

THAÍS EMANUELLE FEIJÓ DE LIMA

MICOBIOTA ENDOFÍTICA DE *Vitis labrusca* L. CV. ISABEL NO VALE DO SIRIJI, PERNAMBUCO, BRASIL

RECIFE

NOVEMBRO/2010



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

MICOBIOTA ENDOFÍTICA DE *Vitis labrusca* L. CV. ISABEL NO VALE DO SIRIJI, PERNAMBUCO, BRASIL

Thaís Emanuelle Feijó de Lima

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

Área de Concentração: Taxonomia e Ecologia de

Fungos

Orientadora: Profa. Dra. Maria Auxiliadora de

Queiroz Cavalcanti

Co-orientador: Profº. Dr. José Luiz Bezerra

RECIFE

NOVEMBRO/2010

Lima, Thaís Emanuelle Feijó de

Micobiota endofítica de *Vitis labrusca* L. CV. Isabel no Vale do Siriji, Pernambuco, Brasil/ Thaís Emanuelle Feijó de Lima. – Recife: O Autor, 2010.

53 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti

Co-orientador: José Luiz Bezerra

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas. Biologia de

Fungos, 2010. Inclui bibliografia

 Fungos fitopatogênicos- plantas hospedeiras 2. Vitaceae 3. Microbiologia I. Título.

579.5 CDD (22.ed.) UFPE/CCB-2011-216

MICOBIOTA ENDOFÍTICA DE *Vitis labrusca* L. CV. ISABEL NO VALE DO SIRIJI, PERNAMBUCO, BRASIL

THAÍS EMANUELLE FEIJÓ DE LIMA

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES
Prof ^a . Dra. Maria Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti- Orientadora Departamento de Micologia (UFPE)
Prof ^a . Dra. Laise de Holanda Cavalcanti Andrade
Departamento de Botânica (UFPE)
Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ)
MEMBROS SUPLENTES
Prof ^a . Dra. Neiva Tinti de Oliveira Departamento de Micologia (UFPE)
Prof. Dr. Rildo Sartori Barbosa Coelho
Instituto de Pesquisa Agropecuária (IPA)

Aprovada: 22 de Novembro de 2010



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

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.

Hgradeço:

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.

À Prof^a. Dra. Rejane Pereira Neves, pelo auxílio na identificação das leveduras.

A todos os meus amigos e companheiros de mestrado.

Aos meus queridos companheiros do Laboratório: Elaiza, Márcia, Michelline, Rafael, Renata, Diogo, Nylber e Roger.

Aos agricultores: César (Engenho Bonito) e Sebastião (in memoriam) (Sítio Sebastião), pela atenção e autorização das coletas.

Aos amigos do Laboratório de Fungos Aquáticos do Departamento de Micologia (UFPE) que muito me apoiaram.

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

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

Muito obrigada!

RESUMO

MICOBIOTA ENDOFÍTICA DE *Vitis labrusca* L. CV. ISABEL NO VALE DO SIRIJI, PERNAMBUCO, BRASIL

Fungo endofítico é aquele que coloniza os tecidos saudáveis da planta hospedeira, sem causar sintomas aparentes. Vitis labrusca L. é uma espécie de Vitaceae originária da América do Norte, sendo a cultivar Isabel bastante produtiva. O cultivo de V. labrusca cv. Isabel é praticado há cerca de 40 anos no Vale do Siriji (municípios de São Vicente Férrer e Macaparana), Pernambuco, Brasil. Devido à importância agroeconômica da uva Isabel, este trabalho teve por objetivo determinar a micobiota endofítica de folhas sadias de Vitis labrusca cv. Isabel em duas áreas do Vale do Siriji. Entre junho/2009 e maio/2010, foram realizadas quatro coletas de folhas sadias de V. labrusca cv. Isabel, sendo duas no período de estiagem e duas no período chuvoso. No laboratório, as folhas foram lavadas com água corrente e sabão neutro, e com auxílio de um furador esterilizado foram feitos discos foliares (6 mm), posteriormente desinfestados em álcool 70% por 30 segundos, em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% por 2 minutos e 30 segundos, e finalmente duas lavagens com água destilada esterilizada. Seis discos foliares foram transferidos para placas de Petri, em triplicata, contendo Batata-Dextrose-Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (50 mg.L⁻¹). As placas foram incubadas em temperatura ambiente (28 ± 2 °C) e observadas por 15 dias quanto ao crescimento fúngico. Fragmentos de micélio foram transferidos para tubos de ensaio contendo meio BDA, e após purificação os fungos foram identificados. Foram obtidas 424 colônias de fungos endofíticos pertencentes a 40 espécies. Nigrospora oryzae, Glomerella cingulata, Colletotrichum gloeosporioides, Guignardia bidwellii e Cladosporium cladosporioides foram as espécies mais frequentes. A similaridade entre os fungos endofíticos nas duas áreas estudadas foi de 49,06%, e entre períodos de coleta de 56%. A maioria das espécies isoladas neste trabalho já foi citada como endofíticos de outros vegetais, sendo Gonatobotrys simplex, Graphium putredinis, Paecilomyces marquandii, Rhodotorula acheniorum e R. aurantiaca citadas pela primeira vez como endofíticas de videiras.

Palavras-chave: Fungos, endófitos, Vitaceae.

