



THAÍS EMANUELLE FEIJÓ DE LIMA

**MICROBIOTA DA RIZOSFERA, RIZOPLANO E ENDÓFITA DE RAÍZES DE
VITIS LABRUSCA L. CV. ISABEL**

**RECIFE
FEVEREIRO/2014**



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

**MICROBIOTA DA RIZOSFERA, RIZOPLANO E ENDÓFITA DE RAÍZES DE
VITIS LABRUSCA L. CV. ISABEL**

THAÍS EMANUELLE FEIJÓ DE LIMA

Tese 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 Doutor em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Taxonomia e Ecologia de Fungos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti

Co-orientador: Prof^o. Dr. José Luiz Bezerra

**RECIFE
FEVEREIRO/2014**

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Lima, Thaís Emanuelle Feijó de

Micobiota da rizosfera, rizoplano e endófito de raízes de *Vitis labrusca* L. CV. Isabel / Thaís Emanuelle Feijó de Lima. – Recife: O Autor, 2014.

108 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti

Coorientador: José Luiz Bezerra

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Pós-graduação em Biologia de Fungos, 2014.

Inclui bibliografia

1. Fungos 2. Botânica – Classificação 3. Videira I. Cavalcanti, Maria Auxiliadora de Queiroz (orient.) II. Bezerra, José Luiz (coorient.) III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2014-028

**MICROBIOTA DA RIZOSFERA, RIZOPLANO E ENDÓFITA DE RAÍZES DE *VITIS*
LABRUSCA L. CV. ISABEL**

THAÍS EMANUELLE FEIJÓ DE LIMA

Aprovada: 26 de Fevereiro de 2014

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Prof^a. Dra. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti- Orientadora
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a. Dra. Laise de Holanda Cavalcanti Andrade
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ)

Prof^a. Dra. Neiva Tinti de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a. Dra. Edna Dora Martins Newman Luz
Centro de Pesquisas do Cacau (CEPLAC)

MEMBROS SUPLENTE

Prof. Dr. Gladstone Alves da Silva
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Jadergudson Pereira
Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC)

Dedico:

À Senhor, o autor da minha fé!
A meus pais, pelo esforço e investimento.

*Pois tu formaste o meu interior, tu me teceste no seio de minha mãe.
Graças te dou, visto que por modo assombrosamente maravilhoso me formaste; as tuas
obras são admiráveis, e a minha alma o sabe muito bem.
Os teus olhos me viram a substância ainda informe, e no teu livro foram escritos todos os
meus dias, cada um deles escrito e determinado, quando nem um deles havia ainda.
Salmos 139:13-14, 16.*

Agradeco:

Sempre a Deus, por estar ao meu lado nos momentos bons e difíceis da vida!

Aos meus pais e familiares (irmão, avós, tios e primos), pelo apoio, compreensão, ajuda, carinho e amor sempre!

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, pela oportunidade oferecida na realização deste trabalho.

Aos professores ministrantes das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, por todo o conhecimento adquirido.

A minha querida orientadora, Prof^a. Dra. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti, pela amizade, paciência, ajuda e por todo conhecimento oferecido, e ao querido Prof. Dr. José Luiz Bezerra, pela co-orientação e amizade.

A todos os meus amigos e companheiros de Mestrado e Doutorado.

Aos meus queridos amigos e companheiros do Laboratório: Rafael Vilela, Michelline Lins, Diogo Xavier, Roger Melo, Renata Gomes, Flávia Coutinho, Carlos Fragoso e Maielly Sena.

Aos amigos: Pamella Ximenes, Sérgio Ramos, Gladstone Silva, Catarina Melo, Márcia Costa, Elaiza Anjos, Sandra Ribeiro, Camila Melo, Nylber da Silva, Susane Chang, Edvaneide de Lima, Marcela e Lidia Silva.

As minhas amigas de todas as horas: Mayra Silva e Josiane Freires (Aninha).

A família do Sr. Sebastião (in memoriam) pela grande atenção e autorização das coletas no parreiral, especialmente a Ana e José Raimundo.

A querida Profa. Dra. Marilene Cavalcanti e os amigos do Laboratório de Fungos Aquáticos que muito me apoiaram.

A minha amada Igreja (Evangélica Congregacional em Ouro Preto), pelas orações e apoio.

A banca examinadora pelas contribuições no desenvolvimento dessa tese.

A todos os outros que contribuíram para que eu conseguisse chegar até aqui.

Muito obrigada!

RESUMO

Este trabalho objetivou (1) determinar a micobiota da rizosfera, do rizoplane e endófito de raízes de *Vitis labrusca* cv. Isabel; (2) avaliar a patogenicidade e a capacidade de recolonização de algumas espécies endófitas selecionadas em folhas e raízes; (3) determinar a frequência de ocorrência dos fungos isolados e a similaridade entre a micobiota endófito das raízes, do rizoplane e da rizosfera; (4) determinar o padrão de recolonização e a patogenicidade (capacidade de ser um patógeno latente) de espécies endófitas selecionadas através da inoculação em mudas de *V. labrusca*, e, (5) confirmar, através de técnicas moleculares (ISSR), a identificação das espécies inoculadas e re-isoladas. De janeiro a dezembro de 2011 foram efetuadas seis coletas da rizosfera e raízes de *V. labrusca* cv. Isabel em São Vicente Férrer, Pernambuco. Fragmentos de raízes (324) foram desinfestados em álcool 70% (1min), hipoclorito de sódio a 3% (2 min), álcool 70% (30s), e em seguida lavados com água destilada esterilizada (ADE) e incubados em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) + cloranfenicol (50mg/L^{-1}). As amostras de rizosfera foram submetidas à técnica de diluição sucessiva, onde 25g de solo foram suspensos em 225ml de ADE. Desta diluição, 10ml foi adicionado a 990ml de ADE da qual 1ml foi semeada em meio Ágar Sabouraud com Rosa de bengala (SAB+Rb). Amostras do rizoplane (2mg) foram inoculadas em meio SAB+Rb. As placas foram incubadas em temperatura ambiente e observadas quanto ao crescimento fúngico. As colônias, após purificadas, foram identificadas com base nas características macro e microestruturais. Para a avaliação da capacidade de colonização, *Nigrospora oryzae* e *Fusarium merismoides*, fungos endófitos isolados de indivíduos adultos de videiras, foram inoculados pulverizando $1,5 \times 10^6$ esporos/ mL^{-1} com 10 ml, a cada 15 dias, durante 8 semanas, no solo e nas folhas de mudas de videiras com 40 dias de cultivo, e avaliados após 30, 60 e 90 dias por meio do re-isolamento desses fungos das raízes e folhas. Para a avaliação da patogenicidade às raízes, *Fusarium oxysporum* e *Lasiodiplodia theobromae* foram inoculados em mudas com 90 dias, por meio de pulverizações de $1,5 \times 10^6$ esporos/ mL^{-1} com e sem escarificação das raízes. Nas folhas, *Guignardia mangiferae* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram inoculados com ferimento, por meio da fixação de discos de micélio à superfície abaxial das folhas, e sem ferimento, por meio de pulverizações da suspensão de inóculos dos fungos. As mudas foram cobertas com sacos plásticos umedecidos com ADE e mantidas em câmara úmida por 48h. O aparecimento de sintomas foi avaliado durante 30 dias, e realizado o re-isolamento dos fungos testados em meio BDA. *Fusarium oxysporum*, *F. merismoides* e *Cylindrocladiella camelliae* foram as espécies mais isoladas como endófitas de raízes. Na rizosfera as espécies mais representativas foram: *F. oxysporum* e *F. merismoides* e para o rizoplane: *Aspergillus carbonarius*, *A. japonicus* e *Trichoderma koningii* e *T.*

virens. Dentre os endófitos inoculados somente *N. oryzae* foi isolada de folhas (oito re-isolamentos) após 30 e 60 dias da inoculação, havendo similaridade genética entre seis isolados pelos *primers* (GACA)₄ e (GTG)₅. Nenhum dos fungos isolados endófitos inoculados causou sintomas nas mudas de videiras.

Palavras-chave: Avaliação de patogenicidade, Micobiota, Taxonomia, Videira, Vitaceae.

ABSTRAT

This study aimed (1) determine the mycoflora of the rhizosphere, rhizoplane and root endophyte of *Vitis labrusca* cv. Isabel, (2) evaluate the pathogenicity and the ability to recolonization of some selected species endophytes in leaves and roots, (3) determine the frequency of occurrence of fungi isolated and the similarity between the endophyte mycobiota roots, rhizoplane and rhizosphere; (4) determine the pattern of re-colonization and pathogenicity (ability to be a dormant pathogen) endophyte species selected by inoculating seedlings of *V. labrusca*, and (5) confirm by molecular techniques (ISSR), the identification of the species inoculated and re-isolated. From January to December 2011 six collections of rhizosphere and roots of *V. labrusca* cv. Isabel were made São Vicente Férrer, Pernambuco. Fragments of roots (324) were surface sterilized in 70% ethanol (1 min), sodium hypochlorite, 3 % (2 min), 70% ethanol (30s) , and then washed with sterile distilled water (SDW) and incubated on potato Dextrose Agar (PDA) + chloramphenicol (50mg/L⁻¹). Rhizosphere samples were subjected to successive dilution technique, where 25g of soil were suspended in 225ml of SDW. This dilution was added to 10ml 990ml of SDW of which 1 ml was plated on Sabouraud agar medium with Rose Bengal (SAB + Rb). Rhizoplane samples (2 mg) were inoculated directly into the middle SAB + Rb. The plates were incubated at room temperature and observed for fungal growth. Colonies after purified, were identified based on macro and microstructural features. For the evaluation of colonizing ability, *Nigrospora oryzae* and *Fusarium merismoides*, endophytic fungi isolated from adults of *V. labrusca* cv. Isabel, were inoculated 10 ml by spraying with 1.5×10^6 esporos/mL⁻¹, every 15 days for 8 weeks in soil and seedling leaves of vines with 40 days and evaluated after 30, 60 and 90 days by re-isolation of these fungi roots and leaves. To evaluate the pathogenicity roots, *Fusarium oxysporum* and *Lasiodiplodia theobromae* seedlings were inoculated in 90 days, by spraying 1.5×10^6 esporos/mL⁻¹ with and without scraping the roots. In leaves, *Guignardia mangiferae* and *Colletotrichum gloeosporioides* were inoculated with injury, by setting the mycelial discs abaxial surface of the leaves and without injury by spraying inoculum suspension of the fungus. The seedlings were covered with plastic bags moistened with SDW and kept in a humid chamber for 48 hours. The onset of symptoms was evaluated for 30 days and performed the re-isolation of fungi tested on PDA. *Fusarium oxysporum*, *F. merismoides* and *Cylindrocladiella camelliae* were the most isolated species as endophytes of roots. Rhizosphere and the most representative species were: *F. oxysporum* and *F. merismoides* and the rhizoplane *Aspergillus carbonarius*, *A. japonicus* and *Trichoderma koningii* and *T. virens*. Among endophytes inoculated only *N. oryzae* was isolated from leaves (eight re-insulation) after 30

and 60 days after inoculation , with genetic similarity among six isolates by the primers (GACA)₄ and (GTG)₅. None of endophytic fungi isolates caused symptoms in inoculated seedlings vines.

Keywords: Evaluation of pathogenicity, Mycobiota, Taxonomy, vine, Vitaceae.

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1 – Mapa indicando localização do município de São Vicente Férrer-PE.....	41
Figura 2 – Vista do parreiral na área de coleta no sítio Sebastião em São Vicente Férrer-PE.....	41
Figura 3 – Cultura dos fungos endófitos inoculados: A- <i>Fusarium merismoides</i> e B- <i>Nigrospora oryzae</i> ; C- Suspensão de esporos dos inoculantes.....	44
Figura 4 – Preparação das mudas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel em casa de vegetação: A- estacas; B- solo autoclavado em potes de 1L; C- plantio das estacas; D e E- brotamento das estacas.....	45
Figura 5 – Isolamento do controle: A- fragmentos da estaca; B- fragmentos em meio de cultura.....	45
Figura 6 – Conídios das espécies fúngicas inoculadas: A- <i>Fusarium merismoides</i> e B- <i>Nigrospora oryzae</i> ; C e D - mudas de <i>Vitis labrusca</i> após 30 dias de inoculação: C- <i>F. merismoides</i> e D- <i>N. oryzae</i>	46
Figura 7 – Conídios das espécies fúngicas testadas: A- <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , B- <i>Guignardia mangiferae</i> ; C- <i>Fusarium oxysporum</i> e D- <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	47
Figura 8 – Esquematização do teste de fitopatogenicidade com e sem ferimento foliar.....	48
Figura 9 – Esquematização do teste de fitopatogenicidade com e sem ferimento nas raízes de mudas de videira.....	48
Figura 10 – Dendrograma de similaridade dos fungos endófitos isolados de raízes de <i>Vitis labrusca</i> durante os meses de coleta.....	57
Figura 11 – Dendrograma de similaridade dos fungos isolados da rizosfera e do rizoplano de <i>Vitis labrusca</i> durante os meses de coleta.....	67
Figura 12 – Dendrograma de similaridade dos fungos isolados da rizosfera, rizoplano e endófitos de raízes de <i>Vitis labrusca</i> durante os meses de coleta.....	69
Figura 13 – Perfis de amplificação das regiões de ISSR obtidos com o <i>primer</i> (GACA) ₄ e (GTG) ₅ de <i>Nigrospora oryzae</i> isolados de <i>Vitis labrusca</i> . M- marcador de peso molecular 1Kb plus; N1 - DNA do inóculo de <i>N. oryzae</i> ; N2 a N11- re-isolados de <i>N. oryzae</i> ; N12 e N13 – Re-isolados do controle.....	72

Figura 14 – Mudanças após 30 dias de inoculação: A- <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> com ferimento foliar; B e C- <i>C.gloeosporioides</i> e <i>Guignardia mangiferae</i> , respectivamente, sem ferimento foliar.....	73
Figura 15 – Mudanças após 30 dias de inoculação com <i>Fusarium oxysporum</i> : A a C- mudas com ressecamento foliar; D- crescimento fúngico nas raízes e no solo; E a F- visualização do xilema.....	74
Figura 16 – Raízes após 30 dias de inoculação com <i>Lasiodiplodia theobromae</i> : A- sistema radicular; B- fragmentos das raízes para re-isolamento.....	74
Figura 17 – Perfis de amplificação das regiões de ISSR obtidos com o primer (GACA) ₄ e (GTG) ₅ de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> isolados de <i>Vitis labrusca</i> . M- marcador de peso molecular 1Kb plus; L1 - DNA do inóculo de <i>L. theobromae</i> ; L2 a L10- re-isolados de <i>L. theobromae</i>	78
Figura 18 – Perfis de amplificação das regiões de ISSR obtidos com o primer (GACA) ₄ e (GTG) ₅ de <i>Fusarium oxysporum</i> (F) e <i>Guignardia mangiferae</i> (G) isolados de <i>Vitis labrusca</i> : M- marcador de peso molecular 1Kb plus; F1 - DNA do inóculo de <i>F. oxysporum</i> ; F2 a F7- re-isolados de <i>F. oxysporum</i> ; F8- re-isolado do controle; G1 e G2- DNA do inóculo e re-isolado de <i>G. mangiferae</i> , respectivamente.....	79

Lista de tabelas

	Pág.
Tabela 1 – Espécies de fungos endófitos isolados de <i>Vitis</i> spp.....	28
Tabela 2 – Características climáticas da área de coleta no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.....	42
Tabela 3 – Características químicas do solo rizosférico da área de coleta no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.....	43
Tabela 4 – Número de isolados e frequência de ocorrência das espécies de fungos endófitos isolados de raízes de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel nos períodos de coleta no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.....	54
Tabela 5 – Índice de abundância de espécies de fungos endófitos de <i>Vitis labrusca</i> entre os períodos de coleta.....	56
Tabela 6 – Comparação estatística entre os números médios de isolados endófitos obtidos de raízes de <i>Vitis labrusca</i> nas coletas realizadas no ano de 2011 em São Vicente Férrer.....	56
Tabela 7 – Espécies fúngicas isoladas da rizosfera e rizoplano de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel no município de São Vicente Férrer, Pernambuco, nos períodos de coleta.....	58
Tabela 8 – Frequência de ocorrência dos fungos isolados da rizosfera de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.....	60
Tabela 9 – Frequência de ocorrência dos fungos isolados do rizoplano de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.....	61
Tabela 10 – Índice de abundância de espécies de fungos isolados da rizosfera e do rizoplano de <i>Vitis labrusca</i> entre os períodos de coleta.....	65

Tabela 11 – Comparação estatística entre os números médios de isolados obtidos da rizosfera e rizopiano de <i>Vitis labrusca</i> nas coletas realizadas no ano de 2011 em São Vicente Férrer.....	66
Tabela 12 – Comparação estatística entre os números médios de isolados de fungos da rizosfera, rizopiano e endófitos de raízes de <i>Vitis labrusca</i> nas coletas realizadas no ano de 2011 em São Vicente Férrer.....	68
Tabela 13 – Número de isolados obtidos e frequência de colonização de <i>Nigrospora oryzae</i> em mudas <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel, inoculadas artificialmente por meio de pulverizações da suspensão de esporos, obtidos em diferentes intervalos após a inoculação.....	70
Tabela 14 – Frequência de colonização e nº de isolados obtidos de raízes de mudas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel inoculadas artificialmente com <i>Guignardia mangiferae</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> e <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	73

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
2.1. <i>Vitis labrusca</i>	19
2.2. A viticultura em São Vicente Férrer.....	20
2.3. Sistema radicular em <i>Vitis</i>	20
2.4. Fungos Endófitos.....	21
2.4.1. Definição e importância.....	21
2.4.2. Transmissão e isolamento dos fungos endófitos.....	23
2.4.3. Especificidade e colonização dos fungos endófitos.....	24
2.4.4. Fungos endófitos em raízes.....	25
2.4.5. Fungos endófitos em videiras.....	26
2.5. Fitopatogenicidade e inoculação de fungos endófitos.....	34
2.5.1. Fungos potencialmente patogênicos isolados em <i>Vitis</i>	35
2.5.1.1. <i>Glomerella cingulata</i> (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk (<i>Colletotrichum gloesporioides</i>) – Podridão da uva madura.....	35
2.5.1.2. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>herbemontis</i> W.L. Gordon- Podridão radicular (Fusariose).....	36
2.5.1.3. <i>Guignardia bidwelli</i> (Ell.) Viala & Ravaz – Podridão Negra (Black rot).....	36
2.5.1.4. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Patt.) Griffon & Maubl.– Botriodiplose e Podridões do tronco e raízes.....	36
2.6. Marcador molecular ISSR na detecção da variabilidade intraespecífica em fungos.....	37
2.7. Fungos de Rizosfera e Rizoplane.....	38
2.7.1. Isolamento de fungos da rizosfera e rizoplane de espécies de <i>Vitis</i>	40

3. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1. Área de coleta.....	41
3.2. Coleta do material.....	42
3.3. Isolamento e identificação dos fungos.....	43
3.4. Inoculação e re-isolamento dos fungos endófitos.....	44
3.5. Teste de patogenicidade.....	47
3.6. Análise genética dos fungos re-isolados.....	49
3.7. Frequência de ocorrência.....	50
3.8. Frequência de colonização dos fungos endófitos re-isolados.....	50
3.9. Índice de similaridade.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1. Fungos endófitos isolados de raízes de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel.....	52
4.2. Fungos isolados da rizosfera e rizoplane de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel.....	57
4.3. Similaridade entre os fungos isolados da rizosfera, rizoplane e endofíticos de raízes de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel.....	67
4.4. Avaliação da inoculação de fungos endófitos em mudas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel..	69
4.5. Avaliação da patogenicidade de fungos endófitos em mudas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel.....	72
5. CONCLUSÕES.....	80
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

1. INTRODUÇÃO

Micro-organismos endófitos, incluindo fungos e bactérias, são aqueles que colonizam o interior (inter ou intracelular) dos tecidos vegetais, não causando danos aparentes (Petrini, 1991; Azevedo & Araújo, 2007) e que despertam o interesse da comunidade científica pelo potencial na produção de metabólitos de importância econômica (Souza *et al.*, 2004). Diversos trabalhos demonstram sua atuação no controle biológico de doenças e pragas, no aumento da tolerância a estresses abióticos, na promoção do crescimento da planta hospedeira e na produção de antimicrobianos (Pereira *et al.* 1993, Araújo, 1996; Rodrigues & Dias Filho, 1996; Schulz *et al.*, 2002).

Os fungos endófitos não causam doenças aparentes em seus hospedeiros, podendo ser patógenos latentes, mutualísticos, comensalistas e/ou saprofíticos (Bacon & White Jr., 2000; Schulz & Boyle, 2005; Kogel *et al.*, 2006). Podem se relacionar com diversos tipos de plantas e, portanto, não apresentam especificidade por hospedeiro, apenas há uma preferência das espécies por diferentes partes da planta, o que pode estar relacionado com o conteúdo do tecido do vegetal (Petrini *et al.*, 1992). Os micro-organismos endófitos podem ser transmitidos verticalmente pelas sementes ou penetrando através da zona radicular através de ferimentos causados pela abrasão das raízes com o solo durante o crescimento, na transmissão horizontal os micro-organismos utilizam aberturas naturais, tais como estômatos (Saikkonen *et al.*, 2004; Marinho *et al.*, 2005; Johri, 2006), ocupando o mesmo nincho que os fitopatógenos (Senthilkumar *et al.*, 2007).

Pesquisas com fungos endófitos de videiras foram iniciadas por Cardinale *et al.* (1994), estudando folhas da planta na Itália. No Brasil, Brum (2006) deu início aos estudos com amostras de folhas de *Vitis labrusca* var. Niagara Rosada.

A rizosfera é definida como a porção do solo que recebe influência do sistema radicular das plantas (Webley *et al.*, 1953) e a comunidade microbiana da rizosfera diferencia-se significativamente em composição e quantidade, daquela presente no solo livre de raízes (Marschner, 1994; Kent & Triplett, 2002). O rizoplane, porção da rizosfera, é o resíduo de solo aderido à raiz de uma planta (Montiel & Aguilar, 2003). Micro-organismos da rizosfera e endófitos estão descritos na literatura como benéficos às plantas hospedeiras e possíveis controladores biológicos de fitopatógenos (Ferreira, 2008).

A viticultura está distribuída em várias regiões do Brasil (Orlando *et al.*, 2003) e Pernambuco destaca-se como um dos principais produtores de uva (Roberto, 2000). *Vitis labrusca* L., é uma espécie de Vitaceae originária dos Estados Unidos, e os frutos da cultivar Isabel são utilizados para

a produção de vinho tinto, suco, vinagre, e geléia (Zanuz, 1991; Orlando *et al.*, 2003; Rizzon *et al.*, 2000).

Há cerca de 40 anos a viticultura no Agreste Pernambucano destina-se à produção de *V. labrusca* cv. Isabel, principalmente no município de São Vicente Férrer (Rosa *et al.*, 2008). Os principais problemas na queda da produção de uva nesta região são as doenças como o míldio, a antracnose, a ferrugem e a podridão seca, todas ocasionadas por fungos (Tavares *et al.*, 2006).

Considerando a carência de estudos sobre fungos endófitos da raiz, da rizosfera e do rizoplano de videiras e a importância do conhecimento da interação da micobiota entre essas comunidades associadas, este trabalho teve por objetivos: (1) determinar a micobiota da rizosfera, do rizoplano e endófito de raízes de *Vitis labrusca* cv. Isabel; (2) avaliar a patogenicidade e a capacidade de recolonização de algumas espécies endófitas selecionadas em folhas e raízes; (3) determinar a frequência de ocorrência dos fungos isolados e a similaridade entre a micobiota endófito das raízes, do rizoplano e da rizosfera; (4) determinar o padrão de recolonização e a patogenicidade (capacidade de ser um patógeno latente) de espécies endófitas selecionadas através da inoculação em mudas de *V. labrusca*, e, (5) confirmar, através de técnicas moleculares (ISSR), a identificação das espécies inoculadas e re-isoladas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. *Vitis labrusca*

A videira é economicamente uma das mais importantes frutíferas cultivadas no mundo, devido às inúmeras utilizações dos seus frutos para consumo (Pommer & Maia, 2003). Pertencente à família Vitaceae contém dois gêneros: *Vitis* L. (produção de vinho e frutas) e *Cissus* L. (algumas espécies de interesse medicinal e ornamental) (Hidalgo, 1993; Sousa, 1996; Alvarenga *et al.*, 1998). O gênero *Vitis* apresenta dois subgêneros: *Muscadínea* e *Euvitis*. No subgênero *Euvitis* encontram-se duas espécies de grande importância para a agricultura, *Vitis labrusca* L. e *V. vinifera* L., utilizadas na produção de vinho e consumo *in natura* das frutas (Giovannini, 1999).

Vitis labrusca é uma espécie oriunda da região sul da América do Norte, que juntamente com outras espécies americanas aclimatam-se bem em ambientes quentes e úmidos e de invernos rigorosos, porém, não se adaptam bem ao clima semi-árido (Thomé *et al.*, 1999). A uva Isabel é uma das principais cultivares de *V. labrusca* (Rizzon *et al.*, 2000; Scola *et al.*, 2011), que despertou desde 1850 o interesse de viticultores europeus por sua resistência ao oídio, e por se tratar de uma cultivar relativamente vigorosa, rústica e produtiva, estando adaptada ao clima úmido (Grigoletti Jr. & Sônego, 1993; Rizzon *et al.*, 2000; Terra *et al.*, 2001).

Existem poucos estudos sobre a atividade biológica de fungos em *V. labrusca* (Rizzon *et al.*, 2000; Vedana, 2008; Dani *et al.*, 2010). As doenças fúngicas são um dos principais problemas de interesse econômico na viticultura, devido às grandes perdas registradas (Maia *et al.*, 2010). Os fungos que comumente ocorrem na pós-colheita são *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus* sp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e leveduras (Benato, 1998), destacando-se *C. gloeosporioides* (Cia *et al.*, 2009). A uva Isabel apresenta susceptibilidade à antracnose e ao míldio (Rombaldi *et al.*, 2004).

A viticultura destaca-se por estar distribuída em várias regiões do mundo (Orlando *et al.*, 2003). O Brasil é o décimo quinto produtor mundial de uva, e cerca de 47% de uvas produzidas no país são destinadas à elaboração de vinhos, sucos e outros derivados (Mello, 2007). As Regiões Sul, Sudeste e Nordeste abrangem uma área de 89.946 ha de produção de uva (Protas *et al.*, 2002; Mello, 2007), sendo o Rio Grande do Sul, São Paulo, Pernambuco, Bahia e Paraná os principais estados brasileiros produtores de uva (Roberto, 2000).

O grande potencial de expansão do cultivo de *V. labrusca* ocorreu devido à facilidade de adaptação às condições edafoclimáticas, alta produtividade e longevidade (Zanuz, 1991; Grigoletti Jr. & Sônego, 1993). A principal utilização está na produção de vinhos, suco de uva, vinagre,

geléias e como fruta *in natura*. No Nordeste, sua produção está basicamente destinada à comercialização *in natura* (Zanuz, 1991; Orlando *et al.*, 2003; Protas, 2003; Scola *et al.*, 2011).

Os subprodutos do suco de uva e vinho são fontes de combinações de fenólicos que apresentam propriedades antioxidantes e efeitos benéficos à saúde humana (Shrikhande, 2000; Torres & Bobet, 2001). As sementes e a casca da uva contêm flavonóides, ácidos fenólicos e resveratrol, que demonstram ter atividades funcionais na oxidação de lipídios e na inibição de produção de radicais livres (Bagchi *et al.*, 1998; Bouhamidi *et al.*, 1998; Soares *et al.*, 2008).

2.2. A Viticultura em São Vicente Férrer

A viticultura no município de São Vicente Férrer, localizado no Agreste Pernambucano (Médio Capibaribe) tem aproximadamente 70 anos, apresentando em torno de 400-500ha de plantio destinado principalmente à produção de *V. labrusca* cv. Isabel, apresentando duas safras anuais (Rosa *et al.*, 2008; Tavares & Lima, 2009; IPA, 2012).

Esta foi introduzida na região em 1944 pela família Freire, que trouxe as primeiras mudas para a região (Tavares & Lima, 2009). O município possui características semelhantes às da Zona da Mata do Estado (solo, vegetação e clima). A viticultura nessa região está diretamente ligada a um sistema de produção familiar. Os principais problemas na queda da produção de uva nesta região estão relacionadas as doenças como o míldio (*Plasmopara viticola*), a antracnose (*Elsinoë ampelina*), a ferrugem (*Phakopsora euvitidis*) e a podridão seca (*Lasiodyplodia theobromae*), todas ocasionadas por fungos (Tavares *et al.*, 2005).

2.3 Sistema radicular em *Vitis*

O sistema radicular possui dois tipos de raízes (laterais e permanente), e com funções particulares, funcionando como uma comunidade de membros diferentes, mas interligadas, onde cada um contribui para o sucesso do todo. Esse sistema executa a absorção de água e nutrientes inorgânicos, reguladores e hormônios de crescimento e alongamento, e armazenamento de carboidratos (Hellman, 2003). A porção mais velha ou madura da raiz é responsável pelo transporte de água e nutrientes inorgânicos para o sistema caulinar e nutrientes orgânicos para as porções crescentes da raiz (Anderson *et al.*, 2003).

Os tecidos secundários das raízes maduras restringem a perda de água e nutrientes no solo, servindo de proteção mecânica e contra agentes parasitários. A porção permanente da raiz ajuda na ancoragem da videira, atuando como um órgão de armazenamento importante de nutrientes durante o inverno (Yang *et al.*, 1980). Geralmente formam pêlos radiculares de curta duração, aumentando

o contato raiz-solo e abrangendo a absorção de água e minerais, sendo também uma fonte liberadora de nutrientes orgânicos no solo que promove o desenvolvimento microbiano em torno da raiz. Esses micro-organismos protegem a raiz de patógenos do solo e favorecem a solubilização dos nutrientes inorgânicos do solo (Jackson, 2008).

2.4. Fungos Endófitos

2.4.1. Definição e importância

Micro-organismo endófito é aquele que passa todo ou um período do seu ciclo de vida colonizando inter ou intracelularmente os tecidos saudáveis da planta hospedeira sem causar sintomas de doenças (Petrini, 1991). A palavra endófito é derivada do grego (*éndon* + *phytón*), significa 'no interior da planta' e abrange bactérias, fungos, algas, vírus e insetos que convivem em simbiose com a planta hospedeira (Schulz & Boyle, 2005).

Os endófitos não causam doenças aparentes a seus hospedeiros, podendo ser patógenos latentes e fracos, mutualísticos, comensalistas e/ou sapróbios (Bacon & White, 2000; Photita *et al.*, 2004; Schultz & Boyle, 2005; Deshmukh *et al.*, 2006; Gonthier *et al.*, 2006; Kogel *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007). Schulz *et al.* (2002) levantam a hipótese que a relação endófito/hospedeiro está caracterizada por uma estreita harmonia entre a patogenicidade fúngica e a defesa da planta. Devido a esta íntima relação entre os endófitos e as plantas, há sugestões que estes co-evoluíram e se adaptaram aos seus hospedeiros (Misagui & Donndelinger, 1990; Stone *et al.*, 1994).

A grande vantagem que fungos endófitos têm em colonizar os tecidos internos das plantas está em proporcionarem um ambiente protegido das adversidades do meio (raio ultravioleta, chuvas, flutuações de temperatura, disponibilidade de nutrientes e competição com outros fungos) (McInroy & Kloepper, 1995).

A distinção entre endófitos e fitopatógenos foi relatada primeiramente no século XIX por A. de Bary em 1866 (Azevedo, 1999), mas, somente a partir de 1970, os endófitos foram devidamente estudados, despertando grande interesse na área de biotecnologia, para utilização em produtos farmacêuticos e também como agentes de controle biológico (Rodrigues & Samuels, 1999; Araújo *et al.*, 2002a; Azevedo *et al.*, 2002; Serafini *et al.*, 2002).

Fungos endófitos têm sido encontrados em todas as espécies de vegetais estudados, tanto nos trópicos como nas regiões temperadas e desérticas (Fisher *et al.*, 1995; Toofanee & Dulyamode, 2002; Schulz & Boyle, 2005; Higgins *et al.*, 2006; Stone, 2006; Arnold & Lutzoni, 2007; Promputtha *et al.*, 2007; Porras-Alfaro *et al.*, 2008). No Brasil, os primeiros estudos sobre o

isolamento de fungos endófitos foram os de Rodrigues & Samuels (1990), Pereira *et al.* (1993) e Rodrigues (1994).

Esses fungos têm despertado interesse quanto ao potencial biológico, econômico e ecológico, contribuindo na produção de substâncias que fornecem proteção e sobrevivência ao hospedeiro. Estes compostos, uma vez isolados, podem apresentar utilidades na área médica, agrícola e industrial. Novos antibióticos, imunossupressores, antineoplásicos, herbicidas, antihelmínticos e inseticidas são alguns exemplos da capacidade de ação dos fungos endófitos (Li *et al.*, 2000; Tan & Zou, 2001; Schulz *et al.*, 2002; Strobel *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2007; Esposito & Azevedo, 2010).

