cada coleta foram delimitadas quatro parcelas em cada área de estudo. Em cada parcela foram escolhidos três espécimes do vegetal em três pontos aleatórios nos quais foram retiradas seis folhas aleatoriamente, acondicionadas em sacos de papel devidamente etiquetados, e transportadas ao Laboratório I da Pós-Graduação em Biologia de Fungos, para manipulação, no tempo máximo de 24 horas. Dessa forma foram coletadas 54 folhas por parcela × quatro parcelas × dois períodos (pré e pós-floração) × duas coletas × duas áreas de coleta, o que totalizou 1728 folhas para o estudo.

Figura 1- Cultivo de *Sorghum bicolor* no período de pré (A) e pós-floração (B) em Goiana, Pernambuco.



Fonte: Rejane silva, 2015.

Figura 2- Cultivo de *Sorghum bicolor* no período de pré (A) e pós-floração (B) em Serra Talhada, Pernambuco.



Fonte: Rejane silva, 2015.

Tabela 3- Densidade Pluviométrica e temperatura das áreas de coleta nos municípios de Goiana e Serra Talhada, Pernambuco.

	Coleta (mês/ano)	Densidade Pluviométrica (mm)	Temperatura (°C)	
			Máxima	Mínima
Goiana	Agosto/2014	131.1	30	24
	Outubro/2014	82.1	29	24
	Dezembro/2014	6.1	38	22
Serra Talhada	Março/2015	116.7	35	24

Fonte: Apac: Agência Pernambucana de Águas; Sistema de Monitoramento Agrometeorológico (Agritempo)

3.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

As folhas coletadas foram lavadas com água corrente e detergente neutro, fragmentadas em discos foliares de 5 mm de diâmetro e desinfestadas em álcool 70% por 30 segundos e em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% por 3 minutos. Em seguida o material foi lavado 2 vezes em água destilada esterilizada (modificado de ARAÚJO et al., 2001; BRUM et al., 2012).

Seis discos das folhas foram transferidos para placas de Petri, em triplicata, contendo ágar malte acrescido de cloranfenicol (50 mg L^{-1}), incubados em temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) e observados diariamente por até 15 dias quanto ao desenvolvimento das colônias fúngicas ao redor do disco. Para o controle da assepsia, 50 μL da água utilizada foram plaqueados em ágar malte como comprovação da desinfestação superficial (PEREIRA, 1993).

Após crescimento das colônias, fragmentos de micélio foram transferidos para tubos de ensaio contendo meio ágar malte para posterior identificação das espécies com base nas características macro e microestruturais das estruturas somáticas e reprodutiva foram observados, utilizando literatura específica (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1993; ELLIS, 1971; ELLIS, 1976; KIRK; COOPER, 2005, entre outras). Quando necessário, utilizou-se diferente meio de cultura para promover a esporulação fúngica, BDA (batata, dextrose, ágar), ágar germen de trigo, ágar aveia e ágar V-8.

3.4 ANÁLISE DOS DADOS

3.4.1 Diversidade

A análise ecológica da diversidade de espécies (morfotipos/filotipos) foi calculada utilizando os índices de riqueza de espécies; número de isolados e diversidade (Shannon H'), sendo utilizado o software PAST versão 1.79 (HAMMER et al., 2001). Curvas de acumulação de espécies também foram calculadas para cada área, o que permitiu estimar a riqueza total de cada área a partir de estimativas de Jackknife 1. Para essas análises multivariadas foi utilizado o programa Primer (CLARKE; GORLEY, 2006).

3.4.2. Similaridade

Para o cálculo da similaridade entre as comunidades de fungos endofíticos isolados nas duas áreas, entre os períodos (pré e pós-floração) e entre as variedades de sorgo (IPA SF15 e IPA 2502) foi utilizado o Coeficiente de Similaridade de SORENSEN (1948): $Ss = (2w/a+b) \times 100$, com auxílio do programa Primer (CLARKE; GORLEY, 2006).

3.5 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO (PCR) E SEQUENCIAMENTO

A biomassa dos fungos foi obtida a partir de culturas desenvolvidas em ágar malte, mantidos a 28°C por até seis dias em tubo de ensaio. Todo micélio foi retirado do tubo de ensaio com auxílio de uma alça de platina, sendo o material transferido para microtubos de 2 ml com tampa de rosca, acrescidos de 0,5 g de contas de vidro (glass beads) com dois diâmetros diferentes na proporção de 1:1 (acid-washed, 150-212 µm and 425-600 µm; Sigma, U.S. sieve). O material foi triturado por agitação em alta velocidade em um FastPrep (OLIVEIRA et al., 2014a).

A extração do DNA genômico foi realizada, com o material previamente triturado, conforme GÓES-NETO; LOGUERCIO-LEITE; GUERRERO, (2005), que inclui homogeneização do material em tampão CTAB 2% (brometo de cetiltrimetilamônio) e uma lavagem com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 µL de água ultrapura.

Para amplificação da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) foram utilizados os primers ITS1 e ITS4 (WHITE et al., 1990). Os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes (dNTPs, cloreto de magnésio, Taq DNA polimerase e tampão de reação) foram os mesmos descritos por OLIVEIRA et al. (2014a). Controles negativos, contendo todos os componentes exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações.

Os produtos das extrações de DNA e das reações (5 µL) de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram visualizados sob luz UV, a partir de gel de agarose 1%, corado com GelRed. Os produtos de amplificação foram purificados com o “PureLink PCR Purification Kit” (Invitrogen), seguindo as instruções do fabricante, e encaminhados para a plataforma de sequenciamento no Laboratório de Biologia Molecular e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de Pernambuco.

3.6 ANÁLISE FILOGENÉTICA

As sequências obtidas foram alinhadas com outras recuperadas do GenBank com o auxílio do programa Clustal X (LARKIN et al., 2007) e editadas usando o programa BIOEDIT (HALL, 1999). Antes da análise filogenética, o modelo de substituição nucleotídica foi estimado utilizando Topali 2.5 (MILNE et al., 2004). A caracterização molecular final foi realizada com a avaliação filogenética e construção de árvore Bayesiana utilizando o

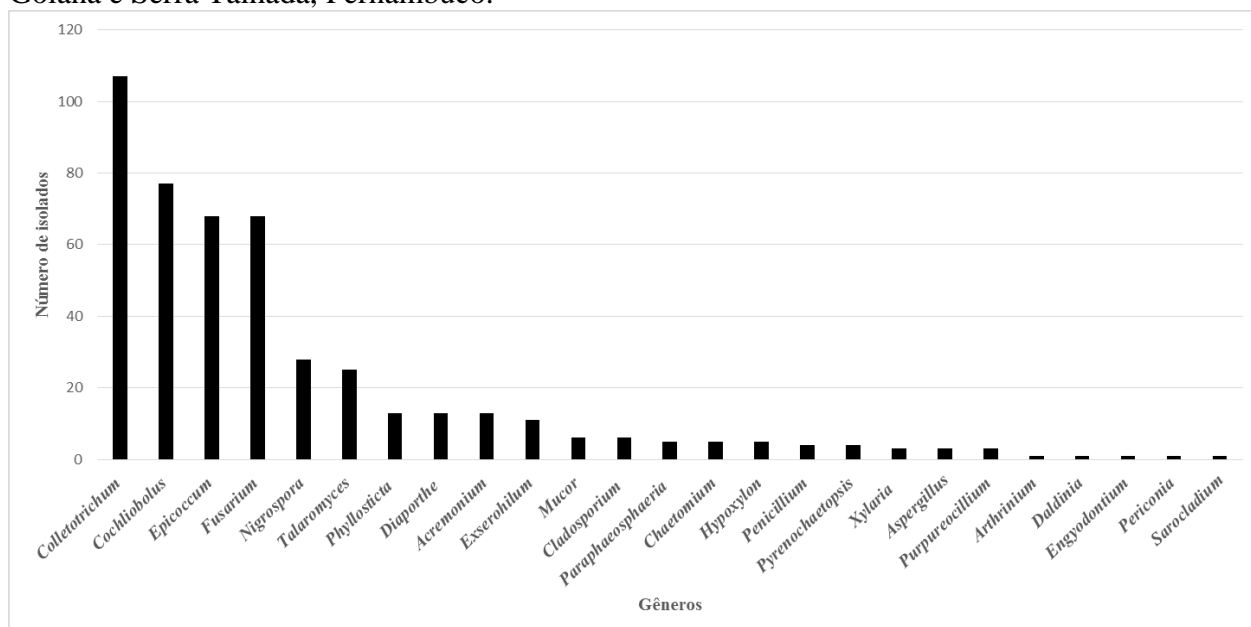
programa MrBayes 3.1.2 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003), executado a partir do programa Topali 2,5.

4 RESULTADOS

4.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE FOLHAS DE *Sorghum bicolor*

Dos 1728 discos foliares de sorgo em meio de cultura 476 fungos endofíticos foram isolados distribuídos em 30 morfotipos e 10 filotipos (Tabela 4). Dentre os gêneros identificados *Colletotrichum*, *Cochliobolus* e *Epicoccum* foram os mais abundantes com 107, 77 e 68 isolados, respectivamente (Figura 3).

Figura 3- Gêneros isolados em folhas de *Sorghum bicolor* coletadas nos municípios de Goiana e Serra Talhada, Pernambuco.



Fonte: Rejane silva, 2015.

As espécies que ocorreram em maior número foram representadas por *Cochliobolus hawaiiensis*, *Colletotrichum falcatum* e *Epicoccum sorghi* (Tabela 4). Alguns táxons foram considerados raros, a maioria sendo representada por apenas um isolado. Apesar da maior parte pertencer ao filo Ascomycota, três foram representantes do filo Mucoromycotina (*Mucor irregularis*, *Mucor indicus* e *Mucor* sp.).

Silva, R.M.F. DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS FILAMENTOSOS...

Tabela 4 - Número de isolados de fungos endofíticos de sorgo nas variedades IPA2502, IPASF15 e nos períodos fenológicos nos municípios de Goiana e Serra Talhada/PE.

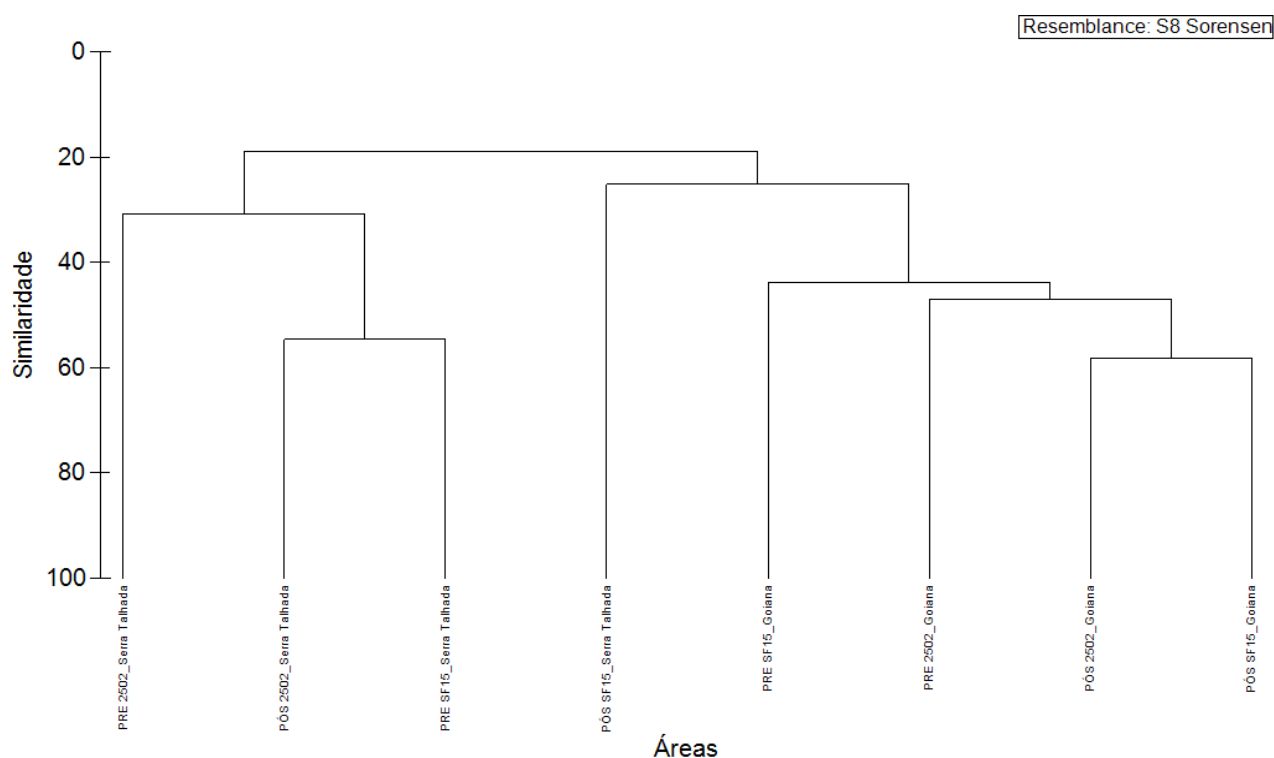
Fungos endofíticos	Goiana				Serra Talhada				Total
	Variedade IPA2502		Variedade IPASF15		Variedade IPA 2502		Variedade IPASF15		
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	
<i>Acremonium borodinense</i> Tad. Ito, Okane, Nakagiri & W. Gams	-	-	-	-	1	12	-	-	13
<i>Arthrimum</i> sp.*	-	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	2	-	1	-	-	-	-	-	3
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. & Sacc.	11	9	13	6	-	-	-	-	39
<i>Colletotrichum falcatum</i> (Speg.) Arx & E. Müll	-	31	2	35	-	-	-	-	68
<i>Cladosporium</i> sp.*	-	-	3	-	3	-	-	-	6
<i>Cochliobolus hawaiiensis</i> Alcorn (= <i>Curvularia hawaiiensis</i> (Bugnic. ex M.B. Ellis) Manamgoda, L. Cai & K.D. Hyde)	3	23	-	50	-	-	1	-	77
<i>Chaetomium nigricolor</i> L.M. Ames	1	-	4	-	-	-	-	-	5
<i>Daldinia</i> sp.*	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Diaporthe</i> sp. 1*	2	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Diaporthe</i> sp. 2*	2	2	-	-	-	-	-	-	4
<i>Diaporthe arengae</i> R.R. Gomes, C. Glienke & Crous	-	-	1	-	-	-	-	-	1
<i>Diaporthe endophytica</i> R.R. Gomes, C. Glienke & Crous	2	-	-	2	2	-	-	-	6
<i>Epicoccum sorghi</i> (Sacc.) Aveskamp, Gruyter & Verkley	5	35	-	28	-	-	-	-	68
<i>Engyodontium album</i> (Limber) de Hoog	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Exserohilum rostratum</i> K.J. Leonard	1	1	1	1	-	3	3	1	11
<i>Fusarium oxysporum</i> E.F. Sm. & Swingle	-	6	-	5	-	-	-	-	11
<i>Fusarium acutatum</i> Nirenberg & O'Donnell	-	1	-	1	-	1	3	-	6
<i>Fusarium verticillioides</i> (Sacc.) Nirenberg	10	19	4	15	-	-	-	3	51
<i>Hypoxyton griseobrunneum</i> Berk. & Broome	2	-	1	-	-	-	-	1	4
<i>Hypoxyton</i> sp.*	-	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>Khuskia oryzae</i> H.J. Huds	1	10	1	16	-	-	-	-	28
<i>Mucor irregularis</i> Stchigel, Cano, Guarro & E. Álvarez	3	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Mucor indicus</i> Lendn	-	1	1	-	-	-	-	-	2
<i>Mucor</i> sp.*	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Magnaporthales*	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.*	1	2	1	-	-	1	-	-	5
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	-	-	-	1	3	-	-	-	4
<i>Periconia macrospinoso</i> Lefebvre & Aar.G. Johnson	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson	-	-	2	-	-	1	-	-	3
<i>Phyllosticta capitalensis</i> Henn	-	3	7	3	-	-	-	-	13
<i>Pyrenochaetopsis</i> sp. 1*	1	2	-	-	-	-	-	-	3
<i>Pyrenochaetopsis</i> sp. 2*	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Sordariomycetes 1*	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Sordariomycetes 2*	1	-	-	1	-	-	-	-	2
<i>Sarocladium bacillisporum</i> (Onions & G.L. Barron) Summerb	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>Talaromyces apiculatus</i> Samson, N. Yilmaz & Frisvad	-	1	1	-	6	11	6	-	25
<i>Xylaria feejeensis</i> (Berk.) Fr	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Xylariales 1*	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Xylariales 2*	-	-	-	-	-	-	-	1	1
TOTAL DE ISOLADOS	52	151	43	164	17	30	13	6	476

Obs. Os morfotipos/filotipos encontrados no trabalho são marcados com *

Fonte: o autor, (2015)

O dendrograma gerado a partir da análise de similaridade pelo índice de Sorensen, mostrou que na área de Goiana as comunidades de fungos endofíticos foram mais similares entre si nos períodos de pré e pós-floração. Entretanto, em Serra Talhada não houve correlação da similaridade de acordo com o período fenológico entre as diferentes coletas (Figura 4).