ABSTRACT

ENDOPHYTIC MYCOBIOTA OF Vitis labrusca L. CV. ISABEL IN THE SIRIJI VALLEY, PERNAMBUCO, BRASIL

Endophytic fungus is the one that colonizes healthy tissues of the host plant without causing conspicuous symptoms. Vitis labrusca L. is a Vitaceae species originated in North America, the cultivar Isabel being a productive enough one. The growing of V. labrusca cv. Isabel has been going on for 40 years in the Siriji Valley region (Municipalities of São Vicente Férrer and Macaparana), Pernambuco, Brazil. Due to Isabel grape economical importance, this study aimed to determine the mycobiota of healthy leaves from Vitis labrusca cv. Isabel Siriji Valley. Four collections of healthy leaves from V. labrusca cv. Isabel were carried out from June/2009 to May/2010, of those, two in the dry season and two in the rainy season. The leaves were washed in running water with neutral soap and by utilizing an awl, foliar discs (6 mm) were made, and disinfection with alcohol 70% for 30 seconds, in sodium hypochlorite (NaOCl) at 2% for 2 minutes and 30 seconds, and finallly, two washes with sterile distilled water. Six foliar discs were transferred to Petri dishes, in triplicate, containing Potato Dextrose Agar (PDA) with chloramphenicol (50 mg.L⁻¹). The plates were incubated at room temperature (28 \pm 2°C) and observed for 15 days as to fungal growth. Fragments of mycelium were transferred to test tubes containing PDA medium, which were identified following purification. 424 endophytic fungi colonies were obtained belonging to 40 species. Nigrospora oryzae, Glomerella cingulata, Colletotrichum gloeosporioides, Guignardia bidwellii and Cladosporium cladosporioides were the most frequent strains. The similarity between the endophytic fungi in the two areas studied was 49.06% and between collection periods was 56%. Most species of endophytic fungi isolated in this work has been cited as endophytes in other plants, and Gonatobotrys simplex, Graphium putredinus, Paecilomyces marquandii, Rhodotorula acheniorum and R. aurantiaca cited for the first time as endophytes from grapevine.

Keys-words: Fungi, endophytes, Vitaceae.

LISTA DE FIGURAS

I	Pág.
Figura 1 - Porcentagem dos grupos de fungos endofíticos isolados de folhas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel no Vale do Siriji, Pernambuco, em quatro coletas realizadas nos municípios de Macaparana e São Vicente Férrer em 2009/2010	23
Figura 2 - Frequência de ocorrência dos 26 gêneros de fungos endofíticos isolados em folhas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel, nas quatro coletas realizadas nos municípios de Macaparana e São Vicente Férrer (Vale do Siriji, Pernambuco) em 2009/2010	24

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 - Características climáticas das áreas de coleta de folhas de videira (<i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel) nos municípios de São Vicente Férrer e Macaparana, Vale do Siriji, Pernambuco	20
Tabela 2 - Espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel nas quatro coletas realizadas no Vale do Siriji (São Vicente Férrer e Macaparana), Pernambuco	25
Tabela 3 - Frequência de ocorrência das espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel nas áreas de coleta no Vale do Siriji, Pernambuco	
Tabela 4 - Frequência de ocorrência das espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de <i>Vitis labrusca</i> cv. Isabel nos períodos de coleta no Vale do Siriji, Pernambuco	36

SUMÁRIO

	Pág
1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1. Fungos endofíticos	13
2.1.1 Conceito	13
2.1.2 Importância e interação dos fungos endofíticos	14
2.1.3 Transmissão e isolamento dos fungos endofíticos	15
2.1.4 Especificidade dos fungos endofíticos pelo hospedeiro	16
2.1.5 Fungos endofíticos em videiras	17
2.2. Classificação, origem e importância de Vitis labrusca L.	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1. Áreas de coletas	19
3.2. Coleta do material	19
3.3. Isolamento de fungos endófiticos	20
3.4. Identificação dos fungos endofíticos	21
3.5. Análises ecológicas	21
3.5.1. Frequência de ocorrência de cada espécie	21
3.5.2. Índice de Similaridade	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Fungos endofíticos isolados de folhas sadias de Vitis labrusca cv. Isabel	23
4.2. Fungos endofíticos isolados por áreas de coletas	32
4.3. Fungos endofíticos isolados por períodos de coletas	35
5. CONCLUSÕES	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

Microrganismo endofítico, incluindo fungos e bactérias, 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 (Tan & Zou, 2001).

Os endofíticos têm despertado interesse da comunidade científica pelo potencial na produção de metabólitos de interesse econômico, incluindo os relacionados às plantas hospedeiras (Souza *et al.*, 2004). Existem relatos mostrando 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).

Os endofíticos não causam doenças aparentes a seus hospedeiros, podendo ser patógenos latentes, mutualísticos, comensalistas e/ou saprofíticos (Bacon & White, 2000; Schultz & Boyle, 2005; Kogel *et al.*, 2006). Schulz *et al.* (2002) levantam a hipótese que a relação endofítico/hospedeiro está caracterizada por uma estreita harmonia entre a patogenicidade fúngica e a defesa da planta. Devido a esta íntima relação entre os endofíticos e as plantas, há sugestões que estes co-evoluíram com os seus hospedeiros (Misagui & Donndelinger, 1990).

Pesquisas com fungos endofíticos de videiras foram iniciadas a partir de Mostert *et al.* (2000) estudando brotos e folhas de *Vitis vinifera* L. no Sul da África. No Brasil, iniciou-se com Brum (2006; 2008) através de estudos com caule e folhas de *Vitis labrusca* var. Niagara Rosada.

A viticultura destaca-se por estar distribuída em várias regiões do mundo (Orlando *et al.*, 2003). No Brasil, apresenta elevada concentração nas Regiões Sul, Sudeste e Nordeste, abrangendo uma área de 89.946 ha (Protas *et al.*, 2002; Mello, 2007). Rio Grande do Sul, São Paulo, Pernambuco, Bahia e Paraná são os principais estados brasileiros produtores de uva (Roberto, 2000).

Vitis labrusca L. é uma espécie de Vitaceae originária do Sul da América do Norte, e a cultivar Isabel é bastante vigorosa, rústica e produtiva, apresentando suscetibilidade à antracnose e ao míldio (Rizzon *et al.*, 2000; Terra *et al.*, 2001; Rombaldi *et al.*, 2004).

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 vinho tinto comum (mais consumido no país), suco de uva, vinagre, geléias e como fruta *in natura*. No Nordeste, sua produção está basicamente destinada a comercialização *in natura* (Zanuz, 1991; Orlando *et al.*, 2003).

A viticultura na Zona da Mata do Estado de Pernambuco é praticada há cerca de 40 anos. Hoje, a área plantada alcança aproximadamente 400 ha sendo o cultivo de *V. labrusca* cv. Isabel predominante na região do Vale do Siriji, que abrange os municípios de São Vicente Férrer e Macaparana (Rosa *et al.*, 2008). Essa atividade tem causado impacto social e econômico no meio rural, por ser uma alternativa viável para a pequena agricultura da região.