As interações ecológicas que ocorrem entre endófito-planta podem ser: mutualísticas (ambos são beneficiados) e neutras ou comensalistas (o hospedeiro não é afetado) (Carroll & Wicklow, 1992). Durante as interações simbióticas há produção de metabólitos primários e secundários (Owen & Hundley, 2004; Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006), que podem conferir à planta a diminuição da herbivoria e do ataque de insetos, o aumento da tolerância a estresses abióticos, o controle de micro-organismos, o aumento da área foliar e biomassa, o crescimento vegetal, o controle biológico de pragas, a produção de fitohormônios e toxinas, e a resistência a doenças e danos causados por patógenos (Read & Camp, 1986; Clay, 1988; West *et al.*, 1990; Stovall & Clay, 1991; Pereira *et al.*, 1993; Araújo, 1996; Rodrigues & Dias Filho, 1996; Azevedo *et al.*, 2000; Clegg & Murray, 2002; Redman *et al.*, 2002; Arnold & Herre, 2003; Strobel, 2003; Waller *et al.*, 2005; Bailey *et al.*, 2006; Gunatilaka, 2006; Mejía *et al.*, 2008; Cheplick & Faeth, 2009; Ramos *et al.*, 2010).

Diversos autores relatam a ação antimicrobiana de substâncias produzidas por fungos endófitos (Rodrigues *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2001; Bao & Lazarovits, 2001; Huang *et al.*, 2001; Strobel, 2003; Chareprasert *et al.*, 2006), juntamente com a ação antioxidante, de grande importância para a indústria de cosméticos (Strobel *et al.*, 2002).

Para a indústria farmacêutica os fungos endófitos também se destacam por serem uma alternativa eficaz na produção de novos compostos terapêuticos inibindo ou destruindo ampla variedade de agentes patogênicos como bactérias, fungos e vírus que afetam o homem e outros animais (Siqueira, 2008) e como a fonte de uma variedade de metabólitos secundários ativos anti-câncer, antimicrobianos, antidiabéticos e imunossupressores (Strobel *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1999; Wagenaar *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2011).

Schulz *et al.* (2002) isolaram por 12 anos aproximadamente 6.500 fungos endófitos de plantas herbáceas que apresentaram substâncias com atividade biológica: terpenóides, esteróides, xantonas, quinonas, fenóis, isocumarinas, tetralonas, entre outras. Vários trabalhos relatam a utilização de endófitos na produção de compostos como: paclitaxel (utilizado em quimioterapia), camptotecina (antitumoral), podofilotoxina (antimitótico), hipericina (atua como antibiótico e inibidor da quinase) e gentiopicrina (antimalárica) isolados de *Taxus cuspidata* Siebold & Zucc., *Nothapodytes foetida*

(Wight) Sleumer, *Podophyllum peltatum* L., *Hypericum perforatum* L., e *Gentiana macrophylla* Pall., porém ainda não existem relatos de sucesso em escala industrial (Zhao *et al.*, 2011).

Yin & Sun (2011) isolando fungos endófitos de raízes, caules e folhas de *Vinca minor* L., obtiveram um isolado capaz de produzir a substância vincamina, utilizada na indústria farmacêutica como vasodilatador e estimulante cerebral (vincamine). Stierle *et al.* (1993) destacam o isolamento de *Taxomyces andreanae* como endófito de *Taxus brevifolia* Peattie com inicial produção de taxol e taxanos. Esses compostos também foram isolados de *Camptotheca acuminata* Decne. e de outras espécies de *Taxus* L. (Ganley *et al.*, 2004; Lin *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007; Deng *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2009). Strobel (2006) considera que a origem e a produção desses compostos estejam ligados a fatores evolutivos ocorridos por recombinação genética entre o micro-organismo e o hospedeiro.

2.4.2. Transmissão e isolamento dos fungos endófitos

Os endófitos podem ser transmitidos à planta hospedeira verticalmente pelas sementes ou penetrando através da zona radicular por meio de ferimentos causados pela abrasão das raízes com o solo durante o crescimento; ou transmitidos horizontalmente utilizando aberturas naturais, tais como estômatos e hidatódios presentes nas partes aéreas da planta, diretamente na parede celular utilizando apressórios e haustórios (Saikkonen *et al.*, 2004; Marinho *et al.*, 2005; Johri, 2006); por aberturas artificiais sofridas pela ação de pragas, animais, homem e agressões abióticas; ou ainda por secreção de enzimas hidrolíticas (Esposito & Azevedo, 2010). A colonização pode ser intercelular e intracelular, em qualquer tecido vegetal (Peixoto-Neto *et al.*, 2002; Schulz & Boyle, 2005; Marinho *et al.*, 2005; Johri, 2006).

Estudos da micobiota endófito em dicotiledôneas (arbóreas tropicais), revelam diferenças na sua transmissão em relação às monocotiledôneas como gramíneas, que apresentam transmissão horizontal de endófitos, e demonstram algum grau de afinidade pelo hospedeiro (Herre *et al.*, 1999, Arnold *et al.*, 2000; Herre *et al.*, 2005; Van Bael *et al.*, 2005; Herre *et al.* 2007; Mejía *et al.*, 2008).

A primeira etapa para o isolamento dos endófitos engloba a seleção do material vegetal, tais como: folhas, caules, ramos, flores, sementes e raízes, que devem estar aparentemente sadio, e com o emprego de técnicas eficientes de desinfestação superficial, que variam de hospedeiro para hospedeiro, dependendo da espessura da epiderme do órgão vegetal escolhido (Pereira *et al.*, 1993).

Esses micro-organismos podem ser isolados por diferentes técnicas: extração a vácuo (Bell *et al.*, 1995); centrifugação, maceração (Dong *et al.*, 1994); ruptura no tecido vegetal (Hallmann *et al.*, 1995) e fragmentação do tecido vegetal (mais utilizada para isolar bactérias e fungos) (Pereira *et al.*, 1993; Araújo *et al.*, 2002b). Porém, segundo Vandenkoornhuyse *et al.* (2002), as técnicas de

isolamento convencionais podem dificultar o reconhecimento da diversidade de fungos endófitos. Esses micro-organismos também podem ser observados diretamente por microscópio óptico ou eletrônico, entre os espaços intra e intercelular dos tecidos vegetais ou pela amplificação de DNA (Schulz & Boyle, 2005).

No processo de isolamento de fungos endófitos, a desinfestação da superfície externa do vegetal pode variar de acordo com a concentração e o tempo de exposição das substâncias utilizadas, levando-se em consideração a idade da planta e os tecidos utilizados (Azevedo, 1998).

A identificação de fungos endófitos tem sido baseada nas condições da cultura e esporulação dos isolados em meios naturais (água de farinha de milho, água V8, água cenoura e/ou batata), ou em meios quimicamente definidos (água Czapek, água Sabouraud, água Malte) que podem induzir a esporulação (Guo *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 1999; Fröhlich *et al.*, 2000).

A maioria dos fungos endófitos isolados pertencem ao filo Ascomycota e seus anamorfos. Espécies de Basidiomycota e Zygomycota são pouco isoladas como endófitos (Stone *et al.*, 2000; Schulz & Boyle, 2005).

2.4.3. Especificidade e colonização dos fungos endófitos

As comunidades endófitas variam espacialmente no vegetal (Nalini *et al.*, 2005; Tejesvi *et al.*, 2005; Gond *et al.*, 2007), sendo dependentes da interação com outras comunidades endófitas, epifíticas e patogênicas (Araújo *et al.*, 2001; Santamaría & Bayman, 2005; Osono, 2007), além de sofrerem influência do ambiente, como temperatura, poluição e estação do ano (Araújo *et al.*, 2001; Pimentel *et al.*, 2006).

Petrini *et al.* (1992) e Bayman *et al.* (1998) concluíram que diferentes tecidos vegetais são microhabitats distintos, confirmando que os fungos endófitos não apresentam especificidade por hospedeiro, mas sim uma preferência das espécies por diferentes partes da planta. Entretanto, outros estudos sugerem que todas as partes do vegetal possuem endófitos existindo certo grau de especificidade endófito-hospedeiro, seja por um gênero ou família (Carroll, 1988; Suryanarayanan *et al.*, 1998; Melo *et al.*, 2002). Segundo Schulz & Boyle (2005) as comunidades de fungos endófitos podem ser onipresentes ou apresentarem especificidade do hospedeiro.

Estudos mostram que a taxa de colonização pode variar entre hospedeiros, distribuição geográfica, idade do tecido vegetal e condições climáticas, ecológicas e sazonais diferentes, incluindo altitude e precipitação (Carroll & Carroll, 1978; Rodrigues, 1994; Larran *et al.*, 2001; Arnold & Herre, 2003). Alguns fatores podem influenciar na frequência de espécies de fungos endófitos, tais como: altitude, umidade, densidade de copa do hospedeiro, precipitação e o próprio hospedeiro (Kumaresan & Suryanarayanan, 2001). Segundo Rodrigues & Petrini (1997), espécies

de fungos endófitos isolados de regiões temperadas raramente são isoladas em regiões tropicais e vice-versa.

2.4.4. Fungos endófitos em raízes

Os tecidos radiculares formam um complexo morfológico, físico e químico que se torna habitat para diversas comunidades de micro-organismos (Sieber & Grüning, 2006), como bactérias, fungos endófitos e micorrízicos (Brundrett, 2006). As comunidades endófitas de raízes podem conter espécies epifíticas comuns e rizosféricas, que variam quanto a dominantes, raras ou ausentes segundo o hospedeiro (Fisher & Petrini 1992; Cabral *et al.*, 1993; Stone *et al.*, 2004).

A maioria das espécies de fungos endófitos em raízes é comum no solo, principalmente na rizosfera, sendo este órgão considerado como uma importante fonte de endófitos (Germida *et al.*, 1998; Prell & Day, 2000; Sessitsch *et al.*, 2002), e de fungos patógenos, que causam graves danos às plantas cultivadas, reduzindo seus rendimentos (Prell & Day, 2000).

Os endófitos penetram pelas raízes através da degradação da celulose local ou por meio de fraturas no sistema radicular (Gough *et al.*, 1997). Tem sido proposto que esses micro-organismos podem ser benéficos às plantas (Chanway, 1996). Alguns fungos endófitos de raízes atuam como sapróbios gerando benefícios na rizosfera a partir de compostos orgânicos e inorgânicos liberados (Scervino *et al.*, 2009).

Os fungos endófitos de raízes apresentam um papel menos direto no processo de decomposição do que os fungos do solo ou rizosfera, mas eles interagem em uma variedade de maneiras com a planta hospedeira, podendo ocorrer consideráveis sobreposições ecológicas (Jumpponen & Trappe, 1998). Fungos sapróbios do solo e da rizosfera, patógenos radiculares e endófitos sobrepõem-se consideravelmente, sendo isolados repetidamente e, preferencialmente, como simbioses de raízes (Stone *et al.*, 2004).

As interações dos fungos endófitos com plantas hospedeiras podem variar de patogênicos a mutualistas (Vujanovic & Vujanovic 2007; Smith & Read, 2008). Essa colonização fúngica é importante na adaptabilidade ecológica do hospedeiro, tornando-o tolerante a estresses bióticos e abióticos (Omacini *et al.*, 2001; Narisawa *et al.*, 2004; Rai *et al.*, 2004; Schulz & Boyle, 2005; Marquez *et al.*, 2007; Rodriguez *et al.*, 2008). Além disso, a colonização por fungos endófitos pode conferir benefícios para a planta hospedeira, como o controle de doenças radiculares (St-Arnaud & Vujanovic, 2007), a captação de fósforo (Sieber, 2002) e a promoção do crescimento (Deshmukh & Kogel, 2007). Em plantas de cevada foi possível constatar o aumento da tolerância ao estresse e resistência às doenças em presença de *Piriformospora indica* Sav. Verma, Aj. Varma, Rexer, G. Kost & P. Franken como endófito de raiz (Waller *et al.*, 2005; Deshmukh *et al.*, 2006). Abdellatif *et al.*

(2007) constataram que fungos endófitos de raízes podem ser utilizados como uma alternativa para fertilizantes químicos e pesticidas.

2.4.5. Fungos endófitos em videiras

Pesquisas com fungos endófitos de videiras foram iniciadas nas folhas da planta na Itália, por Cardinale *et al.* (1994). Mostert *et al.* (2000) estudaram fungos endófitos em diferentes partes (folhas, nós, entrenós, pecíolo e gavinhas) de *Vitis vinifera* no Sul da África, obtendo 1.705 isolados. Dentre estes isolados, *Alternaria alternata* foi a espécie mais frequente. Musetti *et al.* (2006) obtiveram 126 isolados de fungos endófitos a partir de 140 fragmentos de folhas incubadas. Esses isolados foram testados no controle biológico contra *Plasmopara viticola* em *V. vinifera* na Itália. Rodolfi *et al.* (2006), isolando fungos endófitos de folhas, caules, frutos e sementes de quatro variedades no Norte da Itália, obtiveram 23 espécies de fungos endófitos. Casieri *et al.* (2009) obtiveram 703 isolados, tendo identificado 66 espécies de fungos endófitos em cinco cultivares na Suíça. Martini *et al.* (2009) detectaram, por meio de técnicas moleculares, 49 espécies de fungos endófitos de duas variedades de *V. vinifera* (Merlot e Prosecco) do nordeste Italiano. Recentemente, González & Tello (2011) obtiveram 585 isolados, com identificação de 68 espécies de fungos endófitos, de folhas, galhos e frutos em seis localidades produtoras de *V. vinifera* na Espanha, enquanto Pancher *et al.* (2012) com estudos de fungos endófitos em plantios orgânicos de *V. vinifera* no norte da Itália identificaram 254 isolados por amplificação do DNA.

No Brasil, são poucos os estudos com fungos endófitos em videiras. Brum (2006) iniciou as pesquisas, isolando 120 fungos de tecidos foliares de *Vitis labrusca* var. Niagara Rosada no interior de São Paulo, identificando e testando 14 gêneros no controle biológico de *Fusarium* spp.. Brum (2008) em continuidade a sua pesquisa, identificou 39 espécies a partir de 275 isolados endófitos de caules e folhas de *V. labrusca* var. Niagara Rosada, e avaliou a atividade antagônica dessas espécies contra *Fusarium* sp. e *Botrytis* sp.. Os gêneros mais frequentes encontrados foram *Alternaria*, *Botryosphaeria*, *Colletotrichum*, *Diaporthe* e *Guignardia*, e a maioria das espécies identificadas como anamorfos de Ascomycota. Lima (2010) estudou fungos endófitos de folhas de *V. labrusca* cv. Isabel do interior de Pernambuco, obtendo 424 isolados e 40 espécies. Os gêneros mais frequentes nesse estudo foram *Nigrospora* e *Glomerella*. Brum *et al.* (2012) identificaram diferentes espécies de fungos endófitos de *V. labrusca* (Niagara Rosada) baseados em sequências de rDNA com possível potencial antagônico contra *F. oxysporum*. Lima *et al.* (2012; 2013) relatam a nova ocorrência de *Phaeotrichoconis crotalariae* e de leveduras do gênero *Rhodotorula* como endófitas de folhas em *V. labrusca* cv. Isabel. E por fim, Felber & Pamphile (2013) publicaram uma pequena

Lima, T.E.F. — Micobiota da rizosfera, rizoplano e endófitas de raízes

revisão sobre o isolamento de fungos endófitos com potencial controlador biológico em cultivos de videiras.

As espécies isoladas mundialmente como endófitas de videiras estão citadas na Tabela 1.

Tabela 1. Espécies de fungos endófitos isolados de *Vitis* spp.

Espécies	Referências
<i>Absidia glauca</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Acremonium</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Rodolfi <i>et al.</i> , 2006; González & Tello, 2011
<i>Alternaria alternata</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Musetti <i>et al.</i> , 2006; Brum, 2008; Martini <i>et al.</i> , 2009; Lima, 2010, González & Tello, 2011
<i>A. arborescens</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; Brum, 2008; González & Tello, 2011
<i>A. tenuissima</i>	Brum, 2008; González & Tello, 2011
<i>Alternaria</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Brum, 2006; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Apiospora montagnei</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Apodus oryzae</i>	Brum, 2008
<i>Arthrinium phaeospermum</i>	González & Tello, 2011
<i>A. sacchari</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Ascochyta</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Ascotricha</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Arthrobotrys</i> sp.	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Aspergillus brasiliensis</i> (= <i>Aspergillus niger</i>)	Rodolfi <i>et al.</i> , 2006; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>A. terreus</i>	González & Tello, 2011
<i>Aspergillus</i> sp.	Brum, 2006; Musetti <i>et al.</i> , 2006; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Martini <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Brum <i>et al.</i> , 2012; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Beauveria bassiana</i>	Lima, 2010; González & Tello, 2011
<i>B. brongniartii</i>	Rodolfi <i>et al.</i> , 2006
<i>Bionectria ochroleuca</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Bjerkandera adusta</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Botryosphaeria obtuse</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>B. stevensii</i>	González & Tello, 2011
<i>Botryotinia fuckeliana</i>	González & Tello, 2011
<i>Botrytis cinerea</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Cadophora fastigiata</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>C. luteo-olivacea</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Ceratobasidium cornigerum</i>	González & Tello, 2011
<i>Ceratobasidium</i> sp.	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Cerebella andropogonis</i> (= <i>Epicoccum andropogonis</i>)	Brum, 2008
<i>Ceriporiopsis</i> sp.	Brum, 2008
<i>Cerrena unicolor</i>	Brum, 2008
<i>Chaetomium globosum</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>C. nigricolor</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Chaetomium</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011

Tabela 1. Continuação.

Espécies	Referências
<i>Chaeotosphearia vermicularioides</i> (= <i>Chloridium virescens</i> var. <i>chlamydosporum</i>)	Lima, 2010
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Casieri <i>et al.</i> , 2009; Lima, 2010
<i>C. herbarum</i>	González & Tello, 2011
<i>C. oxysporum</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012; Lima, 2010
<i>C. sphaerospermum</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; Lima, 2010
<i>C. temuissimum</i>	Lima, 2010
<i>Cladosporium</i> sp.	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Clonostachys rosea</i> (= <i>Gliocladium roseum</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Cochliobolus cynodontis</i> (= <i>Bipolaris cynodontis</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Colletotrichum acutatum</i> (= <i>Glomerella acutata</i>)	Brum, 2008
<i>C. boninense</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>C. lindemuthianum</i>	Lima, 2010
<i>C. musae</i>	Lima, 2010
<i>C. truncatum</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Colletotrichum</i> sp.	Brum, 2006; González & Tello, 2011
<i>Conyochaeta</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Coniothyrium olivaceum</i> (= <i>Microsphaeropsis olivacea</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Coniothyrium</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Coprinellus radians</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Curvularia clavate</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>C. lunata</i> var. <i>aeria</i>	Lima, 2010
<i>Cylindrocarpon liriodendra</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Cylindrocarpon</i> sp.	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Daldinia eschscholtzii</i>	Brum, 2008
<i>D. loculata</i>	Brum, 2008
<i>Diaporthe eres</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>D. helianthi</i>	Brum, 2008; Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>D. phaseolorum</i>	Brum, 2008; Casieri <i>et al.</i> , 2009; Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>D. rudis</i> (= <i>Diaporthe medusa</i>)	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Diaporthe</i> sp.	Brum, 2006; Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Drechslera</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Epicoccum nigrum</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Casieri <i>et al.</i> , 2009; Martini <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Brum <i>et al.</i> , 2012; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Epicoccum</i> sp.	Brum, 2006
<i>Flavodon flavus</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Brum, 2008
<i>F. oxysporum</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000; González & Tello, 2011; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>F. poae</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000

Tabela 1. Continuação.

Espécies	Referências
<i>F. proliferatum</i>	González & Tello, 2011
<i>Fusarium</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Musetti <i>et al.</i> , 2006; Brum, 2008; Casieri <i>et al.</i> , 2009; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Gelasinospora</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Geniculosporium</i> anamorfo de	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Hypoxyton serpens</i>	
<i>Geomyces pannorum</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Geotrichum</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Gibberella acuminata</i> (= <i>Fusarium acuminatum</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>G. avenacea</i>	González & Tello, 2011
<i>G. baccata</i> (= <i>Fusarium lateritium</i>)	Lima, 2010
<i>G. fujikuroi</i> var. <i>subglutinans</i> (= <i>Fusarium subglutinans</i>)	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>G. sacchari</i> (= <i>Fusarium sacchari</i>)	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>G. zeae</i> (= <i>Fusarium graminearum</i>)	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Gliomastix murorum</i>	Lima, 2010
<i>Glomerella cingulata</i> (= <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	Brum, 2008; Lima, 2010; Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Gonatobotryum</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Guignardia mangiferae</i>	Brum, 2008; Lima, 2010; Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>G. vaccinii</i>	Brum, 2008
<i>Guignardia</i> sp.	Brum, 2006
<i>Haematonectria haematococca</i> (= <i>Fusarium solani</i>)	Brum, 2008; Casieri <i>et al.</i> , 2009; Lima, 2010
<i>Ogataea polymorpha</i> (= <i>Hansenula polymorpha</i>)	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Humicola</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Hypocrea parapilulifera</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Hypoxyton</i> sp.	Brum, 2008
<i>Ilyonectria macrodidyma</i> (= <i>Neonectria macrodidyma</i>)	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>I. radiculicola</i> (= <i>Cylindrocarpon destructans</i>)	González & Tello, 2011
<i>Irpex lacteus</i>	Brum, 2008
<i>Khuskia oryzae</i> (= <i>Nigrospora oryzae</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Martini <i>et al.</i> , 2009; Lima, 2010; González & Tello, 2011
<i>Khuskia oryzae</i> (= <i>Nigrospora sphaerica</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Lima, 2010
<i>Lecanicillium lecanii</i>	González & Tello, 2011
<i>Lecythophora hoffmannii</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Lenzites elegans</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Leptosphaeria</i> sp.	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Lewia infectoria</i> (= <i>Alternaria infectoria</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Libertella</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Lophiostoma corticola</i> (= <i>Massarina corticola</i>)	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Macrophomina phaseolina</i>	González & Tello, 2011
<i>Massarina igniaria</i> (= <i>Periconia igniaria</i>)	González & Tello, 2011

Tabela 1. Continuação.

Espécies	Referências
<i>Melanospora damnosa</i> (= <i>Gonatobotrys simplex</i>)	Lima, 2010
<i>M. zamiae</i>	Rodolfi <i>et al.</i> , 2006
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Brum, 2008
<i>Microdochium Bolleyi</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Microthia havanensis</i>	Brum, 2008
<i>Millerozyma farinosa</i> (= <i>Debaryomyces hansenii</i>)	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Mortierella hyaline</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>M. verticillata</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Mucor circinelloides</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>M. hiemalis</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>M. plumbeus</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>M. racemosus</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Mucor</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Nectria ramulariae</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Nemania serpens</i> var. <i>serpens</i> (= <i>Hypoxyton serpens</i>)	González & Tello, 2011
<i>Neofusicoccum parvum</i> (= <i>Fusicoccum parvum</i>)	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>N. parvum</i>	Brum, 2008
<i>N. parva</i> (= <i>Botryosphaeria parva</i>)	Brum, 2008; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Neonectria fuckeliana</i> (= <i>Nectria fuckeliana</i>)	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Neoplaconema</i> sp.	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Neurospora crassa</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Nigrospora</i> sp.	Brum, 2006
<i>Nodulisporium gregarium</i>	Lima, 2010
<i>Nodulisporium</i> sp.	Brum, 2008; González & Tello, 2011
<i>Ophiostoma piceae</i> (= <i>Ophiostoma quercus</i>)	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>O. subalpinum</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Ophiostoma</i> sp.	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Paecilomyces marquandii</i>	Lima, 2010
<i>P. variotii</i>	Lima, 2010
<i>Paraconiothyrium brasiliense</i>	Brum, 2008
<i>Paraphaeosphaeria pilleata</i>	Brum, 2006; Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Passalora fulva</i> (= <i>Mycovellosiella fulva</i>)	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Parascodosporium putredinis</i> (= <i>Graphium putredinis</i>)	Lima, 2010
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>P. restrictum</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>P. spinulosum</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Penicillium</i> sp.	Brum, 2006; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Periconia atropurpurea</i>	Lima, 2010
<i>Pestalotiopsis maculans</i>	Lima, 2010
<i>P. microspora</i>	Brum, 2008

Tabela 1. Continuação.

Espécies	Referências
<i>P. paeoniicola</i>	Brum, 2008
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	Brum, 2006
<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	González & Tello, 2011
<i>P. inflatipes</i>	González & Tello, 2011
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Phaeosphaeria nodorum</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Phaeotrichoconis crotalariae</i>	Lima <i>et al.</i> , 2012
<i>Phanerochaete sórdida</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Phialophora</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Phlebia subserialis</i>	Brum, 2008
<i>Phoma glomerata</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; Brum, 2008; González & Tello, 2011
<i>P. herbarum</i>	Brum, 2008
<i>Phoma</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Musetti <i>et al.</i> , 2006; Casieri <i>et al.</i> , 2009; Martini <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Phomopsis pittospori</i> (= <i>Phomopsis archeri</i>)	Lima, 2010
<i>P. theicola</i>	Brum, 2008
<i>P. viticola</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Phomopsis</i> sp.	Brum, 2008; Martini <i>et al.</i> , 2009
<i>Phyllosticta</i> sp.	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Pithomyces chartarum</i> (= <i>Leptosphaerulina chartarum</i>)	Martini <i>et al.</i> , 2009; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Pleospora herbarum</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Pleurotus nebrodensis</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Preussia africana</i>	Brum, 2006; Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>Podospora pausiceta</i> (= <i>Podospora anserina</i>)	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Pseudocochliobolus eragrostidis</i> (= <i>Curvularia eragrostidis</i>)	Lima, 2010
<i>P. pallescens</i> (= <i>Curvularia pallescens</i>)	Lima, 2010
<i>Pseudofusicoccum stromaticum</i>	Brum, 2008
<i>Rhinocladiella atrovirens</i>	González & Tello, 2011
<i>Rhizoctonia</i> sp.	Brum, 2006; Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Rhodotorula acheniorum</i>	Lima <i>et al.</i> , 2013
<i>R. aurantiaca</i>	Lima <i>et al.</i> , 2013
<i>R. glutinis</i>	Lima <i>et al.</i> , 2013
<i>R. mucilaginosa</i>	Lima <i>et al.</i> , 2013
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Sarocladium bacillisporum</i> (= <i>Acremonium bacillisporum</i>)	Lima, 2010
<i>S. strictum</i> (= <i>Acremonium strictum</i>)	González & Tello, 2011
<i>Scheffersomyces stipitis</i> (= <i>Pichia stipitis</i>)	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Schizophyllum commune</i>	Brum, 2008; Martini <i>et al.</i> , 2009
<i>Schizosaccaromyces pombe</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012

Tabela 1. Continuação.

Espécies	Referências
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Martini <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Scopulariopsis</i> sp.	Brum, 2006
<i>Seimatosporium</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Selenophoma</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Sepedonium</i> sp.	Rodolfi <i>et al.</i> , 2006
<i>Sordaria fimicola</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>S. lappae</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>S. sibirica</i> (= <i>Asordaria sibirica</i>)	Brum, 2008
<i>Sordaria</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Sphaeropsis</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Sporormiella intermedia</i>	González & Tello, 2011
<i>S. mínima</i>	Lima, 2010
<i>S. minimoides</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Stemphylium vesicarium</i>	Lima, 2010
<i>Stemphylium</i> sp.	Musetti <i>et al.</i> , 2006; González & Tello, 2011
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	Lima, 2010
<i>Thanatephorus cucumeris</i> (= <i>Rhizoctonia solani</i>)	González & Tello, 2011
<i>Thielavia</i> sp.	Rodolfi <i>et al.</i> , 2006
<i>Torula</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Trichocladium asperum</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Trichoderma aggressivum</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>T. atroviride</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>T. aureoviride</i>	González & Tello, 2011
<i>T. harzianum</i>	González & Tello, 2011
<i>T. reesei</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>T. deliquescens</i> (= <i>Trichoderma virens</i>)	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Trichoderma</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000; Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Tritirachium oryzae</i>	Lima, 2010
<i>Truncatella angustata</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; González & Tello, 2011
<i>Ulocladium botrytis</i>	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Ulocladium</i> sp.	González & Tello, 2011
<i>Umbelopsis isabelina</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>U. ramanniana</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Valsa sordida</i> (= <i>Cytospora chrysosperma</i>)	González & Tello, 2011
<i>Veronaea</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Verpa bohemica</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009
<i>Verticillium</i> sp.	Mostert <i>et al.</i> , 2000
<i>Xylaria berteri</i>	Brum <i>et al.</i> , 2012
<i>X. hypoxylon</i>	González & Tello, 2011
<i>Xylaria</i> sp.	Lima, 2010
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Zygorhynchus moelleri</i>	Casieri <i>et al.</i> , 2009; Pancher <i>et al.</i> , 2012
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Pancher <i>et al.</i> , 2012

2.5. Fitopatogenicidade e inoculação de fungos endófitos

As comunidades de fungos endófitos podem apresentar espécies potencialmente patogênicas em fase de latência (Wilson, 1995; Cheplick & Faeth 2009), as quais podem se tornar patogênicas devido ao estado fisiológico da planta (Ragazzi *et al.*, 2001).

Curiosamente, fungos endófitos e patogênicos podem coexistir nos tecidos das plantas, embora a natureza dessa interação ainda seja desconhecida (Schulz *et al.*, 1999; Arnold *et al.*, 2003). Endófitos que colonizam os tecidos do hospedeiro antes dos agentes patogênicos podem produzir metabolitos tanto inibidores do patógeno como compostos de defesa que impedem a expressão da doença nas plantas (Musetti *et al.*, 2006).

Alguns fungos endófitos se comportam como patógenos das plantas de onde foram isolados, levando a pensar que parte do ciclo de vida desses patógenos seja inicialmente como endófito (Brown *et al.*, 1998; Photita *et al.*, 2001). Assim, a existência de um isolado como endófito não exclui a possibilidade de que este venha a se tornar patogênico quando o hospedeiro estiver em condições de estresse, no período de senescência, ou devido a algum fator nutricional e ambiental (Blodgett *et al.*, 2000).

A diferenciação entre endófitos, oportunistas e fitopatógenos tem apenas significado didático, pois um micro-organismo endófito pode se comportar como patógeno quando há uma redução dos mecanismos de defesa da planta, ou quando ocorre um desequilíbrio entre os integrantes dessa comunidade, oferecendo condições que manifestem o seu potencial patogênico contra o hospedeiro (Azevedo *et al.*, 2000; Maki, 2006).

Dois métodos são utilizados para inocular folhas de plantas com fungos endófitos a serem testados: pulverização de suspensão de esporos e fixação de disco de ágar com micélio. Para aumentar a possibilidade de infecção, um subconjunto de folhas podem ser feridas por punção. A patogenicidade é comprovada a partir de lesões necróticas e manchas foliares (Photita *et al.*, 2004).

A inoculação de fungos endófitos pode ser realizada em sementes, plântulas e em mudas (em torno das raízes, nas folhas e hastes), por meio de pulverizações de suspensões de esporos em solo esterilizado, não esterilizado e com vermiculite. A colonização é determinada após alguns dias com a avaliação das folhas, caules e raízes por meio de técnicas de isolamento de fungos endófitos e métodos de esterilização, quanto à presença ou ausência dos fungos utilizados (Tefera & Vidal, 2009).

Chiarappa (1959), isolando potenciais patógenos de raízes em videiras, demonstrou a patogenicidade de algumas espécies que causavam tombamento de raiz ou decadência de mudas. Nessa experiência foi possível avaliar a doença comparando videiras inoculadas ou não (controle)

com os fungos, através de sintomas visíveis de deterioração das raízes e pela redução do crescimento das plantas. Os fungos com alto grau de patogenicidade foram inoculados em mudas de videira da variedade Tokay com 25 cm de altura. De 254 isolados testados, apenas 67 apresentam algum grau de patogenicidade, dentre estes foram obtidas espécies de *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* e outros dois fungos desconhecidos. O re-isolamento a partir das raízes apodrecidas confirmou a presença das espécies inoculadas.

Schulz *et al.* (1999) avaliaram a inoculação e infecção de fungos endófitos e patógenos, isolados de diferentes coníferas e herbáceas, em mudas de cevada. A avaliação constatou que quase 100% das raízes foram infectadas e que espécies endófitas inoculadas não foram capazes de inibir ou causar doença nas plantas, enquanto que as infecções com os patógenos causaram sintomas e diminuição no crescimento das mudas. Segundo os autores, isso ocorre naturalmente, pois ambos, endófitos e patógenos, podem colonizar inter e intracelularmente as raízes do hospedeiro.