Figura 4 - Dendrograma de similaridade dos fungos endófitos isolados de folhas das variedades IPA SF15 e IPA 2502 de *Sorghum bicolor* nos períodos de pré e pós-floração coletados em Goiana e Serra Talhada, Pernambuco



Fonte: Rejane silva, 2015.

A área de Goiana apresentou maior riqueza de espécies (morfotipos/filotipos), maior número de isolados e maior diversidade (Tabela 5).

A riqueza de espécies de fungos endofíticos foi similar nos dois períodos de pré e pós-floração em Goiana, no entanto o número de isolados foi diferente. O índice de diversidade de Shannon foi maior no período de pré-floração, indicando que, apesar do relativo baixo número de isolados, a diversidade de espécies se sobressaiu neste período. Em Serra Talhada a riqueza de espécies foi igual nos dois períodos, porém houve diferença quanto ao número de isolados (Tabela 5).

Tabela 5 - Riqueza de espécies (morfotipos/filotipos), número de isolados e índice de Shannon de fungos endofíticos isolados em folhas de Sorgo nos municípios de Goiana e Serra Talhada (S.T) e entre os períodos de pré e pós-floração.

	Goiana	S.T.	Goiana pré-floração	Goiana pós-floração	S.T. pré-floração	S.T. pós-floração
Riqueza de espécies	35	16	27	23	10	10
Número de isolados	410	66	95	315	30	36
Shannon H	2,505	2,131	2,759	2,129	1,922	1,777

Em Goiana a riqueza de espécies (morfotipos/filotipos) e o índice de Shannon encontrados na variedade IPA 2502 foram maiores que a variedade IPA SF15, mostrando que a diversidade na comunidade de fungos endofíticos é maior na variedade IPA 2502. Em Serra Talhada a variedade IPA SF15 apresentou menor número de isolados e uma menor riqueza de espécies (Tabela 6).

Tabela 6 - Riqueza de espécies (morfotipos/filotipos), número de isolados e índice de Shannon de fungos endofíticos isolados em folhas de *Sorghum bicolor* nas variedades IPA 2502 e IPASF15 nos municípios Goiana e Serra Talhada.

	Goiana IPA 2502	Goiana SF15	Serra Talhada IPA 2502	Serra Talhada IPA SF15
Riqueza de espécies	31	22	12	7
Número de isolados	203	207	47	19
Shannon H	2,559	2,306	1,876	1,74

4.2 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE FOLHAS DE *S. bicolor* DURANTE OS PERÍODOS DE PRÉ E PÓS-FLORAÇÃO

Foi analisada a diversidade de fungos endofíticos nos períodos de pré e pós-floração de *S. bicolor* nas diferentes áreas de estudo. Em Goiana foram isolados 410 espécimes de fungos endofíticos, sendo 95 táxons encontrados no período de pré-floração e 315 no período de pós-floração (Tabela 4).

No período de pré-floração *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium verticillioides* foram as espécies de maior ocorrência (Tabela 4). A maioria dos táxons ocorreram em menor número (um ou dois isolados) e foram considerados raros. *Aspergillus terreus*, *Cladosporium* sp., *Chaetomium nigricolor*, *Daiaporthe* sp. 1, *Diaporthe arengae*, *Hypoxylon griseobrunneum*, *Mucor irregularis*, *Mucor* sp., *Periconia macrospinoso*, *Purpureocillium lilacinum*, *Pyrenochaetopsis* sp. 2 e um isolado pertencente a ordem Magnaporthales foram os táxons que ocorreram apenas no período de pré-floração.

No período de pós-floração *Cochliobolus hawaiiensis*, *Colletotrichum falcatum* e *Epicoccum sorghi* foram as espécies mais representativas. Já *Arthrimum* sp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium acutatum*, *Hypoxylon* sp., *Penicillium citrinum*, *Xylaria feejeensis*,

além de um isolado pertencente a classe Sordariomycetes e um representates da ordem Xylariales, foram registrados apenas no período de pós-floração.

Em Serra Talhada foram isolados 66 espécimes de fungos endofíticos, sendo 30 no período de pré-floração e 36 no período de pós-floração (Tabela 4). *Talaromyces apiculatus* foi a espécie mais abundante na pré-floração, enquanto *Acremonium borodinense* foi a mais representativa na pós-floração.

Daldinia sp., *Diaporthe endophytica*, *Cladosporium* sp., *Cochliobolus hawaiiensis*, *Penicillium citrinum* e *Sarocladium bacillisporum* foram os táxons que ocorreram apenas no período de pré-floração. Já *Engyodontium album*, *Hypoxyton griseobrunneum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Paraphaeosphaeria* sp. e um isolado pertencente a ordem Xylariales foram os táxons encontrados apenas no período de pós-floração.

4.3 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ENTRE AS VARIEDADES DE SORGO IPA 2502 E IPA SF15 EM GOIANA/PE

A diversidade de fungos endofíticos foi analisada quanto as variedades de sorgo. 203 espécimes de fungos foram isolados na variedade IPA2502, os quais estão distribuídos em 31 morfotipos/filotipos. *Epicoccum sorghi* e *Colletotrichum falcatum* foram as espécies que apresentaram maior número de isolados (Tabela 4).

Na variedade IPA SF15 ocorreram 207 espécimes de fungos endofíticos distribuídos em 22 morfotipos/filotipos. As espécies *Cochliobolus hawaiiensis* e *Colletotrichum falcatum* foram as mais representativas. Quatro táxons, *Diaporthe arengae*, *Purpureocillium lilacinum*, *Cladosporium* sp. e *Penicillium citrinum* ocorreram exclusivamente na variedade IPA SF15 (Tabela 4).

4.4 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ENTRE AS VARIEDADES DE SORGO IPA 2502 E IPA SF15 EM SERRA TALHADA/PE

Em Serra Talhada foram isolados 66 fungos endofíticos, sendo 47 espécimes associados a variedade IPA 2502 e 19 a variedade IPA SF25 (Tabela 4).

As espécies *Acremonium borodinense* e *Talaromyces apiculatus* foram as mais representativas. Os táxons *Acremonium borodinense*, *Daldinia* sp., *Cladosporium* sp., *Engyodontium album*, *Paraphaeosphaeria* sp., *Penicillium citrinum*, *Purpureocillium lilacinum* e *Sarocladium bacillisporum* ocorreram apenas na variedade IPA 2502. Enquanto *Cochliobolus hawaiiensis*, *Fusarium verticillioides*, *Hypoxyton griseobrunneum* e um isolado pertencente a ordem Xylariales foram exclusivos para variedade IPA SF15.

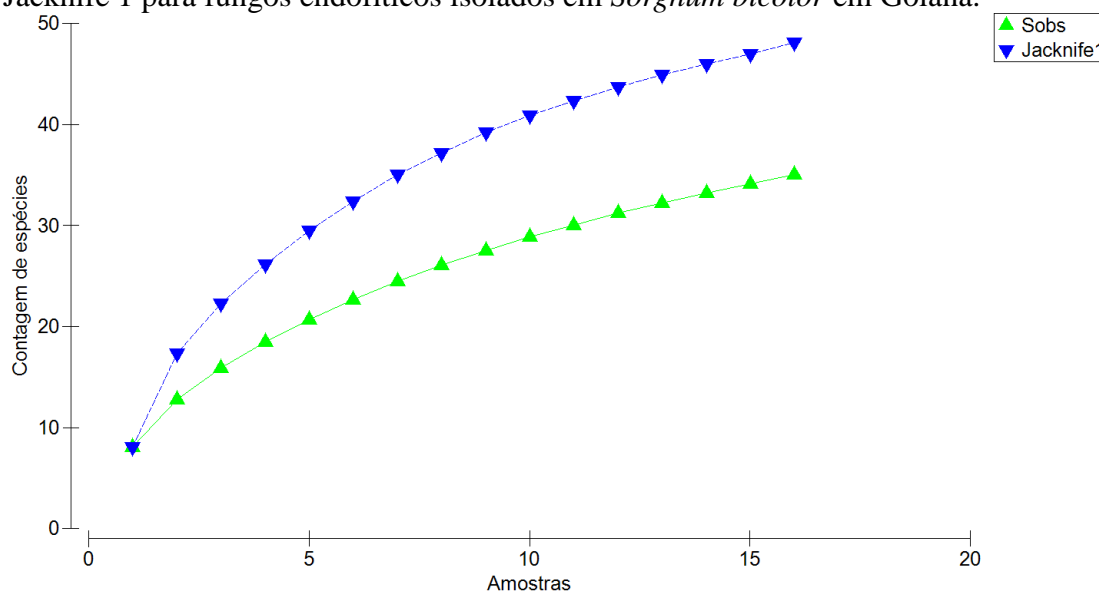
4.5 DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE *S. bicolor* POR ÁREA DE COLETA

A diversidade de fungos endofíticos foi analisada de acordo com a área de coleta. Em Goiana foram isolados 410 espécimes de fungos endofíticos distribuídos em 35 morfotipos/filotipos. As espécies mais representativas foram *Cochliobolus hawaiiensis*, *Epicoccum sorghi*, *Colletotrichum falcatum* e *Fusarium verticillioides* (Tabela 4). *Arthrinium* sp., *Chaetomium nigricolor*, *Diaporthe arengae*, *Mucor irregularis*, *Mucor* sp., *Mucor indicus*, *Periconia macrospinoso*, *Purpureocillium lilacinum* e *Xylaria feejeensis* foram os táxons que ocorreram em menor número, sendo considerados raros na área de Goiana.

Em Serra Talhada foram isolados 66 espécimes distribuídos em 16 morfotipos/filotipos de fungos endofíticos (Tabela 4). *Acremonium borodinense*, *Daldinia* sp., *Engyodontium album*, *Sarocladium bacilliforme* e um isolado pertencente a ordem Xylariales foram os táxons exclusivos para área de Serra Talhada.

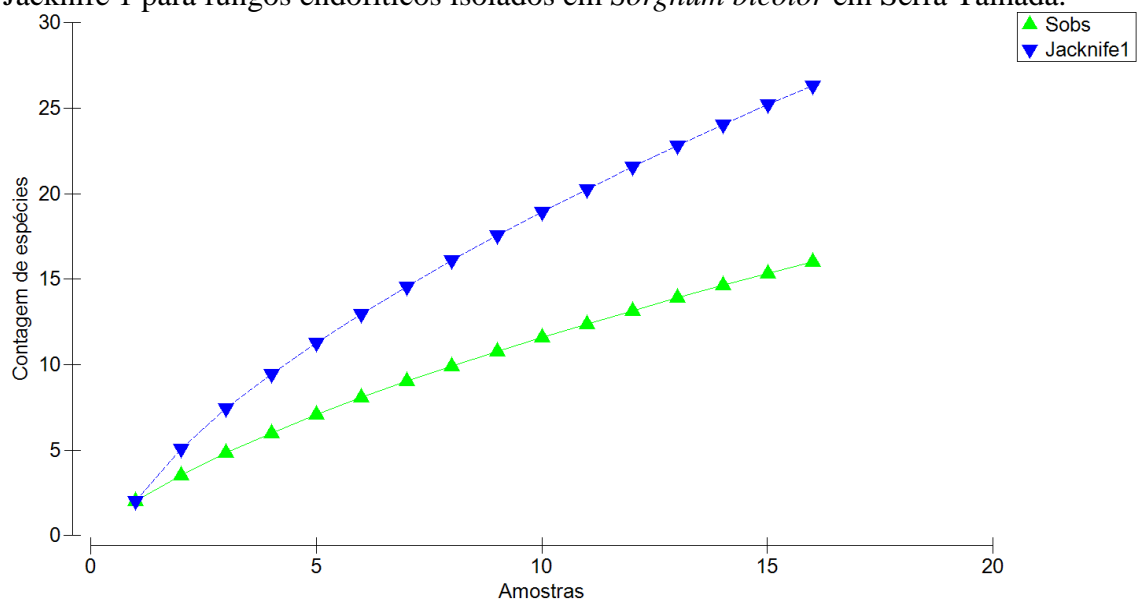
De acordo com a estimativa pelo índice Jackknife, a riqueza de espécies (morfotipos/filotipos) de fungos endofíticos observada em cultivares de sorgo de Goiana foi de 35 táxons, enquanto o esperado seria de 48 (Figura 5). Em Serra Talhada a riqueza observada foi de 16 espécies e a esperada equivalente a 26 táxons (Figura 6).

Figura 5 - Curva de acumulação de espécies (Sob) e de estimativa de riqueza pelo índice Jackknife 1 para fungos endofíticos isolados em *Sorghum bicolor* em Goiana.



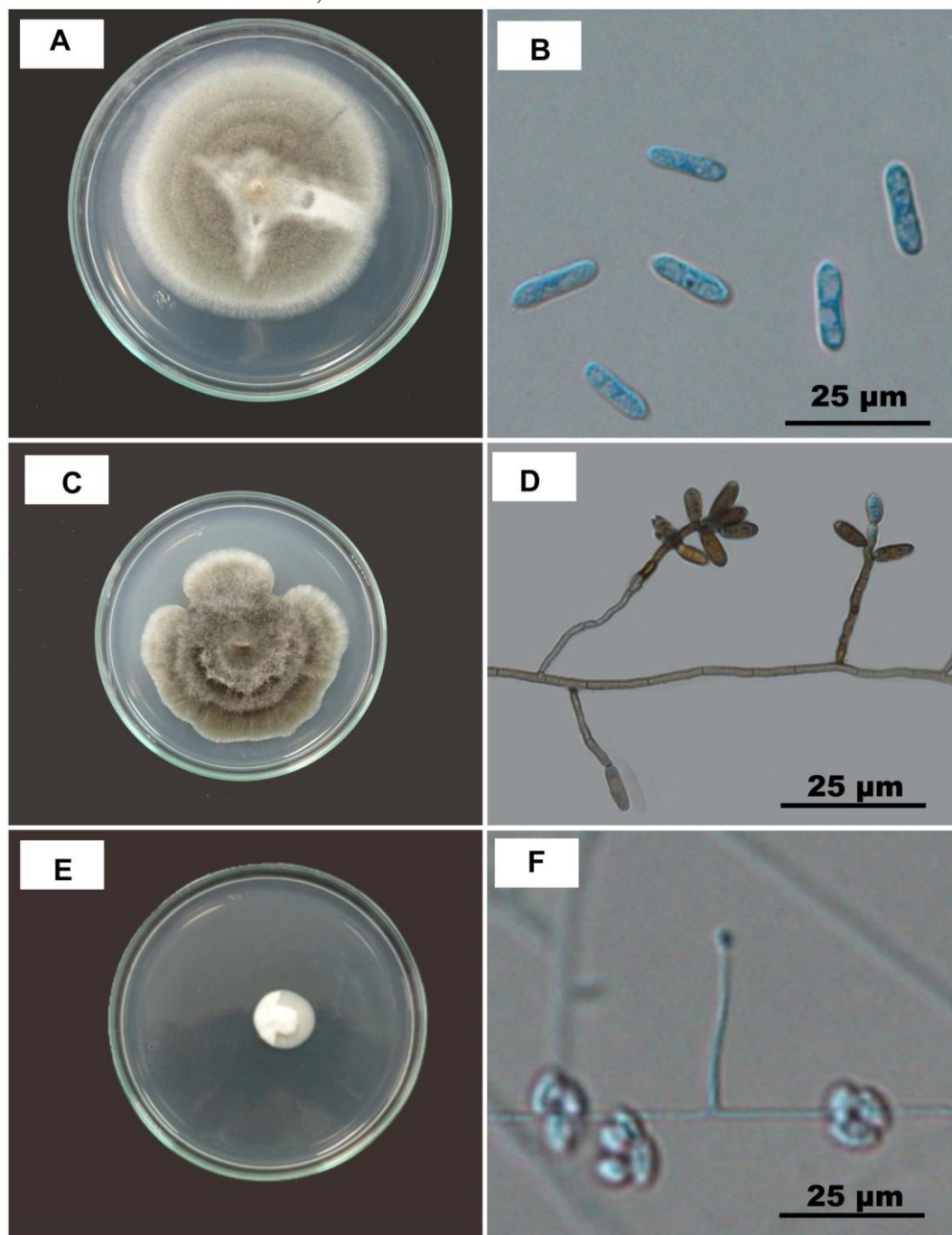
Fonte: Rejane silva, 2015.