Considerando a escassez de trabalhos referentes ao estudo de fungos endofíticos em videiras e devido à importância agroeconômica da uva Isabel para a região do Vale do Siriji, este trabalho teve por objetivos: determinar a micobiota endofítica de folhas sadias de *Vitis labrusca* cv. Isabel cultivada no Vale do Siriji; verificar a frequência de ocorrência dos fungos isolados; e calcular a similaridade dos fungos isolados em duas áreas e períodos de coletas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Fungos endofíticos

2.1.1. Conceito

Na tradução literal, 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).

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

Fungos endofíticos têm sido encontrados em todas as espécies de vegetais estudados, tanto nos trópicos como nas regiões temperadas e desérticas (Fisher *et al.*, 1995; Schulz & Boyle, 2005; Higgins *et al.*, 2006; Stone, 2006; Arnold & Lutzoni, 2007; Porras-Alfaro *et al.*, 2008). No Brasil, os primeiros estudos sobre o isolamento de fungos endofíticos foram os de Rodrigues & Samuels (1990), Pereira *et al.* (1993) e Rodrigues (1994).

A diferenciação entre endofíticos, oportunistas e fitopatógenos tem apenas significado didático, pois um microrganismo endofítico 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 para que os fungos oportunistas manifestem o seu potencial patogênico contra o hospedeiro (Azevedo *et al.*, 2000; Maki, 2006).

2.1.2. Importância e interação dos fungos endofíticos

Os fungos endofíticos têm despertado interesse quanto ao seu potencial biológico, econômico e ecológico, contribuindo na produção de substâncias que fornecem proteção e sobrevivência ao seu 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 desses fungos (Tan & Zou, 2001; Schulz *et al.*, 2002; Esposito & Azevedo, 2004; Strobel *et al.*, 2004).

Diversos autores relatam a ação antimicrobiana de substâncias produzidas por fungos endofíticos (Rodrigues *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2001; Bao & Lazarivits, 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). Os endófitos também podem atuar como agentes antidiabéticos e imunossupressivos (Strobel *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1999; Wagenaar *et al.*, 2000).

As interações ocorridas 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 & Mertínez-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 microrganismos, o aumento da área foliar, resistência a doenças, a produção de antimicrobianos, fitohormônios, toxinas, imunossupressores, antitumorais e enzimas, a promoção de crescimento vegetal e o controle biológico de pragas (Read & Camp, 1986; Clay, 1988; West *et al.*, 1990, Stovall & Clay, 1991; Pereira, 1993; Araújo, 1996; Rodrigues & Dias Filho, 1996; Azevedo *et al.*, 2000; Strobel, 2003).

Esses fungos também podem ser de grande importância para a indústria farmacêutica, inibindo ou destruindo uma ampla variedade de agentes patogênicos como bactérias, fungos e vírus que afetam o homem e outros animais (Siqueira, 2008).

2.1.3. Transmissão e isolamento dos fungos endofíticos

Os endofíticos 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; são 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 (Espósito & Azevedo, 2004). Sua colonização pode ser intercelular e intracelular, podendo se desenvolver em qualquer tecido vegetal (Peixoto-Neto *et al.*, 2002; Schulz & Boyle, 2005; Marinho *et al.*, 2005; Johri, 2006).

A primeira etapa para o isolamento dos endofíticos é a escolha do material vegetal, tais como: folhas, caules, ramos, flores, sementes e raízes, devendo esse estar aparentemente sadio, juntamente com o emprego de técnicas eficientes de desinfestação superficial, que varia de hospedeiro para hospedeiro, dependendo da espessura da epiderme, eliminando desta forma os epifíticos (Pereira *et al.*, 1993). Plantas com folhas espessas necessitam de desinfestação superficial mais rigorosa em relação às folhas delicadas, nas quais um maior tempo de exposição aos agentes desinfetantes poderia eliminar os endófitos (Mendes & Azevedo, 2007).

Esses microrganismos podem ser isolados através das seguintes 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 (técnica mais utilizada, para isolar bactérias e fungos) (Pereira *et al.*, 1993; Araújo *et al.*, 2003), ou diretamente observados por técnicas de microscopia óptica ou eletrônica, entre os espaços intra e intercelular dos tecidos vegetais e amplificação de DNA (Schulz & Boyle, 2005).

No processo de isolamento de fungos endófitos, a esterilização 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 maioria dos fungos endofíticos pertencem ao filo Ascomycota e seus anamorfos (Hyphomycetes e Coelomycetes). Espécies de Basidiomycota e Zygomycota são pouco isolados como endofíticos (Schulz & Boyle, 2005).

2.1.4. Especificidade dos fungos endofíticos pelo hospedeiro

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

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 *et al.*, 2003). Pimentel *et al.* (2006b) demonstraram que houve diferenças significativas conforme a origem, idade e exposição solar com fungos endofíticos isolados de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.), ocorrendo uma maior quantidade desses fungos em folhas adultas e em plantas da mata.

Petrini (1986) comenta que essa diferença de intensidade e o período de exposição solar pode repercutir diretamente na população de fungos endofíticos, organismos sensíveis à radiação solar. Outro fator que pode afetar esses fungos é a umidade do ambiente. Nas matas, existe um ambiente mais úmido, e assim mais propício à sobrevivência, enquanto que, ao sol, a umidade tende a diminuir, ocorrendo assim o ressecamento das folhas (Pimentel *et al.*, 2006b). Acredita-se também, que os agentes vetores de fungos endofíticos sejam mais atuantes na mata, sob uma condição ecológica protegida de predadores (Melo & Azevedo, 1998; Pimentel *et al.*, 2006b). A maior diversidade de fungos nas folhas adultas está relacionada ao tempo de colonização do endófito (Petrini, 1991; Pereira *et al.*, 1993; Rodrigues & Samuels, 1994).

Alguns fatores podem influenciar na frequência dos fungos endofíticos, tais como: altitude, umidade, densidade de copa do hospedeiro, precipitação e o próprio hospedeiro (Kumaresan & Suryanaraynam, 2001). Espécies de fungos endofíticos isolados de regiões temperadas raramente são isoladas em regiões tropicais e vice-versa (Rodrigues & Petrini, 1997).

A grande vantagem que fungos endofíticos têm em colonizar plantas é devido aos tecidos internos proporcionarem ambiente protegido das adversidades do meio (raio

ultravioleta, chuvas, flutuações de temperatura, disponibilidade de nutrientes e competição com outros fungos) (Mcinroy & Kloepper, 1995).