Romero *et al.* (2001) estudaram espécies de fungos endófitos que podem atuar como patógenos latentes em *Parthenium hysterophorus* L.. Photita *et al.* (2004) testaram a capacidade de *Cladosporium musae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cordana musae*, *Deightoniella torulosa*, *Guignardia cocoicola*, *Periconiella musae* e *Pestalotiopsis* sp., isolados como fungos endófitos de *Musa* sp., em causar manchas em folhas de bananeira. Dos fungos testados *D. torulosa* foi capaz de causar manchas foliares.

2.5.1. Fungos potencialmente patogênicos isolados em *Vitis*

2.5.1.1. *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk (*Colletotrichum gloeosporioides*) – Podridão da uva madura

Juntamente com outros tipos de podridões, o fungo *G. cingulata* e seu anamorfo é causador do complexo de destruição da uva, conhecida como podridões do cacho, tornando as frutas inviáveis para a comercialização (Sousa, 1969; Dias *et al.*, 1998). Doença típica de áreas de clima quente e úmido (Sousa, 1969), as infecções ocorrem logo após a floração permanecendo latentes até a maturação das bagas. Os sintomas são observados nos cachos em maturação ou na pós-colheita (Sousa, 1969; Sônego & Garrido, 2003). Sobre as uvas surgem manchas circulares, marrom-avermelhadas que atingem todo o fruto, e dependendo das condições podem se formar as estruturas reprodutivas do fungo, em forma de massa alaranjada (acérvulos com conídios) ou pontos cinza escuros (peritécios) (Sônego & Garrido, 2003)

2.5.1.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *herbomontis* W.L. Gordon - Podridão radicular (Fusariose)

A fusariose na viticultura é causada pelo fungo *F. oxysporum* f. sp. *herbomontis*, habitante natural do solo (Dias *et al.*, 1998). A doença é caracterizada por atacar o sistema radicular e se desenvolver no sistema vascular da planta, sendo um dos principais problemas à viticultura, e causa a morte das plantas (Sônego *et al.*, 2001). O fungo por sua vez pode sobreviver por longos períodos no solo, devido à capacidade de produzir estruturas de resistência (clamidopóros) ou em forma micelial decompondo a matéria orgânica (Kuhn, 1981)

Devido a má condução do fluxo de água e nutrientes nas plantas atacadas, ocorreu o amarelecimento, murcha e queda das folhas, levando-as à morte, normalmente em reboleiras, pois o fungo penetra pelas raízes subindo pelos vasos internos até os ramos, ocasionando a interrupção na translocação da seiva (Sousa, 1969; Dias *et al.*, 1998; Sônego & Garrido, 2003). Cortando-se o tronco observam-se áreas enegrecidas na região dos vasos (Sousa, 1969). A fusariose se torna mais severa em solos úmidos, com altas temperaturas e baixa umidade (Kuhn, 1981).

2.5.1.3. *Guignardia bidwelli* (Ell.) Viala & Ravaz – Podridão Negra (Black rot)

G. bidwelli, agente da podridão negra, causa estragos nas folhas, pecíolos e principalmente nos frutos, sendo as perdas variáveis dependendo da severidade da doença, clima e susceptibilidade da cultivar (Sousa, 1969; Dias *et al.*, 1998). Os bagos tornam-se mumificados ou apodrecem em estações chuvosas, podendo afetar o rendimento, caso não sejam adotadas medidas adequadas de controle (Hoffman *et al.*, 2002).

2.5.1.4. *Lasiodiplodia theobromae* (Patt.) Griffon & Maubl.– Botriodiplose e Podridões do tronco e raízes

A botriodiplose ou a seca dos ramos foi constatada pela primeira vez no Brasil em 1991, através de observações em alguns vinhedos, com definhamento de plantas até a morte. *Lasiodiplodia theobromae*, causador dessa doença, é um fungo que sobrevive em partes de ramos, brotos, caules e troncos de videiras doentes e em restos de culturas no solo. A doença é característica de climas quentes e favorecido pela umidade (Dias *et al.*, 1998).

Através de um corte transversal no ramo afetado, observam-se áreas de coloração mais escura, em forma de “V”, demonstrando a morte do lenho. Os ramos infectados morrem da ponta para a base, enquanto que na casca dos ramos, canchros e tronco surgem pontos escuros formados de picnídios, podendo afetar até as bagas que secam e mumificam (Ribeiro, 2003).

2.6. Marcador molecular ISSR na detecção da variabilidade intraespecífica em fungos

As técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction - PCR) têm gerado um grande impacto na pesquisa de interações de planta com fungos. Baseados em PCR foram desenvolvidos métodos que permitem a detecção de muitos patógenos de plantas e simbiontes em diferentes hospedeiros de forma mais confiável e rápida (Ward *et al.*, 1998).

Os marcadores moleculares são ferramentas eficazes no estudo dos genomas, pois detectam polimorfismos diretamente no DNA, não sofrem influência ambiental e são independentes do estágio de desenvolvimento (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Em geral, os marcadores moleculares são baseados na amplificação de fragmentos de DNA por reação em PCR. Os marcadores podem ser usados no estudo da avaliação da diversidade genética de populações, estudos filogenéticos e identificação de cultivares (Benko-Iseppon *et al.*, 2003; Rakoczy-Trojanowska & Bolibok, 2004).

O marcador molecular é um fenótipo oriundo de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Dentre as técnicas de marcadores moleculares baseadas em reação de PCR, está a técnica de PCR-ISSR. O ISSR (“inter simple sequence repeat” - seqüências simples repetidas) é uma técnica alternativa para estudar polimorfismos, sendo os *primers* utilizados constituídos de pequenas seqüências com 1 a 4 nucleotídeos de comprimento (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Reddy *et al.*, 2002; Chang, 2009).

Os marcadores moleculares de ISSR, embora possuam algumas limitações, apresentam vantagens em relação aos outros marcadores, fornecendo uma poderosa ferramenta para estudos taxonômicos e de genética de populações naturais de plantas, fungos, insetos e invertebrados, sendo fácil a detecção da diferenciação ou diversidade entre indivíduos aparentados, e a caracterização de cultivares de uma espécie (Charters & Wilkinson, 2000; Borba *et al.*, 2005; Wolfe, 2005; Semagn *et al.*, 2006; Isshiki *et al.*, 2008). Em fungos são utilizados devido à alta resolução fornecida (Bogale *et al.*, 2005; 2006; Bayraktar *et al.*, 2008).

Por se tratar de um marcador multilocus que não requer conhecimento prévio do DNA a ser avaliado (Gupta *et al.*, 1994), o ISSR é uma técnica de baixo custo, de fácil uso e de grande reprodutibilidade (Matthews *et al.*, 1999; Bornet & Branchard, 2001; Reddy *et al.*, 2002). A reação de ISSR utiliza um único *primer*, de seqüências microssatélites geralmente pequenas, usualmente menores do que 10-pb (Gupta *et al.*, 1994, Ferreira & Grattapaglia, 1998; Richard *et al.*, 1999; Guy-Franck & Pâques, 2000; Goulão & Oliveira, 2001; Brasileiro, 2003) ou ancorados na extremidade 5' ou 3' por dois ou três nucleotídeos (Wolfe, 2005). Os *primers* ISSR podem apresentar seqüências conservadas em diversos organismos, podendo ser utilizados sem necessidade de *primers* específicos para cada espécie (Luque *et al.*, 2002; He *et al.*, 2006).

O marcador molecular ISSR tem sido útil na detecção da variação genética numa gama de fungos (Hantula *et al.*, 2000; Grünig *et al.*, 2001; Muthumeenakshi *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2001; Nghia *et al.*, 2008; Parreira *et al.*, 2010). Grünig *et al.* (2002) confirmam a adequação e confiabilidade de ISSR como uma ferramenta útil para estudos de estrutura populacional e da discriminação entre isolados fúngicos. Esta e outras técnicas (RFLP, RAPD, AFLP, DGGE, entre outras) foram recentemente adotadas e aplicadas na avaliação da estrutura populacional e da comunidade de fungos endófitos (Guo, 2010).

A relação entre os genótipos da população de endófitos com os hospedeiros, idade e origem geográfica tem sido investigada por análise SSR ou ISSR. Rodrigues *et al.* (2004) avaliaram por análise de ISSR-PCR a diversidade genética de 18 isolados endófitos de *Guignardia* de diferentes hospedeiros (*Anacardiaceae*, *Apocynaceae*, *Ericaceae*, *Fabaceae*, *Leguminosae* e *Rutaceae*), observando que não existe relação entre agrupamentos de isolados de *Guignardia mangifera* com o hospedeiro e a origem geográfica. Mohali *et al.* (2005) comprovaram que não há especificidade entre hospedeiro por parte dos isolados de *Lasiodiplodia theobromae* como endófito.

2.7. Fungos da Rizosfera e do Rizoplano

A rizosfera foi definida por Hiltner (1904) como a região ao redor das raízes, onde há crescimento bacteriano, variando de acordo com fatores relacionados ao solo, idade e espécie vegetal (Campbell & Greaves, 1990). Webley *et al.* (1953) definem rizosfera como a porção do solo que recebe influência direta do sistema radicular das plantas. Michereff *et al.* (2001) consideram a rizosfera como o ambiente sob a influência das raízes e do rizoplano que possibilitam a proliferação microbiana. Cardoso & Nogueira (2007) a definem como a zona do solo em torno da raiz que influencia a microbiota.

A comunidade microbiana da rizosfera diferencia-se significativamente em composição (química, biológica e física) e quantidade daquela presente no solo livre de raízes (Foster, 1986; Lynch, 1990; Marschner, 1994; Bowen & Rovira, 1999; Michereff *et al.*, 2001; Kent & Triplett, 2002). Sua atividade microbiana, incluindo os fitopatógenos, deve-se aos efeitos estimulantes de nutrientes exsudados na rizosfera. Nessa região os micro-organismos desempenham importante papel nos sistemas naturais e agrícolas, participando de transformações da matéria orgânica e dos ciclos biogeoquímicos dos nutrientes (Andrade, 1999).

Como porção do solo, a rizosfera está dividida em ectorrizosfera (região do solo) e endorrizosfera (rizoplano, epiderme e tecidos corticais da raiz) (Willadino *et al.*, 2005; Cardoso & Nogueira, 2007). A rizosfera estende-se desde a superfície da raiz variando de 10µm até vários

milímetros ou centímetros do solo circundante, podendo variar com o tipo de solo, a espécie vegetal, a morfologia da raiz, dentre outros fatores (Bowen & Rovira, 1999; Willadino *et al.*, 2005).

Observa-se que interações entre as plantas e micro-organismos são de grande importância na rizosfera. Produtos gerados dessas interações têm função de atrair e desencadear o estabelecimento de colônias bacterianas e fungos simbióticos favoráveis à planta. Micro-organismos da rizosfera e endófitos são descritos como benéficos às plantas hospedeiras e possíveis controladores biológicos de fitopatógenos (Ferreira, 2008).

A comunidade microbiana da rizosfera pode variar em estrutura e composição de espécies em função do tipo de solo, espécie de planta, estado nutricional, idade, estresse, doenças, dentre outros fatores ambientais (Mahafee & Kloepper, 1997; Griffiths *et al.*, 1999). As interações entre raiz e micro-organismos variam desde associações comensais, amensais, até as simbioses (mutualísticas). Dessa forma, várias interações ecofisiológicas ocorrem na rizosfera, resultando no crescimento e produção vegetal (Cardoso & Freitas, 1992). Fungos do solo e da rizosfera podem conferir às plantas tolerância a estresses abiótico e biótico e aumento da biomassa (Smith & Read, 2008; Bever *et al.*, 2010).

Além das influências químicas, a rizosfera é rica em exsudatos, secreções, mucilagens, e lisados celulares que, alterados, podem influenciar a germinação de esporos e outros micro-organismos (Michereff *et al.*, 2001; Cardoso & Nogueira, 2007). Diferentes espécies de plantas influenciam a comunidade microbiana da rizosfera por diferenças quantitativas e qualitativas de seus exsudatos radiculares (Rengel, 1997; 2002). Entre 10% e 30% do carbono assimilado pela planta são liberados para a rizosfera (Lynch & Whipps, 1990) onde a atividade microbiana é geralmente maior do que a do solo, ocorrendo 60 vezes mais bactérias e 12 vezes mais fungos na rizosfera (Kerry, 2000). Fungos e bactérias encontrados nesse ambiente podem invadir células do córtex provocando danos e a morte do tecido cortical, enquanto que a raiz como um todo, permanece viva e sadia. Micro-organismos benéficos podem colonizar as células do sistema radicular, sendo essas interações de comensais até simbioses (Cardoso & Freitas, 1992).

Com o desenvolvimento da planta uma maior atividade fisiológica vai ocorrendo, e uma diversidade de produtos é liberada para a rizosfera, e influenciam no crescimento microbiano (Brasil-Batista, 2003; Bais *et al.*, 2006). Os efeitos desse aumento da atividade microbiana na rizosfera podem ser benéficos, favorecendo a fixação biológica de nitrogênio, micorrizas, controle de patógenos, produção de substâncias promotoras de crescimento, imobilização temporária de nutrientes na biomassa, ou prejudiciais, como patógenos, rizobactérias deletérias, competição com as plantas por nutrientes (Bowen & Rovira, 1999; Cardoso & Nogueira, 2007).

O rizoplano, porção da rizosfera, é definido como a superfície radicular (Michereff *et al.*, 2001), como o resíduo de solo aderido a raízes de uma planta (Montiel & Aguilar, 2003), ou como a

superfície entre a raiz e o solo (Cardoso & Nogueira, 2007), que fornece uma base nutricional altamente favorável para muitos micro-organismos (Melo, 1999). O rizoplano reflete o efeito da raiz sobre a microbiota do solo, sendo difícil a distinção entre rizoplano e rizosfera, podendo variar durante a vida da raiz. Como os micro-organismos presentes no rizoplano estão aderidos à superfície radicular, são necessários métodos especiais de isolamento (Melo, 1999; Willadino *et al.*, 2005).

A população do rizoplano parece ser geneticamente e fenotipicamente homogênea em relação a população não rizosférica (Mavingui *et al.*, 1992). Entre a rizosfera e o rizoplano ocorre a interação entre os variados grupos microbianos (Cardoso & Nogueira, 2007).

Odunfa & Oso (1979), estudando fungos da rizosfera e rizoplano de Caupi (*Vigna* sp.), obtiveram um maior número de espécies de fungos isolados da rizosfera do que do rizoplano, provavelmente indicando que o rizoplano é um habitat mais especializado para o crescimento de fungos.

Cavaglieri *et al.* (2009), estudando a comunidade microbiana da endo-rizosfera e rizoplano de milho (*Zea mays* L.), comprovaram que não houve variação significativa entre a densidade microbiana do rizoplano e da endo-rizosfera, mas que provavelmente um grande número de fungos e bactérias da rizosfera estão associados com as superfícies de raiz.

Miranda *et al.* (2006) isolaram *Trichoderma harzianum* da rizosfera e rizoplano de *Allium sativum* L. (alho), provando sua atuação como agente de controle biológico da podridão branca.

2.7.1. Isolamento de fungos da rizosfera e rizoplano de espécies de *Vitis*

Poucos estudos foram desenvolvidos com fungos isolados de rizosfera de videiras. Chiarappa (1959), estudando a rizosfera de várias videiras na Califórnia, isolou os gêneros *Botrytis*, *Chaetomium*, *Cylindrocarpon*, *Dactylium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Nigrospora*, *Papularia*, *Penicillium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Stemphylium* e a espécie *Trichoderma viride*. Vidal & Leborgne (1963), na França, isolaram os gêneros *Cephalosporium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mortierella*, *Mucor* e *Penicillium*. Mehdi & Pillay (1968a, 1968b) isolaram uma nova espécie de *Cephalosporium* (*C. vitis*) e uma de *Chaetomium* (*C. vitis*) em rizosfera de *V. vinifera* na Índia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de coleta

Coletas de raízes e do solo rizosférico foram efetuadas no sítio Sebastião, município de São Vicente Férrer (07°35'27" S, 35°29'27" O) localizado a 85 km do Recife, na Região Agreste de Pernambucano, que tem clima do tipo tropical chuvoso com verão seco (Figura 1).

No sítio, a viticultura é tradicional e presente por mais de 21 anos, encontrando-se em pequena propriedade de agricultura familiar, sendo o parreiral de pequena extensão, com aproximadamente 2.400 m² (Figura 2).



Figura 1. Mapa indicando localização do município de São Vicente Férrer-PE.



Figura 2. Vista do parreiral na área de coleta no sítio Sebastião em São Vicente Férrer-PE.

3.2. Coleta do Material

No período de janeiro/2011 a dezembro/2011 foram realizadas seis excursões ao sítio Sebastião, sendo três no período de estiagem (janeiro, outubro e dezembro) e três no período chuvoso (maio, julho e agosto), para coleta dos seguintes materiais (Tabela 2):

- **Rizosfera:** na plantação de *V. labrusca* cv. Isabel, em três pontos aleatórios foram coletadas amostras do solo da superfície e à profundidade de 10cm, com auxílio de uma pá esterilizada, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente etiquetados.

- **Raízes e rizoplano:** Amostras de raízes jovens (20-30cm), foram retiradas cuidadosamente, com auxílio de pá esterilizada, em três pontos aleatórios e acondicionadas em sacos de papel devidamente etiquetados.

Os materiais coletados foram transportados ao Laboratório de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, para manipulação e processamento no tempo máximo de 24h.

Tabela 2. Características climáticas da área de coleta no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.

Coleta (mês/data)	Período	Densidade Pluviométrica (mm)	Temperatura (°C)	
			Máxima	Mínima
Janeiro (20/01/2011)	Estiagem	12,9	31,5	22,0
Maio (12/05/2011)	Chuvoso	380,9	28,9	21,2
Julho* (07/07/2011)	Chuvoso	...	28,2	19,8
Agosto* (18/08/2011)	Chuvoso	...	29,0	18,7
Outubro (31/10/2011)	Estiagem	1,0	31,3	21,3
Dezembro* (15/12/2011)	Estiagem	...	32,0	22,1

Fonte: Instituto de Agronomia de Pernambuco (IPA); Sistema de Monitoramento Agrometeorológico (Agrimtempo); LAMEPE/ITEP. * Os meses de julho, agosto e dezembro não foram registrados os índices de chuvas.

3.3. Isolamento e identificação dos fungos

- **Fungos da rizosfera:** As amostras de rizosfera coletadas foram submetidas à técnica de diluição sucessiva segundo Clark (1965) modificado, onde 25g de solo foram suspensos em 225ml de água destilada esterilizada (ADE) (diluição 1:10). Desta diluição, 10ml foram adicionados a 990ml de ADE (diluição 1:1000) da qual 1ml foi semeado em placas de Petri (em triplicata) contendo Ágar Sabouraud com Rosa de bengala (SAB+Rb). As placas foram incubadas em temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$) e o crescimento das colônias acompanhado por 72h. Cerca de 1Kg da amostra composta da rizosfera de cada coleta foram analisados quimicamente (Tabela 3).

Tabela 3. Características químicas do solo rizosférico da área de coleta no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.

Coleta (mês)	Fe*	Cu*	Zn*	Mn*	P*	K*	Na*	Ca**	Mg**	H**	pH**	C	M.O.
Janeiro	139,6	3,1	29,2	52	280	0,56	0,24	6,7	0,9	2,3	5,6	1,35	2,33
Mai	127,4	2,1	25,2	46,2	200	0,38	0,13	4,5	0,5	2,2	6,0	0,93	1,60
Julho	131,2	2,7	32,6	48,8	220	0,29	0,08	6,6	0,4	1,6	6,0	1,48	2,55
Agosto	112,0	3,2	34,6	59,6	300	0,23	0,07	7,5	0,1	1,8	6,2	1,79	3,09
Outubro	142,6	2,2	28	51,2	280	0,28	0,20	4,7	1,6	2,2	5,9	1,66	2,86
Dezembro	105,0	2,3	30,2	54,0	280	0,32	0,23	5,3	0,8	1,7	6,5	1,69	2,91

Fonte: Coordenação Agrícola / Lab. de análise de solos, Estação Experimental de cana-de-açúcar do Carpina, UFRPE.

* mg/dm^3 ; ** cmolc / dm^3 .

- **Endófitos de Raízes:** Raízes de aproximadamente 0,5cm de diâmetro, foram lavadas com água corrente e detergente neutro, fragmentadas em pedaços de 5mm de comprimento, os quais foram desinfestados em álcool 70% (1 minuto), em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% (3-4 minutos), novamente em álcool 70% (30 segundos), para retirada do excesso de hipoclorito, e em seguida lavados duas vezes com água destilada esterilizada (Araújo *et al.*, 2002b). Posteriormente, seis fragmentos foram transferidos para cada placa de Petri (totalizando 324 fragmentos), em triplicata, contendo Batata-Dextrose-Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (50mg/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 fragmento da raiz. Para o controle da assepsia, 50 μL da última água utilizada foram plaqueados em BDA como comprovação da desinfestação superficial (Pereira *et al.*, 1993). Após crescimento das colônias, fragmentos de micélio foram transferidos para tubos de ensaio contendo meio BDA para posterior identificação das espécies com base nas características macro e microestruturais através de literatura especializada (Ellis, 1971; Ellis, 1976; Sutton, 1980; Domsch *et al.*, 1980; 1993; Kirk & Cooper, 2005, entre outras).

- **Fungos do rizoplane:** Partículas de 2 mg do rizoplane (aderidos as raízes) foram plaqueadas em triplicata diretamente na superfície do meio de cultura SAB+Rb, incubadas em temperatura ambiente e observadas diariamente por uma semana quanto ao desenvolvimento das colônias fúngicas. A técnica utilizada foi de Ho & Benny (2008) modificada.

3.4. Inoculação e re-isolamento dos fungos endófitos

- **Cultivo:** Um isolado de cada espécie endófitas de maior frequência de ocorrência isoladas de raízes (*Fusarium merismoides*) e folhas (*Nigrospora oryzae*, isolada no estudo desenvolvido entre os anos de 2009 e 2010) foram selecionadas e cultivadas em meio de cultura BDA a 27°C durante 10 dias e utilizadas para preparo de suspensão de esporos para inoculação das plantas (folhas e no solo próximo as raízes) (Stolf *et al.*, 2006).

- **Preparo da suspensão de esporos:** Sob condições assépticas, foram adicionados 25mL de água destilada esterilizada à cultura fúngica para remoção dos esporos. A suspensão obtida foi filtrada utilizando uma gaze esterilizada, decantada em um Becker de 250 mL, ajustando a suspensão dos esporos em câmara de Neubauer para $1,5 \times 10^6$ esporos/mL⁻¹ (Stolf *et al.*, 2006) (Figura 3).

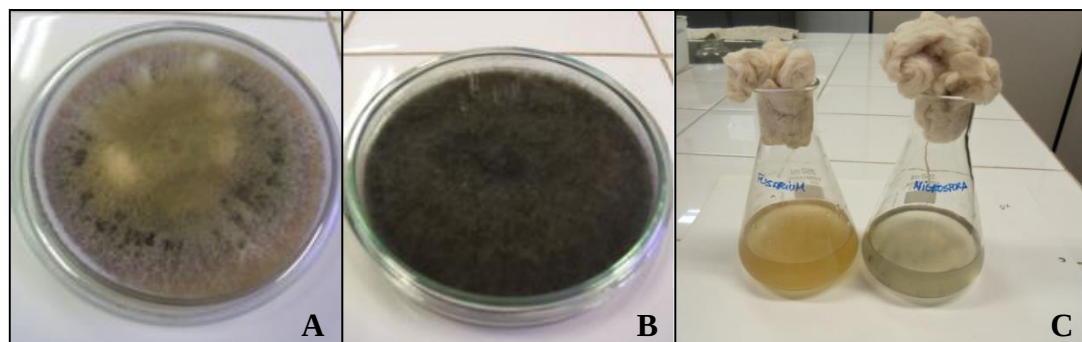


Figura 3. Cultura dos fungos endófitos inoculados: A- *Fusarium merismoides* e B- *Nigrospora oryzae*; C- Suspensão de esporos dos inoculantes.

- **Preparação das mudas de *V. labrusca* cv. Isabel:** Estacas lenhosas de videira, com aproximadamente 25 cm de comprimento, contendo cerca de duas gemas (Sozim *et al.*, 2008), foram retiradas da região mediana dos ramos maduros e lenhosos, com um ano de crescimento, durante o repouso vegetativo da planta, e obtidas diretamente do produtor rural do município de São Vicente Férrer. As estacas foram colocadas em sacos plásticos (14 x 22 cm) contendo substrato úmido autoclavado de solo do parreiral em estudo. Com o brotamento das gemas, as plantas foram transferidas para potes de 1 litro de capacidade, contendo o mesmo substrato. As plantas foram mantidas a temperatura de casa de vegetação e irrigadas diariamente (Stolf *et al.*, 2006) (Figura 4).



Figura 4. Preparação das mudas de *Vitis labrusca* cv. Isabel em casa de vegetação: A- estacas; B- solo autoclavado em potes de 1L; C- plantio das estacas; D e E- brotamento das estacas.

Para o controle, as estacas foram avaliadas quanto à presença/ausência das espécies endófitas selecionadas para a inoculação nas mudas de videiras, sendo desinfestadas segundo a técnica de Pereira *et al.* (1993) (Figura 5). Para o solo autoclavado utilizou-se a técnica de Clark (1965) modificada. As espécies isoladas foram comparadas quanto às características macro e microestruturais.

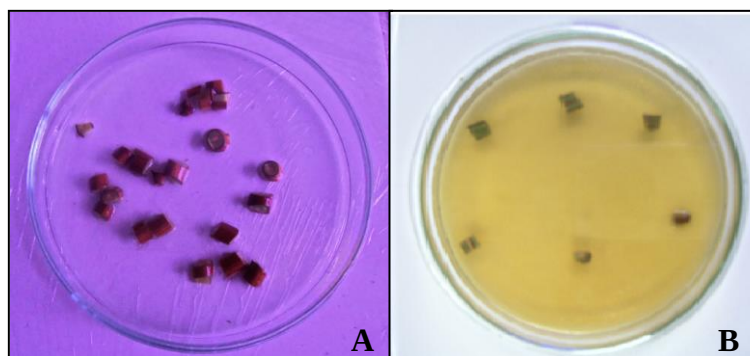


Figura 5. Isolamento do controle: A- fragmentos das estacas; B- fragmentos em meio de cultura.

- **Inoculação e re-isolamento dos fungos endófitos:** Depois de 40 dias de cultivo foi procedida a inoculação dos isolados selecionados de fungos endófitos (*Nigrospora oryzae* e *Fusarium merismoides*) (Figura 6), depositando 10 ml das suspensões fúngicas na concentração de $1,5 \times 10^6$ esporos/mL⁻¹ próximo ao colo das plantas por meio de escarificações das raízes e aplicação por atomização diretamente nas folhas, a cada 15 dias, durante 8 semanas de cultivo (Ávila *et al.*, 2000; Stolf *et al.*, 2006), sendo cada solução preparada a cada período de inoculação. Após 30, 60 e 90 dias foram realizados os re-isolamentos e a avaliação da frequência de colonização das mudas pelos fungos endófitos (Paz, 2009). O re-isolamento destes fungos endófitos em raízes foi realizado através da técnica de Pereira *et al.* (1993), e para o isolamento dos fungos das folhas foi utilizada a técnica descrita por Brum *et al.* (2012), com desinfestação em álcool 70% (30 segundos), hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% (2 minutos e 30 segundos), e duas lavagens com água destilada esterilizada, todas por amostragem.

O experimento constou de 40 mudas de videiras, com delineamento inteiramente casualizado (dois fungos x dois métodos de inoculação + controle): oito plantas por tratamento (inoculação em solo e em folhas) e oito plantas controle, não inoculadas; cada planta considerada uma repetição. Para análise entre os espécimens re-isolados e a espécie endófito inoculada, foi realizada a técnica de marcador molecular de PCR-ISSR (*Inter simple sequence repeat amplification*) (Parreira, 2010), no Laboratório de Biologia Molecular de Fungos do Departamento de Micologia da UFPE.

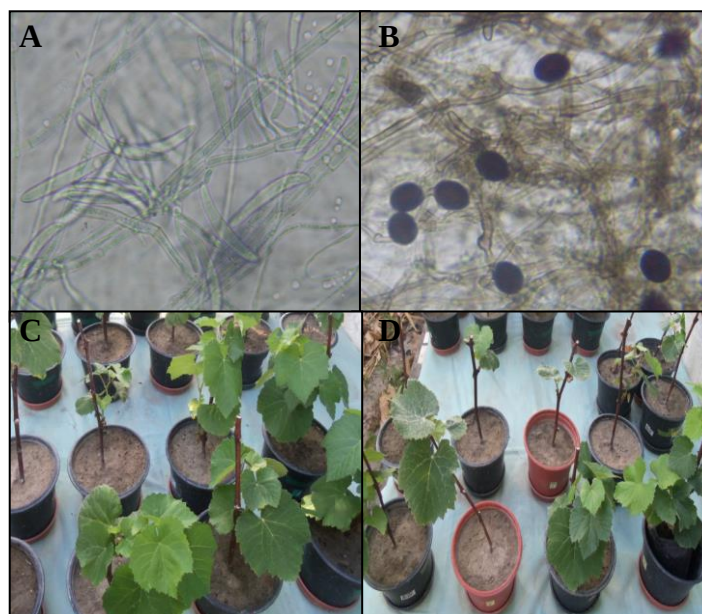


Figura 6. Conídios das espécies fúngicas inoculadas: A- *Fusarium merismoides* e B- *Nigrospora oryzae*; C e D - mudas de *Vitis labrusca* após 30 dias de inoculação: C- *F. merismoides* e D- *N. oryzae*.

3.5. Teste de patogenicidade

O teste de patogenicidade foi realizado com quatro espécies de fungos endófitos selecionadas, sendo duas de folhas (*Colletotrichum gloeosporioides* e *Guignardia mangiferae*) e duas de raízes (*Fusarium oxysporum* e *Lasiodiplodia theobromae*) (Figura 7), em casa de vegetação utilizando mudas de videiras com 90 dias. O experimento constou de 27 mudas de videira, com delineamento inteiramente casualizado (quatro fungos x dois métodos de inoculação + controle): três plantas por tratamento (com e sem ferimento – folhas e raízes) e três plantas controle não inoculadas (testemunhas).

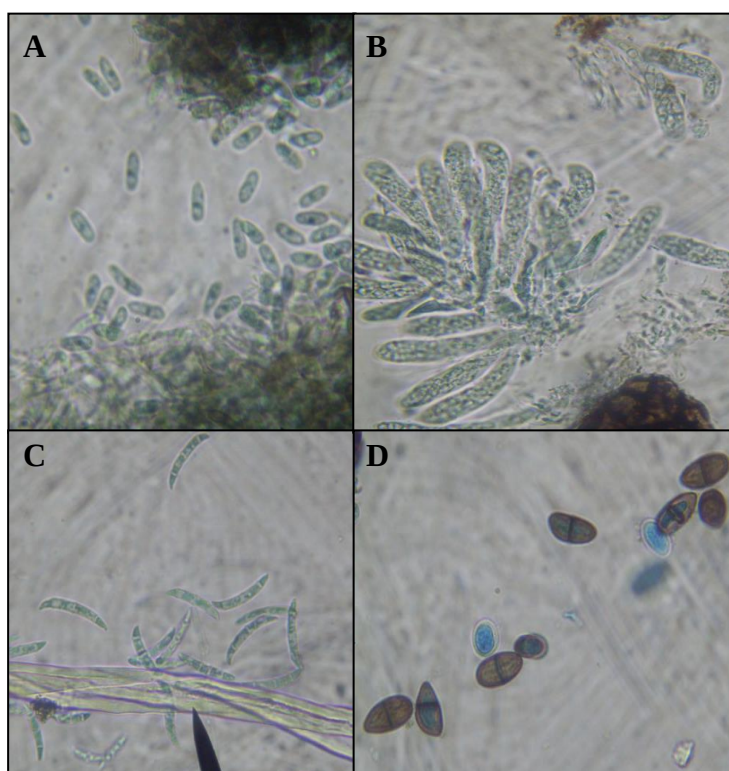


Figura 7. Conídios das espécies fúngicas testadas: A- *Colletotrichum gloeosporioides*, B- *Guignardia mangiferae*; C- *Fusarium oxysporum* e D- *Lasiodiplodia theobromae*.

Antes da inoculação, as folhas foram lavadas com água e sabão, desinfestadas com hipoclorito de sódio e água (1:3) e lavadas com água destilada esterilizada (Assunção *et al.*, 2007).

- **Com ferimento nas folhas:** Três discos de micélio (5mm de diâmetro) foram fixados com fita adesiva em três pontos equidistantes, distribuídos na superfície abaxial das folhas, com escarificações feitas com estilete esterilizado.

- **Sem ferimento foliar:** Suspensões fúngicas com $1,5 \times 10^6$ esporos/mL⁻¹ foram inoculadas por atomização diretamente na face adaxial das folhas (Figura 8).