Figura 6 - Curva de acumulação de espécies (Sob) e de estimativa de riqueza pelo índice Jacknife 1 para fungos endofíticos isolados em *Sorghum bicolor* em Serra Talhada.



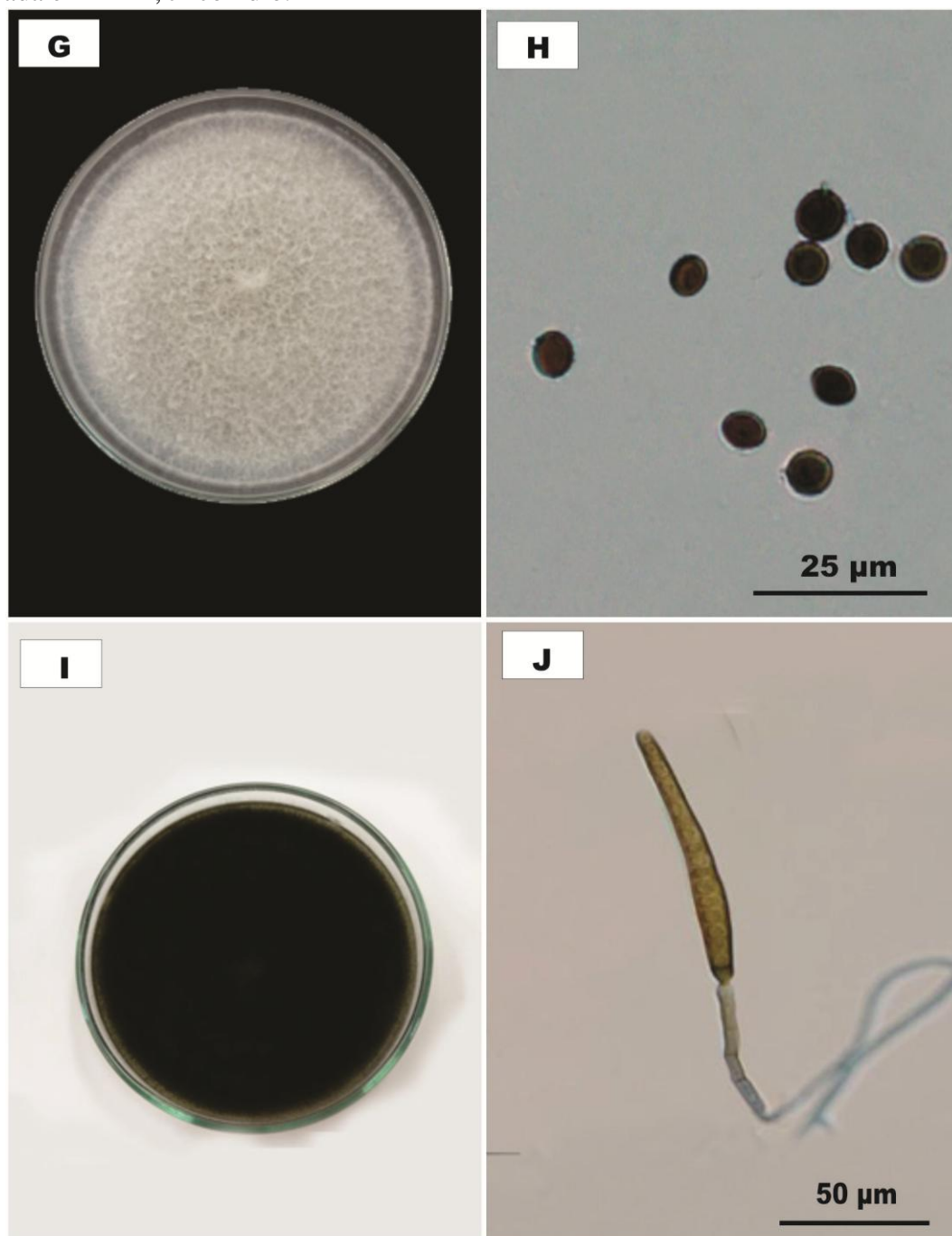
Fonte: Rejane silva, 2015.

Figura 7 - Fotografias macroscópicas e microscópicas de *Colletotrichum gloeosporioides* complex (URM 7419): A - colônia cultivada em BDA, B - Conídios. *Cochliobolus hawaiiensi* (URM 7418): C - Colônia cultivada em BDA, D - Conidióforos e conídios. *Acremonium borodinense* (URM 741A): E - Colônia cultivada em BDA, F - Fialide e conídios.



Fonte: Rejane silva, 2015.

Figura 8 - Fotografias macroscópicas e microscópicas de *Arthrimum* sp. (URM 7417): Colônia cultivada em BDA, F – Conídios. *Exserohilum rostratum* (URM 7420): I- Colônia cultivada em BDA, J- conídio.



Fonte: Rejane silva, 2015.

4.6 ANÁLISE MOLECULAR DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Foi realizada a análise das sequências da região ITS do rDNA das espécies (morfortipos/filotipos) dos fungos endofíticos isolados de folhas de sorgo, a partir da busca por máxima identidade, realizada com a utilização do programa Blastn. As sequências foram comparadas com o banco de dados do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) para auxílio na identificação das mesmas. A Tabela 7 mostra um comparativo entre a identificação morfológica e molecular dos isolados estudados.

Tabela 7 - Identificação morfológica e molecular de fungos endofíticos isolados de folhas de *Sorghum bicolor*, coletados em Goiana e Serra Talhada, Pernambuco.

Identificação Morfológica	Isolados estudados	Identificação molecular
<i>Acremonium</i> sp.*	Isolados F1060 e F126	<i>Acremonium borodinense</i>
<i>Acremonium</i> sp.*	Isolados F1083	<i>Sarocladium bacillisporum</i>
<i>Arthrimum</i> sp.*	Isolado F564	<i>Arthrimum</i> sp.*
<i>Aspergillus</i> sp.*	Isolados F249 e F326	<i>Aspergillus terreus</i>
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Isolado F97	<i>Colletotrichum</i> sp.*
<i>Colletotrichum falcatum</i>	Isolado F122	<i>Colletotrichum falcatum</i>
<i>Cladosporium</i> sp.*	Isolado F80	<i>Cladosporium</i> sp.*
<i>Cochliobolus</i> sp.*	Isolado F825	<i>Cochliobolus hawaiiensis</i>
<i>Chaetomium nigricolor</i>	Isolado F73	<i>Chaetomium nigricolor</i>
<i>Exserohilum rostratum</i>	Isolados F707, F1024, F1045 e F1096	<i>Exserohilum rostratum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>	Isolado F412	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Fusarium acutatum</i>	Isolados F733 e F919	<i>Fusarium acutatum</i>
<i>Fusarium verticillioides</i>	Isolados F1, F6, F86 e F556	<i>Fusarium verticillioides</i>
<i>Guignardia</i> sp.*	Isolados F69 e F113	<i>Phyllosticta capitalensis</i>
<i>Khuskia oryzae</i>	Isolado F29	<i>Khuskia oryzae</i>
Magnaporthales*	Isolado F232	Magnaporthales*
<i>Mycelia sterilia</i> 1*	Isolado F925	<i>Daldinia</i> sp.*
<i>Mycelia sterilia</i> 2*	Isolado F1027	<i>Engyodontium album</i>
<i>Mycelia sterilia</i> 3*	Isolado F299	<i>Hypoxylon</i> sp.*
<i>Mycelia sterilia</i> 4*	Isolados F177B e F1083B	<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.*
<i>Mycelia sterilia</i> 5*	Isolados F100 e F629	<i>Pyrenochaetopsis</i> sp. 1*
<i>Mycelia sterilia</i> 6*	Isolado F39	<i>Pyrenochaetopsis</i> sp. 2*
<i>Mycelia sterilia</i> 7*	Isolado F489	Sordariomycetes 1*
<i>Mycelia sterilia</i> 8*	Isolado F606	Xylariales 1*
<i>Mycelia sterilia</i> 9*	Isolado F256	Sordariomycetes 2*
<i>Mycelia sterilia</i> 10*	Isolado F650	Xylariales 2*
<i>Mucor irregularis</i>	Isolado F66	<i>Mucor irregularis</i>
<i>Mucor indicus</i>	Isolado F56	<i>Mucor indicus</i>
<i>Mucor</i> sp.*	Isolados F378 e F601	<i>Mucor</i> sp.*
<i>Nodulisporium</i> sp.*	Isolados F312 e F1036	<i>Hypoxylon griseobrunneum</i>
<i>Penicillium</i> sp. 1*	Isolado F904	<i>Talaromyces apiculatus</i>
<i>Penicillium</i> sp. 2*	Isolados F134A, F134B e F994	<i>Penicillium citrinum</i>
<i>Phomopsis</i> sp. 1*	Isolados F671 e F450	<i>Diaporthe</i> sp. 1*
<i>Phomopsis</i> sp. 2*	Isolados F47 e F50B	<i>Diaporthe</i> sp. 2*
<i>Phomopsis</i> sp. 2*	Isolados F50A, F78, F98, F112, F518 e F724	<i>Diaporthe endophytica</i>
<i>Phomopsis</i> sp. 3*	Isolado F390	<i>Diaporthe arengae</i>
<i>Phoma</i> sp.*	Isolados F28, F418, F439, F539A e F539B	<i>Epicoccum sorghi</i>
<i>Periconia macrospina</i>	Isolado F238	<i>Periconia macrospina</i>
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Isolado F295	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
<i>Xylaria</i> sp.*	Isolado F631	<i>Xylaria feejeensis</i>

Obs. Os morfortipos/filotipos encontrados no trabalho são marcados com *

A partir das análises filogenéticas foram construídas árvores, as quais mostram o agrupamento dos isolados encontrados com sequências de espécies depositadas no NCBI. Foi construída uma árvore para a classe Sordariomycetes (Figura 9), onde são mostrados nove isolados pertencentes a ordem Xylariales. O isolado F631 foi identificado morfológicamente a nível de gênero como *Xylaria* sp., no entanto, filogeneticamente agrupou-se com as sequências de *Xylaria feejeensis*. Já os isolados F312 e F1036 foram identificados morfológicamente como *Nodulisporium* sp. e filogeneticamente agruparam-se com *Hypoxylon griseobrunneum*.

Os isolados F564 e F29 foram identificados morfológicamente e filogeneticamente como *Arthrinium* sp. e *Khuskia oryzae*, respectivamente. Os isolados F650, F925, F299 e F606 não apresentaram estruturas reprodutivas, sendo classificados como Mycelia sterilia, entretanto as análises moleculares permitiram a identificação dos mesmos como Xylariales 1, *Daldinia* sp. *Hypoxylon* sp. e Xylariales 2, respectivamente. Não foi possível identificar nem mesmo a nível de gênero (morfológicamente ou molecularmente) o isolado F232, o mesmo agrupou-se filogeneticamente na ordem Magnaporthales.

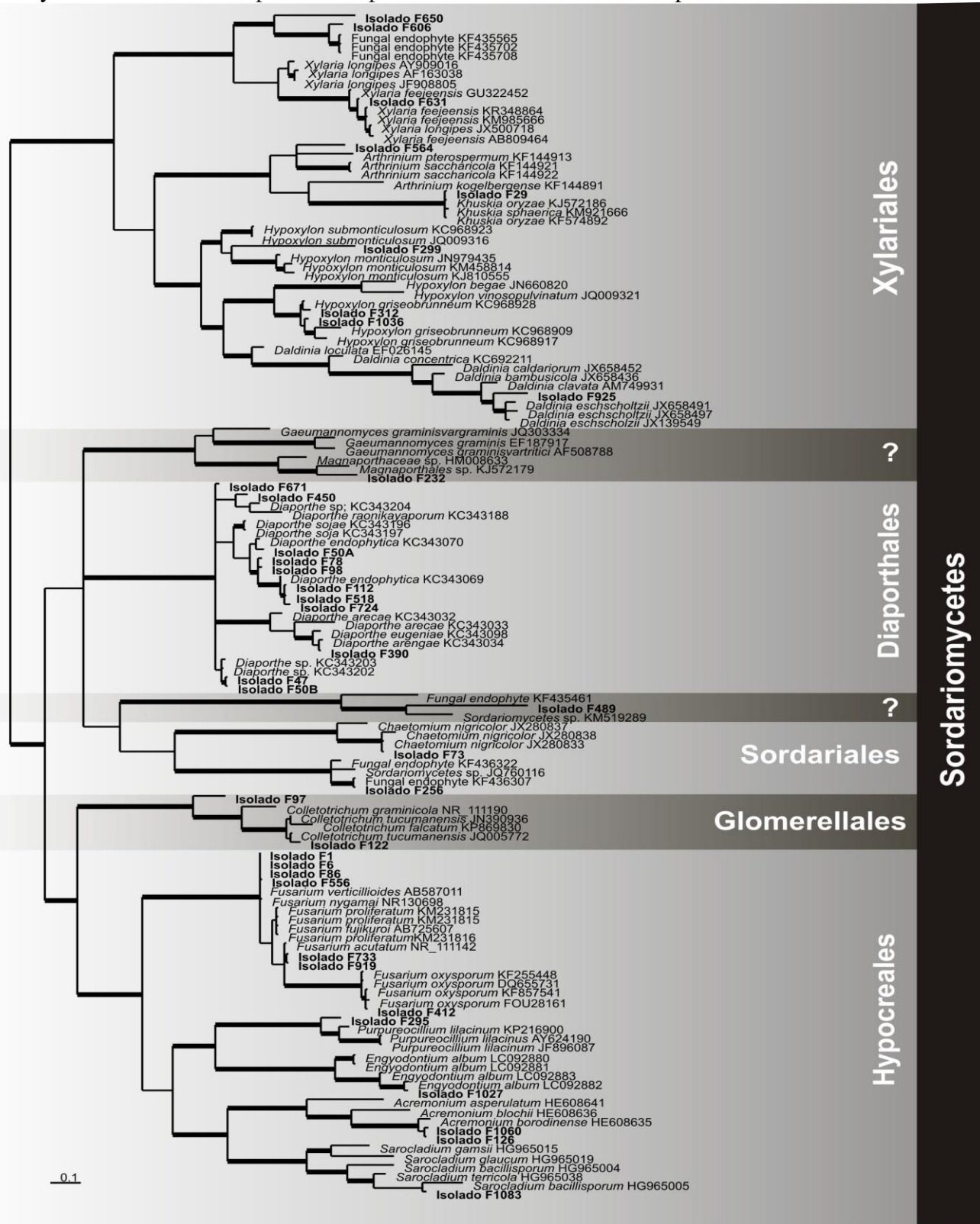
Onze isolados agruparam-se na ordem Diaporthales, todos identificados morfológicamente como *Phomopsis* sp. Filogeneticamente os isolados F671 e F450 foram identificados como *Diaporthe* sp. 1 e os isolados F47 e F50B identificados como *Diaporthe* sp. 2. Os isolados F50A, F78, F98, F112, F518 e F724 agruparam-se com *Diaporthe endophytica* e o isolado F390 agrupou-se com *Diaporthe arengae*.