Petrini *et al.* (1992) concluíram em seus estudos que diferentes tecidos vegetais são microhabitats distintos, confirmando que os fungos endofíticos não apresentam especificidade por hospedeiro, mas sim uma preferência das espécies por diferentes partes da planta. Bayman *et al.* (1998) também não observaram especificidade dos fungos pelo hospedeiro durante estudos com árvores tropicais.

Entretanto, Carroll (1988) sugere que existem fungos endófitos que apresentam especificidade por um gênero ou família, e Suryanarayanan *et al.* (1998) observaram certa especificidade por hospedeiro em alguns grupos de fungos.

Segundo Melo *et al.* (2002) todas as partes do vegetal possuem endofíticos, existindo certo grau de especificidade endófito-hospedeiro. Muitos endofíticos se comportam como patógenos das plantas de onde foram isolados, levando a pensar que parte do ciclo de vida desses patógenos seja inicialmente como endofítico (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 estressado ou senescente, ou devido a algum fator nutricional e ambiental (Blodgett *et al.*, 2000).

2.1.5. Fungos endofíticos em videiras

Estudos sobre fungos endofíticos em videiras iniciaram-se com Mostert *et al.* (2000) que isolaram 15 endófitos de brotos e folhas de *Vitis vinifera* na África, destacando-se os gêneros *Alternaria* Nees e *Sphaeropsis* Sacc. como endofíticos dominantes.

No Brasil são poucos os estudos com fungos endofíticos em videiras. Brum (2006; 2008) iniciou as pesquisas com endófitos de caules e folhas de *Vitis labrusca* var. Niagara Rosada no interior de São Paulo, identificando 39 espécies, sendo a maioria anamorfos de Ascomycota.

2.2. Classificação, origem e importância de Vitis labrusca L.

A videira pertence à família Vitaceae, que contêm dois gêneros: *Vitis* L. (produção de vinho e frutas) e *Cissus* L. (algumas espécies de interesse medicinal e ornamental) (Hidalgo, 1993; Souza, 1996; Alvarenga *et al.*, 1998).

O gênero *Vitis* contém dois subgêneros: *Muscadinea* e *Euvitis*. No subgênero *Euvitis* encontram-se duas espécies de grande importância para a agricultura, *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*, utilizadas na produção de vinho e consumo *in natura* das frutas (Giovannini, 1999).

A uva Isabel é uma das principais cultivares de *Vitis labrusca*, espécie oriunda do Sul da América do Norte de onde se difundiu para outras regiões (Rizzon *et al.*, 2000). As espécies americanas aclimatam-se bem em ambientes quentes e úmidos e de invernos rigorosos, porém, não se adaptam bem aos climas semi-áridos (Thomé *et al.*, 1999). Na década de 1850, *Vitis labrusca* cv. Isabel despertou interesse entre os viticultores europeus devido à resistência ao oídio, porém, se tratando de uma cultivar relativamente rústica e produtiva, está adaptada ao clima úmido e apresenta-se susceptível à antracnose e ao míldio (Grigoletti Jr. & Sônego, 1993).

O Brasil é o décimo quinto produtor mundial de uva, e 47,02% de uvas produzidas no país são destinadas à elaboração de vinhos, sucos e outros derivados (Mello, 2007). 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).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Áreas de coleta

As coletas das folhas de *Vitis labrusca* cv. Isabel foram efetuadas no Vale do Siriji, onde estão situados os municípios de São Vicente Férrer (07°35'27" S, 35°29'27" O) localizado a 85km do Recife, e Macaparana (07°33'17" S, 35°27'11" O) a 84km da Capital, na Zona da Mata de Pernambuco. O clima no Vale do Siriji é do tipo tropical chuvoso com verão seco.

A viticultura nessa região é tradicional e presente por cerca de 40 anos, encontrando-se em pequenas propriedades de trabalho familiar onde a viticultura é de pequena extensão aparecendo na paisagem em conjunto com a mata (áreas de maior declividade) ou podendo encontrar-se misturada ou sustentada a outras utilidades, como hortas e bananais (Falcade & Mandelli, 1999).

As coletas de folhas sadias foram procedidas no Engenho Bonito (Macaparana) com cultivos em área de aproximadamente meio hectar e seis anos de idade, e no Sítio Sebastião, com aproximadamente 2.400 m² e 21 anos de idade (São Vicente Férrer).

Os parreirais do Engenho Bonito e do Sítio Sebastião já foram acometidos por doenças fúngicas, principalmente no período chuvoso. Periodicamente utiliza-se fungicida (Cimorame M) como controlador de doenças. Os vinhedos sofrem podas trimestrais, uso de adubo orgânico (esterco) e fertilizante químico à base de nitrogênio e fósforo, auxiliando no crescimento das videiras.

3.2 Coleta do material

Durante o período de Junho/2009 a Maio/2010, foram realizadas quatro coletas, sendo duas no período de estiagem e duas no período chuvoso, nos parreirais do Sítio Sebastião (área 1) e do Engenho Bonito (área 2) (Tabela 1).

Em cada município 18 videiras sem sintomas aparentes de doenças ou injúrias foram selecionadas em três pontos aleatórios, sendo de cada espécime coletadas seis folhas sadias para o estudo. No total das coletas, foram obtidas 108 folhas, acondicionadas em sacos de papel, devidamente etiquetados e manipuladas, no tempo máximo de 24 horas.