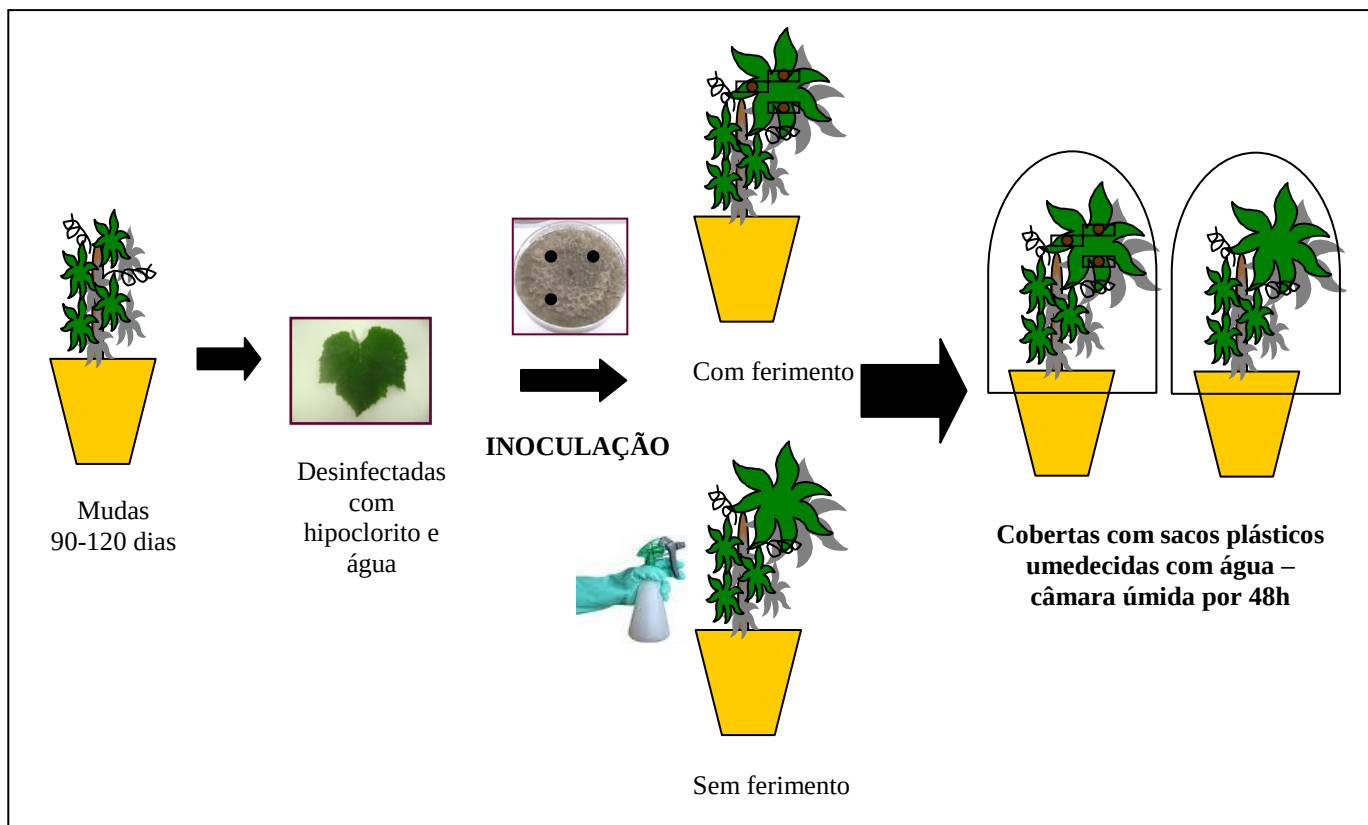


Figura 8. Esquematização do teste de fitopatogenicidade com e sem ferimento foliar.

- **Com e sem ferimento radicular:** Suspensões fúngicas com $1,5 \times 10^6$ esporos/mL⁻¹ foram inoculadas por atomização diretamente no solo com e sem escarificação das raízes (Figura 9).

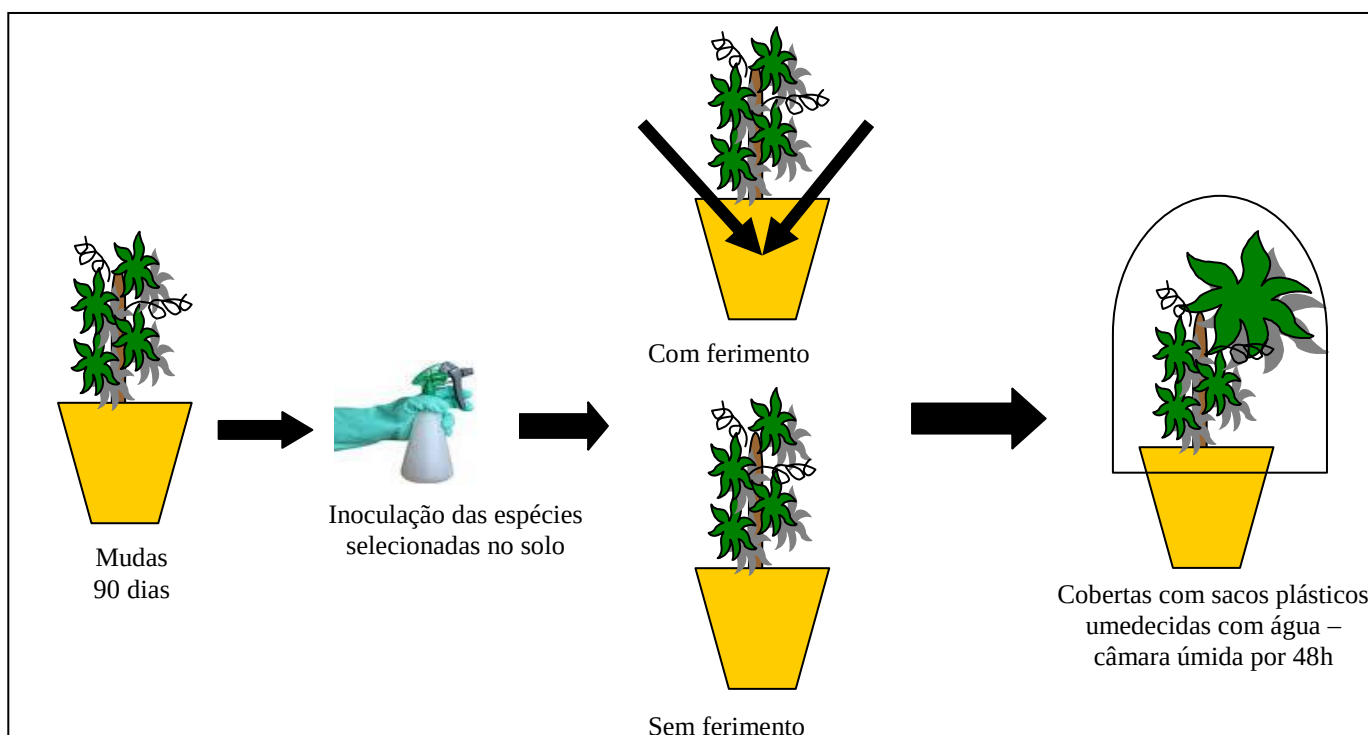


Figura 9. Esquematização do teste de fitopatogenicidade com e sem ferimento nas raízes de mudas de videira.

As mudas inoculadas e as testemunhas foram cobertas com sacos plásticos, previamente umedecidos com água destilada esterilizada, e mantidas em câmara úmida em condições de casa de vegetação. Após 48h, os sacos plásticos foram retirados, e a patogenicidade avaliada por até 30 dias, levando-se em conta a presença ou ausência de manchas necróticas nos pontos inoculados. A partir das lesões existentes foi realizado o re-isolamento dos fungos, retirando pequenos fragmentos da transição entre tecidos doentes e sadios das folhas e raízes, desinfestados em álcool 70% (30 segundos), em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% (2 minutos), e água destilada e incubados em placas de Petri com meio BDA. Após o crescimento em cultura, os isolados obtidos foram comparados com o isolado originalmente inoculado por meio de exame ao microscópio (Assunção *et al.*, 2007).

Para análise da variabilidade genética entre os espécimens re-isolados e a espécie endófito inoculada, foi utilizada a técnica de marcador molecular PCR-ISSR (*Inter simple sequence repeat amplification*) (Parreira, 2010), no Laboratório de Biologia Molecular de Fungos do Departamento de Micologia da UFPE.

3.6. Análise genética dos fungos re-isolados

- **Biomassa dos fungos para a extração de DNA:** As biomassas dos fungos para extração de DNA foram obtidas a partir de culturas em Sabouraud sólido contido em tubos de ensaio, mantidos a 28°C por até seis dias. A extração de DNA foi realizada mediante a retirada de toda a massa de células com uma alça de platina. Todo o material celular foi transferido para tubo de 2 mL com tampa de rosca contendo 0,5g da mistura de contas de vidro (1:1) (acid-washed, 150-212 and 425-600µm; Sigma, U.S. sieve). O material foi triturado por agitação em alta velocidade em um FastPrep®. A extração do DNA genômico foi realizada com o material previamente triturado, conforme a técnica modificada de Góes-Neto *et al.* (2005), que inclui uma lavagem com clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) e posterior homeogeneização do material em tampão CTAB 2%, além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e resuspensão em 50µL de água ultrapura.

- **ISSR para a tipagem dos espécimens re-isolados (Primers (GTG)₅ e (GACA)₄):** As reações de PCR para amplificação das regiões de ISSR foram realizadas utilizando os *primers* (GACA)₄ (5'-GACAGACAGACAGACA-3') (Meyer & Mitchell, 1995) e (GTG)₅ (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') (Lieckfeldt *et al.*, 1993). A preparação da mistura de cada reação de PCR consistiu em volume final de 25µL, sob as seguintes condições: tampão 1X (Tris-HCl 20 mM pH 8.4; KCl 50 mM), MgCl₂ 1.5 mM, dNTP 0.25 mM, primer 0.25 mM, 0.2U Taq DNA polimerase e 25ng de DNA.

Para a implementação da reação de PCR foi realizada uma desnaturação inicial a 95°C por 10 minutos seguido de 35 ciclos, cada uma composta de 95°C por 30 segundos, um passo anelamento a 39°C por 1 minuto e 72°C por 2 minutos, com uma extensão final a 72°C por 5 minutos. Os produtos amplificados rDNA foram corados com solução de vermelho-Gel (0,5µg/mL) e separados por eletroforese em gel de agarose 1% imerso em tampão de corrida TAE 1X (pH 8,0), correndo por 50 minutos a 3V/cm distância entre os eletrodos, visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta e fotografado. Foi usado marcador molecular de 1kb plus (Fermentas ®).

Os fragmentos de DNA gerados pelas análises de ISSR foram avaliados mediante inspeção visual dos géis.

3.7. Frequência de ocorrência

A frequência de ocorrência das espécies fúngicas na raiz, rizoplano e rizosfera foi calculada segundo Araújo *et al.* (2002a), sendo expressa em percentuais nas seguintes classes: Abundantes: $\geq 3,0\%$; comuns: $\geq 1,5 < 3,0\%$; ocasionais: $\geq 0,5 < 1,5\%$; raras $< 0,5\%$ (Schnittler & Stephenson, 2000), e calculada pela seguinte fórmula:

$$F = \frac{P \times 100}{p}$$

Onde: F = frequência de ocorrência;

P = nº de parcelas com ocorrência da espécie;

p = nº total de parcelas.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa estatístico Assistat e Primer 6 e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) (Ferreira, 2000; Clarke & Gorley, 2006).

3.8. Frequência de colonização dos fungos endófitos re-isolados

A frequência de colonização dos fungos endófitos nas raízes e folhas de mudas de videira foi obtida utilizando a fórmula:

$$F = \frac{N \times 100}{n}$$

Onde: F = frequência de colonização;

N = nº total de fragmentos com crescimento;

n = nº total de fragmentos analisados.

3.9. Índice de Similaridade

Para o cálculo da similaridade das espécies de fungos endófitos, do rizoplano e da rizosfera foi utilizado o índice de similaridade de Sørensen (Sorensen, 1948):

$$Ss = \left(\frac{2w}{a + b + c} \right)$$

Onde: w = Espécies comuns à raiz, rizoplano e rizosfera;

a = nº total de espécies endófitas;

b = nº total de espécies da rizoplano;

c = nº total de espécies do rizosfera.

Para avaliar a similaridade das espécies de fungos quando comparados Raiz/Rizoplano, Raiz/Rizosfera e Rizoplano/Rizosfera, e entre os períodos de coleta, foi utilizado o índice de similaridade de Sørensen, sendo a fórmula:

$$Ss = \left(\frac{2w}{a + b} \right)$$

Onde: w = nº de fungos comuns à raiz, rizoplano e rizosfera;

a = nº total de espécies isoladas em 1;

b = nº total de espécies isolados em 2

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Fungos endófitos isolados de raízes de *Vitis labrusca* cv. Isabel

De 324 fragmentos de raízes de *V. labrusca* incubados, foram obtidos 336 isolados de fungos endófitos, pertencentes a 12 gêneros e 20 espécies (Tabela 4). *Fusarium oxysporum* (11,01%), *F. merismoides* (27,68%) e *Cylindrocladiella camelliae* (16,67%) foram as espécies mais frequentes. A maioria dos fungos isolados de raízes é comumente encontrada no solo (Fisher *et al.* 1991), sendo tais fungos considerados típicos sapróbios epífitas (Stone *et al.* 2004).

Dentre os gêneros identificados, *Fusarium* foi o mais abundante, com 180 isolados. Tan *et al.* (2012), relatam que espécies de *Fusarium* também foram dominantes como endófitas em raízes de orquídeas na China. *Fusarium* é um fungo cosmopolita, com espécies, patógenas (Garrett, 1951; Booth, 1971) e saprofíticas (Salerno *et al.*, 2000), porém há poucos estudos sobre sua interação com raízes saudáveis (Angelini *et al.*, 2012). Como fitopatógeno, espécies podem causar podridão radicular, murcha vascular e necrose foliar (Picco *et al.*, 2011). Em estudo realizado por Maciá-Vicente *et al.* (2008) com fungos endófitos de raízes de diferentes vegetais, *Fusarium* foi um dos gêneros mais frequentes. Segundo Blodgett *et al.* (2000), espécies de *Fusarium*, incluindo *F. oxysporum*, são as espécies mais comuns em raízes saudáveis, salientando-se que em *Amaranthus hybridus*, espécies de *Fusarium* sejam talvez um importante componente da micobiota desse vegetal.

Curvularia pallescens, *Fusarium moniliforme*, *F. redolens*, *Myrothecium roridum*, *Phoma tropica*, *Trichoderma harzianum* e *T. pseudokoningii*, todas com 0,3% de frequência de ocorrência, foram consideradas espécies endófitas raras em raízes de *V. labrusca*. As demais foram classificadas nas categorias de abundantes e ocasionais (Tabela 4).

Apesar do desenvolvimento de vários métodos para promover a esporulação, como por exemplo o teste em vários meios de cultura artificiais, inclusive V8 ágar (Bills & Foster, 2004), a frequência de isolados que não esporularam foi 14,29%. Estes fungos não esporulantes foram determinados como *Mycellia sterilia*. Promputtha *et al.* (2005) e Wang *et al.* (2005), mencionam que análises de sequências de DNA complementam a taxonomia fúngica, sendo assim importante a identificação da maioria de *Mycellia sterilia* por técnicas moleculares.

Phoma e *Ophiostoma*, e as espécies *Clonostachys rosea*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Trichoderma harzianum* foram também isoladas como endófitas de folhas e raízes de *V. vinifera* por Mostert *et al.* (2000), Casieri *et al.* (2009) e González & Tello (2011), e em *V. labrusca* var.

Niagara Rosada por Brum (2006; 2008). Algumas espécies de *Ophiostoma* são responsáveis por perdas econômicas significativas para a agricultura (Kamgan *et al.*, 2008).

Alguns endófitos se comportam como patógenos de plantas de onde foram isolados, levando a pensar que parte do ciclo de vida desses patógenos seja inicialmente como endófito (Brown *et al.*, 1998; Photita *et al.*, 2001). Segundo Highet & Nair (1995), *Fusarium oxysporum* é capaz de ocasionar doenças em raízes de *V. vinifera*. *Lasiodiplodia theobromae* causa a botriodiplose (Dias *et al.*, 1998) e podridões do tronco e raízes em videiras (Rodrigues, 2003). *Cylindrocladiella camelliae* é conhecida como sapróbia, ou patógena causando podridão de raiz em diferentes hospedeiros (Crous & Wingfield, 1993). Espécies de *Cylindrocladiella* também são citadas como agentes de declínios (crescimento atrofiado) de folhas e enxertos, e da podridão negra em raízes (Black root) de *V. vinifera* (Coller *et al.*, 2005, Jones *et al.*, 2012). González & Tello (2011) isolando fungos endófitos de *V. vinifera*, também obtiveram algumas espécies fitopatógenas à videiras, sendo por exemplo, *Phomopsis viticola* considerada frequente na pesquisa.

Espécies de *Pestalotiopsis*, isoladas como endófitas, podem produzir substâncias antifúngicas (Tejesvi *et al.*, 2006; 2007), e *Myrothecium roridum* produz tricotecenos (compostos bioativos) com atividade contra *Pyricularia oryzae* Cavara, patógeno causador da brusone do arroz (rice blast) (Wang *et al.*, 2007). *Malbranchea dendritica*, isolada como endófito nesse estudo, é um fungo que produz artroconídios e tem sido isolada do solo (Orr, 1968). *Fusarium redolens* foi isolada de rizomas da planta medicinal *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright, produzindo a beauverecina, um agente antibacteriano, e fornecendo proteção à planta (Xu *et al.*, 2010).

Curvularia pallescens (Petrini & Dreyfuss, 1981; Rodrigues, 1994; Rodrigues & Dias-Filho, 1996; Kumaresan & Suryanarayanan, 2001; Kumaresan & Suryanarayanan, 2002; Rodrigues & Menezes, 2002); *Fusarium lateritium* (Fisher *et al.*, 1995); *F. merismoides* (Tan *et al.*, 2012); *F. moniliforme* (Yates *et al.*, 1997); *F. oxysporum* (Sánchez Márquez *et al.*, 2007); *F. solani* (Shweta *et al.*, 2010); *Clonostachys rosea* (= *Gliocladium roseum*) (Suryanarayanan & Vijaykrishna, 2001); *Lasiodiplodia theobromae* (Cardoso *et al.*, 2009b); *Phoma tropica* (Fisher *et al.*, 1995); *Trichoderma koningii* (Lodge *et al.*, 1996); *T. pseudokoningii* (Sobowale *et al.*, 2007); *T. virens* (Xia *et al.*, 2011) e espécies de *Pestalotiopsis* (Tejesvi *et al.*, 2007) foram isoladas como endófitas em diferentes hospedeiros e partes vegetais (caule, folhas e raízes).

Tabela 4. Número de isolados e frequência de ocorrência das espécies de fungos endófitos isolados de raízes de *Vitis labrusca* cv. Isabel nos períodos de coleta no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.

Espécies	Período de coleta		Total de isolados	Frequência (%)	Ocorrência
	Estiagem	Chuvoso			
<i>Clonostachys rosea</i> (Preuss) Mussat	07	06	13	3,87	Abundante
<i>Curvularia pallescens</i> Boedjin (= <i>Pseudocochliobolus pallescens</i> Tsuda & Ueyama)	01		01	0,30	Rara
<i>Cylindrocladiella camelliae</i> (Venkataram. & C.S.V. Ram) Boesew.	24	32	56	16,67	Abundante
<i>Fusarium lateritium</i> Nees (= <i>Gibberella baccata</i> (Wallr.) Sacc.)	08	17	25	7,44	Abundante
<i>F. merismoides</i> Corda	34	59	93	27,68	Abundante
<i>F. moniliforme</i> J. Sheld. (= <i>Giberella fujikuroi</i> var. <i>fujikuroi</i> (Sawada) Wollenw.)		01	01	0,30	Rara
<i>F. oxysporum</i> Schltdl.	35	02	37	11,01	Abundante
<i>F. redolens</i> Wollenw.		01	01	0,30	Rara
<i>F. solani</i> (Mart.) Sacc. (= <i>Haematonectria haematococca</i> (Berk. & Broome) Samuels & Rossman)	13	10	23	6,84	Abundante
<i>Lasidiplodia theobromae</i> (Patt.) Griffon & Maubl.	17	02	19	5,65	Abundante
<i>Malbranchea dendritica</i> Sigler & J.W. Carmich.		02	02	0,59	Ocasional
<i>Myrothecium roridum</i> Tode	01		01	0,30	Rara
<i>Ophiostoma</i> sp.		02	02	0,59	Ocasional
<i>Pestalotiopsis maculans</i> (Corda) Nag Raj	02	03	05	1,49	Ocasional
<i>Phoma tropica</i> R. Schneid. & Boerema	01		01	0,30	Rara
<i>Rhizoctonia</i> sp.	01		01	0,30	Rara
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	01		01	0,30	Rara
<i>T. koningii</i> Oudem.		02	02	0,59	Ocasional
<i>T. pseudokoningii</i> Rifai		01	01	0,30	Rara
<i>T. virens</i> (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx (= <i>Gliocladium virens</i> J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster)	03		03	0,89	Ocasional
<i>Mycelia sterilia</i>	30	18	48	14,29	Abundante
Total	178 (53%)	158 (47%)	336	100%	-

Relacionando o número de isolamentos quanto aos períodos de coleta, foi verificado proximidade no número de isolados de raízes sadias de *V. labrusca* no período de estiagem (53%) e no período chuvoso (47%). *Cylindrocladiella camelliae* (32 isolados) e *Fusarium merismoides* (59 isolados) foram as espécies mais encontradas no período chuvoso. No período de estiagem foram mais presentes as espécies: *Fusarium oxysporum* (35 isolados) e *F. merismoides* (34 isolados). Quanto ao número de espécies identificadas, a similaridade entre os dois períodos foi de 57%.

Segundo Collado *et al.* (1999) e Fryar *et al.* (2004), diferenças sazonais podem alterar a diversidade fúngica. No presente estudo foi observado que o número de isolados de fungos endófitos pode ser influenciado pela sazonalidade. Diferente deste estudo, Assunção (2010), que estudando fungos endófitos em *Musa* spp., obteve um maior número de isolados endófitos durante o período chuvoso.

Do número total de isolados de fungos endófitos analisados foi constatado que nas coletas de janeiro (N = 10), maio e julho (N = 9) houve maior riqueza de espécies, e que nas coletas de maio, agosto e outubro verificou-se baixa diversidade de espécies ($-H' < 2$) quando comparados com isolados das demais coletas. De acordo com os resultados obtidos pela aplicação do índice de Shannon-Wiener (H'), ocorreu maior diversidade de isolados em janeiro ($H' = 1,945$), enquanto que a baixa diversidade foi evidenciada em agosto ($H' = 0,8513$). Quanto a Equitabilidade (J'), observou-se que em nenhuma das coletas ocorreu máxima diversidade de espécies ($J' > 1$), sendo dezembro ($J' = 0,8743$) o mês de coleta com maior abundância de espécies (Tabela 5).

Um maior número de espécies e de isolamentos de fungos endófitos de raízes de *V. labrusca* ocorreu no período de estiagem, sendo constatada maior diversidade através do índice de Shannon-Wiener. Suryanarayanan & Thennarasan (2004) estudando fungos endófitos em folhas de *Plumeria rubra* L. obtiveram maior número de espécies e diversidade no período chuvoso, enquanto que o maior número de isolados ocorreu durante a diminuição das chuvas.

Houve diferença estatística pelo teste de ANOVA para número de isolados obtidos por meses de coleta ($p < 0,01$), mas não para os períodos chuvosos e de estiagem ($p > 0,05$). Os números médios de isolados por meses de coletas foram comparados entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$), observando que o número de isolados da coleta de janeiro foi maior que os das coletas de julho, agosto, outubro e dezembro, mas não diferiram estatisticamente daquele obtido em maio (Tabela 6).

Tabela 5. Índice de abundância de espécies de fungos endófitos de *Vitis labrusca* entre os períodos de coleta.

Períodos de coleta		Nº de Espécies (N)	Total de isolados*	Índice de Diversidade		
				Margalef (-α)	Equitabilidade Pieleou's (J')	Shannon-Wiener (H')
	MAI	9	59	1,962	0,788	1,731
Chuvoso	JUL	9	27	2,427	0,6821	1,499
	AGO	5	54	1,003	0,529	0,8513
	JAN	10	76	2,078	0,8448	1,945
Estiagem	OUT	6	50	1,278	0,8331	1,493
	DEZ	8	22	2,265	0,8743	1,818

* Exceto *Mycelia sterilia*.

Tabela 6. Comparação estatística entre os números médios de isolados endófitos obtidos de raízes de *Vitis labrusca* nas coletas realizadas no ano de 2011 em São Vicente Férrer.

Períodos de coleta	Meses	Número médio de isolados*
CHUVOSO	MAI	24 ab
	JUL	10,3 d
	AGO	18 bcd
ESTIAGEM	JAN	29,7 a
	OUT	19 bc
	DEZ	10,7 cd

* CV = 16,41%. Médias seguidas das mesmas letras, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Com relação a similaridade entre os fungos endófitos de raízes de *V. labrusca* durante os meses de coleta, foi possível constatar maior similaridade (maior que 60%) entre os meses de maio e outubro, e o mês de dezembro como o período de menor similaridade com as demais coletas (Figura 10).

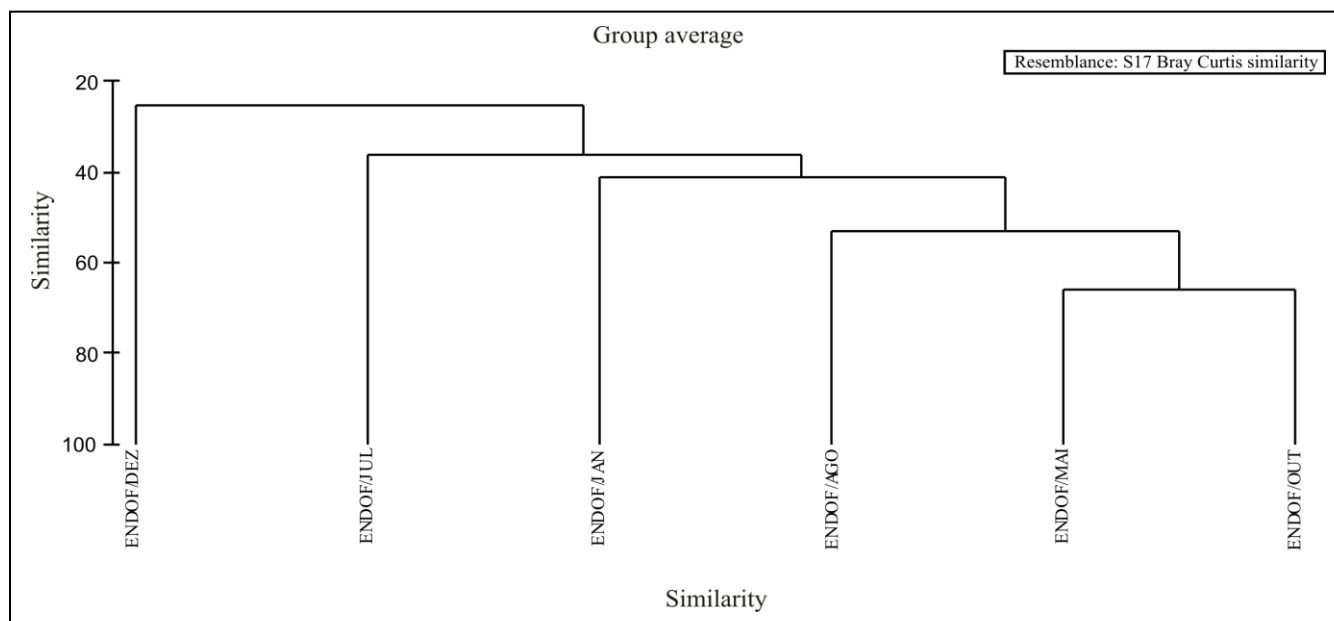


Figura 10. Dendrograma de similaridade dos fungos endófitos isolados de raízes de *Vitis labrusca* durante os meses de coleta.

4.2. Fungos isolados da rizosfera e rizoplano de *V. labrusca* cv. Isabel

Um total de 267 isolados, correspondendo a 19 gêneros e 31 espécies, foram encontrados na rizosfera de *V. labrusca* (Tabelas 7 e 8). O número de isolamentos e espécies dos fungos foi maior no período de estiagem ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 152$) quando comparado ao período chuvoso ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 115$). Quanto ao número de espécies identificadas, a similaridade entre os dois períodos foi de 52%.

Para o rizoplano foram obtidos 387 isolados, com 13 gêneros e 27 espécies (Tabela 7 e 9). Assim como na rizosfera, durante o período de estiagem ocorreu um maior número de isolados no rizoplano ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 209$), quando comparado ao período chuvoso ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 178$), porém, o maior número de espécies foi obtido no período chuvoso. Das espécies identificadas, quinze foram comumente obtidas na rizosfera e no rizoplano. Quanto ao número de espécies identificadas, a similaridade entre os dois períodos foi de 60%.

Oduño & Oso (1979) também obtiveram menor número de espécies no isolamento de fungos do rizoplano quando comparado com a rizosfera, sugerindo que o rizoplano seja um habitat mais especializado para o crescimento dos fungos. Abdel-Rafez (1982) obteve 56 espécies de fungos no rizoplano e 120 para a rizosfera de *Triticum vulgare* Vill., considerando o rizoplano como um substrato mais seletivo para fungos quando comparado a rizosfera.

Tabela 7. Espécies fúngicas isoladas da rizosfera e rizoplano de *Vitis labrusca* cv. Isabel no município de São Vicente Férrer, Pernambuco, nos períodos de coleta.

Espécies	Rizosfera		Rizoplano	
	Chuvoso	Estiagem	Chuvoso	Estiagem
<i>Acremonium bacillisporum</i> (Onions & G.L. Barron) W. Gams (= <i>Sarocladium bacillisporum</i> (Onions & G.L. Barron) Summerb.)		+		
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams				+
<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka	+		+	+
<i>A. carbonarius</i> (Bainier) Thom			+	+
<i>A. flavus</i> Link		+	+	+
<i>A. japonicus</i> Saito	+	+	+	+
<i>A. niger</i> Tiegh. (= <i>Aspergillus brasiliensis</i> Varga, Frisvad & Samson)	+	+	+	+
<i>A. tamarii</i> Kita		+		+
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries		+		
<i>C. tenuissimum</i> Cooke		+		
<i>Clonostachys rosea</i> (Preuss) Mussat	+	+	+	
<i>Curvularia pallescens</i> Boedjin (= <i>Pseudocochliobolus pallescens</i> Tsuda & Ueyama)		+		+
<i>Cylindrocladiella camelliae</i> (Venkataram. & C.S.V. Ram) Boesew.	+	+	+	
<i>Emericellopsis</i> sp.		+		
<i>Fusarium merismoides</i> Corda	+	+	+	+
<i>F. oxysporum</i> Schltdl.	+	+	+	+
<i>F. solani</i> (Mart.) Sacc. (= <i>Haematonectria haematococca</i> (Berk. & Broome) Samuels & Rossman)	+	+		+
<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen		+		
<i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Patt.) Griffon & Maubl.				+

Tabela 7. Continuação.

Espécies	Rizosfera		Rizoplano	
	Chuvoso	Estiagem	Chuvoso	Estiagem
<i>Microascus cinereus</i> Curzi		+		
<i>Mucor racemosus</i> f. <i>racemosus</i> Fresen.			+	+
<i>M. hiemalis</i> f. <i>luteus</i> (Linnem.) Schipper (= <i>Mucor luteus</i> Linnem. ex Wrzosek)			+	
<i>Myrothecium roridum</i> Tode	+	+		+
<i>Ophiostoma</i> sp.			+	
<i>Paecilomyces carneus</i> (Duché & R. Heim) A.H.S. Br. & G. Sm.		+		
<i>P. javanicus</i> (Bally) A.H.S. Br. & G. Sm. (= <i>Isaria javanica</i> (Bally) Samson & Hywel-Jones)	+			
<i>Penicillium decumbens</i> Thom		+		
<i>P. oxalicum</i> Currie & Thom	+			
<i>P. roseopurpureum</i> Dierckx	+	+	+	+
<i>P. sclerotiorum</i> J.F.H. Beyma			+	
<i>P. verruculosum</i> Peyrone (= <i>Talaromyces verruculosus</i> (Peyronel) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert)			+	
<i>Pestalotiopsis maculans</i> (Corda) Nag Raj			+	
<i>Phoma eupyrena</i> Sacc.		+		
<i>P. tropica</i> R. Schneid. & Boerema	+	+	+	+
<i>Rhizopus oryzae</i> Went & Prins. Geerl. (= <i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i> A. Fisch.)	+			
<i>Rhodotorula glutinis</i> (Fresen.) F.C. Harrison		+		
<i>Robillarda sessilis</i> (Sacc.) Sacc.		+		
<i>Scopulariopsis baarnensis</i> F.J. Morton & G. Sm.		+		
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	+		+	
<i>T. koningii</i> Oudem.	+		+	
<i>T. pseudokoningii</i> Rifai			+	
<i>T. virens</i> (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx (= <i>Gliocladium virens</i> J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster)			+	+
<i>Mycelia sterilia</i>	+	+	+	+
Total	17	26	22	18

Tabela 8. Frequência de ocorrência dos fungos isolados da rizosfera de *Vitis labrusca* cv. Isabel no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.