A ordem Sordariales foi representada por apenas três isolados. O isolado F73 foi identificado, tanto morfológicamente como filogeneticamente, como *Chaetomium nigricolor*, entretanto os isolados F489 e F256 não apresentaram estruturas reprodutivas e molecularmente foram identificados apenas a nível de classe.

Glomerellales foi representada por dois isolados, F97 identificado morfológicamente como *Colletotrichum gloeosporioides* e filogeneticamente como *Colletotrichum* sp., enquanto F122 foi identificado morfológicamente e filogeneticamente como *Colletotrichum falcatum*. A ordem Hypocreales teve maior número de isolados (12), dos quais quatro (F1, F6, F86 e F556) foram identificados morfológicamente e molecularmente como *Fusarium verticillioides*, dois (F733 e F919) como *Fusarium acutatum* e um isolado como *F. oxysporum* (F412). A identificação morfológica do isolado F295 como *Purpureocillium lilacinum* foi confirmada filogeneticamente. O isolado F1027 não produziu estruturas reprodutivas, entretanto filogeneticamente foi identificado como *Engyodontium album*. Os isolados F1060 e F126 foram identificados morfológicamente como *Acremonium* sp., mas molecularmente agruparam-se com *Acremonium borodinense*. O isolado

F1083 morfologicamente foi identificado como *Acremonium* sp. e agrupou-se filogeneticamente com *Sarocladium bacillisporum*.

Figura 9 - Filograma obtido a partir de análise bayesiana de seqüências da região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento de fungos endófitos isolados de *Sorghum bicolor* pertencentes a classe Sordariomycetes. Ramos espessos representam valores de suporte acima de 90%.



Também foi construída uma árvore para a classe Dothidiomycetes (Figura 10), onde 19 isolados foram posicionados. Os espécimes F69 e F113 foram agrupados na ordem Botryosphaeriales. Os mesmos foram identificados morfológicamente como a forma sexual *Guignardia* sp. e agruparam-se com *Phyllosticta capitalensis*.

A ordem Capinodiales foi representada por apenas um isolado (F80), o qual foi identificado como *Cladosporium* sp., morfológicamente e molecularmente.

A ordem Pleosporales foi a mais representada, com 16 espécimes. Os isolados F28, F418, F439, F539A e F539B foram identificados morfológicamente como *Phoma* sp., porém agruparam-se com *Epicoccum sorghi* na análise filogenética. Os isolados F707, F1024, F1045, F1096 foram identificados morfológicamente e molecularmente como *Exserohilum rostratum*. O espécime F825 foi identificado morfológicamente como *Cochliobolus* sp. e molecularmente como *Cochliobolus hawaiiensis*. A identificação morfológica do espécime F238 (*Periconia macrospinosa*) também foi confirmada filogeneticamente. Os isolados F177B e F1083B (identificados molecularmente como *Paraphaeosphaeria* sp.) e F100, F39 e F629 (identificados molecularmente como *Pyrenochaetopsis* sp.) não apresentaram estruturas reprodutivas.

A Figura 11 representa uma árvore filogenética de Eurotiomycetes (ordem Eurotiales), seis isolados fúngicos encontrados nas folhas do sorgo foram agrupados nessa classe. Os isolados F904, F134A, F134B e F994 foram identificados morfológicamente como *Penicillium* sp., embora o primeiro tenha se agrupado molecularmente com *Talaromyces apiculatus*. Os demais espécimes foram confirmados filogeneticamente como *Penicillium citrinum*, já os isolados F249 e F326 foram identificados morfológicamente como *Aspergillus* sp. e molecularmente como *A. terreus* (Figura 11).

Quatro isolados perteceram a ordem Mucorales (Figuras 12 e 13). Os isolados F378 e F601 foram identificados morfológica e molecularmente como *Mucor* sp., enquanto o espécime F66 foi identificado como *Mucor irregularis* e o isolado F56 como *Mucor indicus* (Figura 13).

Figura 10 - Filograma obtido a partir de análise bayesiana de seqüências da região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento de fungos endófitos isolados de *Sorghum bicolor* pertencentes a classe Dothidiomycetes. Ramos espessos representam valores de suporte acima de 90%.

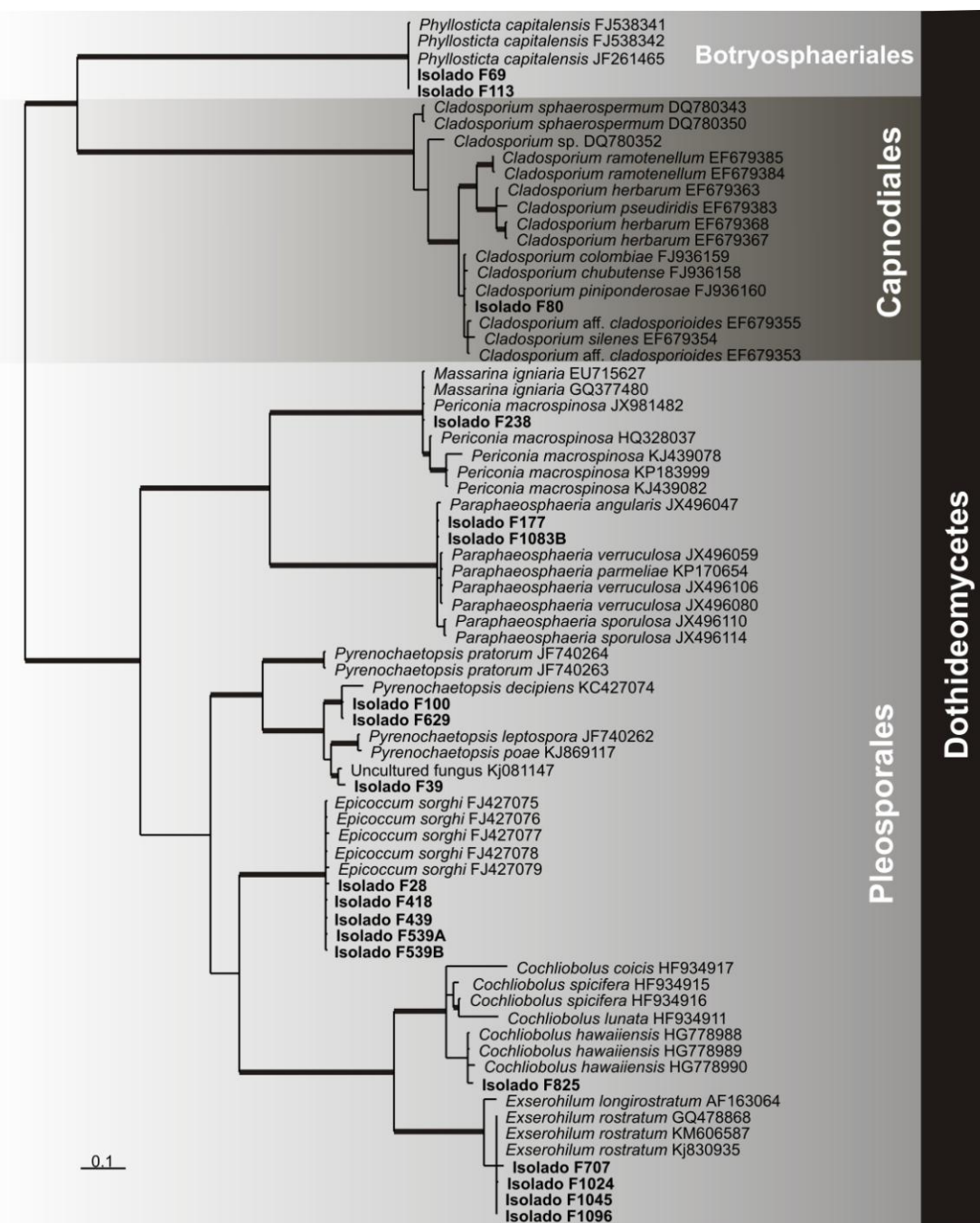


Figura 11 - Filograma obtido a partir de análise bayesiana de seqüências da região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento de fungos endófitos isolados de *Sorghum bicolor* pertencentes a classe Eurotiomycetes. Ramos espessos representam valores de suporte acima de 90%.

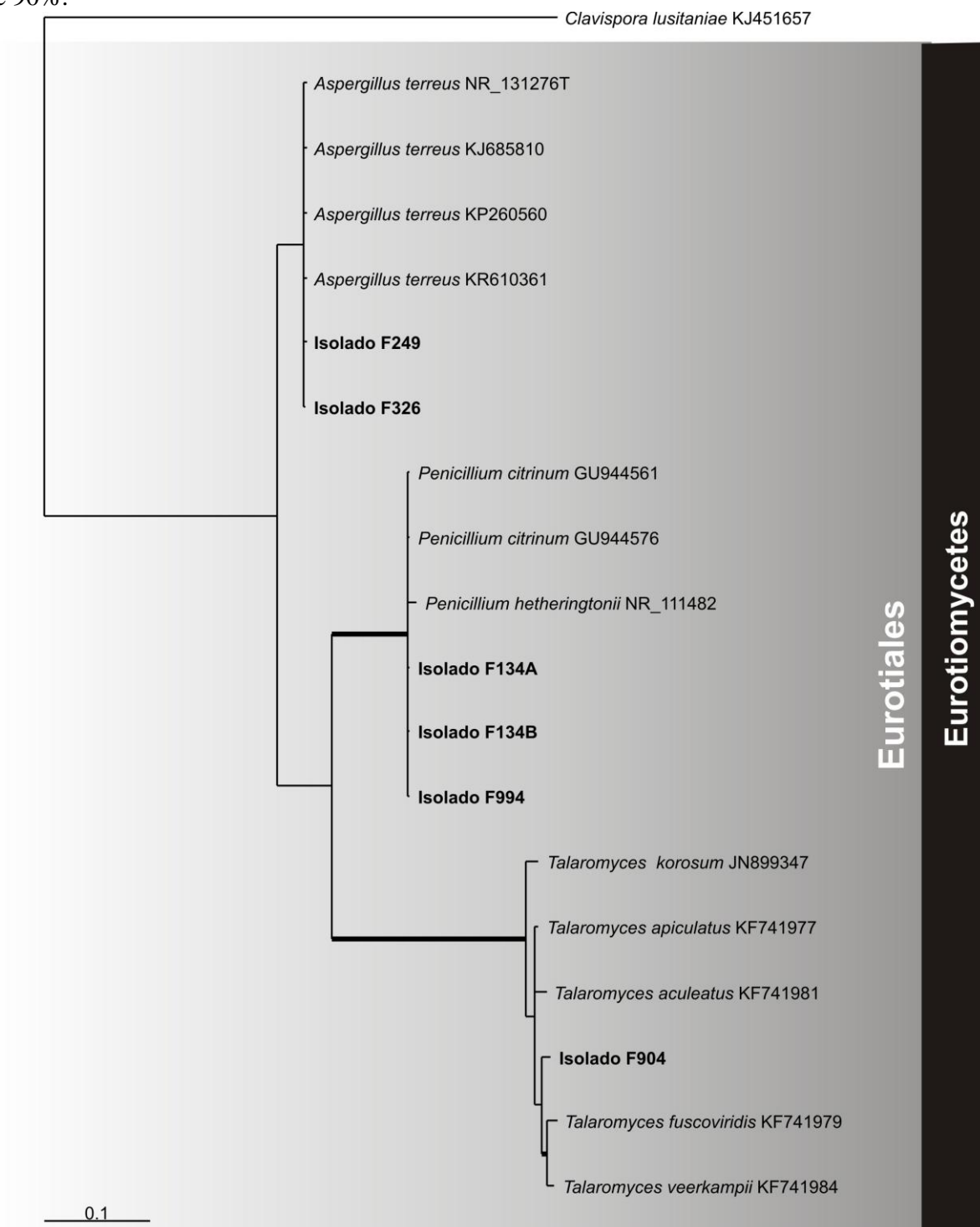


Figura 12 - Filograma obtido a partir de análise bayesiana de seqüências da região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento de fungos endófitos isolados de *Sorghum bicolor* pertencentes ao grupo Hiemalis (Mucorales). Ramos espessos representam valores de suporte acima de 90%.