Tabela 1. Características climáticas das áreas de coleta de folhas de videira (*Vitis labrusca* cv. Isabel) nos municípios de São Vicente Férrer e Macaparana, Vale do Siriji, Pernambuco

	Período Densidade Coleta (mês/ano) Pluviométric (mm)		Temperatura (°C)	
Coleta (mês/ano)			Máxima	Mínima
Junho/2009	Chuvoso	192,2	28,2	21,2
Outubro/2009	Estiagem	6,6	31,8	20,8
Fevereiro/2010	Estiagem	35,4	32,2	23,0
Maio/2010	Chuvoso	62,8	30,4	21,4

Fonte: Instituto de Agronomia de Pernambuco (IPA); Sistema de Monitoramento Agrometereorológico (Agritempo)

3.3. Isolamento de fungos endofíticos

No laboratório, cada folha foi cuidadosamente lavada com água corrente e sabão neutro, sem ferir as amostras. A técnica de isolamento foi por fragmentação do tecido vegetal (Araújo *et al.*, 2002). Com auxílio de um furador de rolha metálico esterilizado, discos foliares (6 mm de diâmetro) foram retirados aleatoriamente, procurando explorar maior área foliar. Posteriormente foram desinfestados em álcool 70% por 30 segundos, em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% por 2 minutos e 30 segundos, e finalmente lavados com água destilada esterilizada, por duas vezes, para retirada do excesso de hipoclorito, segundo a técnica modificada de Petrini, 1996 (Brum, 2008). Em seguida, seis fragmentos foram transferidos para cada placa de Petri, em triplicata, contendo Batata-Dextrose-Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (50mg.L⁻¹), para evitar crescimento de bactérias, incubadas em temperatura ambiente (28±2°C) e observadas diariamente por até 15 dias quanto ao desenvolvimento das colônias fúngicas ao redor do disco. Para o controle da assepsia, 50μL da água utilizada na retirada do hipoclorito foi plaqueada em BDA, como comprovação da desinfestação superficial (Pereira *et al.*, 1993). À medida que surgiam as colônias eram transferidos pequenos fragmentos de micélio para tubos de

LIMA, T.E.F. Micobiota endofítica de Vitis labrusca L. cv. Isabel

ensaio contendo meio BDA, objetivando sua purificação, para posterior identificação

(Souza et al., 2004).

3.4. Identificação dos fungos endofíticos

A identificação em nível de gênero e espécie foi realizada com amostras de fungos

purificados. Quando necessário, utilizou-se a técnica de cultivo em lâmina (Riddell, 1950).

A identificação das espécies foi baseada em características macro e microestruturais com

base na literatura especializada (Ellis, 1971; 1976; Sutton, 1980; Sivanesan, 1984; Barnett

& Hunter, 1986; Domsch et al., 1993), entre outras.

3.5. Análises ecológicas

3.5.1. Frequência de ocorrência das espécies

A frequência de ocorrência das espécies fúngicas foi calculada segundo Araújo et al.

(2002), pela fórmula: $\mathbf{F} = \mathbf{P} \mathbf{x} \mathbf{100/p}$, onde: $\mathbf{F} = \mathbf{f} \mathbf{r} \mathbf{e} \mathbf{q} \mathbf{u} \mathbf{\hat{e}} \mathbf{n} \mathbf{c} \mathbf{i} \mathbf{a}$ de espécies

fúngicas; $P = n^{\circ}$ de fragmentos foliares com crescimento fúngico da espécie; $p = n^{\circ}$ total de

fragmentos foliares plaqueados.

Os resultados, expressos em porcentagem, foram enquadrados nas seguintes categorias:

♦ **Muito Frequente**, quando: $\ge 10\%$

♦ **Frequente**, quando: $< 10 \ge 5\%$

♦ **Pouco frequente**, quando: $<5\% \ge 1\%$

♦ **Esporádica**, quando: < 1%

21

3.5.2. Índice de Similaridade

Para o cálculo da similaridade entre espécies de fungos endofíticos das duas áreas de estudo (São Vicente Férrer e Macaparana) foi utilizado o Coeficiente de Similaridade de Sørensen (1948): $\mathbf{Ss}=(2\mathbf{w}/\mathbf{a}+\mathbf{b})\mathbf{x}\mathbf{100}$, onde: $\mathbf{w}=\mathbf{n}^{\circ}$ de espécies comuns às duas áreas; $\mathbf{a}=\mathbf{n}^{\circ}$ total de espécies ocorrentes na área 1; $\mathbf{b}=\mathbf{n}^{\circ}$ total de espécies ocorrentes na área 2.

Para o cálculo da similaridade das espécies de fungos endofíticos entre os períodos de coletas (chuvoso e estiagem) também foi utilizado o Coeficiente de Similaridade de Sørensen (1948). Sendo: $\mathbf{w} = \mathbf{n}^{\circ}$ de espécies comuns aos dois períodos; $\mathbf{a} = \mathbf{n}^{\circ}$ total de espécies ocorrentes no período chuvoso; $\mathbf{b} = \mathbf{n}^{\circ}$ total de espécies ocorrentes no período de estiagem.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Fungos endofíticos isolados de folhas de Vitis labrusca cv. Isabel

Das quatro coletas realizadas de folhas sadias de *Vitis labrusca* cv. Isabel e dos 144 discos foliares inoculados em meio de cultura, foram obtidos 424 isolados de fungos endofíticos, pertencentes a 40 espécies (Tabela 2). Brum (2008), realizando estudos com fungos endofíticos de folhas e caules de *Vitis labrusca* var. Niagara Rosada no interior paulistano (clima tropical de altitude), isolou 39 espécies de fungos endofíticos a partir de 275 fragmentos. Mostert *et al.* (2000) obtiveram 15 espécies de fungos endofíticos a partir de 1705 fragmentos de brotos e folhas de *Vitis vinifera* do Sul da África (clima mediterrâneo).

As espécies de fungos endofíticos isoladas estão distribuídas em três grupos: Anamorfos (64,62%), Ascomycota (18,40%) e Zygomycota (0,47%) (Figura 1). Alguns isolados fúngicos que não produziram estruturas reprodutivas, mesmo em diferentes meios de cultivo, e permaneceram na forma micelial foram considerados Mycelia sterilia (16,51%).

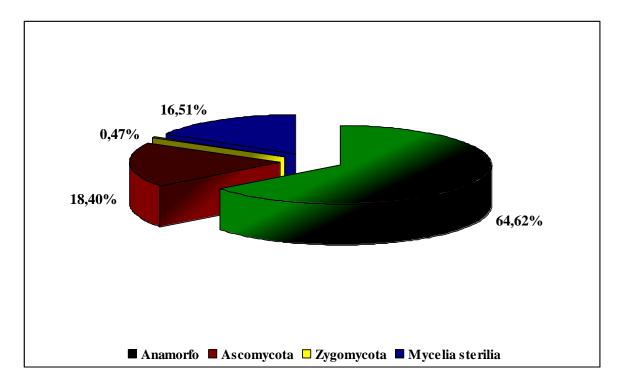


Figura 1. Porcentagem dos grupos de fungos endofíticos isolados de folhas de *Vitis labrusca* cv. Isabel no Vale do Siriji, Pernambuco, em quatro coletas realizadas nos municípios de Macaparana e São Vicente Férrer em 2009/2010

Verificou-se um total de 26 gêneros de fungos endofíticos, sendo *Nigrospora* (26,18%) e *Glomerella* (10,61%) os mais frequentes (Figura 1).