Espécies	Total isolados (UFCx10⁴g⁻¹)	Frequência (%)	Ocorrência
<i>Acremonium bacillisporum</i>	01	0.37	Rara
<i>Aspergillus aculeatus</i>	13	4.87	Abundante
<i>A. flavus</i>	01	0.37	Rara
<i>A. japonicus</i>	05	1.87	Comum
<i>A. niger</i>	12	4.49	Abundante
<i>A. tamaritii</i>	01	0.37	Rara
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	01	0.37	Rara
<i>C. tenuissimum</i>	02	0.74	Ocasional
<i>Clonostachys rosea</i>	11	4.12	Abundante
<i>Curvularia pallescens</i>	01	0.37	Rara
<i>Cylindrocladiella camelliae</i>	04	1.50	Comum
<i>Emericellopsis</i> sp.	03	1.12	Ocasional
<i>Fusarium merismoides</i>	27	10.11	Abundante
<i>F. oxysporum</i>	39	14.61	Abundante
<i>F. solani</i>	14	5.24	Abundante
<i>Humicola fuscoatra</i>	03	1.12	Ocasional
<i>Microascus cinereus</i>	02	0.74	Ocasional
<i>Myrothecium roridum</i>	07	2.62	Comum
<i>Paecilomyces carneus</i>	03	1.12	Ocasional
<i>P. javanicus</i>	01	0.37	Rara
<i>Penicillium decumbens</i>	03	1.12	Ocasional
<i>P. oxalicum</i>	08	3.00	Abundante
<i>P. roseopurpureum</i>	16	6.00	Abundante
<i>Phoma eupyrena</i>	01	0.37	Rara
<i>P. tropica</i>	03	1.12	Ocasional
<i>Rhizopus oryzae</i>	02	0.74	Ocasional
<i>Rhodotorula glutinis</i>	02	0.74	Ocasional
<i>Robillarda sessilis</i>	02	0.74	Ocasional
<i>Scopulariopsis baarnensis</i>	01	0.37	Rara
<i>Trichoderma aureoviride</i>	01	0.37	Rara
<i>T. koningii</i>	02	0.74	Ocasional
<i>Mycelia sterilia</i>	75	28.20	-
Total	267	100	-

Tabela 9. Frequência de ocorrência dos fungos isolados do rizoplano de *Vitis labrusca* cv. Isabel no município de São Vicente Férrer, Pernambuco.

Espécies	Total isolados (UFCx10 ⁴ g ⁻¹)	Frequência (%)	Ocorrência
<i>Acremonium charticola</i>	01	0.26	Rara
<i>Aspergillus aculeatus</i>	15	3.88	Abundante
<i>A. carbonarius</i>	30	7.75	Abundante
<i>A. flavus</i>	18	4.65	Abundante
<i>A. japonicus</i>	42	10.86	Abundante
<i>A. niger</i>	16	4.13	Abundante
<i>A. tamaritii</i>	01	0.26	Rara
<i>Clonostachys rosea</i>	04	1.03	Ocasional
<i>Curvularia pallescens</i>	01	0.26	Rara
<i>Cylindrocladiella camelliae</i>	05	1.30	Ocasional
<i>Fusarium merismoides</i>	04	1.03	Ocasional
<i>F. oxysporum</i>	25	6.46	Abundante
<i>F. solani</i>	09	2.32	Comum
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	03	0.77	Ocasional
<i>Mucor racemosus</i> f. <i>racemosus</i>	15	3.88	Abundante
<i>M. hiemalis</i> f. <i>luteus</i>	01	0.26	Rara
<i>Myrothecium roridum</i>	06	1.55	Comum
<i>Ophiostoma</i> sp.	05	1.30	Ocasional
<i>Penicillium roseopurpureum</i>	09	2.32	Comum
<i>P. sclerotiorum</i>	04	1.03	Ocasional
<i>P. verruculosum</i>	01	0.26	Rara
<i>Pestalotiopsis maculans</i>	01	0.26	Rara
<i>Phoma tropica</i>	03	0.77	Ocasional
<i>Trichoderma aureoviride</i>	04	1.03	Ocasional
<i>T. koningii</i>	33	8.53	Abundante
<i>T. pseudokoningii</i>	01	0.37	Rara
<i>T. virens</i>	66	17.05	Abundante
<i>Mycelia sterilia</i>	64	16.43	-
Total	387	100	-

Para a rizosfera de *V. labrusca* os gêneros mais isolados foram *Fusarium* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 67$), *Aspergillus* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 31$) e *Penicillium* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 27$). No rizoplano, *Aspergillus* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 123$), *Trichoderma* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 104$) e *Fusarium* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 38$) foram os gêneros mais isolados. Estudando a rizosfera de videiras, Chiarappa (1959), obteve os gêneros *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* e *Trichoderma*, enquanto que Vidal & Leborgne (1963) isolaram *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* e *Penicillium*.

Odunfa & Oso (1979) e Santos *et al.* (1989) obtiveram *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* como gêneros dominantes em estudos da rizosfera de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L., Walp.)) e *Saccharum officinarum* L. (cana-de-açúcar), sugerindo que *Aspergillus* e *Penicillium* são mais predominantes devido a sua alta capacidade esporulativa. Ulacio *et al.* (1997) destacaram a predominância de *Aspergillus* e *Fusarium* na rizosfera de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), sendo espécies de *Aspergillus* mais isoladas. Enquanto que na rizosfera de *Triticum vulgare* Vill. (Abdel-Hafez, 1982) e de melão (Coutinho *et al.*, 2010) ocorreu maior prevalência de *Aspergillus* e *Penicillium*.

Espécies de *Aspergillus* são bastante encontradas na rizosfera e no rizoplano de plantas de tabaco, devido a sua alta capacidade de colonização no solo (Ulacio *et al.*, 1997). Segundo Abdel-Rahim *et al.* (1983) esse gênero é dominante em rizosfera de cana-de-açúcar. Santos *et al.* (1989) também obtiveram em rizosfera de cana-de-açúcar isolados de 13 espécies de *Aspergillus*, dentre estas alta frequência de *A. niger*.

Na rizosfera de *V. labrusca*, *Fusarium* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 67$) apresentou maior número de isolamentos quando comparado a *Aspergillus* ($\text{UFC} \times 10^4 \text{g}^{-1} = 31$). Diferentemente deste estudo, Santos *et al.* (1989) e Arenas *et al.* (2005) obtiveram mais isolados de *Aspergillus* do que de *Fusarium* em rizosfera de cana-de-açúcar e *Phaseolus lunatus* L. (Fabaceae).

Quando comparado ao número de espécies por gênero obtidos na rizosfera de *V. labrusca*, *Aspergillus* (*A. aculeatus*, *A. flavus*, *A. japonicus*, *A. niger*, *A. tamarii*) apresentou-se mais representativo que *Fusarium* (*F. merismoides*, *F. oxysporum*, *F. solani*), coincidindo com os trabalhos de Santos *et al.* (1989), Ulacio *et al.* (1997) e Arenas *et al.* (2005). Segundo Raper & Fennel (1977), espécies de *Aspergillus*, apresentam-se amplamente distribuídas no solo, sendo comum o seu isolamento.

Fusarium é citado como um forte competidor saprofítico nos solos (Pugh & Williams, 1968), e como um dos gêneros mais estudados tanto no solo quanto na rizosfera, causando problemas econômicos por conter espécies fitopatógenas (Ethur *et al.*, 2008). Segundo Odunfa & Oso (1979) espécies do gênero foram mais abundantes na superfície das raízes (rizoplano) do que na rizosfera de feijão caupi, sendo segundo Booth (1971), de grande importância no rizoplano de diversas plantas. Saremi *et al.* (1999) confirmam que sua alta distribuição pode estar relacionada a fatores

climáticos, nutricionais, tipo de vegetação e solo. *Fusarium solani* e *F. oxysporum* apresentam-se com predominância no rizoplano e rizosfera de diferentes vegetais (Abdel-Rafez, 1982; Odunfa & Oso, 1979; Chandra & Raizada, 1982; Santos *et al.*, 1989; Silva *et al.*, 1990). Ulacio *et al.*, (1997) isolaram *F. solani* como um dos fungos de maior incidência na rizosfera de tabaco (*N. tabacum* L.). No presente estudo verificou-se maior isolamento de *Fusarium* na rizosfera do que no rizoplano.

Na rizosfera as espécies mais representativas foram: *Fusarium oxysporum* e *F. merismoides*. Enquanto que no rizoplano: *Aspergillus carbonarius*, *A. japonicus*, *F. oxysporum*, *Trichoderma koningii* e *T. virens* foram mais frequentes. Odunfa & Oso (1979) citam *A. niger*, *T. aureoviride*, *F. solani* e *F. oxysporum* como mais frequentes na rizosfera e rizoplano de feijão caupi. *F. oxysporum* é referida em rizosfera de diferentes substratos: arroz (*Oryza sativa* L.) (Srivastava & Mishra, 1971), trigo (*T. vulgare*) (Abdel-Hafez, 1982), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (Youssef & Mankarious, 1968), cana-de-açúcar (Santos *et al.*, 1989), tomate (Silva *et al.*, 1990; Ethur *et al.*, 2008) e pepino (*Cucumis sativus* L.) (Ethur *et al.*, 2008). Espécies de *Trichoderma* são comumente encontradas no solo, como sapróbias, antagônicas e parasitas de outros fungos (Barron, 1972), sendo isoladas na rizosfera de algumas culturas, e utilizadas no controle de patógenos de várias plantas cultivadas (Sivan & Chet, 1989; Gesheva, 2002).

Espécies como: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. tamarii*, *Clonostachys rosea* (= *Gliocladium roseum*), *Cladosporium cladosporioides*, *C. tenuissimum*, *Curvularia pallescens*, *Emericellopsis* sp., *Fusarium merismoides*, *Humicola fuscoatra*, *Mucor hiemalis*, *M. racemosus*, *Myrothecium roridum*, *Paecilomyces carneus*, *P. javanicus*, *Penicillium decumbens*, *P. oxalicum*, *P. roseopurpureum*, *P. sclerotiorum*, *Pestalotiopsis* sp., *Lasioidiplodia theobromae*, *Rhizopus oryzae*, *Robillarda sessilis*, *Trichoderma aureoviride*, *T. pseudokoningii*, *T. koningii* e *T. virens*, isoladas neste estudo, foram isoladas de rizosfera e/ou rizoplano de diferentes culturas (Dayal & Srivastava, 1973; Waid, 1974; Subrahmanyam & Rao, 1977; Odunfa & Oso, 1979; El-Hissy *et al.*, 1980; Santos *et al.*, 1989; Silva *et al.*, 1990; Souza-Motta *et al.*, 2003; Oyeyiola, 2009; Coutinho *et al.*, 2010).

Aspergillus niger apresenta-se predominante tanto na rizosfera como no rizoplano (Arenas *et al.*, 2005), sendo definida como uma espécie sapróbia que em algumas circunstâncias pode tornar-se patogêna (Raper & Fennel, 1977). *Cylindrocladiella camelliae* é conhecida como sapróbia, ou patogêna causando podridão de raiz em diferentes hospedeiros (Crous & Wingfield, 1993). *Rhodotorula* é citado por Fortes Neto *et al.* (2007) como um micro-organismo encontrado no solo, capaz de degradar pesticidas. Espécies de *Emericellopsis* são isoladas em diferentes ambientes, sendo comum seu isolamento como sapróbio em solo (Domsch *et al.*, 1980). Espécies de *Microascus* e seu anamorfo *Scopulariopsis* são referidas para solo e rizosfera (Dayal & Srivastava, 1973; Domsch *et al.*, 1980).

Alguns fungos isolados são potencialmente patógenos a videiras. Segundo Abreu e Pfenning (2008), patógenos de plantas agem tanto no solo quanto na rizosfera gerando perdas na produção. *L. theobromae* isolado em baixa proporção no estudo, é responsável pela morte descendente de videiras (Tavares & Menezes, 1991) e causador da botriodiplose (Dias *et al.*, 1998). Alguns gêneros isolados, como: *Penicillium*, *Aspergillus* e *Rhizopus* estão incluídos no grupo dos fungos oportunistas, causando doenças pós-colheita em bagas de *Vitis* L. (Dias *et al.*, 1998). Neste caso, as condições fisiológicas da planta hospedeira podem retardar, mas não inibir o desenvolvimento da infecção (Choudhury, 2001). Segundo Highet & Nair (1995), *Fusarium oxysporum* é capaz de ocasionar doenças em raízes de *V. vinifera*.

Apesar de terem sido testados em vários meios de cultura, representantes de *Mycellia sterilia* apresentaram uma alta frequência de isolamento tanto na rizosfera como no rizoplano. Odunfa & Oso (1979) apresentaram em seus estudos com rizosfera e rizoplano de feijão, a dominância desses fungos.

Do número total de isolados de fungos analisados foi constatado que nas coletas de janeiro para a rizosfera (N = 17) e maio para o rizoplano (N = 15) houve maior riqueza de espécies. Nas coletas de outubro e dezembro em ambos substratos, verificou-se baixa diversidade de espécies ($-H' < 2$) quando comparados com isolados das demais coletas. De acordo com os resultados obtidos pela aplicação do índice de Shannon-Wiener (H'), maior diversidade de isolados ocorreu em janeiro para a rizosfera ($H' = 2,48$) e em maio para o rizoplano ($H' = 2,143$), enquanto baixa diversidade foi evidenciada em outubro para a rizosfera ($H' = 0,9811$) e em dezembro para o rizoplano ($H' = 1,386$). Quanto a Equitabilidade (J'), observou-se que em nenhuma das coletas ocorreu máxima diversidade de espécies ($J' > 1$), sendo agosto para a rizosfera ($J' = 0,9381$) e julho para o rizoplano ($J' = 0,8969$) os meses de coleta com maior abundância de espécies (Tabela 10).

Tabela 10. Índice de abundância de espécies de fungos isolados da rizosfera e do rizoplano de *Vitis labrusca* entre os períodos de coleta.

Substrato	Períodos de coleta		Nº de Espécies (N)	Total de isolados*	Índice de Diversidade		
					Margalef (- α)	Equitabilidade Pieleou's (J')	Shannon-Wiener (H')
RIZOSFERA	Estiagem	JAN	17	47	4,156	0,8752	2,48
		OUT	6	23	1,595	0,5476	0,9811
		DEZ	7	29	1,782	0,8818	1,716
	Chuvoso	MAI	10	52	2,278	0,8584	1,977
		JUL	12	31	3,203	0,9187	2,283
		AGO	9	15	2,954	0,9381	2,061
RIZOPLANO	Estiagem	JAN	11	61	2,433	0,8576	2,057
		OUT	6	41	1,346	0,8118	1,454
		DEZ	8	61	1,703	0,6664	1,383
	Chuvoso	MAI	15	80	3,195	0,7915	2,143
		JUL	9	38	2,199	0,8969	1,971
		AGO	9	46	2,09	0,8112	1,782

* Exceto *Mycelia sterilia*.

Houve diferença estatística pelo teste de ANOVA para número de isolados obtidos por meses de coleta na rizosfera ($p < 0,01$) e no rizoplano ($0,01 \leq p < 0,05$), mas não para os períodos chuvosos e de estiagem ($p > 0,05$). Os números médios de isolados por meses de coletas foram comparados entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$ – rizosfera e $0,01 \leq p < 0,05$ – rizoplano), observando que o número de isolados da coleta de janeiro para a rizosfera foi maior que os das coletas de agosto, outubro e dezembro, e que as coletas de maio e dezembro para o rizoplano foram maior que a de julho (Tabela 11).

Tabela 11. Comparação estatística entre os números médios de isolados obtidos da rizosfera e rizoplano de *Vitis labrusca* nas coletas realizadas no ano de 2011 em São Vicente Férrer.

Substrato	Períodos de coleta		Número médio de isolados*
RIZOSFERA	Estiagem	JAN	18,3 ab
		OUT	18,6 ab
		DEZ	8,6 c
	Chuvoso	MAI	22,6 a
		JUL	11,3bc
		AGO	15,6 abc
RIZOPLANO	Estiagem	JAN	28,0 a
		OUT	13,3 b
		DEZ	18,0 ab
	Chuvoso	MAI	22,6 ab
		JUL	19,0 ab
		AGO	28,0 a

* CV =. 21,59% e 36,08 % (rizosfera); 22,84 % e 31,83% (rizoplano).

Com relação à similaridade entre os fungos isolados na rizosfera e no rizoplano de *V. labrusca* durante os meses de coleta, foi possível constatar a formação de três grupos. A maior similaridade (60%) ocorreu entre os meses de agosto e outubro para o rizoplano, e para a rizosfera foi verificado maior proximidade entre as coletas de outubro e dezembro (acima de 40%). A coleta de julho foi semelhante para ambos os substratos (Figura 11).

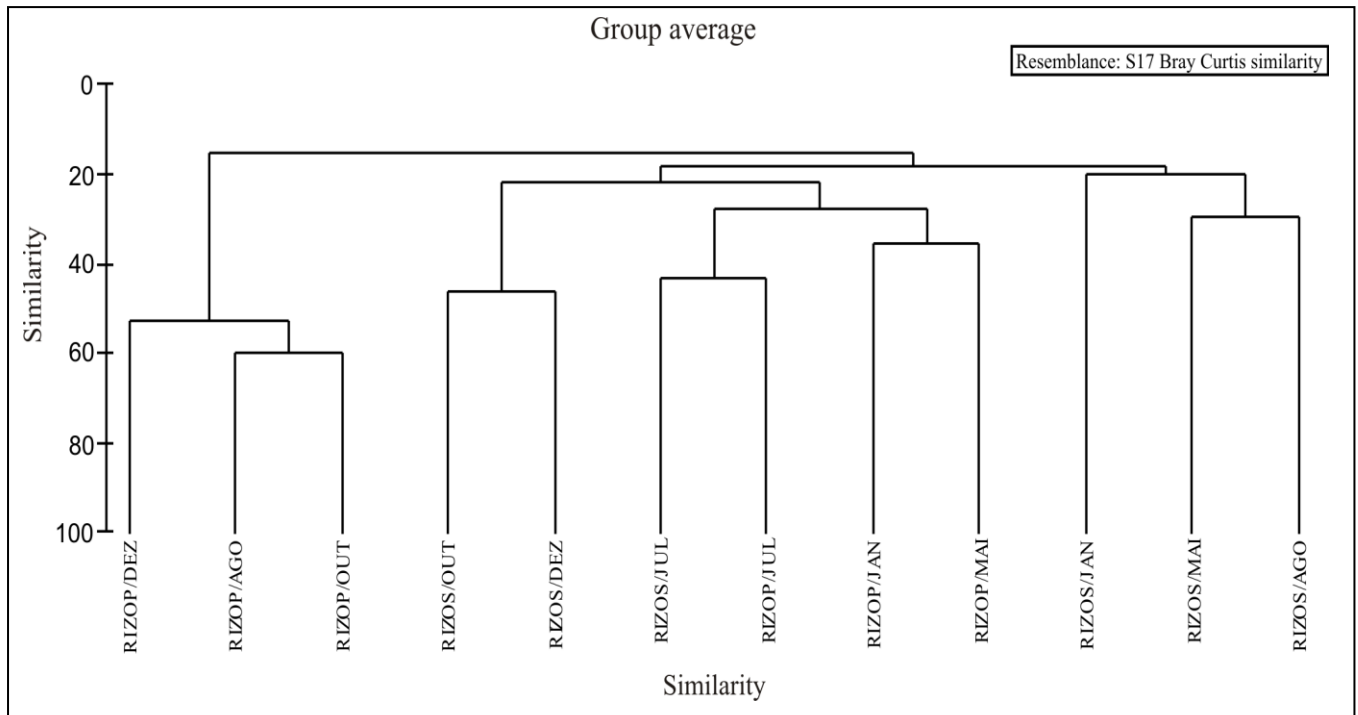


Figura 11. Dendrograma de similaridade dos fungos isolados da rizosfera e do rizoplano de *Vitis labrusca* durante os meses de coleta.

4.3. Similaridade entre os fungos isolados da rizosfera, rizoplano e endófitos de raízes de *V. labrusca* cv. Isabel

Durante o estudo, nove espécies foram comumente isoladas nos três substratos (Similaridade = 23%): *Clonostachys rosea*, *Curvularia pallescens*, *Cylindrocladiella camelliae*, *Fusarium oxysporum*, *F. merismoides*, *F. solani*, *Myrothecium roridum*, *Phoma tropica* e *Tricoderma koningii*. Segundo Stone *et al.* (2004), os fungos do solo e da rizosfera, patógenos radiculares e endófitos sobrepõem-se consideravelmente, sendo isolados repetidamente e preferencialmente como simbioses de raízes.

Comparando as espécies da rizosfera e do rizoplano, podemos constatar que a similaridade foi de 55,1%, com 16 espécies comuns nesses substratos. Entre o rizoplano e os fungos endófitos de raízes a similaridade foi maior (59,5%) com 14 espécies comuns. Comparando a micobiota da rizosfera com a isolada como endófito de raízes, a similaridade é de 58% e nove espécies comumente isoladas.

Houve diferença estatística pelo teste de ANOVA para número de isolados obtidos por meses de coleta e substratos ($p < 0,01$). Os números médios de isolados por meses de coletas foram comparados entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$), observando que o número de isolados da coleta de janeiro foi maior que os das coletas de julho, agosto, outubro e dezembro (Tabela 12).

Tabela 12. Comparação estatística entre os números médios de isolados de fungos da rizosfera, rizoplano e endófitos de raízes de *Vitis labrusca* nas coletas realizadas no ano de 2011 em São Vicente Férrer.

Períodos / Meses de coleta		Número médio de isolados*	Substratos	Número médio de isolados *
CHUVOSO	MAI	23,4ab	RIZOSFERA	18,6 A
	JUL	12,1d		
	AGO	15,0cd		
ESTIAGEM	JAN	25,0a	RIZOPLANO	14,8 B
	OUT	16,4cd		
	DEZ	18,1bc		
			ENDÓFITO DE RAÍZES	21,5 A

* CV = 20,83%. Médias seguidas das mesmas letras (maiúscula e minúscula), na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com relação à similaridade entre os fungos isolados da rizosfera, rizoplano e endófitos de raízes de *V. labrusca* durante os meses de coleta, foram constatados três grupos distintos e a correlação existente entre os mesmos, sendo as coletas de agosto e outubro de fungos endófitos de raiz que apresentaram maior similaridade, com cerca de 70% (Figura 12). Entre os períodos estudados ocorreu baixa similaridade, entre o período chuvoso foi de 20,8%, enquanto que para o período de estiagem foi de 25% (Sørensen).

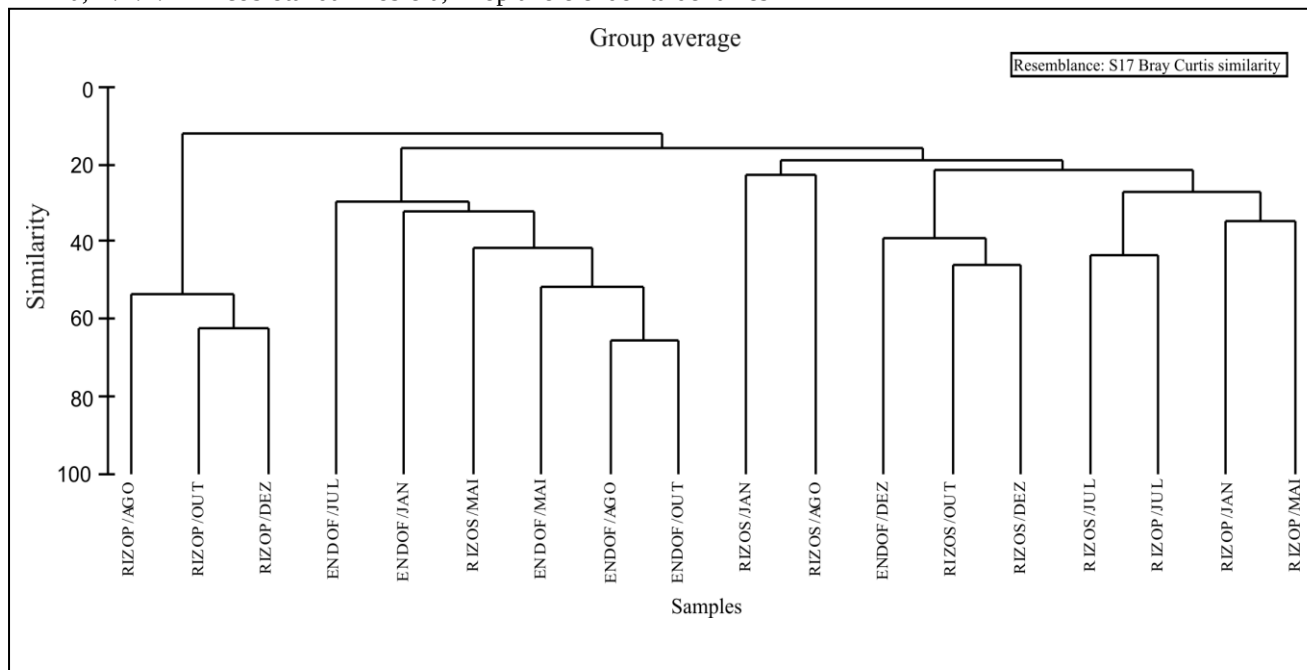


Figura 12. Dendrograma de similaridade dos fungos isolados da rizosfera, rizoplane e endófitas de raízes de *Vitis labrusca* durante os meses de coleta.

4.4. Avaliação da inoculação de fungos endófitas em mudas de *V. labrusca* cv. Isabel

Nigrospora oryzae (Berk. & Broome) Petch (= *Khuskia oryzae*), uma das espécies de fungos endófitas mais isoladas de folhas de *V. labrusca* da mesma área de estudo e *Fusarium merismoides*, espécie de maior isolamento como endófitas de raízes de *V. labrusca* neste estudo, foram selecionadas e inoculadas em mudas de videiras.

Trinta dias após as inoculações em mudas de *V. labrusca*, foram obtidos oito re-isolamentos (44,4%) de *Nigrospora oryzae* das folhas. Após 60 dias também foi evidenciada a presença desse fungo em folhas, com dois re-isolamentos (11,1%). Após 90 dias não foi mais possível isolar *N. oryzae* (Tabela 13). *N. oryzae* não foi isolada nem das raízes e nem do solo dos vasos onde as mudas foram inoculadas. *Fusarium merismoides* não foi recuperado de nenhum dos substratos (folhas e raízes) em nenhum dos períodos avaliados. *N. oryzae* pode ter penetrado nas folhas pelos estômatos, e aparentemente as folhas são a melhor via de entrada deste fungo. Todos os re-isolados de *N. oryzae* foram identificados utilizando caracteres macroestruturais das colônias e microestruturais (conidióforos e conídios), não sendo observadas variações na colônia e morfologia dos conídios entre os re-isolados.

Tabela 13. Número de isolados obtidos e frequência de colonização de *Nigrospora oryzae* em mudas *Vitis labrusca* cv. Isabel, inoculadas artificialmente por meio de pulverizações de suspensão de esporos, obtidos em diferentes intervalos após a inoculação.

AVALIAÇÃO DE INOCULAÇÃO	Nº de isolados	Frequência de inoculação
30 dias	08	44,4%
60 dias	02	11,1%
90 dias	-	-
Controle	02	11,1%
Substrato isolado		Folhas

A relação entre a presença desses fungos e o período após de inoculação também parece ter interferido no re-isolamento, levando-se em conta que os re-isolamentos foram mais representativos após 30 dias da inoculação.

Antes do plantio das estacas, foi realizado um primeiro isolamento de fungos. Essa primeira avaliação foi importante quanto à presença ou ausência dos fungos testados nas estacas e no solo após esterilização, resultando no isolamento de outras espécies diferentes das inoculadas no estudo. Após os trinta dias de avaliação, com relação às plantas controle, foram evidenciados dois isolamentos de *N. oryzae* de folhas. Sua ocorrência pode estar relacionada à sua presença anterior nas estacas utilizadas no plantio das mudas.

F. merismoides, fungo endófito isolado de raízes de *V. labrusca*, pode estar associado ao solo e a rizosfera onde se encontram essas videiras. A esterilização do solo, que pode ter levado a uma carência nutricional, ou mesmo uma insuficiência na inoculação podem ter favorecido o não desenvolvimento desse fungo nas plantas. Schulz *et al.* (1999), inoculando mudas de cevada com fungos endófitos e patógenos de coníferas e herbáceas, diferente desse estudo, observaram 100% de infecção das raízes.

Com relação ao isolamento de *N. oryzae*, Petrini *et al.* (1992) constataram que diferentes fungos apresentam preferência por diferentes partes da planta, fato que pode estar relacionado com o conteúdo do tecido do vegetal. Nesse estudo foi constatado o re-isolamento dessa espécie apenas em folhas. Durante o desenvolvimento desse trabalho, não foi constatado o isolamento dessa espécie em raízes de *V. labrusca*, indicando uma preferência desse fungo por partes diferentes dessa planta.

Brownbridge *et al.* (2012) investigaram a capacidade de estabelecer um isolado de *Beauveria bassiana* como endófito em mudas de *Pinus radiata* D. Don, com inoculação por métodos de

imersão em sementes e raízes. Os resultados sugeriram a presença de *B. bassiana* no solo e raízes por nove meses, mesmo com baixos níveis de incidência do fungo.

Os perfis de amplificação com *primers* de ISSR ((GACA)₄ e (GTG)₅) dos 10 re-isolados e o inóculo original de *N. oryzae*, apresentaram quatro grupos distintos (A, B, C e D), sendo o grupo D representado por um único isolado (N5). Em comparação com o espécimen inoculado em mudas (N1- grupo A), observa-se que seis re-isolados (N4, N6, N7, N8, N9 e N10) foram similares ao inoculante original para (GACA)₄ e cinco (N2, N4, N6, N7 e N11) para (GTG)₅. Com relação a planta controle foram obtidos dois re-isolados (N12 e N13), sendo constatado que esses genótipos também estavam presentes nas mudas de videiras como endófitos (Figura 13). Entre os *primers* testados, para avaliação da semelhança entre os re-isolados, podemos considerar que o *primer* (GACA)₄ foi mais eficiente.

Os resultados também demonstram a eficiência na inoculação de *N. oryzae* e da possibilidade de recuperar genótipos semelhantes ao do inoculante. Segundo Parreira *et al.* (2010), diversos trabalhos demonstram o uso de marcadores sozinhos ou em conjunto com outras ferramentas no estudo da variabilidade dos fungos. Este trabalho é o primeiro relato de pesquisa de genótipos de uma espécie endófito inoculada utilizando marcadores de ISSR.