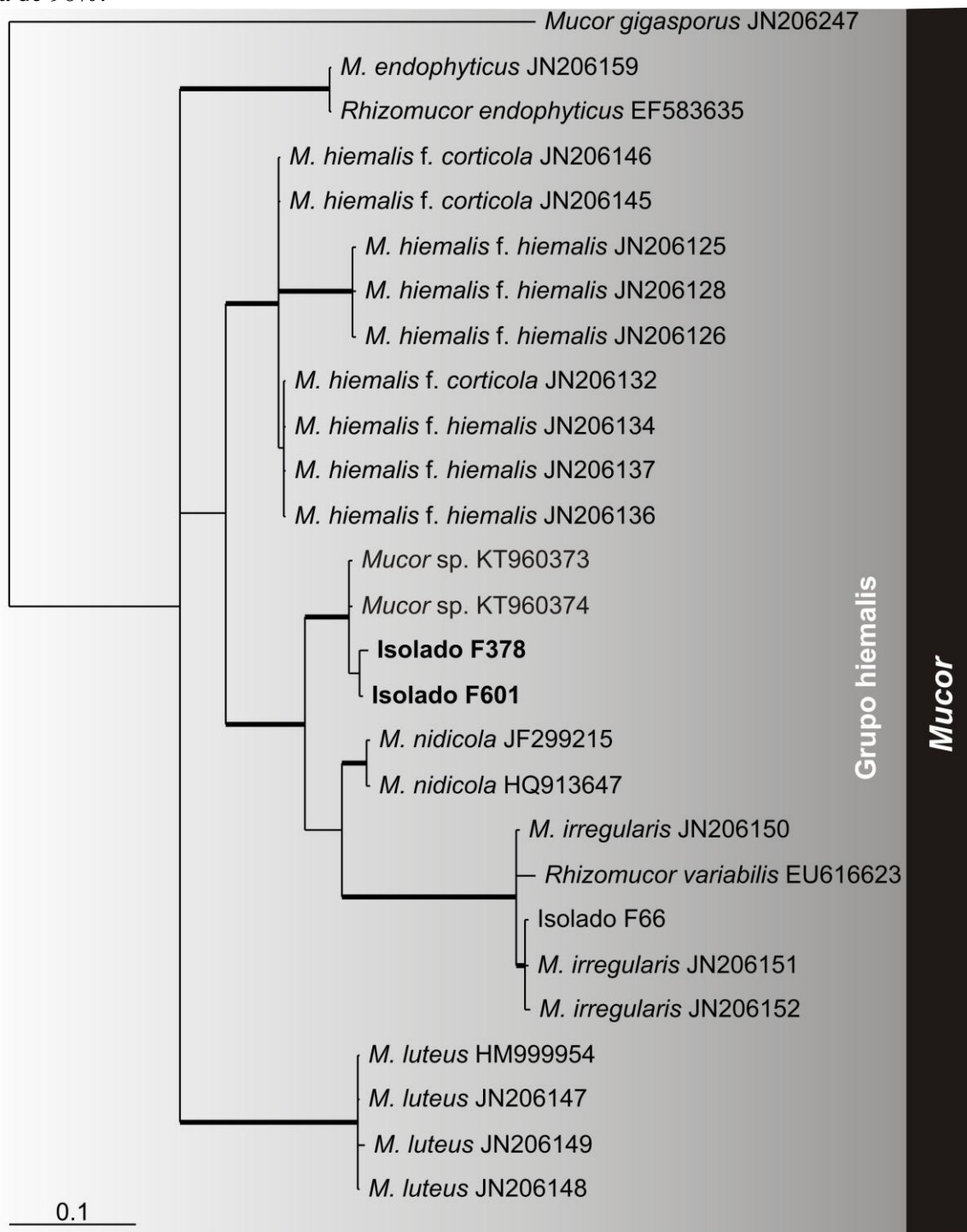
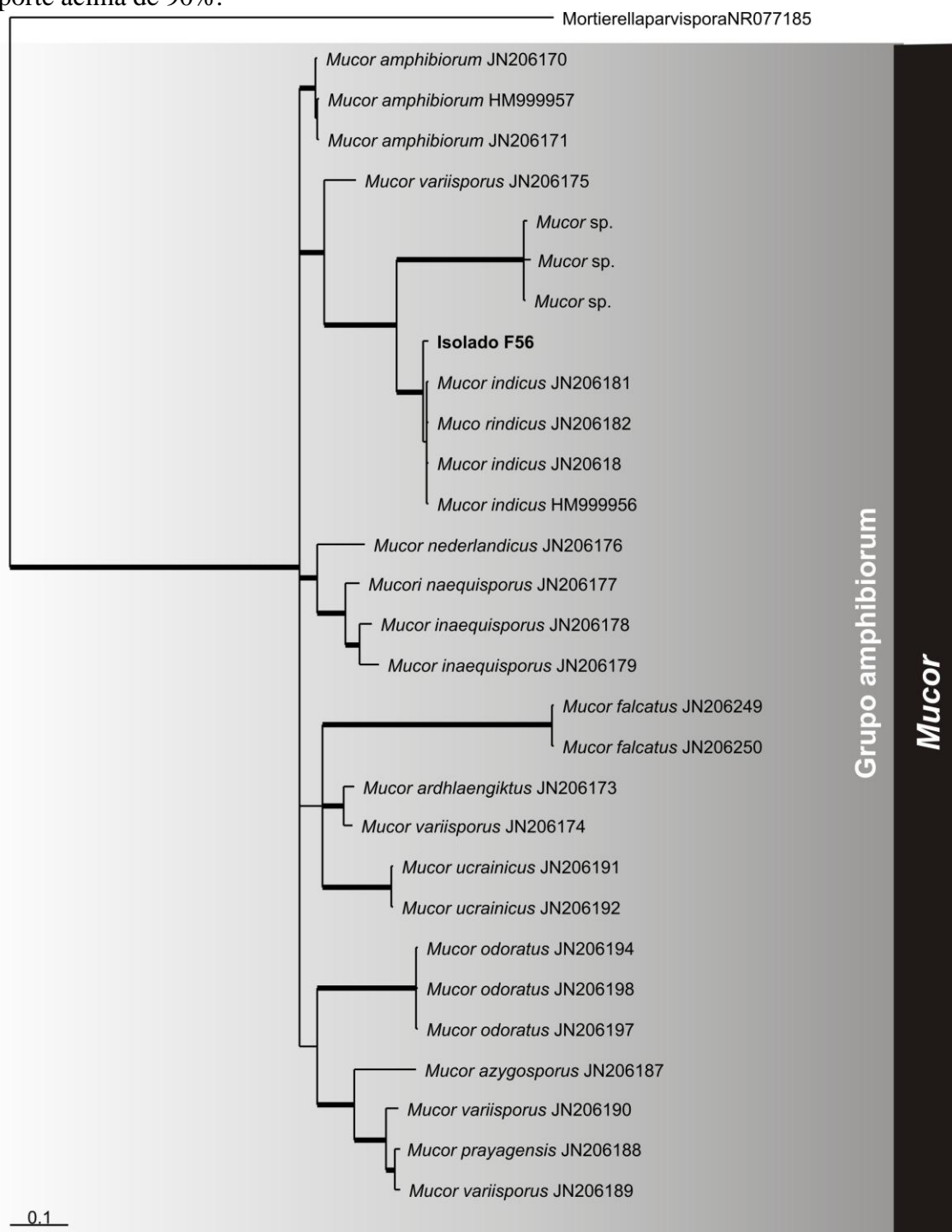


Figura 13 - Filograma obtido a partir de análise bayesiana de sequências da região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento do espécime F56 isolado como endófito de *Sorghum bicolor* pertencente grupo Amphibiorum (Mucorales). Ramos espessos representam valores de suporte acima de 90%.



5 DISCUSSÃO

Foram inoculados 1728 discos foliares de *S. bicolor* em meio de cultura a partir dos quais 476 isolados de fungos endofíticos foram obtidos. Vários estudos relatam uma rica comunidade de fungos endofíticos em regiões tropicais. Pimentel et al., (2006) estudando a comunidade de fungos endofíticos em folhas e caules de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), obtiveram 297 espécimes a partir de 1728 fragmentos foliares. Siqueira et al., (2011) isolaram um total de 203 fungos endofíticos a partir de 480 fragmentos de folhas e caules de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), Já Higgin et al., (2011) estudando a comunidade de fungos endofíticos foliares em onze espécies de gramíneas isolaram 2264 espécimes de fungos endofíticos de 2925 fragmentos foliares. A comunidade de fungos endofíticos em um vegetal é frequentemente afetada por uma variedade de fatores, tais como as condições fisiológicas do vegetal e as condições climáticas do local de estudo. Além disso a composição da comunidade de fungos também pode variar entre os tecidos vegetais: folhas, caules, cascas, pecíolos e estruturas reprodutivas (FAETH; FAGAN, 2002).

Outros trabalhos relatam um menor índice de ocorrência de fungos endofíticos em tecidos vegetais. Yuan et al., (2010), em estudo com *Oryza granulata* Nees & Arn. ex G. Watt. na China, isolaram 74 espécimes de fungos endofíticos de 634 fragmentos caulinares. Rosa et al., (2009) estudando *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae) relataram o isolamento de apenas 26 espécimes de fungos endofíticos de 273 fragmentos foliares. Saikkonen et al., (2000) estudando fungos endofíticos em gramíneas obtiveram uma baixa incidência de endófitos em *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin. e *D. cespitosa* (L.) P. Beauv. em regiões frias da Finlândia. Rosa et al., (2009) sugerem que o baixo número de isolados em regiões frias pode ser devido as condições extremas dos ecossistemas.

Quarenta morfotipos/filotipos de fungos endofíticos distribuídos a nível de espécies, gêneros, ordens e classes foram isolados neste estudo. Resultados semelhantes foram observados no trabalho Zida et al., (2014), onde avaliando a ocorrência e distribuição de fungos endofíticos em folhas, caules e raízes de sorgo isolaram um total de 39 espécies pertencentes a 25 gêneros. Em estudos com fungos endofíticos associados a *Ammophila arenaria* (L.) Link e *Elymus farctus* (Viv.) Runemark ex Melderis, um alto número de espécies foi observado por Márquez; Bills; Zabalgogezcoa, (2008). Esses autores mencionaram 75 espécies de fungos como endófitos associados a *Ammophila arenaria* e 54 a *Elymus farctus*.

Em comparação com outros estudos o número de morfotipos/filotipos isolados nesse trabalho foi relativamente alto, uma vez que Fisher; Petrini; Lappin, (1992) relataram a

ocorrência de 23 espécies de fungos endofíticos associados a milho e Loro et al., (2012) estudando a comunidade de fungos endofíticos em várias gramíneas, *Sporobolus pyramidatus* (Lam.) Hitchc., *Pappophorum krapovickasii* Roseng., *Aristida cf. venesuelae* Henrard; *Leptothrium rigidum* Kunth, *Eragostris ciliaris* (L.) R.Br., *Paspalum ligulare* Nees, *Cenchrus ciliaris* L., *Bothriochloa pertusa* (L.), *Cenchrus echinatus* L., *Sporobolus virginicus* (L.), *Chloris inflata* Link, *Cenchrus cf. spinifex* Cav. e *Spartina spartinae* (Trin.) Merr. ex Hitchc., obtiveram de 2 a 8 isolados morfológicamente distintos para cada hospedeiro. Rosa et al., (2009) relataram a ocorrência de 5 isolados morfológicamente distintos em *Deschampsia antarctica*.

Os fungos endofíticos também têm sido observados em folhas de *Fescuta alata* (St.-Yves) Roshev. por Li; Zheng; Sun, (1997), em sementes de *Echinopom ovatus* (G. Forst) P. Beauv. na Nova Zelândia por Miles et al. (1998) e em *Achnatherum inebrians* (Hance) Keng. na China por Li et al., (2004).

Entre os gêneros identificados neste estudo, *Cochliobolus*, *Colletotrichum*, *Epicoccum* e *Fusarium* foram os mais representativos, sendo *Cochliobolus hawaiiensis* a espécie com maior número de isolados. Esses gêneros são comumente isolados e plantas de regiões tropicais e em diversas gramíneas (ALMEIDA et al., 2015; BEZERRA et al., 2015; SILVA et al., 2006; LORO et al., 2012; ZIDA et al., 2014). Na região semiárida do Noroeste da Venezuela Loro et al., (2012) registraram *Cochliobolus*, *Exserohilum* e *Fusarium* como gêneros mais representativos em gramíneas.

Zida et al., (2014), em estudo com folhas, caules e raízes de sorgo relataram maior frequência de *Cochliobolus*, *Colletotrichum*, *Fusarium* e *Penicillium*. Em outros estudos, *Fusarium* spp. foram isoladas de milho, sorgo e soja por Leslie et al., (1990). *Cochliobolus*, *Colletotrichum* e *Fusarium* são considerados endófitos cosmopolitas isolados de vários hospedeiros em diferentes regiões climáticas (PEREIRA; VIEIRA; AZEVEDO, 1999; PHOTITA et al., 2001). As espécies *Cochliobolus hawaiiensis* e *Epicoccum sorghi* já foram isoladas das gramíneas *Sporobolus virginicus* L. e *Chloris inflata* Link (LORO et al., 2012).

Estudos indicam diversos benefícios conferidos por fungos endofíticos associados a gramíneas e outros vegetais de regiões semiáridas. Esses microrganismos podem contribuir na adaptação e no desenvolvimento da planta hospedeira (RODRIGUEZ; REDMAN, 2008, RODRIGUEZ et al., 2009, WHITE; TORRESWHITE, 2010), além de conferir à planta a capacidade de resistir a agentes patogênicos (ARNOLD et al., 2003). Espécies de *Cochliobolus* têm sido relatadas em associação com gramíneas (*Dichanthelium lanuginosum*) de ambientes geotérmicos nos Estados Unidos conferindo tolerância a estresses abióticos,

além de desempenhar um papel significativo na sobrevivência do vegetal (REDMAN et al., 2002).

Em plantas de regiões semiáridas destacam-se o isolamento de espécies de fungos dematiáceos (pigmentados), como *Cladosporium*, *Cochliobolus* e *Epicoccum* (BEZERRA et al., 2012; LORO et al., 2012; SURYANARAYANAN et al., 2005). Redman et al., (2002), em condições de laboratório, sugerem que a melanina presente nesses fungos pode conferir proteção térmica ao hospedeiro e tolerância aos estresses ambientais.

Alguns trabalhos mencionam que a melanina presente em fungos dematiáceos pode aumentar significativamente a virulência de vários fungos patogênicos (NOSANCHUK; STARK; CASADEVALL, 2015; KAWAMURA et al., 1997). Além da presença da melanina, alguns fatores ambientais podem influenciar no desenvolvimento de doenças fúngicas em plantas. Algumas espécies de *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium* e *Penicillium* já foram relatadas causando doenças em sementes e folhas de sorgo (ISLAM et al., 2009; PANCHAL; DHALE, 2011, LESLIE et al., 1990, ZIDA et al., 2008).

Em contraste Zida et al., (2014) relatam o isolamento de espécies de *Cladosporium*, *Colletotrichum* e *Fusarium* como endofíticos de sorgo. De acordo com os mesmos autores é possível haver efeito de supressão do agente patogênico como um resultado da presença de outros organismos concorrentes dentro das plantas e assim o fitopatógeno pode ocorrer como endofítico. No presente estudo as espécies dos gêneros citados, também foram isoladas e não foi relatado qualquer sintoma de doença nas plantas estudadas.

A comunidade de fungos filamentosos endofíticos presentes no sorgo variou de acordo com o local de coleta. Com relação a fenologia da planta houve diferença na diversidade apenas em Goiana. Entretanto de acordo com o índice de Sorensen, foram observadas (no geral) diferenças entre as comunidades ocorrendo na pré e pós-floração. A observação de diferentes comunidades de fungos endofíticos em diferentes regiões pode ser devido à influência de diferentes condições climáticas e fisiologia do vegetal (HERRERA et al., 2010).

Este é o primeiro estudo de fungos endofíticos em sorgo no Brasil, trata-se também do primeiro estudo que avalia a comunidade de fungos endofíticos em duas variedades de sorgo durante os períodos de pré e pós-floração. Um estudo realizado por Zida et al., (2014) avaliou a comunidade de fungos endofíticos em folhas de sorgo no estágio de 3 a 5 folhas e no estágio de maturidade. No primeiro estágio os autores relataram o isolamento de 27 espécies de fungos endofíticos, enquanto no estágio de maturidade foram isolados 39 espécies. Os autores também relatam que os gêneros *Cochliobolus*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Nigrospora* e *Penicillium* foram comuns nos dois estágios. Espécies de *Acremonium*, *Cladosporium*,

Fusarium, *Hypoxyton*, *Mucor* e *Penicillium* têm sido comumente isoladas de milho e sorgo (LESLIE et al., 1990, FISHER; PETRINI, 1992, ZIDA et al., 2014), espécies de *Epicoccum* também foram reportadas como endófitos do arroz (FISHER; ETRINI, 1992). *Cladosporium* e *Purpureocillium* também foram encontrados em cevada e outras plantas com potencial para uso no controle biológico de pragas de insetos (SCHULZ et al., 1998).

Além da identificação morfológica também foi observado o percentual de máxima identidade das sequências e feita a análise filogenética. As árvores filogenéticas mostram que a comunidade de fungos endofíticos em sorgo contém uma diversidade de espécies distribuídas dentro de Ascomycota e Mucoromycotina, sendo dominante a classe Sordariomycetes. As ordens Xylariales, Diaporthales, Hypocreales e Pleosporales foram as mais representativas.

Vários trabalhos com análises moleculares em gramíneas e outros vegetais de regiões tropicais tem sido realizado. Morakotkarn; Dawasaki; Seki, (2007) estudando fungos endofíticos de bambu, relataram um grande número de espécies distribuídas entre os táxons do filo Ascomycota, as classes Sordariomycetes e Dothideomycetes e a ordem Xylariales foram dominantes. Em outro estudo realizado em *Dactylis glomerata* por Márquez; Bills; Zabalgogezcoa, (2007), a maioria dos fungos endófitos identificados foram agrupados filogeneticamente em Ascomycota, Basidiomycota e Mucoromycotina, enquanto Porras-Alfaro et al., (2008), estudando a ocorrência de endófitos em *Bouteloua gracilis*, na região semiárida no Novo México, relataram que a maioria das espécies (83,2%) pertenciam a Ascomycota e Basidiomycota.