Os fungos anamorfos (forma assexual), predominantes neste estudo, são importantes decompositores de substratos foliares (Grandi & Silva, 2006). Os Ascomycota foram representados apenas por quatro gêneros, com dominância de *Colletotrichum* (anamorfo de *Glomerela*). Os Zygomycetes, representados em menor frequência em folhas de *V. labrusca* cv. Isabel, apresentam gêneros mencionados na literatura como endofíticos: *Syncephalastrum* (Rubini *et al.*, 2005) e *Mucor* (Stamford *et al.*, 1998; Bastos *et al.*, 2004; Von Müller & Silva, 2005).

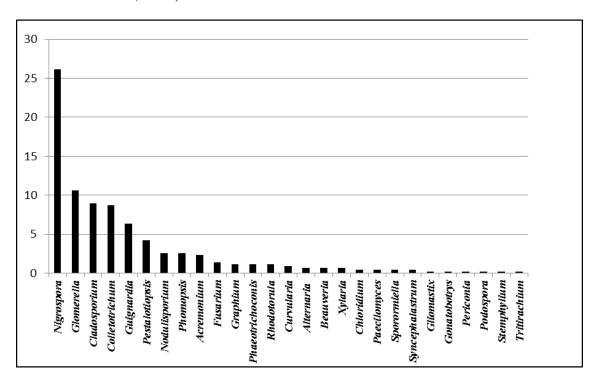


Figura 2. Frequência de ocorrência dos 27 gêneros de fungos endofíticos isolados em folhas de *Vitis labrusca* cv. Isabel, nas quatro coletas realizadas nos municípios de Macaparana e São Vicente Férrer (Vale do Siriji, Pernambuco) em 2009/2010

Tabela 2. Espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de *Vitis labrusca* cv. Isabel nas quatro coletas realizadas no Vale do Siriji (São Vicente Férrer e Macaparana), Pernambuco

Fungos endofíticos isolados	Nº isolados
Acremonium bacillisporum (Onions & G. L. Barron) W. Gams	10
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	03
Beauveria bassiana (BalsCriv.) Vuill.	03
Chloridium virescens var. chlamydosporum (J.F.H. Beyma) W. Gams & HolJech.	02
Cladosporium cladosporioides (Fresen.) G.A. de Vries.	25
Cladosporium oxysporum Berk. & Curt.	08
Cladosporium sphaerospermum Penz.	01
Cladosporium tenuissimum Link	04
Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc.	34
Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara	01
Colletotrichum musae (Berk & M.A.Curtis) Arx.	02
Curvularia eragrostidis (P. Henn.)	01
Curvularia lunata var. aeria (Bat., J.A. Lima & C.T. Vasconc.) M.B. Ellis	02
Curvularia pallescens Boedijn	01
Fusarium lateritium Nees.	02
Fusarium solani (Mart.) Sacc.	04
Gliomastix murorum (Corda) S. Hughes	01
Glomerella cingulata (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk	45
Gonatobotrys simplex Corda	01
Graphium putredinis (Corda) S. Hughes	05
Guignardia bidwellii (Ell.) Viala & Ravaz	27
Nigrospora oryzae (Berkeley & Broome) Petch	79
Nigrospora sphaerica (Sacc.) Mason	32
Nodulisporium gregarium (Berk. & Curt.) J. A. Meyer	11
Paecilomyces marquandii (Masse) Hughes	01
Paecilomyces variotii Bainier	01
Periconia atropurpurea (Berk. & M.A. Curtis) M.A. Litv.	01
Pestalotiopsis maculans (Corda) Nag Raj	18
Phaeotrichoconis crotalariae (M.A. Salam & P.N. Rao) Subram.	05
Phomopsis archeri B. Sutton	11
Podospora sp.	01
Rhodotorula acheniorum (Buhagiar & J.A. Barnett) Rodr. Mir.	01
Rhodotorula glutinis (Fresen.) F.C. Harrison	01
Rhodotorula aurantiaca (Saito) Lodder	01
Rhodotorula mucilaginosa (A.Jörg.) F.C. Harrison	02
Sporormiella minima (Auersw.) S.I. Ahmed & Cain	02
Stemphylium vesicarium (Wallr.) E. Simmons	01
Syncephalastrum racemosum Cohn ex J. Schröt.	02
Tritirachium oryzae (Vincens) de Hoog	01
Xylaria sp.	03
Mycelia sterilia	68
Total	424

Acremonium, Colletotrichum, Guignardia, Nodulisporium, Pestalotiopsis, Phomopsis, Sporomiella e as espécies Alternaria alternata, Cladosporium cladosporioides, Fusarium solani, Glomerella cingulata, Nigrospora oryzae e N. sphaerica já haviam sido isolados como endofíticos de Vitis vinifera e V. labrusca var. Niagara Rosada (Mostert et al., 2000; Brum, 2006; 2008).

Algumas espécies, como *Colletotrichum gloeosporioides* = *Glomerella cingulata* e *Guignardia bidwellii*, isoladas de folha de *V. labrusca* cv. Isabel são consideradas fitopatogênicas para a viticultura. Estas podem habitar em equilíbrio, vivendo endofiticamente nos tecidos da videira. A podridão da uva madura é causada por *C. gloeosporioides*, espécie que tem sido isolada endofiticamente de diversas plantas (Brum, 2008). *Guignardia bidwellii* é citada como agente da podridão da videira ou podridão negra, que incide sobre as folhas novas e frutos a partir do florescimento até o início da maturação, destruindo a colheita de frutos (Dias *et al.*, 1998; Hoffman *et al.*, 2002).