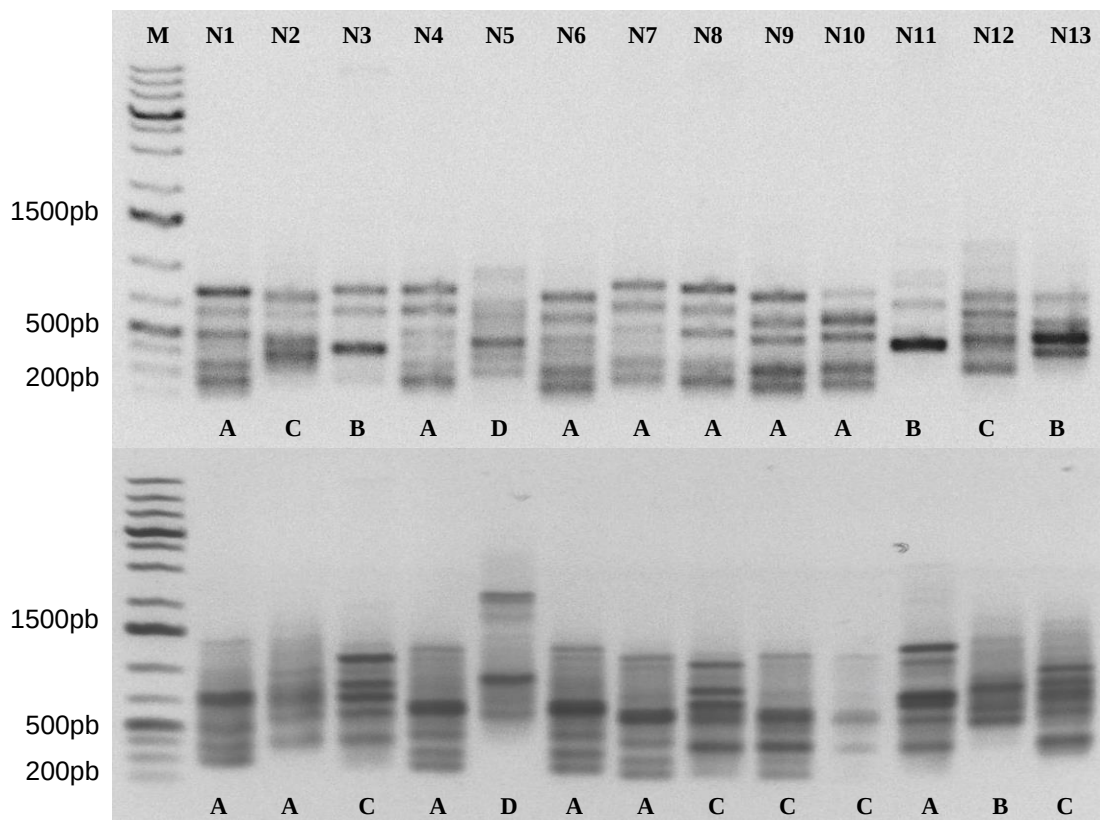


Figura 13. Perfis de amplificação das regiões de ISSR obtidos com o *primer* (GACA)₄ e (GTG)₅ de *Nigrospora oryzae* isolados de *Vitis labrusca*. M- marcador de peso molecular 1Kb plus; N1 - DNA do inóculo de *N. oryzae*; N2 a N11- re-isolados de *N. oryzae*; N12 e N13 – Re-isolados do controle.

4.5. Avaliação da patogenicidade de fungos endófitos em mudas de *Vitis labrusca* cv. Isabel

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. & Sacc. e *Guignardia mangiferae* A.J. Roy, isoladas na área de estudo como endófitas de folhas e *Fusarium oxysporum* e *Lasiodiplodia theobromae*, espécies endófitas de raízes de *V. labrusca* neste estudo, foram avaliadas quanto à patogenicidade em mudas de videira. Porém, as plantas inoculadas não foram susceptíveis a estes fungos e não apresentaram sintomas (Figura 14, 15 e 16). Maude (1996) relaciona o não desenvolvimento de doença nas plantas hospedeiras por fungos endófitos à perda da capacidade patogênica desses espécimens, ou a uma infecção assintomática, própria do comportamento de um endófito com seu hospedeiro.

No entanto, os fungos testados parecem ter sido eficientes em penetrar nas mudas de videira inoculadas, pois seis re-isolados de *F. oxysporum* foram obtidos de raízes inoculadas com ferimentos e sem ferimentos. *G. mangiferae* foi obtido apenas de folhas (com ferimento) apresentando frequência de colonização de 16,6%, enquanto para *L. theobromae* nove isolamentos

foram obtidos em mudas inoculadas com e sem fermento (Tabela 14). Houve apenas um reisolamento de *F. oxysporum* a partir das folhas de mudas usadas como controle.

As plantas testadas apresentaram alguns problemas característicos de deficiência nutricional, tais como folhas amareladas. Nas plantas com inoculação foliar foi constatado ressecamento ao redor do inóculo. E em alguns casos folhas queimadas ou ressecadas oriundas da utilização de sacos plásticos na elaboração das câmaras-úmidas.

Tabela 14. Frequência de colonização e nº de isolados obtidos de raízes de mudas de *Vitis labrusca* cv. Isabel inoculadas artificialmente com *Guignardia mangiferae*, *Fusarium oxysporum* e *Lasiodiplodia theobromae*.

Fungos inoculados	Método de inoculação	Nº de isolados	Frequência de colonização (%)
<i>Guignardia mangiferae</i>	C/ fermentos	01	16,6
<i>Fusarium oxysporum</i>	C/ fermentos	01	8,3
	S/ fermentos	05	41,6
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	C/ fermentos	05	41,6
	S/ fermentos	04	33,3

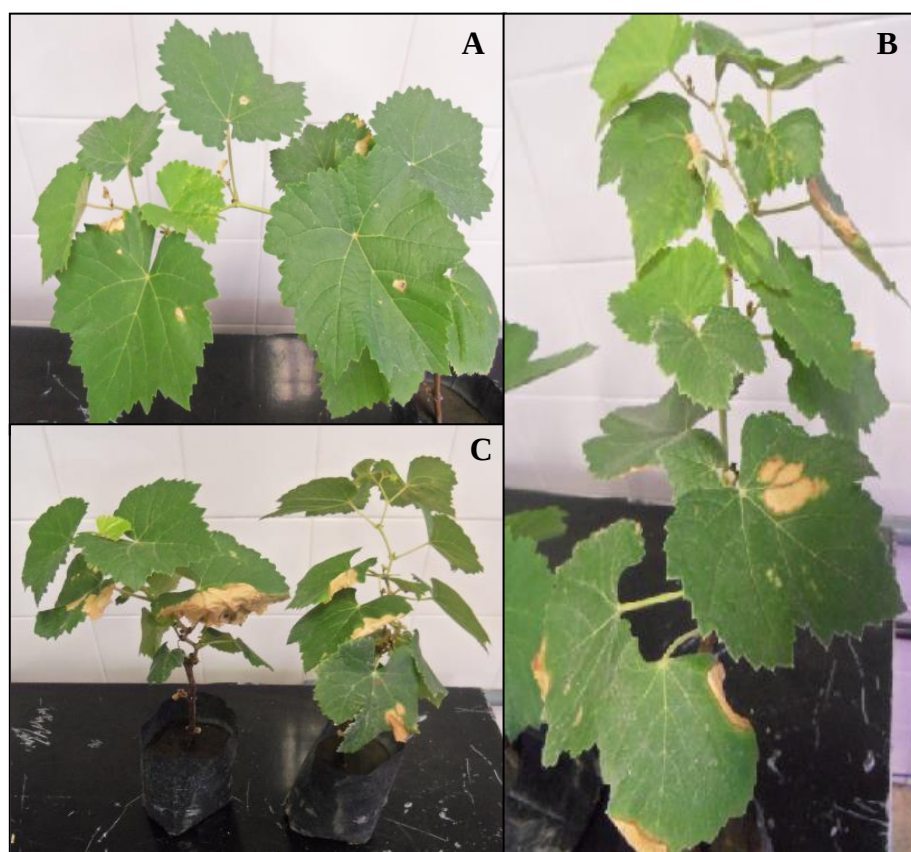


Figura 14. Mudanças após 30 dias de inoculação: A- *Colletotrichum gloeosporioides* com fermento foliar; B e C- *C.gloeosporioides* e *Guignardia mangifera*, respectivamente, sem fermento foliar.

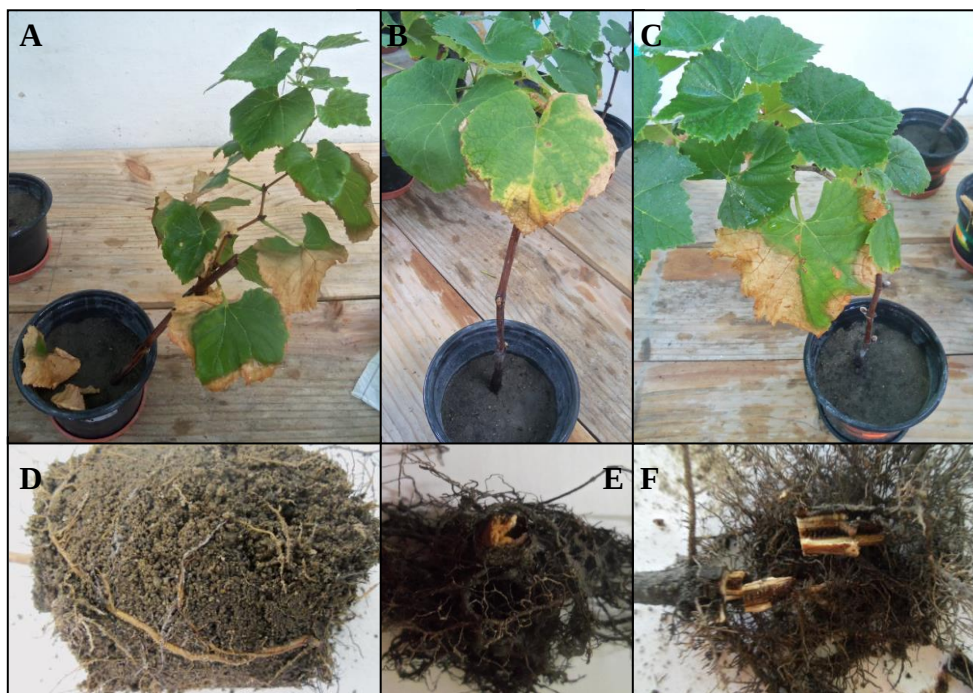


Figura 15. Mudanças após 30 dias de inoculação com *Fusarium oxysporum*: A a C- mudas com ressecamento foliar; D- crescimento fúngico nas raízes e no solo; E a F- visualização do xilema.

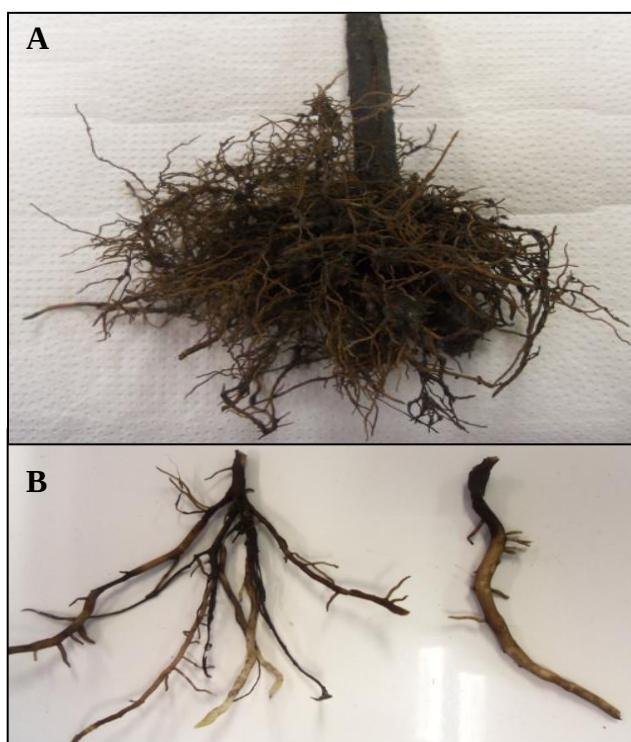


Figura 16. Raízes após 30 dias de inoculação com *Lasiodiplodia theobromae*: A- sistema radicular; B- fragmentos das raízes para re-isolamento.

Guignardia e seu anamorfo *Phyllosticta* apresentam espécies parasitas de plantas que podem encontrar-se em estágio de latência nas plantas hospedeiras sem expressar sintomas de doenças, sendo consideradas como endófitas (Van der Aa, 1973). *Guignardia mangifera* é uma espécie que não tem se mostrado patogênica, mas que vem sendo isolada comumente como endófito de plantas tropicais (Rodrigues *et al.*, 2004), parecendo ser indistinguível morfologicamente da espécie patogênica *G. bidwellii* causadora da podridão negra (Black rot) em videiras (Hoffman *et al.*, 2002). Em avaliação da patogenicidade em plantas de videiras, o isolado de *G. mangifera* testada neste trabalho não foi capaz de ocasionar a doença.

Colletotrichum e seu teleomorfo *Glomerella* são gêneros que apresentam espécies patogênicas em todo o mundo (Parreira *et al.*, 2010), causando danos a diferentes culturas (Bailey & Jeger, 1992). Espécies de *Colletotrichum* são causadoras de antracnose, afetando o fruto em desenvolvimento ou durante a armazenagem (pós-colheita), provocando o aparecimento de podridões depreciativas, tornando inviável à comercialização (Bailey *et al.*, 1992; Dias *et al.*, 1998). A podridão da uva madura é causada por *C. gloeosporioides*, espécie que tem sido isolada endofiticamente de diversas plantas (Brum, 2008). A inoculação do isolado endófito de *C. gloeosporioides*, não causou sintomas da doença em mudas de *V. labrusca*.

Fusarium oxysporum é uma espécie que possui formas patogênicas e não patogênicas, estando relacionados a infecções do sistema radicular em diferentes culturas, causando descoloração dos vasos e amarelamento ascendente das folhas inferiores para as superiores (Poletto *et al.*, 2006).

Segundo Sanhueza & Sônego (1993), *F. oxysporum* f. sp. *herbemontis* pode iniciar a infecção através das raízes de videiras, com ou sem ferimento, coloniza o sistema vascular e promove a obstrução dos vasos, sendo o sintoma da infecção observado no interior da planta pelo escurecimento do sistema vascular, estendendo-se da raiz até os ramos. Esse sintoma não foi observado durante o teste de patogenicidade do isolado endófito de *F. oxysporum* em mudas de *V. labrusca*.

Rodrigues & Menezes (2002) isolaram espécies endófitas de *Fusarium* e avaliaram a patogenicidade dessas espécies em plantas de feijão-caupi, detectando que alguns espécimens de *F. oxysporum* não são considerados potenciais patógenos. Edel *et al.* (1997) relatam *F. oxysporum* como o agente casual de murchas vasculares em diversos hospedeiros, incluindo feijão, mas que alguns espécimens podem colonizar as raízes das plantas sem demonstrar ainda sintomas da doença. Segundo Gordon & Martyn (1997) isso é devido à incapacidade de alguns isolados não patogênicos penetrarem no sistema vascular.

Lasiodiplodia theobromae é um fungo cosmopolita que infecta plantas em regiões tropicais e subtropicais, causando sintomas de seca de ramos, podridão peduncular em frutos e morte de plantas (Punithalingam, 1980). Diferentes sintomas de *L. theobromae* podem ser observados em um

parreiral de uva infectado (Batista *et al.*, 2010). Segundo Dias *et al.* (1998) é o causador de botriodiplose, ocasionando a morte da planta do topo para a base. Também é possível a visualização de folhas amareladas, com murcha e queda, os ramos podem apresentar coloração castanha e posteriormente ressecamento (Batista *et al.*, 2010). Tem se relatado *L. theobromae* como endófito de diferentes hospedeiros, podendo a infecção ocorrer quando os fatores ambientais enfraquecem a planta (Cardoso *et al.*, 2009a; Mohali *et al.*, 2005; Rubini *et al.*, 2005).

Chiarappa (1959) pode estabelecer o grau de patogenicidade de 67 isolados, causando tombamento de raiz ou decadência de mudas em videiras. O re-isolamento a partir das raízes apodrecidas auxiliou na obtenção dos espécimens inoculados.

Mostert *et al.* (2000) determinaram a patogenicidade de oito isolados de *Phomopsis* spp. obtidos como endófitos em videiras, para constatar se estes isolados eram endófitos verdadeiros ou patógenos obtidos de infecções latentes, confirmando o re-isolamento de *Phomopsis* spp. a partir de lesões nas plantas inoculadas.

Schulz *et al.* (1999) avaliaram a infecção de fungos endófitos e patógenos inoculando mudas de cevada. Constataram que quase 100% das raízes foram infectadas e que espécies endófitas inoculadas não foram capazes de causar doença nas plantas. Segundo os autores, isso ocorre, pois ambos, endófitos e patógenos, podem colonizar inter e intracelularmente as raízes do hospedeiro, e que a interação entre ambos ainda parece ser desconhecida.

Photita *et al.* (2004) testaram espécies representativas de fungos endófitos, mas que apresentam relatos de agentes patogênicos de banana (causadoras de manchas foliares), como: *Cladosporium musae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cordana musae*, *Deightonella torulosa*, *Guignardia cocoicola*, *Periconiella musae* e *Pestalotiopsis* sp.. Das espécies inoculadas, apenas *D. torulosa*, causou manchas em folhas destacadas de bananeiras.

Sbravatti Júnior *et al.* (2013), inocularam fungos isolados como endófitos (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp.) e para testar a sua patogenicidade à mudas de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage, porém não foram observadas lesões foliares após o período de incubação.

Azevedo (1998) constata a dificuldade em estabelecer limites entre isolados endófitos e patogênicos. Se um endófito causa doença, esse por si não pode ser considerado endófito. Porém muitos trabalhos discutem sobre a presença da fase endófito que alguns fungos patógenos apresentam no seu ciclo de vida e que periodicamente vem sendo isolados e identificados como tais (Sinclair & Cerkauskas, 1996; Brown *et al.*, 1998). Dessa forma a distinção entre um patógeno e um endófito nem sempre é clara, podendo essa fase de latência estar relacionada a certas condições que podem levar os fungos endófitos a causarem a doença (como por exemplo, em condições de estresse ou devido a algum fator nutricional) ou mesmo ocasionar mudanças na fisiologia do seu hospedeiro

(Maude, 1996; Sinclair & Cerkaskas, 1996; Blodgett *et al.*, 2000; Romero *et al.*, 2001; Photita *et al.*, 2004). Mesmo sem claros esclarecimentos, a presença de fungos patógenos em plantas saudáveis tem sido confirmada em diferentes hospedeiros.

O perfil de amplificação com os primers de ISSR do espécimen inoculado e dos re-isolados de *L. theobromae*, mostrou quatro genótipos distintos (A, B, C e D) para o *primer* (GACA)₄, porém nenhum dos re-isolados apresentou perfil de amplificação semelhante ao inóculo (L1- grupo A). Para o *primer* (GTG)₅, observou-se um maior número de bandas formadas, mas apenas dois perfis de amplificação (A e B) e a similaridade entre oito re-isolados (L2, L3, L4, L5, L6, L7 e L10) com inóculo (L1) (Figura 17).

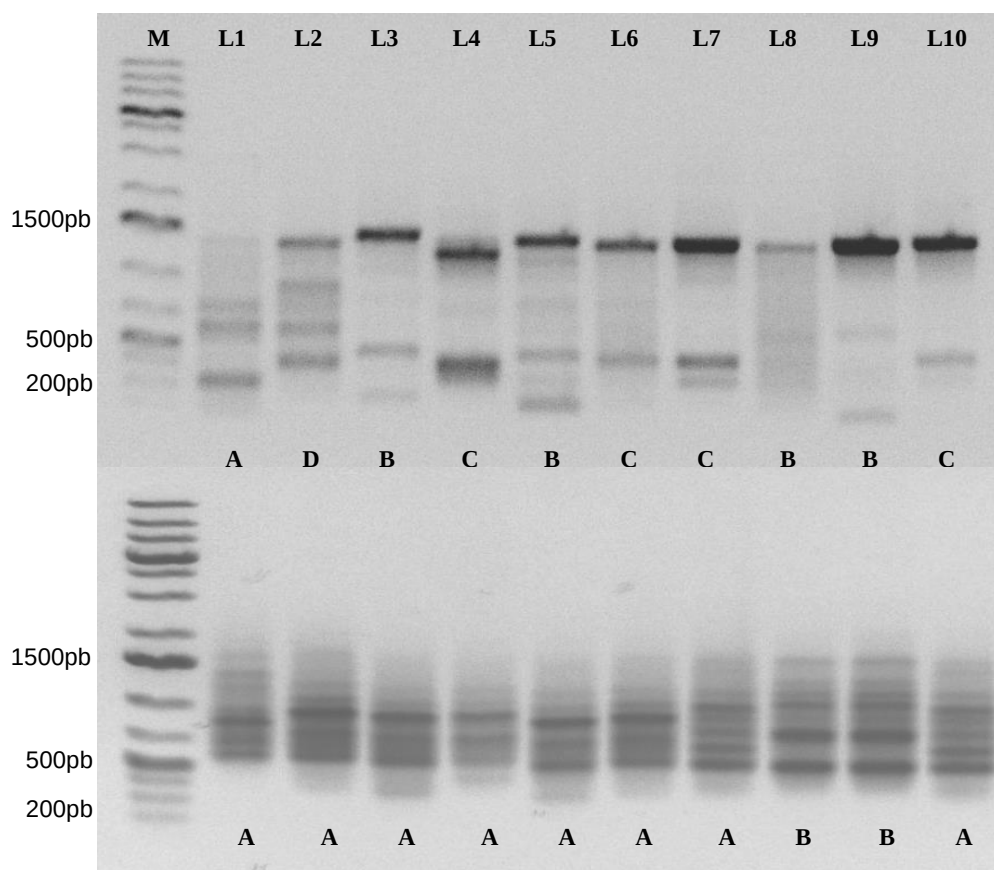


Figura 17. Perfis de amplificação das regiões de ISSR obtidos com o *primer* (GACA)₄ e (GTG)₅ de *Lasiodiplodia theobromae* isolados de *Vitis labrusca*. M- marcador de peso molecular 1Kb plus; L1 - DNA do inóculo de *L. theobromae*; L2 a L10- re-isolados de *L. theobromae*.

Para *F. oxysporum* foram obtidos três perfis amplificação distintos (A, B e C) para ambos *primers* utilizados. A análise mostrou-se evidente semelhança entre os re-isolados F2, F5, F6 e F7 com o inóculo (F1). Os re-isolados F3 e F4 (grupo B) e F8 (grupo C - obtido de folhas da planta controle), não se mostraram semelhantes ao inóculo, sendo genótipos também presentes nas mudas de videiras como endófitos (Figura 18). O re-isolado G2 de *G. mangiferae* apresentou total similaridade ao inóculo (G1) (Figura 18).

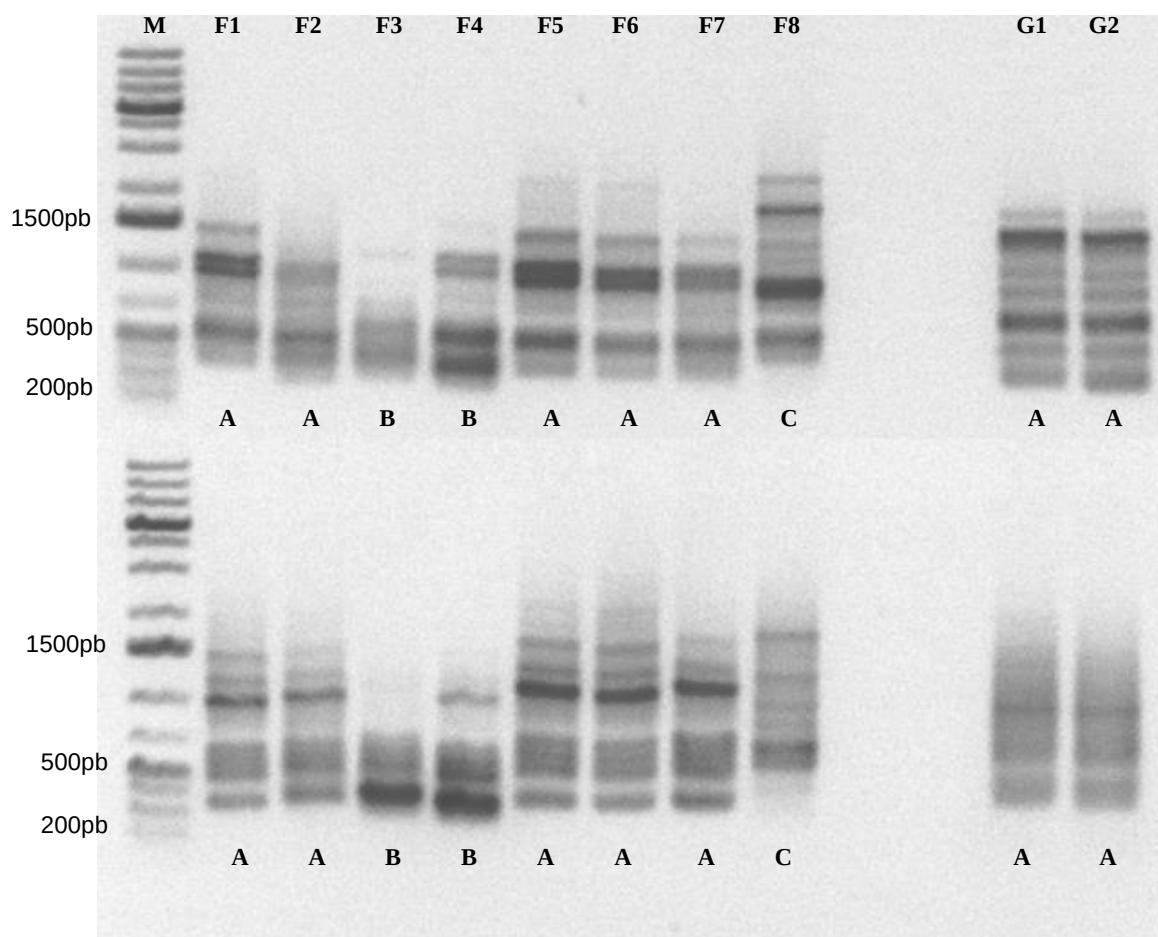


Figura 18. Perfis de amplificação das regiões de ISSR obtidos com o *primer* (GACA)₄ e (GTG)₅ de *Fusarium oxysporum* (F) e *Guignardia mangiferae* (G) isolados de *Vitis labrusca*: M- marcador de peso molecular 1Kb plus; F1 - DNA do inóculo de *F. oxysporum*; F2 a F7- re-isolados de *F. oxysporum*; F8- re-isolado do controle; G1 e G2- DNA do inóculo e re-isolado de *G. mangiferae*, respectivamente.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

- Em raízes sadias de *Vitis labrusca* cv. Isabel os fungos endófitos estão representados em sua maioria por anamorfos comumente encontrados no solo;
- Na rizosfera foi obtido maior número de isolamento de espécies fúngicas quando comparado ao isolamento do rizoplano, sugerindo que o rizoplano possa realmente ser um habitat mais especializado para o crescimento de fungos;
- A diversidade taxonômica dos fungos endófitos das raízes de *V. labrusca* cv. Isabel apresenta baixa similaridade (23%) quando comparada a micobiota encontrada na rizosfera e no rizoplano, demonstrando que essa micobiota não está intimamente relacionada ao substrato;
- Os fungos isolados de raízes, da rizosfera e do rizoplano de *Vitis labrusca* cv. Isabel podem ser caracterizados como espécies sapróbias e/ou patogênicas à essa cultura, tais como *Fusarium oxysporum* e *Lasiodiplodia theobromae*, habitando endofiticamente em videiras;
- As espécies de fungos endófitos inoculadas mostraram-se pouco ou não eficientes na penetração pelas raízes e folhas de mudas de *V. labrusca*, sendo obtidos poucos re-isolados;
- Os isolados endófitos de espécies potencialmente patogênicas a *Vitis* não foram capazes ou nem sempre causam doenças, quando inoculadas artificialmente em mudas desta planta;
- Os marcadores ISSR utilizados foram eficientes na determinação das semelhanças genéticas entre os espécimens fúngicos inoculados e posteriormente re-isolados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Hafez, S.I.I. 1982. Rhizosphere and rhizoplane fungi of *Triticum vulgare* cultivated in Saudi Arabia. *Mycopathologia* 78: 79-86.
- Abdellatif, L., Bouzid, S., Vujanovic, V. 2007. *Plant Canada – Growth for the Future*. (Proceedings), Saskatoon, SK, Canada, pp. 137–139.
- Abdel-Raihm, A.M., Baghdadavi, A.M., Abdalla, M.H. 1983. Studies on the fungus flora in the rhizosphere of sugar cane plants. *Mycopathologia* 81:183-186.
- Abreu, L.M., Pfenning, L.H. 2008. Diversidade de Microfungos em Solos Tropicais. In: Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O., Brussaard, L. (Ed.). *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. Lavras: Editora UFLA, p.445-481.
- Alvarenga, A.A., Abrahão, E., Regina, M.A. 1998. Origem e classificação botânica da videira. *Informe Agropecuário* 19: 5–8.
- Anderson, L.J., Comas, L. H., Lakso, A.N., Eissenstat, D.M. 2003. Multiple risk factors in root survivorship: a 4-year study in Concord grape. *New Phytologist* 158: 489–501.
- Andrade, G., 1999. Interacciones microbianas en la rizosfera. In: Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S., Lopes, A.S., Guilherme, L.R., Faquin, V., Furtini, A.E., Carvalho, J.G. (eds.) *Soil Fertility Soil biology and Plant Nutrition Interrelationships*. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo/Universidade Federal de Lavras/Departamento de Ciências do Solo (SBCS/UFLA/DCS), pp.551-571.
- Angelini P, Rubini A, Gigante D, Reale L, Pagiotti R, Venanzoni R. 2012. The endophytic fungal communities associated with the leaves and roots of the common reed (*Phragmites australis*) in Lake Trasimeno (Perugia, Italy) in declining and healthy stands. *Fungal Ecology* 5(6): 683-693.
- Araújo, W.L. 1996. Isolamento, Identificação e Caracterização Genética de Bactérias Endofíticas de Porta-Enxertos de Citros. Dissertação de Mestrado, ESALQ. Piracicaba, São Paulo. 111p.
- Araújo, W.L., Saridakis, H.O., Barroso, P.A.V., Aguilar-Vildoso, C.I., Azevedo, J.L. 2001. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. *Canadian Journal of Microbiology* 47: 229-236.
- Araújo, W.L., Marcon, J., Maccheroni Junior, W., Elsas, J.D. van, Vuurde, J.W.L. van, Azevedo, J.L. 2002a. Diversity of endophytic bacterial populations and their interactions with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 4906-4914.
- Araújo, W.L., Lima, A.S., Azevedo, J.L., Kuklinsky-Sobral, J., Marcon, J., Lacava, P.T. 2002b. *Manual: isolamento de microrganismos endofíticos*. Piracicaba: CALQ, 1: 86p.

- Arenas, J., Carpio, F.G., Guillermo, J.J. 2005. Flora fúngica de la rizosfera de *Phaseolus lunatus* (pallar) en Ica, Peru. *Revista Peruana de Biología* 12: 441- 444.
- Arnold, A.E., Maynard, Z., Gilbert, G.S., Coley, P.D., Kursar, T.A. 2000. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters* 3: 267–274.
- Arnold, A.E., Herre, E.A. 2003. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: Ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). *Mycologia* 95(3): 388-398.
- Arnold, A.E., Mejia, L.C., Kylo, D., Rojas, E.I., Maynard, Z., Robbins, N., Herre, E.A. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100: 15649–15654.
- Arnold, A.E., Lutzoni, F. 2007. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology* 88: 541-549.
- Assunção, M.M.C., Cavalcanti, M.A.Q., Menezes, M. 2007. Características patológicas e culturais de alguns fungos fitopatogênicos da bananeira. *Agrotrópica* 19: 49-56.
- Ávila, Z.R., Mello, S.C.M., Ribeiro, Z.M.A., Fontes, E.M.G. 2000. Produção de inóculo de *Alternaria cassie*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(2): 533 – 541.
- Azevedo, J.L. 1998. Microrganismos endofíticos. In: *Ecologia Microbiana*. Melo, I.S., Azevedo, J.L. (eds.), Embrapa-CNPMA, Jaguariúna, pp.117-137.
- Azevedo, J.L. 1999. Botânica: uma ciência básica ou aplicada. *Revista Brasileira de Botânica* 22 (suppl. 2): 225-229.
- Azevedo, J.L., Maccheroni Júnior, W., Pereira, J.O., Araújo, W.L. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology* 3(1): 40-65.
- Azevedo, J.L., Maccheroni Júnior, W., Araújo, W.L., Pereira, J.O. 2002. Microorganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: Serafini, L.A., Barros, N.M., Azevedo, J.L. (eds.) *Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria*. Caxias do Sul: EDUQS, pp. 235-268.
- Azevedo, J.L., Araújo, W.L. 2007. Diversity and Applications of Endophytic Fungi Isolated from Tropical Plants. In: Ganguli, B.N., Deshmukh, S.K. *Fungi: Multifaceted Microbes*. Nova Delhi, Anamaya Publishers, p.189 – 207.
- Bacon, C.W., White Jr., J.F. 2000. *Microbial endophytes*. New York, Marcel Dekker. 487p.

- Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R.L., Bagchi, M., Bagchi, D.J., Balmoori, J., Stohs, S.J. 1998. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacology* 30(5):771–776.
- Bailey, J.A., Jeger, M.J. 1992. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB Int., Wallingford, UK
- Bailey, J.A., O'Connell, R.J., Pring, R.J., Nash, C. 1992. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Bailey J.A., Jeger, M.J. (eds.). CAB Int., Wallingford, UK, pp. 88-120.
- Bailey, B.A., Bae, H., Strem, M.D., Roberts, D.P., Thomas, S.E., Crozier, J., Samuels, G.J., Choi, I.Y., Holmes, K.A. 2006. Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma* species. *Planta* 224:1149–1164.
- Bais, H.T., Perry, L.G., Simon, G., Vivanco, J.M. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Plant Biology* 57: 233-266.
- Bao, J.R., Lazarovits, G. 2001. Differential colonization of tomato roots by nonpathogenic and pathogenic *Fusarium oxysporum* strains may influence *Fusarium* wilt control. *Phytopathology* 91: 449-456.
- Barron, G.L. 1972. *The genera of Hyphomycetes from soil*. New York Huntington. Robert E. Krieger, 364p.
- Batista, D.C., Costa, V.S.O., Barbosa, M.A.G., Terao, D., Silva, F.M., Tavares, S.C.C.H. 2010. Manejo Integrado de *Lasiodiplodia theobromae* em Videira no Submédio do Vale do São Francisco. *Circular técnica* 91. <www.cpatsa.embrapa.br> Acesso em: 20 outubro 2013
- Bayman, P., Angulo-Sandoval, P., Báez-Ortiz, Z. 1998. Distribution and dispersal of *Xylaria* endophytes in two tree species in Puerto Rico. *Mycological Research* 102: 944-948.
- Bayraktar, H., Dolar, F.S., Maden, S. 2008. Use of RAPD and ISSR markers in detection of genetic variation and population structure among *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* isolates on chickpea in Turkey. *Journal of Phytopathology* 156:146–154.
- Bell, C.R., Dickie, G.A., Harvey, W.L.H., Chan, J.W.Y.F. 1995. Endophytic bacteria in grapevine. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 46-53.
- Benato, E.A. 1998. Controle pós-colheita de *Botrytis cinerea* e *Colletotrichum gloeosporioides* em uva 'Itália' pelo uso de sachês de metabissulfito de sódio. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP, Botucatu, 98p.

- Benko-Iseppon, A.M., Winter, P., Hüttel, B., Stagginus, C., Mühlbauer, F., Kahl, G. 2003. Markers closely linked to *Fusarium* resistance genes in chickpea show homology to pathogenesis-related genes located on Arabidopsis chromosome 5 and 1. *Theoretical and Applied Genetics* 103:379-286.
- Bever, J.D., Dickie, I.A., Facelli, E., Facelli, J.M., Klironomos, J., Moora, M., Rillig, M.C., Stock, W.D., Tibbett, M., Zobel, M. 2010. Rooting theories of plant community ecology in microbial interactions. *Trends in Ecology & Evolution* 25: 468-478.
- Bills, G.F., Foster, M.S. 2004. Formulae for selected materials used to isolate and study fungi and fungal allies. In: Mueller, G.M., Bills, G.F., Foster, M.S. (eds), *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. New York, Academic Press, pp. 575–598.
- Blodgett, J.T., Swart, W.J., Louw, S.M., Weeks, W.J. 2000. Species composition of endophytic fungi in *Amaranthus hybridus* leaves, petioles, stems, and roots. *Mycologia* 92(5): 853-859.
- Bogale, M., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J., Steenkamp, E.T. 2005. Simple sequence repeat markers for species in the *Fusarium oxysporum* complex. *Molecular Ecology Notes* 5:622–624.
- Bogale, M., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J., Steenkamp, E.T. 2006. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from Ethiopia using AFLP, SSR and DNA sequence analyses. *Fungal Diversity* 23:51–66.
- Booth C. 1971. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal.
- Borba, R.S., Garcia, M.S., Kovalleski, A., Oliveira, A.C., Zimmer, P.D., Branco, J.S. C., Malone, G. 2005. Dissimilaridade genética de linhagens de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) através de marcadores moleculares ISSR. *Neotropical Entomology* 34: 565-569.
- Bornet, B., Branchard, M. 2001. Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter* (19):209-215.
- Bouhamidi, R., Prevost, V., Nouvelot, A. 1998. High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. *Comptes rendus de l'Académie des sciences* 321: 31-38.
- Bowen, G.D., Rovira, A.D. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in Agronomy* 66:1-102.
- Brasileiro, B.T.R.V. 2003. Variabilidade genética em isolados de *Fusarium solani* detectada com a utilização de marcadores moleculares. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco.

- Brasil-Batista, C. 2003. Efeito do *Bacillus thuringiensis* sobre os grupos de microrganismos funcionais na rizosfera de milho e sorgo. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 23p.
- Brown, K.B., Hide, K.D., Guest, D.I. 1998. Preliminary studies on endophytic fungal communities of *Musa acuminata* species complex in Hong Kong and Australia. *Fungal Diversity* 1: 27-51.
- Brownbridge, M., Reay, S.D., Nelson, T.L., Glare, T.R. 2012. Persistence of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte following inoculation of radiata pine seed and seedlings. *Biological Control* 61: 194–200
- Brum, M.C.P. 2006. Microrganismos endofíticos da videira Niagara Rosada (*Vitis labrusca* L.) e o controle biológico de *Fusarium*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Mogi das Cruzes, São Paulo, 79p.
- Brum, M.C.P. 2008. Fungos endofíticos de *Vitis labrusca* L. var. Niagara Rosada e o seu potencial biotecnológico. Tese de Doutorado. Universidade de Mogi das Cruzes, São Paulo, 104p.
- Brum, M.C.P., Araujo, W.L., Maki, C.S., Azevedo, J.L. 2012. Endophytic fungi from *Vitis labrusca* L. ('Niagara Rosada') and its potential for the biological control of *Fusarium oxysporum*. *Genetics and Molecular Research* 11(4):4187-4197.
- Brundrett, M.C. 2006. Understanding the roles of multifunctional mycorrhizal and endophytic fungi. In: Schulz, B.J.E., Boyle, C.J.C., Sieber, T.N. (eds.) *Microbial root endophytes*. Berlin: SpringerVerlag, pp.281-293.
- Bussab, W.O., Miazaki, E.S., Andrade, D.F. 1990. *Introdução à análise de agrupamentos*. Associação Brasileira de Estatística, 105p.
- Cabral, D., Stone, J.K., Carroll, G.C. 1993. The internal mycobiota of *Juncus* spp.: microscopic and cultural observations of infection patterns. *Mycological Research* 97: 367-376.
- Campbell, R., Greaves, M.P. 1990. Anatomy and community structure of the rhizosphere. In: Lynch, J. (ed.) *The Rhizosphere*, John Wiley & Sons. Essex, pp.11-34.
- Cardinali, S., Gobbo, F., Locci, R. 1994. Endofiti fungini in tessuti fogliari della vite. *Micologia Italiana* 1:81–84.
- Cardoso, E.J.B.N., Freitas, S.S. 1992. A rizosfera. In: Cardoso, E.J.B.N., Tsai, S.M.; Neves, M.C. (Coords.) *Microbiologia do Solo*. Campinas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. pp. 41-59.
- Cardoso, E.J.B.N., Nogueira, M.A. 2007. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: Silveira, A.P.D., Freitas, S.S. (eds.) *Micobiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas: Instituto Agrônômico, pp. 79-96.

- Cardoso, J.E., Viana, F.M.P., Bezerra, M.A., Sousa, T.R.M., Cysne, A.Q., Farias, F.C. 2009a. *Transmissão de Lasiodiplodia theobromae, agente da resinose, em propágulos de cajueiro*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009a. 21p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 34).
- Cardoso, J.E., Bezerra, M.A., Viana, F.M.P., Sousa, T.R.M., Cysne, A.Q., Farias, F.C. 2009b. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. *Summa Phytopathologica* 35(4): 262-266.
- Carroll, G.C., Carroll, F.E. 1978. Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Botany* 5:3034-3043.
- Carroll, G.C. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 69: 2-9.
- Carroll, G.C., Wicklow, D.T. 1992. *The fungal community: its organization and role in the ecosystem*. 2nd edition, New York, Marcel Dekker. 976p.
- Casieri, L., Hofstetter, V., Viret, O., Gindro, K. 2009. Fungal communities living in the wood of different cultivars of young *Vitis vinifera* plants. *Phytopathologia Mediterranea* 48: 73–83.
- Cavaglieri, L., Orlando, J., Etcheverry, M. 2009. Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations. *Microbiological Research* 164: 391-399.
- Chandra, S., Raizada, M. 1982. Studies on the rhizosphere microflora of tomato I. Qualitative and quantitative incidence of microorganisms. *Environment India* 5: 15-23.
- Chang, S.C. 2009. Comparação entre isolados de *Fusarium verticillioides* patogênicos de plantas e de humanos por marcadores moleculares e presença do gene FUM1. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 77 p.
- Chanway, C.P. 1996. Endophytes: they're not just fungi! *Canadian Journal of Botany* 74: 321-322.
- Chareprasert, C., Piapukiew, J., Thienhirum, S., Whalley, A.J.S., Sihanonth, P. 2006. Endophytic fungi of teak leaves *Tectona grandis* L. and rain tree leaves *Samanea saman* Merr. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22: 481-486.
- Charters, Y.M., Wilkinson, M.J. 2000. The use of self-pollinated progenies as 'in-groups' for the genetic characterization of cocoa germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 160–166.
- Cheplick, G.P., Faeth, S.H. 2009. *Ecology and Evolution of the Grass-Endophyte Symbiosis*. Oxford University Press, Oxford.
- Chiarappa, L. 1959. The root rot complex of *Vitis vinifera* L. in California. *Phytopathology* 49: 670-674.

- Choudhury, M.M. 2001. *Uva de mesa - Pós-colheita*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 55p.
- Cia, P., Benato, E.A., Velentini, S.R.T., Anjos, V.D.A., Ponzo, F.S., Sanches, J., Terra, M.M. 2009. Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva 'Niagara Rosada'. *Bragantia* 68(4): 1009-1015.
- Clark, F.E. 1965. Agar-plate for total microbial count. In: Black, C.A., Evans, D.D., White, J.L., Ensminger, L.E., Clark, F.E., Dinaver, R.C. *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological properties*. New York, Madson Inc., pp.1460-1466.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N. 2006. *Primer v.6 User Manual\Tutorial*. Primer-E Ltd, Plymouth, p. 75-88.
- Clay, K. 1988. Fungal endophytes of grasses: A defensive mutualism between plant and fungi. *Ecology* 69: 2-9.
- Clegg, C., Murray, P. 2002. Soil microbial ecology and plant root interaction. In: Gordon, A.J. (ed.) *IGER Innovations No 6*, pp. 36-39.
- Collado, J., Platas, G., González, I., Peláez, F. 1999. Geographical and seasonal influences on distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. *New Phytologist* 144: 525-532.
- Coller, G.J. van, Denman, S., Groenewald, J.Z., Lamprecht, S.C., Crous, P.W. 2005. Characterisation and pathogenicity of *Cylindrocladiella* spp. associated with root and cutting rot symptoms of grapevines in nurseries. *Australasian Plant Pathology* 34(4): 489-498.
- Coutinho, F.P., Cavalcanti, M.A.Q.; Yano-Melo, A.M. 2010. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. *Acta Botanica Brasilica* 24: 292-298.
- Crous, P.W., Wingfield, M.J. 1993. A re-evaluation of *Cylindrocladiella*, and a comparison with morphologically similar genera. *Mycological Research* 97(4): 433-448.
- Dani, C., Olibani, L.S., Agostini, F., Funchal, C., Serafini, L., Henriques, J.A.P., Salvador, M. 2010. Phenolic content of grapevine leaves (*Vitis labrusca* var. Bordo) and its neuroprotective effect against peroxide damage. *Toxicol in vitro* 24:148-153.
- Dayal, R., Srivastava, L.S. 1973. Studies on the rhizosphere mycoflora of *Abelmoschus esculentus* Moench. Influence of varieties and age of the plant. *Sydowia* 74: 96-111.
- Deng, B.W., Liu, K.H., Chen, W.Q., Ding, X.W., Xie, X.C. 2009. *Fusarium solani*, Tax-3, a new endophytic taxol-producing fungus from *Taxus chinensis*. *World Microbiology and Biotechnology Journal* 25:139-43.

- Deshmukh, S., Hüchelhoven, R., Schäfer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F., Kogel, K.H. 2006. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(49): 18450–18457.
- Deshmukh, S.D., Kogel, K.H. 2007. *Piriformospora indica* protects barley from root rot caused by *Fusarium graminearum*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 114: 263–268.
- Dias, M.S.C., Souza, S.M.C., Pereira, A.F. 1998. Principais doenças da videira. *Informe Agropecuário* 19 (194): 76-84.
- Dong, Z., Canny, M.J., McCully, M.E., Roboredo, M.R., Cabadilla, C.F., Ortega, E., Rodés, E. 1994. A nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems. A new role for the apoplast. *Plant Physiology* 105: 1139-1147.
- Domsch, K.H., Gams, W.; Anderson, T-H. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press, New York.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H. 1993. *Compendium of soil fungi*. Verlag : IHW, 1264p.
- Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Alabaouvette, C. 1997. Populations of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to soilborne populations. *Phytopathology* 84(7): 693-697.
- El-Hissy, F.T., Abdel-Hafez, S.I., Abdel-Kader, M.I. 1980. Rhizosphere fungi of five plants in Egypt. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie* 20: 177-184.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. England. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 608p.
- Ellis, M.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 507p.
- Esposito, E., Azevedo, J.L. 2010. *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. 2ª ed. Caxias do Sul: EDUCS, v. 01. 638p.
- Ethur, L.Z., Blume, E., Muniz, M.F.B., Antonioli, Z.I., Milanesi, C.N.P., Fortes, F.O. 2008. Presença dos gêneros *Trichoderma* e *Fusarium* em solo rizosférico e não rizosférico cultivado com tomateiro e pepineiro, em horta e estufa. *Ciência Rural* 38: 19-26.
- Felber, A.C., Pamphile, J.A. 2013. Fungos endofíticos: potencial como controladores biológicos e estudos em videira. *UNINGÁ Review* 14(1): 13-25.
- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. 1996. *Classe de marcadores moleculares para análise genética*. In: *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. Embrapa-CENARGEN, Brasília, p. 13-68.

- Ferreira, A. 2008. Interação entre bactérias endofíticas e do rizoplane com *Eucalyptus*. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 77p.
- Ferreira, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: *Anais da Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria*, São Carlos, SP, p.255-258, 2000.
- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. 1998. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 2ª ed. Embrapa Cenargen, Brasília, DF. 220p.
- Fisher, P.J., Petrini, O., Webster, J. 1991. Aquatic hyphomycetes and other fungi in living aquatic and terrestrial roots of *Alnus glutinosa*. *Mycological Research* 95: 543-547.
- Fisher, P.J., Petrini, L.E. 1992. Fungal saprobes and pathogens as endophyte of Rice (*Oryza sativa* L.). *New Phytologist* 120:137-143.
- Fisher, P.J., Petrini, L.E., Sutton, B.C., Petrini, O. 1995. A study of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Gynoxis oleifolia* a Muchler (Compositae) from Ecuador. *Nova Hedwigia* 60: 589-594.
- Fortes Neto, P., Fernandes, S.A.P., Jahnel, M.C. 2007. Microbiota da solo como indicadora da poluição do solo e do ambiente. In: Silveira, A.P.D., Freitas, S.S. (eds.). *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas: Instituto Agrônômico, pp. 259-274.
- Foster, R.C. 1986. The ultrastructure of the rhizoplane and rhizosphere. *Annual Review of Phytopathology* 24:211-34.
- Fröhlich, J., Hyde, K.D., Petrini, O. 2000. Endophytic fungi associated with palms. *Mycological Research* 104: 1202-1212.
- Fryar, S.C., Booth, W., Davies, J., Hodgkiss, I.J., Hyde, K.D. 2004. Distribution of fungi on wood in the Tutong River, Brunei. *Fungal Diversity* 17: 17-38.
- Ganley, R.J., Brunsfeld, S.J., Newcombe, G. 2004. A community of unknown, endophytic fungi in western white pine. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 10107-10112.
- Garrett, S.D. 1951. Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationships. *New Phytologist* 50: 149-166.
- Germida, J.J., Siciliano, S.D., Freitas, J.R., Seib, A.M. 1998. Diversity of root-associated bacteria associated with held-grown canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *FEMS Microbiology Ecology* 26: 43-50.
- Gesheva, V. 2002. Rhizosphere microflora of some citrus as a source of antagonistic actinomycetes. *European Journal of Soil Biology* 38:85-88.
- Giovannini, E. 1999. *Produção de uvas para vinho, suco e mesa*. Porto Alegre, Renascença. 364p.

- Góes-Neto, A., Loguerio-Leite, C., Guerrero, R.T. 2005. DNA extraction from frozen fieldcollected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas* 18: 19-32.
- Gond, S.K., Verma, V.C., Kumar, A. 2007. Study of endophytic fungal community from different parts of *Argle marmelos* Correae (Rutaceae) from Varanasi (India). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 1371-1375.
- Gonthier, P., Germar, M., Nicolotti, G. 2006. Effects of water stress on the endophytic mycota of *Quercus robur*. *Fungal Diversity* 21: 69-80.
- González, V., Tello, M.L. 2011. The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. *Fungal Diversity* 47: 29-42.
- Gordon, T.R., Martyn, R.D. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology* 35: 111-128
- Gough, C., Galera, C., Vasse, J., Webster, G., Cocking, E. C., Denarie, J. 1997. Specific flavonoids promote intercellular root colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Azorhizobium caulinodans* ORS571. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 10: 560-570.
- Goulão, L., Oliveira, C.M. 2001. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica* 122: 81-89.
- Griffiths, A., Prestage, S., Linforth, R., Zhang, J.L., Taylor, A., Grierson, D. 1999. Fruit-specific lipoxygenase suppression in antisense-transgenic tomatoes. *Postharvest Biology and Technology* 17: 163-173.
- Grigoletti Jr., A., Sônego, O.R. 1993. *Principais doenças fúngicas da videira no Brasil*. Bento Gonçalves, EMBRAPA-CNPV. 36p.
- Grünig, C.R., Sieber, T.N., Holdenrieder, O. 2001. Characterisation of dark septate endophytic fungi (DSE) using inter-simplesequence-repeat-anchored polymerase chain reaction (ISSR-PCR) amplification. *Mycological Research* 105: 24-32.
- Grünig, C.R., Sieber, T.N., Rogers, S.O., Holdenrieder, O. 2002. Spatial distribution of dark septate endophytes in a confined forest plot. *Mycological Research* 106: 832-840.
- Gunatilaka, A.A.L. 2006. Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity and implication of their occurrence. *Journal of Natural Products* 69: 509-526.
- Guo, L.D., Hyde, K.D., Liew, E.C.Y. 1998. A method to promote sporulation in palm endophytic fungi. *Fungal Diversity* 1: 109-113.
- Guo, L.D. 2010. Molecular Diversity and Identification of Endophytic Fungi. In: Gherbawy, Y., Voigt, K. (eds.) *Molecular identification of Fungi*, pp.277-296.

- Gupta, M., Chyi, Y-S., Romero-Severson, J., Owen, J.L. 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 998-1006.
- Guy-Franck, R., Pâques, F. 2000. Mini- and microsatellite expansions: the recombination connection. *EMBO Reports* 11: 122-126.
- Hallmann, J., Kloepper, J., Rodriguez-Kabana, R., Sikora, R.A. 1995. Endophytic rhizobacteria as antagonists of *Meloidogyne incognita* on cucumber. *Phytopathology* 85: 1136.
- Hantula, J., Lilja, A., Nuorteva, H., Parikka, P., Werres, S. 2000. Pathogenicity morphology and genetic variation of *Phytophthora cactorum* from strawberry, apple, rhododendron and silver birch. *Mycological Research* 104: 1062-1068.
- He, X., Liu, Q., Ishiki, K., Zhai, H., Wang, Y. 2006. Genetic Diversity and genetic relationships among Chinese Sweetpotato landraces revealed by RAPD and AFLP markers. *Breeding Science* 56(2): 201-207.
- Hellman, E.W. 2003. Grapevine Structure and Function. In: Hellman, E.W. (ed.). *Oregon Viticulture*. Corvallis: Oregon State University Press, pp.5-19.
- Herre, E.A., Knowlton, N., Mueller, U.G., Rehner, S.A. 1999. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 49-53.
- Herre, E.A., Van Bael, S.A., Maynard, Z., Robbins, N., Bischoff, J., Arnold, A.E., Rojas, E., Mejia, L.C., Cordero, R.A., Woodward, C., Kylo, D.A. 2005. Tropical plants as chimera: some implications of foliar endophytic fungi for the study of host plant defense, physiology, and genetics. In: Burslem, D.F.R.P., Pinard, M.A., Hartley, S.E. (ed.) *Biotic interactions in the tropics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 226-237.
- Herre, E.A., Mejia, L.C., Kylo, D.A., Rojas, E., Maynard, Z., Butler, A., Van Bael, S.A. 2007. Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. *Ecology* 88: 550-558.
- Hidalgo, L. 1993. *Tratado de viticultura geral*. Madrid, Mundi-Prensa. 983 p.
- Higgins, K.L., Arnold, A.E., Miadlikowska, J., Sarvate, S.D., Lutzoni, F. 2006. Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 543-555.
- Hight, A.S., Nair, N.G. 1995. *Fusarium oxysporum* associated with grapevine decline in the Hunter Valley, NSW, Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 1(1): 48-50.
- Hiltner, L. 1904. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft* 98: 59-78.

- Ho, H.M., Benny, G.L. 2008. A new species of *Syncephalis* from Taiwan. *Botanical Studies* 49:45-48.
- Hoffman, L.E., Wilcox, W.F., Gadoury, D.M., Seem, R.C. 2002. Influence of grape berry age on susceptibility to *Guignardia bidwellii* and its incubation period length. *Phytopathology* 92: 1068-1076.
- Huang, Y., Wang, J., Li, G., Zheng, Z., Su, W. 2001. Tumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 31: 163-167.
- Instituto Agrônômico de Pernambuco – IPA, 2012. Cultura da Videira em São Vicente Férrer-PE. Disponível em: <http://www.ipa.br/pdf/seminario-_extensao_2008/Sao%20Vicente%20Ferrer.pdf> Acesso em 26 de Dezembro de 2013.
- Isshiki, S., Iwata, N., Khan, M.R. 2008. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia Horticulturae* 117: 186-190.
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 44 : 223-270.
- Jackson, R.S. 2008. Grapevine structure and function. In: Jackson, R.S. (ed.) *Wine Science Principles and Applications*, 3ª ed., pp.50-100.
- Johri, B.N. 2006. Endophytes to the rescue of plants! *Current Science* 90(10): 1315-1316.
- Jones, E.E., Brown, D.S., Bleach, C.M., Pathrose, B., Barclay, C., Jaspers, M.V., Ridway, H.J. 2012. First Report of *Cylindrocladiella parva* as a Grapevine Pathogen in New Zealand. *APSnet* 96(1): 144.1
- Jumpponen, A., Trappe, J.M., 1998. Dark-septate root endophytes: a review with special reference to facultative biotrophic symbiosis. *New Phytologist* 140: 295–310.
- Kamgan, N.G., Jacobs, K., de Beer, Z.W., Wingfield, M.J., Roux, J. 2008. *Ceratocystis* and *Ophiostoma* species, including three new taxa, associated with wounds on native South African trees. *Fungal Diversity* 29: 37-59
- Kent, A.D., Triplett, E.W. 2002. Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. *Annual Review of Microbiology* 56: 211-36.
- Kerry, B.R. 2000. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Microbiology* 38: 423-441.
- Kirk, P.M., Cooper, J. 2005. *Index Fungorum – Authors of Fungal Names*. . Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/>> Acesso em: 11 abril 2012.

- Kogel, K.H., Franken, P., Hükelhoven, R. 2006. Endophyte or parasite – what decides? *Current Opinion in Plant Biology* 9: 358-363.
- Kuhn, G.B. 1981. Morte das plantas de videiras (*Vitis* spp.) devido a ocorrência de fungos causadores de podridões radiculares e doenças vasculares. Bento Gonçalves: *Circular Técnica* 6, 30p.
- Kumaresan, V., Suryanarayanan, T.S. 2001. Occurrence and distribution of endophytic fungi in a mangrove community. *Mycological Research* 11(105): 1388-1391.
- Kumaresan, V., Suryanarayanan, T.S. 2002. Endophyte assemblages in young, mature and senescent leaves of *Rhizophora apiculata*: evidence for the role of endophytes in mangrove litter degradation. *Fungal Diversity* 9: 81-91.
- Larran, S., Mónaco, C., Alipi, H.E. 2001. Endophytic fungi in leaves of *Lycopersicon esculentum* Mill. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 17: 181-184.
- Li, J.Y., Strobel, G.A., Harper, J.K., Lobkovsky, E., Clardy, J. 2000. Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* sp. *Quercina*. *Organic Letters* 2: 767-770.
- Li, W.C., Zhou, J., Guo, S.Y., Guo, L.D. 2007. Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity* 25: 69-80.
- Lieckfeldt, E., Meyer, W., Börner, T. 1993. Rapid identification and differentiation of yeasts by DNA and PCR fingerprinting. *Journal of Basic Microbiology* 33: 413-426.
- Lima, T.E.F. 2010. Micobiota endofítica de *Vitis labrusca* L. cv. Isabel no Vale do Siriji, Pernambuco, Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 53p.
- Lima, T.E.F., Bezerra, J.L., Cavalcanti, M.A.Q. 2012. *Phaeotrichoconis crotalariae*, endophytic on *Vitis labrusca* in Brazil. *Mycotaxon* 120: 291–294.
- Lima, T.E.F., Oliveira, R.J.V., Neves, R.P., Bezerra, J.L., Cavalcanti, M.A.Q. 2013. Endophytic yeasts of *Coffea arabica* and *Vitis labrusca* cv. Isabel from Pernambuco, Brazil. *Nova Hedwigia* 96(3-4):463-469.
- Lin, X., Lu, C.H., Huang, Y.J., Zheng, Z.H., Su, W.J., Shen, Y.M. 2007. Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: isolation, identification and bioactivity. *World Microbiology Biotechnology journal* 23:1037–1040.
- Liu, C.H., Zou, W.X., Lu, H., Tan, R.X. 2001. Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte against phytopathogenic fungi. *Journal of Biotechnology* 88(3): 277-282.
- Liu, K.H., Ding, X.W., Deng, B.W., Chen, W.Q. 2009. Isolation and characterization of endophytic taxol producing fungi from *Taxus chinensis*. *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology* 36:1171–1177.

Lima, T.E.F. — Micobiota da rizosfera, rizoplano e endófito de raízes

Lodge, D.J., Fisher, P.J., Sutton, B.C. 1996. Endophytic fungi of *Manilkara bidentata* leaves in Puerto Rico. *Mycologia* 5(88): 733-738.

Luque, C., Legal, L., Staudter, H., Gers, C., Wink, M. 2002. ISSR (inter simple sequence repeats) as genetic markers in noctuids (*Lepidoptera*). *Hereditas* 136: 251–253.

Lynch, J.M. 1990. *The Rhizosphere*. Chichester: Wiley. 458p.

Lynch, J.M., Whipps, J.M. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil* 129:1–10.

Mahafee, W.F., Kloepper, J.W. 1997. Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with fieldgrown cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Microbial Ecology* 34: 210-223.

Maia, A.J., Botelho, R.V., Faria, C.M.D.R., Leite, C.D. 2010. Ação de quitosana sobre o desenvolvimento de *Plasmopara viticola* e *Elsinoe ampelina*, *in vitro* e em videiras cv. Isabel. *Summa Phytopathologica* 36(3): 203-209.

Maki, C.S. 2006. Diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos do cacau (*Theobroma cacao* L.). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 127p.

Maciá-Vicente, J.G., Jansson, H-B., Abdullah, S.K., Descals, E., Salinas, J., Lopez-Llorca, L.V. 2008. Fungal root endophytes from natural vegetation in Mediterranean environments with special reference to *Fusarium* spp. *FEMS Microbiology Ecology* 64: 90–115.

Marinho, A.M.R., Rodrigues-Filho, E., Moitinho, M.L.R., Santos, L.S. 2005. Biologically active polyketides produced by *Penicillium janthinellum* isolated as an endophytic fungus from fruits of *Melia azedarach*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16 (2): 280-283.

Marquez, L.M., Redman, R.S., Rodriguez, R.J., Roossinck, M.J. 2007. A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science* 315: 513–515.

Marschner, H. 1994. Nutrient dynamics at the soil-root interface (rhizosphere). In: Read, D.J., Lewis, D.H., Fitter, A.H., Alexander, I.J. (eds.) *Mycorrhizas in ecosystems*. CAB International. Cambridge, pp. 3-12.

Martini, M., Musetti, R., Grisan, S., Polizzotto, R. 2009. DNA-dependent detection of the grapevine fungal endophytes *Aureobasidium pullulans* and *Epicoccum nigrum*. *Plant Disease* 93: 993-998.

Matthews, D., McNicoll, J., Harding, K., Millams, S. 1999. 5'-anchored simple-sequence repeat primers are useful for analysing potato somatic hybrids. *Plant Cell Reports* 19(2): 210-212.

Maude, R.B. 1996. *Seedborne diseases and their control: principles and practice*. Cambridge. CAB Internacional.

- Mavingui, P., Laguerre, G., Berge, O., Heulin, T. 1992. Genotypic and phenotypic variability of *Bacillus polymyxa* in soil and in the rhizosphere of wheat. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 1894-1903.
- McInroy, J.A., Kloepper, J.W. 1995. A survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and soil* 173:1-6.
- Mehdi, R., Pillay, D.T.N. 1968a. Occurrence of a new species of *Cephalosporium* in the rhizosphere of *Vitis vinifera* L. *Mycopathologia* 34(3-4): 302-304.
- Mehdi, R., Pillay, D.T.N. 1968b. A new species of *Chaetomium* in the rhizosphere of *Vitis vinifera* L. *Mycopathologia* 34(3-4): 370-372.
- Mejía, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Van Bael, S., Arnold, A.E., Hebbbar, P., Samuels, G.J., Robbins, N., Herre, A.E. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control* 46: 4-14.
- Melo, I.S. 1999. Isolamento de Agentes de biocontrole da rizosfera. In: Melo, I.S., Azevedo, J.L. (eds.) *Controle Biológico*. v.3, ed. Embrapa, pp.15-55.
- Melo, I.S., Valadares-Inglês, M.C., Nass, L.L., Valois, A.C.C. 2002. *Recursos Genéticos e Melhoramento de Microrganismos*. 1ª edição, Campinas: EMBRAPA Meio Ambiente. 743p.
- Mello, L.M.R. 2007. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2007. *Embrapa uva e vinho*. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/>> Acesso em: 15 maio 2009.
- Meyer, W., Mitchell, T.G. 1995. Polymerase chain reaction fingerprint in fungi three using single primers specific to minisatellites and simple repetitive DNA sequence: strain variation in *Cryptococcus neoformans*. *Electrophoresis* 6: 1649-1656.
- Michereff, S.J., Peruch, L.A.M., Andrade, D.E.G.T. 2001. Manejo sustentável de doenças radiculares em solos tropicais. In: Michereff, S.J., Barros, R. (eds.) *Proteção de plantas na agricultura sustentável*. UFRPE, Imprensa Universitária, Recife, pp. 15-69.
- Miranda, M.E.A., Estrella, A.H., Cabriaes, J.J.P. 2006. Colonization of the rhizosphere, rhizoplane and endorhiza of garlic (*Allium sativum* L.) by strains of *Trichoderma harzianum* and their capacity to control allium white-rot under field conditions. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 1823-1830.
- Misagui, I.J., Donndelinger, C.R. 1990. Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants. *Phytopathology* 80: 808-811.
- Mohali, S., Burgess, T.I., Wingfield, M.J. 2005. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. *Forest Pathology* 35:385-396.

- Montiel, L.G.H., Aguilar, M.A.E. 2003. Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR. *La ciencia y el Hombre* 16(1). Disponível em: <<http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol16num1/articulos/microorganismos/micro.htm>> Acesso em: 14 junho 2011.
- Mostert, L., Crous, P.W., Petrini, O. 2000. Endophytic fungi associated with shoots and leaves of *Vitis vinifera*, with specific reference to the *Phomopsis viticola* complex. *Sydowia* 52(1): 46-58.
- Musetti, R., Vecchione, A., Stringher, L., Borselli, S., Zulini, L., Marzani, C., D'Ambrosio, M., Sanità di Toppi, L., Pertot, I. 2006. Inhibition of sporulation and ultrastructural alterations of grapevine downy mildew by the endophytic fungus *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 96: 689-698.
- Muthumeenakshi, S., Goldstein, A. L., Stewart, A., Whipps, J. M. 2001. Molecular studies on intra-specific diversity and phylogenetic position of *Coniothyrium minitans*. *Mycological Research* 105: 1065–1074.
- Nalini, M.S., Mahesh, B., Tejesvi, M.V., Prakash, S.H., Subbaiah, V., Kini, K.R., Shetty, H. 2005. Fungal endophytes from three-leaved caper, *Crataeva magna* (Lour.) D.C. (Capparidaceae). *Mycopathologia* 159: 245-249.
- Narisawa, K., Usuki, F., Hashiba, T. 2004. Control of Verticillium Yellows in Chinese cabbage by the Dark Septate Endophytic Fungus LtVB3. *Phytopathology* 94: 412–418.
- Odunfa, V.S.A., Oso, B.A. 1979 Fungal populations in the rhizosphere and rhizoplane of Cowpea. *Transactions of the British Mycological Society* 73(1): 21-26.
- Omacini, M., Chaneton, E.J., Ghersa, C.M., Müller, C.B.V. 2001. Symbiotic fungal endophytes control insect host–parasite interaction webs. *Nature* 409: 78–81.
- Orlando, T.D., Regina, M.A., Soares, A.M., Chalfun, N.N., Souza, C.M., Freitas, G.F., Toyota, M. 2003. Caracterização agrônômica de cultivares de videira (*Vitis labrusca* L.) em diferentes sistemas de condução. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras. Edição Especial, pp. 1460-1469.
- Orr, G.F. 1968. Some fungi isolated with *Coccidioides immitis* from soils in endemic areas in California. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 95(5): 424-431.
- Osono, T. 2007. Endophytic and epiphytic phyllosphere fungi of red-osier dogwood (*Cornus stolonifera*) in British Columbia. *Mycoscience* 48: 47-52.
- Owen, N.L., Hundley, N. 2004. Endophytes – the chemical synthesizers inside plants. *Science Progress* 87(2): 79-99.
- Oyeyiola, G.P. 2009. Rhizosphere mycoflora of Okro (*Hibiscus esculentus*). *Research Journal Soil Biology* 1:31-36.