Stuart et al., (2010) estudando a diversidade de fungos endofíticos associados a cana de açúcar, relataram uma rica comunidade de fungos endofíticos pertencente ao filo Ascomycota. Nesse mesmo trabalho alguns isolados agruparam-se filogeneticamente com gêneros comumente isolados de regiões tropicais tais como, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Phyllosticta* e *Xylaria*. Apesar de estudos já terem sido realizados com *Sorghum bicolor* na África (ZIDA et al., 2014), este trabalho é pioneiro na geração de sequências de rDNA e análise filogenética dos fungos encontrados.

Embora o uso de técnicas morfológicas tradicionais tenha contribuído imensamente no conhecimento da riqueza de fungos endofíticos, a utilização de métodos moleculares na identificação destes organismos tem ajudado na diferenciação de espécies morfológicamente semelhantes (BENSCH et al., 2012). O uso desta técnica também tem aumentado o conhecimento acerca da diversidade de endófitos associados aos vegetais. Alguns isolados não formam estruturas reprodutivas em meio de cultura, tornando-se impossível a sua

identificação por técnicas morfológicas tradicionais (GUO; HYDE; LIEW, et al., 2000). Neste estudo foram obtidos vários isolados que foram classificados como *Mycelia sterilia*. Foram realizadas análises moleculares que permitiram sua identificação a nível de espécie, gênero, ordem ou classe.

A espécie *Acremonium borodinense* está sendo relatada pela primeira vez como endófito em sorgo. Espécies de *Acremonium* têm sido frequentemente isoladas como endofíticos de diversas gramíneas *Zea mays* (FISHER; PETRINI; LAPPIN, 1992), *Ammophila arenaria*, *Elymus farctus* (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2008), *Dactylis glomerata* (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2008), *Sporobolus pyramidatus* (LORO et al., 2012), *Oryza granulata* (YUAN et al., 2011) e *Sorghum bicolor* (ZIDA et al., 2014). Táxons desse gênero têm sido relatados como produtores de leucinostatina-A, um agente antifúngico e que também atua contra células cancerígenas, além de serem conhecidos por seus efeitos sobre insetos e outros herbívoros (BREEN, 1994, AZEVEDO et al., 2000).

O gênero *Arthrinium* é generalista, frequentemente isolado no solo, em folhas e caules de diferentes espécies vegetais (AGUT; CALVO, 2004). Espécies de *Arthrinium* têm sido isoladas como endofíticos em tecido vegetal de gramíneas (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2008). Morakotkarn; kawasaki; seki, (2007) relataram Xylariales como o grupo dominante nos bambus no japão, especialmente o gênero *Arthrinium*. Samuels; Mckenzie; Buchanan, (1981) também têm reportado *Arthrinium* sp. em bambu na Nova Zelândia. No presente estudo, *Arthrinium* sp. está sendo registrado como primeira ocorrência em sorgo no Brasil.

Colletotrichum é um gênero amplamente distribuído em uma variedade de hospedeiros. Um grande número de isolados pertencentes a este gênero foi registrado neste estudo; espécies desse gênero estão associadas a doenças em diversos tipos de plantas tropicais e subtropicais, principalmente frutíferas (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012, MUNIZ, 1998 GAUTAM, 2015). O gênero possui distribuição, principalmente, tropical e subtropical, embora haja algumas espécies que comumente colonizam vegetais de clima temperado (CANNON et al., 2012). Wang; lo; wang (2008), em estudo com *Taxus mairei* na China, relatam uma frequência de 77% de isolados pertencentes a *Colletotrichum gloeosporioides*. Diversos estudos demonstram a associação desse gênero como endofítico em diferentes hospedeiros, tais como banana (PEREIRA, 1993), trigo (LARRAN et al., 2002), Jasmim-manga (NITHYA; MUTHUMARY, 2009), *Jatropha curcas* (KUMAR; KAUSHIK, 2013), café (OLIVEIRA et al., 2014b) e sorgo (ZIDA et al., 2014).

O gênero *Cladosporium* foi representado por seis isolados nesse estudo. Esse gênero é generalista e comumente isolado do ar, solo, grãos, plantas, entre outros (VIEIRA et al., 2006). Espécies de *Cladosporium* têm sido relatadas causando infecções pulmonares, cutâneas e outros problemas de saúde. Além de ser considerado um importante gênero no controle biológico de insetos e de fungos fitopatogênicos. Moricca et al., (2001), estudando *Cladosporium* em culturas de Pinus na Europa, e Nasini et al. (2004), estudando o gênero em culturas de feijão, relataram-no como um endófito potencialmente promissor como agente no controle biológico. Espécies de *Cladosporium* têm sido isoladas de várias gramíneas e outros vegetais, tais como *Sorghum bicolor* (ZIDA et al., 2014), *Ammophila arenaria* e *Elymus farctus* (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2008), *Oryza granulata* (YUAN et al., 2011), *Coffea arabica* OLIVEIRA et al., 2014b), *Cereus jamacarcu* (BEZERRA et al., 2013), *Opuntia ficus-indica* Mill (BEZERRA et al., 2012), *Dactylis glomerata* (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2007), *Holcus lanatus* (MÁRQUEZ et al., 2010), *Phragmites australis* (WIRSEL et al., 2002), *Oryza rufipogon* (WANG et al., 2015) e *Quercus rotundifolia* Lam (SADAKA; PONGE, 2003).

Cochliobolus hawaiiensis foi a espécie com maior frequência de isolados nesse estudo. Esse táxon tem sido relatado como endofítico de diversas gramíneas, Capim Carrapixo (*Cenchrus echinatus* L.), *Leptothrium rigidum* Kunth, *Sporobolus virginicus*, *Cenchrus spinifex*, *Sporobolus pyramidatus*, *Aristida* cf., *venesuelae* Henrard (Lam.) Hitchc., *Eragostris ciliaris* (L.) R.Br. (LORO et al., 2012), *Thysanolaena latifolia* e *Saccharum spontaneum*, (BHILABUTRA et al., 2010).

Chaetomium nigricolor é frequentemente isolado como endofítico, anteriormente esse táxon foi registrado em folhas saudáveis de *Oryza rufipogon* (WANG et al., 2015), *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (RODRIGUES; MENEZES, 2000), *Jatropha curcas* (KUMAR; KAUSHIK, 2013). Algumas espécies de *Chaetomium* têm sido relatadas com potencial em causar infecções humanas, afetando principalmente unhas ou pele (SERENA et al., 2003).

Espécies de *Epicoccum* são frequentemente relatadas como endofíticos de várias culturas, tais como uva (PANCHER et al., 2012), sorgo (ZIDA et al., 2014) e grama do pomar (*Dactylis glomerata*) (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2007). Espécies pertencentes a esse gênero são conhecidas pelo seu potencial como agentes no controle biológico de patógenos, além de possuir potencial biotecnológico na produção de diversas substâncias bioativas (MARTINI et al., 2009, LARENA et al., 2004, BROWN; FINLAY;

WARD, 1987, BELL; KARUSO, 2003). De acordo com nossos dados, esse gênero foi o terceiro mais representado em folhas de sorgo.

Engyodontium album está sendo registrada como primeira ocorrência em folhas de sorgo. Essa espécie já foi relatada em outras gramíneas, tais como *Ammophila arenaria* e *Elymus farctus* (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2008). *Engyodontium album* também tem sido encontrada associada a raízes de *ginseng-chinês* na China (WU et al., 2013).

Fusarium foi um dos gêneros com maior frequência nesse estudo. É um gênero cosmopolita, com espécies patogênicas (GARRETT, 1951; BOOTH, 1971) e sapróbios (SALERNO; GIANINAZZI; GIANINAZZI-PEARSON, 2000). Espécies de *Fusarium* são comumente isoladas como endófitos em ambientes tropicais em vários vegetais, tais como *Vitis labrusca* L. (LIMA et al., 2014), *Annona squamosa* L. (SILVA et al., 2006), *Jatropha curcas* (KUMAR; KAUSHIK, 2013) e *Eichhornia azurea* (ALMEIDA et al., 2015). Algumas espécies têm sido relatadas em associação com várias gramíneas, tais como *Dactylis glomerata* (MÁRQUEZ; BILLS; ZABALGOGEAZCOA, 2007), sorgo (ZIDA et al., 2014), *Pappophorum krapovickasii* Roseng, *Leptothrium rigidum* Kunth, *Cenchrus ciliaris* L. (LORO et al., 2012).

Espécies pertencentes a ordem Magnaporthales são conhecidas por causar doenças em vegetais da família Poaceae (WONG; WALKER, 1975; HENSON, 1989; WONG, 2002). Porém vários estudos já têm demonstrado a associação endofítica de táxons desse grupo com vegetais, principalmente gramíneas, em diversas regiões (YUAN et al., 2011, BHILABUTRA et al., 2010, MÁRQUEZ et al., 2009, BUSSABAN et al., 2001, WANG et al., 2015). Neste estudo um isolado pertencente a ordem Magnaporthales foi registrado, porém não foi possível sua identificação nem mesmo a nível de gênero (morfologicamente ou molecularmente).

Purpureocillium lilacinum é considerada uma espécie sapróbia, comumente isolada do solo, vegetais em decomposição, insetos e larvas (LUANGSA-ARD et al., 2011). Comportase também como endofítico, colonizando raízes de *Musa acuminata* (CAO et al., 2002), folhas de *Cannabis sativa* (KUSARI et al., 2012) e *Cereus jamacaru* (BEZERRA et al., 2013). Vários trabalhos têm mostrado que essa espécie é promissora no biocontrole de nematóides e pragas (BRAND et al., 2003; DUBE et al., 1987; KIEWNICK, S.; SIKORA, R.A., 2006). Trata-se da primeira ocorrência de *P. lilacinum* como endofítico em folhas de *Sorghum bicolor*.

Phyllosticta capitalensis foi originalmente descrita em folhas de *Stanhopeae* (Orchidaceae) no Brasil por Hennings (1908). Espécies de *Phyllosticta* possuem distribuição

mundial e têm sido frequentemente relatadas como endófitos de plantas (GLIENKE-BLANCO et al., 2002; OKANE et al., 2003; PANDEY et al., 2003).

As espécies *Mucor irregularis*, *Mucor indicus* e *Mucor* sp. são registradas como primeira ocorrência como endofítico em folhas de sorgo. Espécies pertencentes a *Mucor* têm sido relatadas em gramíneas - *Zea mays* (FISHER; PETRINI; LAPPIN, 1992), e outros vegetais - Palma-forrageira (FREIRE et al., 2015), *Canavalia cathartica* Thouars e *Canavalia maritima* (SEENA; SRIDHAR, 2004), *Brassica chinensis* L. (DENG et al., 2011). Além disso em estudo feito por Miao et al. (2009) e Huang et al. (2001) na China, *Mucor* sp. foi isolado como fungo endofítico das plantas medicinais *Taxus chinensis* (Rehder & E.H.Wilson) e *Taxus mairei* (Lemee & Levl.) como possível produtor de metabólitos secundários.

Talaromyces apiculatus está sendo relatada pela primeira vez em sorgo, o gênero é conhecido pela capacidade de produzir enzimas importantes para fins biotecnológicos, algumas espécies também são conhecidas por serem causadoras de doenças em arroz (YILMAZ et al., 2014). *Talaromyces* já foi relatado em associação com cacau (HANADA et al., 2010), pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) (BEZERRA et al., 2014) e algodão (VIEIRA et al., 2011).

6 CONCLUSÕES

Os fungos filamentosos endofíticos apresentam alta diversidade em sorgo;

Acremonium borodinense, *Arthrinium* sp., *Cochliobolus hawaiiensis*, *Engyodontium album*, *Epicoccum sorghi*, *Hypoxylon griseobrunneum*, *Phyllosticta capitalensis*, *Mucor irregularis*, *Mucor indicus*, *Mucor* sp., *Paraphaeosphaeria* sp., *Periconia macrospinosa*, *Purpureocillium lilacinum* e *Talaromyces apiculatus* estão sendo registradas como primeira ocorrência em cultivares de sorgo;

Há diferenças na comunidade de fungos endofíticos de acordo com o período fenológico (pré e pós-floração) do sorgo;

Há diferenças na comunidade de fungos endofíticos no sorgo, de acordo com as regiões de Goiana e Serra Talhada;

A comunidade de fungos endofíticos varia de acordo com o cultivar do vegetal;

Os estudos sobre a ocorrência de fungos endofíticos em espécies vegetais de importância agrícola poderão subsidiar trabalhos futuros no tocante a aplicação desses fungos na biotecnologia e no controle biológico de bragas e doenças;

A análise molecular dos fungos endofíticos e a construção de árvores filogenéticas, confirmaram a grande parte da identificação morfológica, contribuindo na identificação dos táxons encontrados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C.V. et al. Chemical and bioactive natural products from *Microthyriaceae* sp., an endophytic fungus from a tropical grass. **Letters in applied microbiology**, v. 59, n. 1, p. 58-64, 2014.
- ALMEIDA, C.V.; YARA, R.; ALMEIDA, M. de. Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada in vivo e in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 5, p. 467-470, 2005.
- ALMEIDA, C.V. et al. Molecular characterization of the endophytic fungal community associated with *Eichhornia azurea* (Kunth) and *Eichhornia crassipes* (Mart.) (Pontederiaceae) native to the Upper Paraná River floodplain, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 2, p. 4920-4931, 2015.
- GAUTAM, A.K. The genera *Colletotrichum*: an incitant of numerous new plant diseases in India. **Journal on New Biological Reports** v, 3 n.1, p. 09-21 2014.
- ARAÚJO, W.L. et al. 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, 2002.
- ARAÚJO, W.L. et al. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 229-236, 2001.
- ARNOLD, A.E. et al. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 26, p. 15649-15654, 2003.
- ARNOLD, A.E.; MAYNARD, Z.; GILBERT, G.S. Fungal endophytes in dicotyledonous neotropical trees: patterns of abundance and diversity. **Mycological Research**, v. 105, n. 12, p. 1502-1507, 2001.
- ARNOLD, A.E. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. **Fungal Biology Reviews**, v. 21, n.2, p. 51-66, 2007.
- ARNOLD, A.E.; HERRE, E.A. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). **Mycologia**, v. 95, n. 3, p. 388-398, 2003.
- AGUT, M.; CALVO, M.A. In vitro conidial germination in *Arthrinium aureum* and *Arthrinium phaeospermum*. **Mycopathologia**, v. 157, n.4, p. 363-367, 2004.
- AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Diversity and Applications of Endophytic Fungi Isolated from Tropical Plants. In: Ganguli, B.N. Deshmukh, S.K. Fungi: Multifaceted Microbes: Nova Delhi. **Anamaya Publishers** 189 -207. 2007.
- AZEVEDO, J.L.; MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. Microrganismos endofíticos. **Ecologia microbiana. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, p. 117-137, 1998.

AZEVEDO, J.L. et al. Microorganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: Serafini, L.A., Barros, N.M., Azevedo, J.L. Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria. Caxias do Sul: **EDUQS**, pp. 235-268. 2002.

AZEVEDO, J.L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada?. **Virus**, v. 5000, n. 130000, p. 3-8, 1999.

AZEVEDO, J.L. et al. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 15-16, 2000.

BENSCH, K., BRAUN, U., GROENEWALD, J.Z., CROUS, P.W. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology** 72:1-401. 2012.

BELL, P.J.L.; KARUSO, P. Epicocconone, A novel fluorescent compound from the fungus *Epicoccum nigrum*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 31, p. 9304-9305, 2003.

BEZERRA, J.D.P. et al. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 1989-1995, 2012.

BEZERRA, J.D.P. et al. Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study. **Symbiosis**, v. 60, n. 2, p. 53-63, 2013.

BEZERRA, J.D.P. et al. Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. AHEAD, p. 00-00, 2015.

BREEN, J.P. *Acremonium* endophyte interactions with enhanced plant resistance to insects. **Annual review of entomology**, v. 39, n. 1, p. 401-423, 1994.