Acremonium é um gênero cosmopolita que está associado a diversos substratos, sendo algumas de suas espécies responsáveis por colonizar espaços intercelulares de folhas e produzir alcalóides que diminuem a herbivoria e que beneficiam as plantas (Kiffer & Morelet, 1997). Também é agente de controle biológico de fungos fitopatogênicos. Espécies do gênero foram isoladas como endofíticas de diferentes vegetais: mandioca (Manihot esculenta Crantz) (Freire & Bezerra, 20010), Rhizophora L. (Kumaresan & Suryanarayanan, 2002), soja (Glycine max L.) (Pimentel et al., 2006a); erva-mate (Ilex paraguariensis A. St. Hil.) (Pimentel et al., 2006b). Segundo Kuboctová & Dvrák (2005), Acremonium bacillisporum é uma espécie entomopatogênica.

Alternaria é um gênero sapróbio ou parasita de plantas com distribuição cosmopolita (Silva & Melo, 1999; Rosa et al., 2009). Alternaria alternata apresenta conídios pigmentados e multicelulares, com resistência às condições adversas (Stone et al., 1996). A. alternata é citada na literatura como endofítica de diferentes vegetais: tabaco (Nicotiana tabacum L.) (Norse, 1992); Rhizophora L. (Kumaresan & Suryanarayanan, 2002), mangueira (Mangifera indica L.) (Johnson et al., 1992; Freire & Bezerra, 2001), sementes de caupí (Vigna unguiculata L.) (Rodrigues & Menezes, 2002).

Beauveria bassiana, espécie entomopatogênica utilizada no controle biológico de insetos, tem ocorrência cosmopolita, sendo frequente tanto sobre insetos quanto em amostras de solo, onde pode subsistir por longo tempo como sapróbio (Alves, 1998). Como

endofítica foi utilizada na proteção contra a broca do colmo do milho (*Zea mays* L.) (Wagner & Lewis, 2000). Oller-Lopez *et al.* (2005) observou que isolados desse fungo podem produzir substâncias precursoras de antibióticos.

Espécies de *Chloridium* são descritas como endofíticas de Bromeliaceae (Petrini & Dreyfuss, 1981), *Euterpe oleracea* Mart. (palmeira) (Rodrigues, 1994) e *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman ex Moldenke (Costa, 2003). *C. virescens* var. *chlamydosporum*, como endofítico de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, apresenta potencial produção de moléculas bioativas (Kharwar *et al.*, 2008).

Cladosporium é um fungo habitante de superfície foliar e interior de folhas jovens e maduras (Sadaka & Ponge, 2003). Clasdosporium cladosporioides é atuante na decomposição da matéria orgânica (Ellis, 1976; Samson et al., 2000). C. cladosporioides foi isolada de diversos vegetais como endófito: folhas de Heliconia spp. (Pereira, 1993), Coffea arabica L. (Chaves et al., 2002), dentre outros. C. oxysporum foi isolada como endofítico de sementes de Vigna unguiculata (Rodrigues & Menezes, 2002) e C. tenuissimum como endófito de folhas de Eucalyptus nitens H. Deane & Maiden (Fisher et al., 1993).

Colletotrichum é um gênero predominante como endofítico de diferentes plantas (Pileggi, 2006). Colletotrichum gloeosporioides, agente causador de antracnoses (Shabi & Katan, 1983), foi isolada como endofítico de bromeliáceas (Petrini & Dreyfuss, 1981), mangueira (Johnson et al., 1992; Freire & Bezerra, 2001), palmeira (Euterpe oleracea) (Rodrigues & Samuels, 1999), cajueiro (Anacardium occidentale L.), aceroleira (Malpighia glabra L.), mandioca, romanzeiro (Punica granatum L.), umbuzeiro (Spondias tuberosa Arruda), mamoneira (Ricinus communis L.), carnaubeira (Copernicia prunifera (Miller) H. E. Moore) (Freire & Bezerra, 2001), Rhizophora (Kumaresan & Suryanarayanan, 2001), Citrus L. (Araújo et al., 2001; Durán et al., 2005), Musa L. (Photita et al., 2001), sementes de caupí (Rodrigues & Menezes, 2002), Theobroma cacao L. (Rubini et al., 2005), entre outros. C. lindemuthianum é um agente da antracnose em feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) (Jerba et al., 2005), foi encontrada como endofítico em folhas de Juncus bufonius L. na Argentina (Menendez et al., 1995). C. musae, que segundo Menezes (2002) é específica de espécies de Musa e causadora de antracnose em bananeiras, foi isolada em folhas de V. labrusca cv. Isabel. Este fato pode ser decorrente de plantações de bananeiras nas proximidades da área de estudo.

Curvularia é um gênero que apresenta espécies sapróbias ou fitopatógenas, sendo isolada do ar, plantas e animais (Freire et al., 1998). Curvularia eragrostidis foi observada causando lesões em brácteas de inflorescências de Tapeinochilus ananassae K. Schum. (Furtado et al., 2007). Curvularia lunata var. aeria foi isolada como endofítica de Smallanthus sonchifolius (Asteraceae) (Gallo et al., 2007). C. pallescens foi isolada de difentes vegetais: bromeliáceas (Petrini & Dreyfuss, 1981), Rhizophora (Kumaresan & Suryanarayanan, 2001; Kumaresan & Suryanarayanan, 2002), caupí (Rodrigues & Menezes, 2002) e plantas medicinais (Raviraja, 2005).

Fusarium, fungo cosmopolita, apresenta espécies isoladas do solo e vegetais, estando associado a doenças em frutíferas (Mota & Gasparotto, 1998; Ventura & Costa, 2006). Segundo Vu et al. (2006), F. lateritium foi isolada como endofítico de ramos de Salix fragilis L. e Quercus robur L. no Sul da Inglaterra (Petrini & Fisher, 1990), da Asteraceae Gynoxis oleifolia (Fisher et al., 1995) e de folhas de Laguncularia racemosa (Costa, 2003). F. solani, habitante do solo, tem ocorrido em partes aéreas de plantas tropicais. Foi isolada endofiticamente de palmeiras (Rodrigues & Samuels, 1990), cajueiros (Freire & Bezerra, 2001) e cana-de-açúcar (Saccharum L.) (Von Mühlen & Silva, 2005).