- Pancher, M., Ceol, M., Corneo, P.E., Longa, C.M.O., Yousaf, S., Pertot, I., Campisano, A. 2012. Fungal endophytic communities in grapevines (*Vitis vinifera* L.) respond to crop management. *Applied and Environmental Microbiology* 78(12): 4308–4317.
- Parreira, D.F., Zambolim, L., Gomes, E.A., Costa, R.V., Silva, D.D., Cota, L.V., Lana, U.G.P., Silva, E.C.F. 2010. Estimativa da Diversidade Genética de *Colletotrichum graminicola* com Marcadores ISSR. In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. pp: 731-739. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25162/1/0366.pdf>> Acessado em: 15 de junho 2011.
- Paz, I.C.P. 2009. Bactérias endofíticas do eucalipto e potencial uso no controle de doenças e promoção de crescimento de mudas em viveiros florestais. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 129p.
- Peixoto-Neto, P.A.S., Azevedo, J.L., Araújo, W.L. 2002. Microrganismos endofíticos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 29: 62-76.
- Pereira, J.O., Azevedo, J.L., Petrini, O. 1993. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: A first report. *Mycologia* 85: 362-364.
- Petrini, O., Dreyfuss, M. 1981. Endophytische Pilze in *Epiphytischen* Araceae, Bromeliaceae und Orchidaceae. *Sydowia* 34: 135-148.
- Petrini, O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews, J., Hirano, S.S. (eds.) *Microbial ecology of leaves*. Springer verçag, New York, pp.179-197.
- Petrini, O., Sieber, T., Toti, L., Viret, O. 1992. Ecology, metabolite production and substrat utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins* 1: 185-196.
- Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P., Hyde, K.D. 2001. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. *Mycological Research* 105: 1508-1513.
- Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P., McKenzie E.H.C., Hyde, K.D. 2004. Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens? *Fungal Diversity* 16: 131-140.
- Picco, A.M., Angelini, P., Ciccarone, C., Franceschini, A., Ragazzi, A., Rodolfi, M., Varese, G.C., Zotti, M. 2011. Biodiversity of emerging pathogenic and invasive fungi in plants, animals and humans in Italy. *Plant Biosystems* 145: 988-996.
- Pimentel, I.C., Glienke-Blanco, C., Gabardo, J., Stuart, R.M., Azevedo, J.L. 2006. Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49(5): 705-711.
- Poletto, I., Muniz, M.F.B., Seconi, D.E., Santin, D., Weber, M.N.D., Blume, E. 2006. Zoneamento e identificação de *Fusarium* spp. causador de podridão-de-raízes em plantios de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) na região do Vale do Taquarí-RS. *Ciência Florestal* 16 (1-2): 1-10.

Lima, T.E.F. — Micobiota da rizosfera, rizoplano e endófito de raízes

Pollefeys, P., Bousquet, J. 2003. Molecular genetic diversity of the French-American grapevine hybrids cultivated in North America. *Genome* 46: 1037-1048.

Pommer, C.V., Maia, M.L. 2003. Introdução. In: Pommer, C.V. (ed.) *Uva: tecnologia da produção, pós-colheita e mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes, pp.11-36.

Porras-Alfaro, A., Herrera, J., Sinsabaugh, R.L., Odenbach, K.J., Lowrey, T., Natvig, D.O. 2008. Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 2805–2813.

Prell, H.H., Day, P.R. 2000. *Plant-Fungal Pathogen Interaction*. A Classical and Molecular View. Springer Verlag, Berlin.

Prompttha, I., Jeewon, R., Lumyong, S., McKenzie, E.H.C. and Hyde, K.D. (2005). Ribosomal DNA fingerprinting in the identification of non sporulating endophytes from *Magnolia liliifera* (Magnoliaceae). *Fungal Diversity* 20: 167-186.

Prompttha, I., Lumyong, S., Vijaykrishna, D., McKenzie, E.H.C., Hyde, K.D., Jeewon, R. 2007. A phylogenetic evaluation of whether endophytes become saprotrophs at host senescence. *Microbial Ecology* 53:579-590.

Protas, J.F.S., Camargo, U.A., Melo, L.M.R. 2002. A viticultura brasileira: realidade e perspectivas In: *Anais Simpósio Mineiro de viticultura e Enologia*, Caldas: EPAMIG, pp. 17-32.

Protas, J.F.S. 2003. O Brasil Vitivinícola: Regiões Produtoras. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/palestras/regioes.pdf>> Acesso em: 29 abril 2012.

Pugh, G.J.F., Williams, M. 1968. Fungi associated with *Salsola kali*. Transactions of *The British Mycological Society*: 51: 389-396.

Punithalingam, E. 1980. Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae*. *Vaduz: Pat. J. Cramer*, 123p.

Ragazzi, A., Moricca, S., Capretti, P., Della Valle, I., Mancini, F., Turco, E. 2001. Endophytic fungi in *Quercus cerris*: Isolation frequency in relation to phenological phase, tree health and the organ affected. *Phytopathologia Mediterranea* 40: 165-171.

Rai, M.K., Varma, A., Pandey, A.K. 2004. Antifungal potential of *Spilanthes calva* after inoculation of *Piriformospora indica*. (Das antimyzetische Potential von *Spilanthes calva* nach Inokulation von *Piriformospora indica*). *Mycoses* 47: 479–481.

Rakoczy-Trojanowska, M., Bolibok, H. 2004. Characteristics and comparison of three classes of microsatellite-based markers and their application in plants. *Cellular and Molecular Biology Letters* 9: 221–238.

Raper, K.B., Fennel, D.I. 1977. *The Genus Aspergillus*. Academic Press. New York.

- Read, J.C., Camp, B.J. 1986. The effect of the fungal endophytic *Acremonium coenophialum* in tall fescue on animal performance, toxicity, and stand maintenance. *Agronomy Journal* 78: 848-850.
- Reddy, M.P., Sarla, N., Siddiq, E.A. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9-17.
- Redman, R.S., Sheehan, K.B., Stout, R.G., Rodriguez, R.J., Henson, J.M. (2002). Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science* 298: 1581
- Rengel, Z. 1997. Root exudation and microflora populations in rhizosphere of crop genotypes differing in tolerance to micronutrient deficiency. *Plant and Soil* 196: 255-260.
- Rengel, Z. 2002. Genetic control of root exudation. *Plant and Soil* 245: 59-70.
- Ribeiro, I.J.A. 2003. Doenças e Pragas. In: Pommer, C.V. (ed.). *Uva. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado*. Porto Alegre: Editora Cinco Continentes, pp. 525– 568.
- Richard, G.F., Hennequin, A.T., Dujon, B. 1999. Trinucleotide repeats and other microsatellites in yeasts. *Research Microbiology* 150: 589-602.
- Rizzon, L.A., Miele, A., Meneguzzo, J. 2000. Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 20: 115-121.
- Roberto, S.R. 2000. Técnicas de cultivo de uvas de mesa em zonas no-temperadas no Brasil. *Agrícola Verdel* 219: 151-157.
- Rodolfi, M., Legler, S.E., Picco, A.M. 2006. Endofiti fungini di *Vitis vinifera* in Oltrepo Pavese, *Micologia Italiana* 3: 25-31.
- Rodrigues, A.A.C., Menezes, M. 2002. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira* 27(5): 532-537.
- Rodrigues, K.F., Samuels, G.J. 1990. Preliminary study of endophytic fungi in a tropical palm. *Mycological Research* 6(94): 827-830.
- Rodrigues, K.F. 1994. The foliar fungal endophytes of the amazonian palm *Euterpe oleracea*. *Mycologia* 3(86): 376-385.
- Rodrigues, K.F., Dias-filho, M.B. 1996. Fungal endophytes in the tropical grasses *Brachiaria brizantha* cv. Marandu and *B. humidicola*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 31: 905-909.
- Rodrigues, K.F., Petrini, O. 1997. Biodiversity of endophytic fungi in tropical regions. In: Hyde, K.D. (ed.). *Biodiversity of Tropical Microfungi*. Hong Kong University Press, Hong Kong, pp. 57-69.

- Rodrigues, K.F., Samuels, G.J. 1999. Fungal endophytes of *Spondias mombin* leaves in Brazil. *Journal Basic of Microbiology* 2(39): 131-135.
- Rodrigues, K.F., Hesse, M., Werner, C. 2000. Antimicrobial activities of secondary metabolites produced by endophytic fungi from *Spondias mombin*. *Journal of Basic Microbiology* 40(4): 261-267.
- Rodrigues, K.F., Sieber, T.N., Grünig, C.R., Holdenrieder, O. 2004. Characterization of *Guignardia mangiferae* isolated from tropical plants based on morphology, ISSR-PCR amplifications and ITS1-5.8S-ITS2 sequences. *Mycological Research* 108(1): 45-52.
- Rodrigues, R. 2003. Caracterização morfológica e patológica de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.)Griffon & Maubl., agente causal das podridões de tronco e raízes da videira. Dissertação de Mestrado, Instituto Agrônômico de Campinas, 53 p.
- Rodriguez, R.J., Henson, J., Volkenburgh, E.V., Hoy, H., Wright, L., Beckwith, F., Kim, Y-O., Redman, R.S. 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME Journal* 2: 404-416.
- Rombaldi, C.V., Bergamasqui, M., Lucchetta, L., Zanuzo, M., Silva, J.A. 2004. Produtividade e qualidade de uva, cv. isabel, em dois sistemas de produção. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26: 89-91.
- Romero, A., Carrion, G., Rico-Gray, V. 2001. Fungal latent pathogens and endophytes from leaves of *Parthenium hysterophorus* (Asteraceae). *Fungal Diversity* 7: 81-87.
- Rosa, R.C.T., Cavalcanti, V.A.L.B., Coelho, R.S.B., Paiva, J.E. 2008. Efeito de produtos alternativos e de fungicidas no controle do míldio da videira. *Summa Phytopathologica* 34: 256-258.
- Rosenblueth, M., Martínez-Romero, E. 2006. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19(8): 827-837.
- Rubini, M. R., Silva-Ribeiro, R. T., Pomella, A. W. V., Maki, C. S., Araújo, W.L., Santos, D.R., Azevedo, J.L. 2005. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosa*, causal agent of Witches' Broom Disease. *International Journal of Biological* 1:24-33.
- Saikkonen, K., Wäli, P., Helander, M., Stanley, H.F. 2004. Evolution of endophyte – plant symbioses. *Trends in Plant Science* 9(6): 275-280.
- Salerno, M.I., Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V. 2000. Effects on growth and comparison of root tissue colonisation patterns of *Eucalyptus viminalis* by pathogenic and nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist* 146: 317-324.
- Sánchez Márquez, S., Bills, G.F., Zabalgoitia, I. 2007. The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Diversity* 27: 171-195.

- Sanhueza, R.M.V., Sônego, O.R. 1993. Descrição e recomendações de manejo da fusariose da videira (*Fusarium oxysporum* f. sp. *herbemontis*). Embrapa Uva e Vinho, *Comunicado Técnico* 12.
- Santamaría, J., Bayman, P. 2005. Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*). *Microbial Ecology* 50: 1-8.
- Santos, A.C., Cavalcanti, M.A.Q., Fernandes, M.J.S. 1989. Fungos isolados da rizosfera de cana-de-açúcar da Zona da Mata de Pernambuco. *Revista Brasileira de Botânica* 12: 23-29.
- Saremi, H., Burgess, L.W., Backhouse, D. 1999. Temperature effects on the relative abundance of *Fusarium* species in a model plant-soil ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 941-947.
- Sbravatti Júnior, J.A., Auer, C.C., Pimentel, I.C., Santos, A.F., Schultz, B. 2013 Seleção *in vitro* de fungos endofíticos para o controle biológico de *Botrytis cinerea* em *Eucalyptus benthamii*. *Floresta* 43(1): 145-152.
- Scervino, J.M., Gottlieb, A., Silvani, V.A., Pergola, M., Fernandez, L., Godeas, A.M. 2009. Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Gigaspora rosea*. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 1753-1756.
- Schnittler, M., Stephenson, S.L. 2000. Myxomycete biodiversity in four different forest types in Costa Rica. *Mycologia* 92: 626-637.
- Schulz, B., Rommert, A.K., Dammann, U., Aust, H.J., Strack, D. 1999. The endophyte-host interaction: A balanced antagonism? *Mycological Research* 103: 1275-1283.
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Aust, H. J., Römmert, A.K., Krohn, K. 2002. Endophytic fungi: a source of novel biological active secondary metabolites. *Mycological Research* 106: 996-1004.
- Schulz, B., Boyle, C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research* 109: 661-686.
- Scola, G., Kappel, V.D., Moreira, J.C.F., Dal-Pizzol, F., Salvador, M. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activities of winery wastes seeds of *Vitis labrusca*. *Ciência Rural* 41(7): 1233-1238.
- Semagn, K., Bjornstad, A., Ndjondjop, M.N. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology* 5 (25): 2540-2568.
- Senthilkumar, M., Govindasamy, V., Annapurna, K. 2007. Role of antibiosis in suppression of charcoal rot disease by soybean endophyte *Paenibacillus* sp. HKA-15. *Current Microbiology* 55: 25-29.
- Serafini, L.A., Barros, N.M., Azevedo, J.L. 2002. *Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria*. Caxias do Sul. Ed. EDUCS. 235p.

- Sessitsch, A., Reiter, B., Pfeifer, U., Wilhelm, E. 2002. Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiology Ecology* 39:23-32.
- Shrikhande, A.J. 2000. Wine by-products with health benefits. *Food Research International* 33: 469-474.
- Shweta, S., Zuehlke, S., Ramesha, B.T., Priti, V., Mohana Kumar, P., Ravikanth, G., Spiteller, M., Vasudeva, R., Uma Shaanker, R. 2010. Endophytic fungal strains of *Fusarium solani*, from *Apodytes dimidiata* E. Mey. ex Arn (Icacinaceae) produce camptothecin, 10-hydroxycamptothecin and 9-methoxycamptothecin. *Phytochemistry* 71(1): 117-122.
- Sieber, T.N. 2002. Fungal Root Endophytes. In: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (eds.) *Plant Roots: The Hidden Half*, 3ª ed. Marcel Dekker, New York, Basel, pp. 887-917.
- Sieber, T.N., Grünig, C.R. 2006. Biodiversity of fungal root-endophyte communities and populations in particular of the dark septate endophyte *Phialocephala fortinii* s.l. In: Schulz, B., Boyle, C., Sieber, T (eds.). *Microbial Root Endophytes*; Soil Biology Volume 9, Berlin, Springer, pp. 107-132.
- Siqueira, V.M. 2008. Fungos endofíticos de folhas e caule de *Lippia sidoides* Cham. e avaliação da atividade antimicrobiana. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 94p.
- Silva, M.I.L., Cavalcanti, M.A.Q., Lima, D.M.M. 1990. Fungos da rizosfera de sementeiras de tomate. *Fitopatologia Brasileira* 15: 323-326.
- Sinclair, J.B., Cerkaskas, R.F. 1996. Latent infection vs. endophytic colonization by fungi. In: Redlin, S.C., Carris, L.M. (eds.). *Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants: Systematics, Ecology, and Evolution*, APS Press, St. Paul, MN, pp. 3-30.
- Sivan, A., Chet, I. 1989. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology* 79: 198-203.
- Smith, S.E., Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3ª ed., San Diego, Academic Press, 787p.
- Soares, M., Welter, L., Kuskoski, E.M., Gonzaga, L., Fett, R. 2008. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(1): 059-064.
- Sobowale, A.A., Cardwell, K.F., Odebode, A.C., Bandyopadhyay, R., Jonathan, S.G. 2007. Persistence of *Trichoderma* species within maize stem against *Fusarium verticillioides*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 40(3): 215-231.
- Sônego, O.R., Botton, M., Maia, J.D.G., Garrido, L.R. 2001. Doenças e pragas. In: Maia, J.D.G.; Kuhn, G.B. *Cultivo da Niágara rosada em áreas tropicais do Brasil*. Embrapa Uva e Vinho, p.45-63.

- Sônego, O.R.; Garrido, L.R. Doenças fúngicas e medidas de controle. In.: Miele, A.; Guerra, C.C.; Hickel, E.; Mandelli, F.; Melo, G.W.; Kuhn, G.B.; Tonietto, J.; Protas, J.F.S.; Mello, L.M.R.; Garrido, L.R.; Otton, M.; Sônego, O.R.; Soria, S.J.; Fajardo, T.V.M.; Camargo, U.A. 2003. *Uvas americanas e híbridas para processamento em clima temperado*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: <<http://www.cnpqv.embrapa.br/publica/sprod/UvaAmericanaHibridaClimaTemperado/doenca.htm>>. Acesso em: 10 de outubro 2012.
- Sorensen, T.A. 1948. A method of establishing of equal amplitude in plant sociology based on similarity on species content, and its application to analysis of the vegetation on Danish commons. *Kongelige Danske Videnskabernes Selskab Biologiske Skrifter* 5: 1-34.
- Sousa, J.S.I. 1969. *Uvas para o Brasil*. Ed. Melhoramentos, 465p.
- Sousa, J.S.I. 1996. *Uvas para o Brasil*. Ed. FEALQ v.2, pp. 632 – 791.
- Souza, A.Q.L., Souza, A.D.L., Astolfi Filho, S., Belém-Pinheiro, M.L., Sarquis, M.I.M., Pereira, J.O. 2004. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Benth. *Acta Amazônica* 34: 185-195.
- Souza-Motta, C.M., Cavalcanti, M.A.Q., Fernandes, M.J.S., Lima, D.M.M., Nascimento, J.P., Laranjeira, D. 2003. Identification and characterization of filamentous fungi isolated from the sunflower (*Helianthus annuus* L.) rhizosphere according to their capacity to hydrolyse inulin. *Brazilian Journal of Microbiology* 34(3): 273-280.
- Sozim, M., Malgarim, M.B., Afinovicz, A.P., Pierin, F.F., Dias, J.S., Euleuterio, M.D. 2008. Enraizamento de estacas da videira (*Vitis labrusca* L.) cv. Bordô. In: *XX Congresso Brasileiro de Fruticultura*, Vitória/ES.
- Srivastava, V.B., Mishra, R.R. 1971. Investigation into rhizosphere microflora. I. Succession of microflora on rott regions of *Oryza sativa* L. *Microbiologia Espanã* 24:1-13.
- St-Arnaud, M., Vujanovic, V. 2007. Effect of the arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant diseases and pests. In: Hamel, C., Plenchette, C. (eds.), *Mycorrhizae in Crop Production: Applying Knowledge*. Haworth Press, Binghamton, NY.
- Stierle, A., Strobel, G., Stierle, D. 1993. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of pacific yew. *Science* 260:214–216.
- Stolf, E.C., Pocasangre, L.E., Guerra, M.P. 2006. Efeito de reinoculação de fungos endofíticos sobre o controle do nematóide cavernícola da banana (*Radophalus similis*). Monografia (Curso de Agronomia), Universidade Federal de Santa Catarina, 39p.

- Stone, J.K., Pinkerton, J.N., Johnson, K.B. 1994. Axenic culture of *Anisogramma anomala*: evidence for self-inhibition of ascospore germination and colony growth. *Mycologia* 86: 674-683.
- Stone, J.K., Bacon, C.W., White, J.F. 2000. An Overview of Endophytic Microbes Endophytism Defined. In: Bacon, C.W., White, J.F. (eds.), *Microbial Endophytes*, Marcel Dekker, New York, pp: 3-29.
- Stone, J.K., Polishook, J.D., Jr., J.F.W. 2004. Endophytic Fungi. p.241-270 In: Mueller, G.M., Bills, G.F., Foster, M.F. (eds.) *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*. Boston: Elsevier Academic Press, 777p.
- Stone, J.K. 2006. Ecological roles of endophytes in forest ecosystems. *Phytopathology* 96: 136.
- Stovall, M.E., Clay, K. 1991. Fungitoxic effects of *Balansia cyperi*. *Mycologia* 83: 288-295.
- Strobel, G.A., Hess, W.M., Li, J.Y., Ford, E., Sears, J., Sidhu, R.S., Summerell, B., 1997. *Pestalotiopsis guepinii*, a taxol producing endophyte of the Wollemi Pine, *Wollemia nobilis*. *Australian Journal Botany* 45: 1073-1082.
- Strobel, G.A., Ford, E., Worapong, J., Harper, J. K., Arif, A. M., Grant, D. M., Fung, P. C.W., Chau, R.M.W. 2002. Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiopsis microspora*, possessing antifungal and antioxidant activities. *Phytochemistry* 60: 179-183.
- Strobel, G.A. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection* 5: 535-544.
- Strobel, G.A., Daisy, B., Castillo, U.; Harper, J. 2004. Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products* 67(2): 257-268.
- Strobel, G.A. 2006. Harnessing endophytes for industrial microbiology. *Current Opinion in Microbiology* 9:240-244.
- Subrahmanyam P, Rao AS. 1977. Rhizosphere and geocarposphere mycoflora of groundnut (*Arachis hypogaea* Linn). *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section B* 85(6): 420-431.
- Suryanarayanan, T.S., Kumaresan, V., Johnson, J.A. 1998. Foliar fungal endophytes from two species of the mangrove *Rhizophora*. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 1003-1006.
- Suryanarayanan, T.S., Vijaykrishna, D. 2001. Fungal endophytes of aerial roots of *Ficus benghalensis*. *Fungal Diversity* 8: 155-161.
- Suryanarayanan, T.S., Thennarasan, S. 2004. Temporal variation in endophyte assemblages of *Plumeria rubra* leaves. *Fungal Diversity* 15: 197-204.
- Sutton, B.C. 1980. *The Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 696p.

- Tan, R.X., Zou, W.X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports* 18: 448-459.
- Tan, X.M., Chen, X.M., Wang, C.L., Jin, X.H., Cui, J.L., Chen, J., Guo, S.X., Zhao, L.F. 2012. Isolation and Identification of Endophytic Fungi in Roots of Nine *Holcoglossum* Plants (*Orchidaceae*) Collected from Yunnan, Guangxi, and Hainan Provinces of China. *Current Microbiology* 64(2): 140-147.
- Tavares, S.C.C.H., Menezes, M. 1991. Infecção *Botryodiplodia theobromae* em Mangueira através ou não de ferimentos no semi-árido do nordeste brasileiro. *Revista de Fruticultura brasileira* 13(4).
- Tavares, S.C., Rosa, R.C., Menezes, M. 2005. Ocorrência da ferrugem da videira no estado de Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira* 30(Suplemento): p.S135.
- Tavares, S.C.C.H.; Sobral, R.T.; Rosa, R.C. 2006. Monitoramento de doenças da videira e da bananeira nos municípios de São Vicente Férrer e Macaparana – Zona da Mata de Pernambuco. In: 39º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, *Fitopatologia Brasileira*, 31(Suplemento).
- Tavares, S.C.C.H., Lima, V.C. 2009. A indicação geográfica da uva de São Vicente Férrer e Macaparana – PE a partir de pesquisas da Embrapa. *Circular técnica* 43.
- Taylor, J.E., Hyde, K.D., Jones, E.B.G. 1999. Endophytic fungi associated with the temperate palm, *Trachycarpus fortunei*, within and outside its natural geographic range. *New Phytologist* 142: 335-346.
- Tefera, T., Vidal, S. 2009. Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of *sorghum* by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *BioControl* 54: 663-669.
- Tejesvi, V.M., Mahesh, B., Nalini, M.S., Prakash, S.H., Kini, K.R., Subbaiah, V., Shetty, H. 2005. Endophytic fungal assemblages from inner bark and twig of *Terminalia arjuna* W. & A. (*Combretaceae*). *World Journal Microbiology and Biotechnology* 21: 1535-1540.
- Tejesvi, M.V., Mahesh, B., Nalini, M.S., Prakash, H.S., Kini, K.R., Subbiah, V., Shetty, H.S. 2006. Fungal endophyte assemblages from ethnopharmacologically important medicinal trees. *Canadian Journal of Microbiology* 52: 427-435.
- Tejesvi, M.V., Kini, K.R., Prakash, H.S., Ven Subbiah, Shetty, H.S. 2007. Genetic diversity and antifungal activity of species of *Pestalotiopsis* isolated as endophytes from medicinal plants. *Fungal Diversity* 24: 37-54.
- Terra, M.M., Pommer, C.V., Pires, E.J.P., Robeiro, I.J.A., Gallo, P.B., Passos, I.R.S. 2001. Produtividade de cultivares de uvas para suco sobre diferentes porta-enxertos IAC em Mococa-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura* 23(2): 382-386.

- Thomé, V.M.R., Zampieri, S., Braga, H.J., Pandolfo, C., Silva Júnior, V.P., Bacic, I.L.Z., Laus Neto, J.A., Soldateli, D., Gebler, E.F., Dalleore, J.A., Echeverria, L.C.R., Ramos, M.G., Cavalleiro, C.N.R., Deeke, M., Mattos, J.F., Suski, P.P. 1999. *Zoneamento agroecológico e socioeconômico do Estado de Santa Catarina*. Florianópolis: Epagri, CD ROM.
- Toofanee, S.B., Dulymamode, R. 2002. Fungal endophytes associated with *Cordemoya integrifolia*. *Fungal Diversity* 11: 169-175.
- Torres, J.L., Bobet, R. 2001. New flavanol derivatives from grape (*Vitis vinifera*) by products: antioxidant aminoethylthio-flavan- 3-ol conjugates from a polymeric waste fraction used as a source of flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4627-4634.
- Ulacio, D., Perez, C., Pineda, J. 1997. Micoflora Asociada a las raíces de plantas de *Nicotiana tabacum* (tabaco) provenientes del estado Portuguesa. *Bioagro* 9(1): 3-11.
- Van Bael, S.A., Maynard, Z., Robbins, N., Bischoff, J., Arnold, A.E., Rojas, E., Mejía, L.C., Kylo, D.A., Herre, E.A., 2005. Emerging perspectives on the ecological roles of endophytic fungi in tropical plants. In: Dighton, J., Oudemans, P., White, J.F. (eds.), *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*, third ed. CRC Press, Boca Raton, pp. 181–193.
- Van der Aa, H. A. 1973. Studies in Phyllosticta. *Studies in Mycology* 5: 1–110.
- Vandenkoornhuyse, P., Baldauf, S.L., Leyval, C., Stracek, J., Young, J.P.W. 2002. Extensive fungal diversity in plant roots. *Science* 295: 2051.
- Vedana, M.I.S. 2008. Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 60p.
- Vidal, G., Leborgne, L. 1963. Research on vine rhizosphere (*Vitis vinifera*). *Annales de l'Institut Pasteur* 105: 361-367.
- Vujanovic, V., Vujanovic, J. 2007. Mycovitality and mycoheterotrophy: where lies dormancy in terrestrial orchid and plants with minute seeds? *Symbiosis* 44: 93–99.
- Wagenaar, M., Corwin, J., Strobel, G.A., Clardy, J. 2000. Three new chytocalasins produced by an endophytic fungi in the genus *Rhinochadiella*. *Journal of Natural Products* 63: 1692-1695.
- Waid, J.S. 1974. Decomposition of roots. In: Pugh, G.J.F., Dickinson, C.H. (eds.), *Biology of Plant Litter Decomposition*, London: Academic Press, pp. 175-211.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hückelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D.V., Franken, P., Kogel, K.H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102: 13386–13391.

- Wang, Y., Guo, L.D., Hyde, K.D. 2005. Taxonomic placement of sterile morphotypes of endophytic fungi from *Pinus tabulaeformis* (Pinaceae) in northeast China based on rDNA sequences. *Fungal Diversity* 20: 235-260.
- Wang, Y.C., Guo, B.H., Miao, Z.Q., Tang, K.X. 2007. Transformation of taxolproducing endophytic fungi by restriction enzyme-mediated integration (REMI). *FEMS Microbiology Letters* 273(2): 253-259.
- Ward, E., Tahiri-Alaoui, A., Antoniwi, J.F.. 1998. Applications of PCR in Fungal-Plant Interactions. In: Bridge, P.D., Arora, D.K., Reddy, C.A., Elander, R.P. (eds.) *Applications of PCR in Mycology*, pp. 289-307.
- Webley, D.M., Eastwood, D.J., Gimingham, C.H. 1953. Development of a soil microflora in relation to plant succession on sanddunes, including the rhizosphere flora associated with colonizing species. *Journal Ecology* 46:168-178.
- West, C.P., Oosterhuis, P.M., Wullschleger, S.D. 1990. Osmotic adjustment in tissues of tall fescue in response to water deficit. *Environmental and Experimental Botany* 30:149-156.
- Willadino, L., Câmara, T.R., Galindo, R.M.P., Guedes, R.M.M., Michereff, S.J. 2005. Sistema vascular e exsudatos radiculares. In: Michereff, S.J., Andrade, D.E.G.T., Menezes, M. (eds.) *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. UFRPE, Imprensa Universitária, Recife, pp. 19-40.
- Wilson, D. 1995. Endophyte – The evolution of a term and clarification of its use and definition. *Oikos* 72: 274-276.
- Wolfe, A.D. 2005. ISSR techniques for evolutionary biology. *Methods in Enzimology* 395: 134-144.
- Xia, X., Lie, T.K., Qian, X., Zheng, Z., Huang, Y., Shen, Y. 2011. Species diversity, distribution, and genetic structure of endophytic and epiphytic *Trichoderma* associated with banana roots. *Microbial Ecology* 61(3):619-25.
- Xu, L., Wang, J., Zhao, J., Li, P., Shan, T., Wang, J., Li, X., Zhou, L. 2010. Beauvericin from the endophytic fungus, *Fusarium redolens*, isolated from *Dioscorea zingiberensis* and its antibacterial activity. *Natural Products Communications* 5(5): 811-814.
- Yang, Y., Hori, I., Ogata, R. 1980. Studies on retranslocation of accumulated assimilates in Delaware grape vines, II and III. *Journal Agriculture Research Tokyo* 31: 109–129.
- Yang, Y., Cai, L., Yu, Z., Liu, Z., Hyde, K.D. 2011. *Colletotrichum* species on *Orchidaceae* in South West China. *Cryptogamie, Mycologie* 32(3): 229-253.

- Yates, I.E., Bacon, C.W., Hinton, D.M. 1997. Effects of endophytic infection by *Fusarium moniliforme* on corn growth and cellular morphology. *Plant Disease* 81:723-728.
- Yin, H., Sun, Y.-H. 2011. Vincamine-producing endophytic fungus isolated from *Vinca minor*. *Phytomedicine* 18:802–805.
- Youssef, Y.A., Mankarious, A.T. 1968. Studies on the rhizosphere microflora of broad bean and cotton. *Mycopath. Mycol. Appl.* 35: 3.
- Zanuz, M.C. 1991. Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 177p.
- Zhang, B., Salituro, G., Szalkowski, D., Li, Z., Zhang, Y., Royo, I., Vilella, D., Dez, M., Pelaez, F., Ruby, C., Kendall, R.L., Mao, X., Griffin, P., Calaycay, J., Zierath, J., Heck, J.V., Smith, R.G., Moller, D.E. 1999. Discovery of small molecule insulin mimetic with antidiabetic activity in mice. *Science* 284:974-981.
- Zhang, C.L., Liu, S.P., Lin, F.C., Kubicek, C.P., Druzhinina, I.S. 2007. *Trichoderma taxi* sp. nov., an endophytic fungus from Chinese yew *Taxus mairei*. *FEMS Microbiology Letters* 270:90–96.
- Zhao, J., Shan, T., Mou, Y., Zhou, L. 2011. Plant-derived bioactive compounds produced by endophytic fungi. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 11: 159–168.
- Zhou, S., Smith, D.R., Stanosz, G.R. 2001. Differentiation of *Botryosphaeria* species and related anamorphic fungi using Inter Simple or Short Sequence Repeat (ISSR) fingerprinting. *Mycological Research* 105: 919–926.
- Zietkiewicz, E., Rafalki, A., Labuda, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183.