BRAND, D. et al. Development of a bionematicide with *Paecilomyces lilacinus* to control *Meloidogyne incognita*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 118, n. 1-3, p. 81-88, 2004.

BHILABUTRA, W. et al. Fungi on the grasses, *Thysanolaena latifolia* and *Saccharum spontaneum*, in northern Thailand. **Mycosphere**, v. 1, n. 4, p. 301-314, 2010.

BUSSABAN, B. et al. Endophytic fungi from *Amomum siamense*. **Canadian journal of microbiology**, v. 47, n. 10, p. 943-948, 2001.

BROWN, A.E.; FINLAY, R.; WARD, J.S. Antifungal compounds produced by *Epicoccum purpurascens* against soil-borne plant pathogenic fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 6, p. 657-664, 1987.

BRUM, M.C.P. et al. Endophytic fungi from *Vitis labrusca* L. (Niagara Rosada) and its potential for the biological control of *Fusarium oxysporum*. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 4, p. 4187-4197, 2012.

COSTA, F. **Fenologia e análise de crescimento do sorgo forrageiro Volumax em Vitória da Conquista-BA**. Dissertação. Vitória da Conquista Bahia-Brasil. 2013.

COSTA, I.P.M.; MAIA, L.C.; CAVALCANTI, M.A. Diversity of leaf endophytic fungi in mangrove plants of Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 1165-1173, 2012.

CARDOSO, J.E. et al. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 4, p. 262-266, 2009.

CANNON, P.F. et al. *Colletotrichum*—current status and future directions. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 181-213, 2012.

CHELLAPPAN, S. et al. Production, purification and partial characterization of a novel protease from marine *Engyodontium album* BTMFS10 under solid state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 4, p. 956-961, 2006.

CLAY, K.; SCHARDL, C. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. **The American Naturalist**, v. 160, n. S4, p. S99-S127, 2002.

CLAY, K. Clavicipitaceous endophytes of grasses: their potential as biocontrol agents. **Mycological Research**, v. 92, n. 1, p. 1-12, 1989.

CLAY, K. Fungal endophytes of grasses. **Annual Review of Ecology and Systematics**, p. 275-297, 1990.

CARROLL, G.C. The biology of endophytism in plants with particular reference to woodperennials. In: Fokkoma, N.J., Van de Heuvel, J. (eds.). **Microbiology of the Phyllosphere Cambridge University Press**, Cambridge, pp.205-222. 1986.

CAMPOS, F. F. et al. Leishmanicidal metabolites from *Cochliobolus* sp., an endophytic fungus isolated from *Piptadenia adiantoides* (Fabaceae). **PLoS Negl Trop Dis**, v. 2, n. 12, p. 348, 2008.

CARVALHO, C.R. et al. The diversity, antimicrobial and anticancer activity of endophytic fungi associated with the medicinal plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) from the Brazilian savannah. **Symbiosis**, v. 57, n. 2, p. 95-107, 2012.

CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. Perspectivas para a agropecuária/Companhia Nacional de Abastecimento, Conab, 2014. **Perspec. agropec.**2:1-155.

CLARKE, K.R.; GORLEY, R.N. Primer v6: user manual/tutorial. **PRIMER-E, Plymouth, UK**. 2006

CUI, Y. et al. Ginkgolide B produced endophytic fungus (*Fusarium oxysporum*) isolated from Ginkgo biloba. **Fitoterapia**, v. 83, n. 5, p. 913-920, 2012.

DENG, Z. et al. Characterization of Cd-and Pb-resistant fungal endophyte *Mucor* sp. CBRF59 isolated from rapeseed (*Brassica chinensis*) in a metal-contaminated soil. **Journal of hazardous materials**, v. 185, n. 2, p. 717-724, 2011.

DURÃES, F.O.M. Sorgo sacarino: desenvolvimento de tecnologia agrônômica. **Agroenergia em Revista**, v. 3, p. 7, 2011.

DUBE, B.; SMART, J.R.; GROVER, C. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, v. 19, n. 2, p. 222, 1987.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. Compendium of soil fungi. Volume 1. Academic press, London, 1980.

DICKO, M.H. et al. Review: sorghum grain as human food in Africa: relevance of starch content and amylase activities. **African journal of biotechnology**, v. 5, p. 384-395, 2006.

ELLIS, M.B. et al. Dematiaceous hyphomycetes. **Commonwealth Mycological Institute, Kew. P.** 608. England. 1971.

ELLIS, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. **Commonwealth Mycological Institute, Kew.** England 507.

FARIAS, A.A. et al. Produtividade do sorgo granífero adubado com esterco e biofertilizante bovino. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia** 8: 127-137. 2011.

FISHER, P.J.; PETRINI, O.; SCOTT, H.M.L. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). **New Phytologist**, v. 122, n. 2, p. 299-305, 1992.

FAETH, S.H.; FAGAN, W.F. Fungal endophytes: common host plant symbionts but uncommon mutualists. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 2, p. 360-368, 2002.

FERREIRA, M.C. et al. Molecular phylogeny, diversity, symbiosis and discover of bioactive compounds of endophytic fungi associated with the medicinal Amazonian plant *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 59, p. 36-44, 2015.

FREIRE, F.C.O. et al. Foliar endophytic fungi of Ceará State (Brazil): a preliminary study. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 3, p. 304-308, 2001.

FREIRE, K.T.L.S. et al. 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, 2015.

GLIENKE-BLANCO, C. et al. Genetic variability in the endophytic fungus *Guignardia citricarpa* isolated from citrus plants. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 2, p. 251-255, 2002.

GÓES-NETO, A.; LOGUERCIO-LEITE, C.; GUERRERO, R.T. DNA extraction from frozen fieldcollected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. **Biotemas**, v. 18, n. 2, p. 19-32, 2005.

GALLERY, R.E.; DALLING, J.W.; ARNOLD, A.E. Diversity, host affinity, and distribution of seed-infecting fungi: a case study with Cecropia. **Ecology**, v. 88, n. 3, p. 582-588, 2007.

GARRETT, S. D. Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationships. **New Phytologist**, p. 149-166, 1951.

GAZIS, R.; CHAVERRI, P. 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, 2010.

GARCÍA, A. et al. Diversity of foliar endophytic fungi from the medicinal plant *Sapindus saponaria* L. and their localization by scanning electron microscopy. **Biological research**, v. 45, n. 2, p. 139-148, 2012.

GAMBOA, M.A.; BAYMAN, P. Communities of Endophytic Fungi in Leaves of a *Tropical Timber Tree* (*Guarea guidonia*: Meliaceae) 1. **Biotropica**, v. 33, n. 2, p. 352-360, 2001.

GUO, L.D., HYDE, K.D., LIEW, E.C.Y. Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences. **New Phytologist** 147: 617-630, 2000.

GUIMARÃES, A.C. et al. Preliminary investigation on the mycelial composition and antimicrobial potential of endophytic fungi from the Amazonian mistletoe *Cladocolea micranta* (Eichler) Kuijt (Loranthaceae). **Revista Fitos**, v. 4, n. 2, p.90-101, 2009.

HYDE, K.D.; SOYTONG, K. The fungal endophyte dilemma. **Fungal Diversity**, v. 33, p. 163-173, 2008.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In: **Nucleic acids symposium series**. 1999. p. 95-98.

HIGGINS, K.L. et al. Culturing and direct PCR suggest prevalent host generalism among diverse fungal endophytes of tropical forest grasses. **Mycologia**, v. 103, n. 2, p. 247-260, 2011.

HILARINO, M.P.A. et al. Distribution of the endophytic fungi community in leaves of *Bauhinia brevipes* (Fabaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p. 815-821, 2011.

HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological Statistics package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica** v. 4, n.1, 2001.

HENSON, J.M. DNA probe for identification of the take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis*. **Applied and environmental microbiology**, v. 55, n. 2, p. 284-288, 1989.

HERRERA, J. et al. Shifting fungal endophyte communities colonize *Bouteloua gracilis*: effect of host tissue and geographical distribution. **Mycologia**, v. 102, n. 5, p. 1012-1026, 2010.

HUANG, Y. et al. Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, 31(2), 163-167, 2001.

IANNONE, L.J. et al. Occurrence of *Epichloë* fungal endophytes in the sheep-preferred grass *Hordeum comosum* from Patagonia. **Journal of Arid Environments**, v. 115, p. 19-26, 2015.

IANNONE, L.J. et al. Endophytes of native grasses from South America: biodiversity and ecology. **Fungal Ecology**, v. 5, n. 3, p. 357-363, 2012.

JOSHEE, S. et al. Diversity and distribution of fungal foliar endophytes in New Zealand Podocarpaceae. **Mycological research**, v. 113, n. 9, p. 1003-1015, 2009.

KAWAMURA, C. et al. The melanin biosynthesis genes of *Alternaria alternata* can restore pathogenicity of the melanin-deficient mutants of *Magnaporthe grisea*. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 10, n. 4, p. 446-453, 1997.

KHIDIR, H.H. et al. A general suite of fungal endophytes dominate the roots of two dominant grasses in a semiarid grassland. **Journal of Arid Environments**, v. 74, n. 1, p. 35-42, 2010.

KIRK, P.M.; COOPER, J. 2005. **Index Fungorum** – Authors of Fungal Names. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/>> Acesso em: 23 novembro 2015.

KIEWNICK, S.; SIKORA, R. A. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. **Biological control**, v. 38, n. 2, p. 179-187, 2006.

KOGEL, K.; FRANKEN, P.; HÜCKELHOVEN, R. Endophyte or parasite—what decides?. **Current opinion in plant biology**, v. 9, n. 4, p. 358-363, 2006.

KROHN, K. et al. Metabolites from fungi 15. New isocoumarins from an endophytic fungus isolated from the Canadian thistle *Cirsium arvense*. **Natural product letters**, v. 15, n. 5, p. 353-361, 2001.

KULDAU, G.; BACON, C. Clavicipitaceous endophytes: their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. **Biological Control**, v. 46, n. 1, p. 57-71, 2008.

KUMAR, S. et al. Endophytic fungi isolated from oil-seed crop *Jatropha curcas* produces oil and exhibit antifungal activity. **PloS one**, v. 8, n. 2, p. e56202, 2013.

KUMARAN, R.S.; MUTHUMARY, J.; HUR, B. Taxol from *Phyllosticta citricarpa*, a leaf spot fungus of the angiosperm *Citrus medica*. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 106, n. 1, p. 103-106, 2008.

LATCH, G.C.M. An overview of *Neotyphodium*-grass interactions. In: **Neotyphodium/grass interactions**. Springer US, 1997. p. 1-11.

LARKIN, M.A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, n. 21, p. 2947-2948, 2007.

LARENA, I. et al. Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. **Biological Control**, v. 32, n. 2, p. 305-310, 2005.

LESLIE, J.F. et al. *Fusarium* spp. from corn, sorghum, and soybean fields in the central and eastern United States. **Phytopathology**, v. 80, n. 4, p. 343-350, 1990.

LUANGSA-ARD, J. et al. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiology letters**, v. 321, n. 2, p. 141-149, 2011.

LIETH, H. Purposes of a phenology book. In: **Phenology and seasonality modeling**. Springer Berlin Heidelberg, 1974. p. 3-19.

LIMA, T.E.F.; BEZERRA, J.L.; CAVALCANTI, M.A.Q. Phaeotrichoconis crotalariae, endophytic on *Vitis labrusca* in Brazil. **Mycotaxon**, v. 120, n. 1, p. 291-294, 2012.

LIMA, T.E.F. et al. Endophytic yeasts of *Coffea arabica* and *Vitis labrusca* cv. Isabel from Pernambuco, Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 96, n. 3-4, p. 463-469, 2013.

LIMA, T.E.F. et al. Endophytic fungi from leaves and roots of *Vitis labrusca* cv. Isabel in Pernambuco/Brazil. **SYDOWIA**, 66:115-128. 2014.

LIMA, T.E.F.; CAVALCANTI, M.S. Fungos endofíticos e do fitoplano de *Caesalpinia echinata* LAM. da estação ecológica de Tapacurá, PE. **Agrotrópica** 26:43-50. 2014

LI, B.; ZHENG, X.; SUN, S. A survey of endophytic fungi in some native forage grasses of northwestern China. In: **Neotyphodium/grass interactions**. Springer US, 1997. p. 69-71.

LI, C. et al. A new *Neotyphodium* species symbiotic with drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) in China. **Mycotaxon**, v. 90, n. 1, p. 141-147, 2004.

LORO, M. et al. Diversity and composition of fungal endophytes in semiarid Northwest Venezuela. **Journal of Arid Environments**, v. 85, p. 46-55, 2012.

LOBO, E.; LEIGHTON G. Estruturas comunitarias de las fitocenosis planctónicas de los sistemas de desembocaduras y esteros de rios de la zona central de Chile. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, 22:1-29. 1986.

MAGALHÃES, W.C.S. et al. Diversidade de fungos endofíticos em *Candeia Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish. **Cerne**, v. 14, n. 3, p. 267-273, 2008.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. Ecofisiologia. **Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro técnico-científico (ALICE)**, 2009.

MÁRQUEZ, S.S.; BILLS, G.F.; ZABALGOGEAZCOA, I. The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. **Fungal Diversity** V 27, P.171-195. 2007.

MÁRQUEZ, S.S. et al. Non-systemic fungal endophytes of grasses. **Fungal Ecology**, v. 5, n. 3, p. 289-297, 2012.

MÁRQUEZ, S.S. et al. Endophytic mycobiota of leaves and roots of the grass *Holcus lanatus*. **Fungal Diversity**, v. 41, n. 1, p. 115-123, 2010.

MÁRQUEZ, S.S.; BILLS, G.F., ZABALGOGEAZCOA, L. Diversity and structure of the fungal endophytic assemblages from two sympatric coastal grasses. **Fungal Diversity**, v. 33, p. 87-100, 2008.

MARINHO, A.M. et al. Biologically active polyketides produced by *Penicillium janthinellum* isolated as an endophytic fungus from fruits of *Melia azedarach*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 2, p. 280-283, 2005.

MEKBIB, F. Infra-specific folk taxonomy in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in Ethiopia: folk nomenclature, classification, and criteria. **Journal of ethnobiology and ethnomedicine**, v. 3, n. 1, p. 38, 2007.

MARTINI, M. et al. DNA-dependent detection of the grapevine fungal endophytes *Aureobasidium pullulans* and *Epicoccum nigrum*. **Plant Disease**, v. 93, n. 10, p. 993-998, 2009.

MACHADO, F.S. et al. Consumo e digestibilidade aparente de silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação. **Arq. Bras. Med**, v. 63, n. 6, p. 1470-1478, 2011.

MIAO, Z. et al. A new endophytic taxane production fungus from *Taxus chinensis*. **Applied biochemistry and microbiology**, v. 45, n. 1, p. 81-86, 2009.

MILNE, I. et al. TOPALi: software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple alignments. **Bioinformatics**, v. 20, n. 11, p. 1806-1807, 2004.

MILES, C.O. et al. Endophytic fungi in indigenous Australasian grasses associated with toxicity to livestock. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 2, p. 601-606, 1998.

MORAKOTKARN, D.; KAWASAKI, H.; SEKI, T. Molecular diversity of bamboo-associated fungi isolated from Japan. **FEMS microbiology letters**, v. 266, n. 1, p. 10-19, 2007.

MONTEIRO, M.C.D. et al. Obtenção e seleção de híbridos interespecíficos de sorgo forrageiro para Pernambuco e áreas similares. **Revista Ciência Agrônômica**, 35:238-247.

MORICCA, S. et al. Antagonism of the two-needle pine stem rust fungi *Cronartium flaccidum* and *Peridermium pini* by *Cladosporium tenuissimum* in vitro and in planta. **Phytopathology**, v. 91, n. 5, p. 457-468, 2001.

NASCIMENTO, T.L. et al. Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of *Calotropis procera* and their antimicrobial activity. **Fungal Ecology**, v. 14, p. 79-86, 2015.

NEUMANN, M.; RESTLE, J.; BRONDANI, I.L. Avaliação de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench) ou milho (*Zea mays*, L.) na produção do novilho superprecoce. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, n. 03, 2010.

NASINI, G. et al. Secondary mould metabolites of *Cladosporium tenuissimum*, a hyperparasite of rust fungi. **Phytochemistry**, v. 65, n. 14, p. 2107-2111, 2004.

NITHYA, K.; MUTHUMARY, J. Growth studies of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.-a taxol producing endophytic fungus from *Plumeria acutifolia*. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 2, n. 11, p. 14-19, 2009.

OSSES, R. et al. Evaluation of fungal endophytes for lignocellulolytic enzyme production and wood biodegradation. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 57, n. 2, p. 129-135, 2006.

OLIVEIRA, S.F. et al. Endophytic and mycorrhizal fungi associated with roots of endangered native orchids from the Atlantic Forest, Brazil. **Mycorrhiza**, v. 24, n. 1, p. 55-64, 2013.

OLIVEIRA, R.J.V. et al. Endophytic fungal diversity in coffee leaves (*Coffea arabica*) cultivated using organic and conventional crop management systems. **Mycosphere**, v.5, n.4, p: 523–530, 2014(b).

OLIVEIRA, R.J.V.; et al. Corniculariella brasiliensis, a new species of coelomycetes in the rhizosphere of *Caesalpinia echinata* (Fabaceae, Caesalpinioideae) in Brazil. **Phytotaxa**, v.178, n. 3, p: 197–204, 2014(a).

OKANE, I. et al. Extensive host range of an endophytic fungus, *Guignardia endophyllicola* (anamorph: *Phyllosticta capitalensis*). **Mycoscience**, v. 44, n. 5, p. 353-363, 2003.

PANCHER, M. et al. Fungal endophytic communities in grapevines (*Vitis vinifera* L.) respond to crop management. **Applied and environmental microbiology**, p. AEM. 07655-11, 2012.

PANDEY, A.K.; REDDY, M. S.; SURYANARAYANAN, T.S. ITS-RFLP and ITS sequence analysis of a foliar endophytic *Phyllosticta* from different tropical trees. **Mycological Research**, v. 107, n. 04, p. 439-444, 2003.

PELÁEZ, F. et al. Endophytic fungi from plants living on gypsum soils as a source of secondary metabolites with antimicrobial activity. **Mycological Research**, v. 102, n. 06, p. 755-761, 1998.

PERAZZO, A.F. et al. Características agronômicas e eficiência do uso da chuva em cultivares de sorgo no semiárido. **Ciência Rural**, v. 43, n. 10, p. 1771-1776, 2013.

PEREIRA, J.O.; VIEIRA, M.L.C.; AZEVEDO, J.L. Endophytic fungi from *Musa acuminata* and their reintroduction into axenic plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 37-40, 1999.

PETRINI, O. Fungal endophytes of tree leaves. In: **Microbial ecology of leaves**. Springer New York, 1991. p. 179-197.

PETRINI O.; STONE, J.; CARROLL, Fanny E. Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. **Canadian Journal of Botany**, v. 60, n. 6, p. 789-796, 1992.

PEDREIRA, M.S., REIS, R.A., BERCHIELI, T.T. Características agronômicas e composição química de oito híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **R. Bras. Zootec**, v. 32, n. 5, p. 1083-1092, 2003.

PEREIRA, J.O. 1993. **Fungos endofíticos dos hospedeiros tropicais *Stylosanthes guianensis* e *Musa cavendish***. Tese de Doutorado, Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. São Paulo.

PIMENTEL, I.C.; FIGURA, G.; AUER, C.G. Fungos endofíticos associados a acículas de *Pinus taeda*. **Summa Phytopathol**, v. 36, p. 85-88, 2010.

PIMENTEL, I.C. et al. Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 5, p. 705-711, 2006.

PORRAS-ALFARO, A. et al. Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 9, p. 2805-2813, 2008.

PORRAS-ALFARO, A. et al. Endophytic fungal symbionts associated with gypsophilous plants. **Botany**, v. 92, n. 4, p. 295-301, 2014.

PHOTITA, W. et al. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at doi Suthep Pui National Park, Thailand. **Mycological Research**, v. 105, n. 12, p. 1508-1513, 2001.

QUEIROZL, V.A.V. et al. Potencial do sorgo poro uso na alimentação humana. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 35, n. 278, p. 7-12, 2014.

RESENDE, Á.V. et al. Adubação maximiza o potencial produtivo do sorgo. **Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica**, 2009.

REDMAN, R.S. et al. Increased fitness of rice plants to abiotic stress via habitat adapted symbiosis: a strategy for mitigating impacts of climate change. **PLoS ONE** v. 6, n.7, p.14823. 2011.

REDMAN, R.S. et al. Thermotolerance Conferred to Plant Host and Fungal Endophyte During Mutualistic Symbiosis. **Science**, v. 298, p. 1581, 2002.

ROSA, L.H. et al. Endophytic fungi associated with the Antarctic grass *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae). **Polar biology**, v. 32, n. 2, p. 161-167, 2009.

ROSA, L.H. et al. Endophytic fungi community associated with the dicotyledonous plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae) in Antarctica. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 73, n. 1, p. 178-189, 2010.

RIBAS, P.M. Sorgo: introdução e importância econômica. **Embrapa Milho e Sorgo**, 2003.

RODRIGUES, K.F.; SAMUELS, G.J. Fungal endophytes of *Spondias mombin* leaves in Brazil. **Journal of Basic Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 131-135, 1999.

RODRIGUES, A.A.C; MENEZES, M. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 27, n. 5, p. 532-537, 2002.

RODRIGUES, K.F. The foliar fungal endophytes of the Amazonian palm *Euterpe oleracea*. **Mycologia**, p. 376-385, 1994.

RODRIGUEZ, R.; REDMAN, R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 5, p. 1109-1114, 2008.

RODRIGUEZ, R.J. et al. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**, v. 182, n. 2, p. 314-330, 2009.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.

RUBINI, M.R. et al. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom Disease. **International Journal of Biological Sciences**, v. 1, n. 1, p. 24, 2005.

SANTOS, R.M.G., RODRIGUES, E. Meroterpenes from *Penicillium* sp. found in association with *Melia azedarach*. **Phytochemistry**, v. 61, n. 8, p. 907-912, 2002.

SANTOS, R.M.G. **Metabolismo secundários de fungos *Penicillium* sp. e *Fusarium moniliforme* isolados como endofíticos de *Melia azedarach* (Meliaceae)**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, 311. 2003.

SANTOS, I.L.V.L. et al. Utilização de RAPD na caracterização molecular de acessos de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) recomendados para o semi-árido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 60-66, 2010.

SANTOS, F.G. et al. AS BRS Ponta Negra Variedade de Sorgo Forrageiro. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007.

SANTOS, I.P. et al. Endophytic mycobiota from leaves of *Indigofera suffruticosa* Miller (Fabaceae): The relationship between seasonal change in Atlantic Coastal Forest and tropical dry forest (Caatinga), Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 18, p. 1227-1235, 2015.

SAIKKONEN, K. et al. Endophytic fungi in wild and cultivated grasses in Finland. **Ecography**, p. 360-366, 2000.

SAIKKONEN, K. et al. Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, p. 319-343, 1998.

SARTORI, V. et al. Endophytic yeasts and filamentous fungi associated with southern Brazilian apple (*Malus domestica*) orchards subjected to conventional, integrated or organic cultivation. **Journal of basic microbiology**, v. 45, n. 5, p. 397-402, 2005.

SALERNO, M. I.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Effects on growth and comparison of root tissue colonization patterns of *Eucalyptus viminalis* by pathogenic and nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **New Phytologist**, v. 146, n. 2, p. 317-324, 2000.

SAMUELS, G. J.; MCKENZIE, E.H.C.; BUCHANAN, D.E. Ascomycetes of New Zealand 3. Two new species of *Apiospora* and their *Arthrinium* anamorphs on bamboo. **New Zealand Journal of Botany**, v. 19, n. 2, p. 137-149, 1981.

SADAKA, N.; PONGE, J. Fungal colonization of phyllosphere and litter of *Quercus rotundifolia* Lam. in a holm oak forest (High Atlas, Morocco). **Biology and fertility of soils**, v. 39, n. 1, p. 30-36, 2003.

SCHULZ, B. et al. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, v. 106, n. 09, p. 996-1004, 2002.

SCHULZ, B. et al. Endophyte-host interactions. II. Defining symbiosis of the endophyte-host interaction. **Symbiosis, Philadelphia, Pa. (USA)**, 1998.

SCHULZ, B. et al. Endophytes from herbaceous plants and shrubs: effectiveness of surface sterilization methods. **Mycological research**, v. 97, n. 12, p. 1447-1450, 1993.

SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. **Mycological research**, v. 109, n. 06, p. 661-686, 2005.

SEENA, S.; SRIDHAR, K. R. Endophytic fungal diversity of 2 sand dune wild legumes from the southwest coast of India. **Canadian journal of microbiology**, v. 50, n. 12, p. 1015-1021, 2004.

SELIM, K.A. et al. Biology of Endophytic Fungi. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**. v.2, n.1, p.31-82. 2012.

SERENA, C. et al. In vitro activities of new antifungal agents against *Chaetomium* spp. and inoculum standardization. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 47, n. 10, p. 3161-3164, 2003.

SEBASTIANES, F.L.S. et al. Species diversity of culturable endophytic fungi from Brazilian mangrove forests. **Current genetics**, v. 59, n. 3, p. 153-166, 2013.

SIEBER, T. et al. Endophytic Fungi in Four Winter Wheat Cultivars (*Triticum aestivum* L.) Differing in Resistance Against *Stagonospora nodorum* (Berk.) Cast. & Germ.= *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. **Journal of phytopathology**, v. 122, n. 4, p. 289-306, 1988.

SILVA, G.H. et al. Citocalasinas produzidas por *Xylaria* sp., um fungo endofítico de *Piper aduncum* (piperaceae). **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2038-2041, 2010.

SILVA, K.J. et al. Seleção de híbridos de sorgo granífero cultivados no verão em três localidades. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 1, p. 44-53, 2013.

SIQUEIRA, V.M. et al. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. **Symbiosis**, v. 53, n. 2, p. 89-95, 2011.

SPECIAN, V. et al. Metabólitos Secundários de Interesse Farmacêutico Produzidos por Fungos Endofíticos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 16, n. 4, p. 345-51, 2015.

STROBEL, G.A. et al. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural products**, v. 67, n. 2, p. 257-268, 2004.

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

STUART, R.M. et al. Culturable endophytic filamentous fungi from leaves of transgenic imidazolinone-tolerant sugarcane and its non-transgenic isolines. **Archives of microbiology**, v. 192, n. 4, p. 307-313, 2010.

SUN, Y. et al. Endophytic fungal community in stems and leaves of plants from desert areas in China. **Mycological progress**, v. 11, n. 3, p. 781-790, 2012.

SURYANARAYANAN, T.S.; MURALI, T.S.; VENKATESAN, G. Occurrence and distribution of fungal endophytes in tropical forests across a rainfall gradient. **Canadian Journal of Botany**, v. 80, n. 8, p. 818-826, 2002.

SZÉCSI, Á. et al. Poaceae: A rich source of endophytic fusaria. **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, v. 48, n. 1, p. 19-32, 2013.

TABOSA, J.N. et al. Teste em linhas de sorgo no semi-árido de Pernambuco para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 12, p. 1385-1390, 1993.

TABOS, J.N. et al. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes agroecológicos dos estados de Pernambuco e Alagoas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n. 02, 2002.

TAN, R.X.; ZOU, W.X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural product reports**, v. 18, n. 4, p. 448-459, 2001.

TAYLOR, J.E.; HYDE, K.D.; JONES, E.B.G. Endophytic fungi associated with the temperate palm, *Trachycarpus fortunei*, within and outside its natural geographic range. **New Phytologist**, v. 142, n. 2, p. 335-346, 1999

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

VIEIRA, P.D.S. et al. Crescimento in vitro de fungos (*Colletotrichum gloeosporioides* e *Cladosporium cladosporioides*) isolados de frutos do mamoeiro, sob atmosfera controlada e refrigeração. **Rev. Bras. Frutic**, v. 28, p. 387-390, 2006.

VENKATACHALAM, A.; THIRUNAVUKKARASU, N.; SURYANARAYANAN, T.S. Distribution and diversity of endophytes in seagrasses. **Fungal Ecology**, v. 13, p. 60-65, 2015.

WEI, Y.K. et al. Occurrence of endophytes in grasses native to northern China. **Grass and Forage Science**, v. 61, n. 4, p. 422-429, 2007.

WEIR, B.S.; JOHNSTON, P.R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 115-180, 2012.

WHITE, T.J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal rRNA genes for phylogenetics, p 315–322. PCR protocols: a guide to methods and applications. **Academic Press, Inc, New York, NY**, 1990.

WHITE, J.F.; BALDWIN, N.A. A preliminary enumeration of grass endophytes in west central England. **Sydowia**, v. 44, p. 78-84, 1992.

WHITE, J. F.; TORRES, M.S. Is plant endophyte-mediated defensive mutualism the result of oxidative stress protection?. **Physiologia Plantarum**, v. 138, n. 4, p. 440-446, 2010.

WANG, Y.; DAI, C. Endophytes: a potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. **Annals of Microbiology**, v. 61, n. 2, p. 207-215, 2011.

WANG, Y.T., LO, H.S., WANG, P.H. Endophytic fungi from *Taxus maireiin* Taiwan: first report of *Colletotrichum gloeosporioides* as an endophyte of *Taxus maireiin*. **Botanical Studies**, v. 49, n. 1, p. 39-43, 2008.

WANG, Y. et al. Phylogenetic diversity of culturable endophytic fungi in Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff), detection of polyketide synthase gene and their antagonistic activity analysis. **Fungal biology**, v. 119, n. 11, p. 1032-1045, 2015.

WONG, P.T.W.; WALKER, J. Germinating phialidic conidia of *Gaeumannomyces graminis* and Phialophora-like fungi from Gramineae. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 65, n. 1, p. 41-IN8, 1975.

WONG, P.T.W. *Gaeumannomyces wongoonoo* sp. nov., the cause of a patch disease of buffalo grass (St Augustine grass). **Mycological Research**, v. 106, n. 07, p. 857-862, 2002.

WIRSEL, S.G.R. et al. Four or more species of *Cladosporium sympatrically* colonize *Phragmites australis*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 35, n. 2, p. 99-113, 2002.

WU, H. et al. Diversity of endophytic fungi from roots of *Panax ginseng* and their saponin yield capacities. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 107, 2013.

YILMAZ, N. et al. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. **Studies in mycology**, 78, 175-341, 2014.

YUAN, Z. et al. Distinctive endophytic fungal assemblage in stems of wild rice (*Oryza granulata*) in China with special reference to two species of Muscodor (Xylariaceae). **The Journal of Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 15-23, 2011.

YEH, Y.; KIRSCHNER, R. *Sarocladium spinificis*, a new endophytic species from the coastal grass *Spinifex littoreus* in Taiwan. **Botanical Studies**, v. 55, n. 25, p. 1-6, 2014.

ZIDA, E.P. et al. Fungal endophytes of sorghum in Burkina Faso: Occurrence and distribution. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 46, p. 3782-3793, 2014.

ZHOU, S.L. et al. Diversity of Endophytic Fungi Associated with the Foliar Tissue of a Hemi-Parasitic Plant *Macrosolen cochinchinensis*. **Current microbiology**, v. 70, n. 1, p. 58-66, 2015.

ZOU, W.X. et al. Metabolites of *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus in *Artemisia mongolica*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 11, p. 1529-1530, 2000.