Gliomastix murorum é um fungo amplamente distribuído, isolado em solo, água e vegetais, não sendo considerado patógeno. Apresenta grande papel biotecnológico segregando um fenol oxidase com viável utilização em indústrias químicas de alvejante de roupas e podendo estar associado na produção de alfa manoxidase, importante no setor farmacêutico (Gouka *et al.*, 2001; Aritajat *et al.*, 2005). Foi encontrada como endofítica em gramíneas (Márquez, 2009).

Glomerella cingulata (Anamorfo: Colletotrichum gloeosporioides) está associada a doenças em diversos tipos de plantas tropicais e subtropicais, principalmente frutíferas (Muniz, 1998). Como espécie endofítica apresentou alta frequência de isolamento em pesquisas com folhas de soja na Argentina (Larran et al., 2002), sendo encontrada também em bromeliáceas (Petrini & Dreyfuss, 1981) e orquidáceas (Bayman et al., 1997).

Gonatobotrys simplex é reportada em diversos países em coletas de folhas e troncos de Angiospermas e de solo do deserto (Walker & Minter, 1981). G. simplex está sendo mencionada pela primeira vez como endofítica em plantas tropicais e em videiras.

Graphium sp. foi mencionado em troncos de videiras (*V. vinifera* e *V. labrusca*) com apodrecimento de madeira, podendo ser saprofítico (Garrido *et al.*, 2004). *Graphium* sp.

foi isolado como endofítico de *Euterpe oleracea* (Rodrigues, 1994), carnaubeira e mandioca (Freire & Bezerra, 2001). Tothill *et al.* (1998) caracterizou *G. putredinis* como sendo um produtor de enzimas celulolíticas extracelulares capaz de degradar a celulose. *G. putredinis* está sendo citada pela primeira vez como endofítica em plantas tropicais e em videiras.

Guignardia apresenta-se como sapróbio ou semiparasita de folhas (Sivanesen, 1984), sendo as espécies deste gênero identificadas principalmente através de sua especificidade com o hospedeiro (Punithalingam, 1981). Guignardia apresenta-se como um dos fungos endofíticos mais isolados de vegetais tropicais (Corrêa, 2008). Espécies de Guignardia foram isoladas de orquidáceas (Petrini & Dreyfuss, 1981), Citrus (Araújo et al., 2001; Durán et al., 2005), Musa (Photita et al., 2001), carnaubeira, cajueiro, mangueira, sirigueleira (Spondias purpurea L.), umbuzeiro, aceroleiro, romanzeiro, azeitona (Syzygium jambolanum (Lam.) D.C.) (Freire & Bezerra, 2001), Laguncularia racemosa L. C.F. Gaertn, Rhizophora mangle L. (Costa, 2003), plantas amazônicas (Souza et al., 2004), cafeeiros (Santamaría & Bayman, 2005), entre outras plantas tropicais (Azevedo et al., 2000; Souza et al. 2004; Schulz & Boyle, 2005). G. bidwellii foi a espécie endofítica mais isolada em folhas da planta medicinal Borreria verticillata (L.) G. Mey (Conti, 2007).

Nigrospora é um fungo decompositor que apresenta ação lignolítica, sendo abundante sua ocorrência em vegetais senescentes (Koide et al., 2005). Nigrospora oryzae foi um endófito muito frequente em folhas sadias de roseiras (Rosa hybrida L.) na Colômbia (Salazar & Garcia, 2005). Também foi isolado de Rhizophora (Suryanarayanan et al., 1998), mangueira (Johnson et al., 1992), palmeiras (Licuala sp.) (Fröhlich et al., 2000); cajueiro (Freire & Bezerra, 2001) e gravioleira (Annona L.) (Silva et al., 2006). N. sphaerica foi isolada como endofítica em Euterpe oleracea (Rodrigues, 1994) e sementes de caupí (Rodrigues & Menezes, 2002).

Nodulisporium gregarium, anamorfo de Xylariaceae, é comumente encontrada nos trópicos em madeira. Como endofítico foi isolado de bromeliáceas e orquidáceas (Petrini & Dreyfuss, 1981), *Rhizophora* e *Avicennia* L. (Costa, 2003).

Paecilomyces apresenta espécies entopatogênicas com potencial no controle de insetos (Alves, 1998). P. marquandii, comumente isolada do solo, pode produzir metabólitos vertinóides com atividade antibiótica (Takahashi & Lucas, 2008). P. marquandii está sendo citada pela primeira vez como fungo endofítico em videiras. P. variotii é uma

espécie sapróbia isolada de diferentes substratos, apresentando propriedades antifúngica e biodeteriorativa, como também patogenicidade em homens e animais (paecilomicoses) (Samson, 1974). *Paecilomyces* sp. foi isolado como endofítico de folhas de erva-mate (Pimentel *et al.*, 2006b) e Cao *et al.* (2002) isolaram *Paecilomyces* spp. em raíz de *Musa acuminata* Simm. & Shep., na China.

Periconia está associado a vegetais terrestres e aquáticos (Yanna et al., 2002; Cao et al., 2002), sendo citado como fitopatógeno ou endofítico (Romero et al., 2001), apresentando espécies capazes de produzir atividade antibiótica contra bactérias (Kim et al., 2004). Periconia sp. foi isolada endofiticamente de plantas de manguezal (Kumaresan et al., 2002; Suryanarayanan et al., 2000) e de Parthenium hysterophorus L. (Romero et al., 2001). P. atropurpurea foi isolada como endofítica de Xylopia aromatica (Lam.) Mart., planta nativa do cerrado brasileiro, apresentando potencial contra os fungos fitopatogênicos Cladosporium cladosporioides e C. shaerospermum (Teles et al., 2006).

Pestalotiopsis, gênero com ampla distribuição mundial, pode ocorrer em vários substratos (Wang et al., 2005). Espécies deste gênero são em sua maioria fitopatogênicas, mas podem apresentar-se como sapróbias (Zhang et al., 2003; Tang et al., 2003). Como endofítica, Pestalotiopsis sp. foi isolada de Euterpe oleracea (Rodrigues & Samuels, 1990; Rodrigues, 1991), Rhizophora sp. (Kumaresan & Suryanarayanan, 2002), Musa sp. (Photita et al., 2001) e umbuzeiro (Freire & Bezerra, 2001).

Phaeotrichoconis crotalariae é um demateáceo com longo apêndice descrito originalmente em folhas de *Crotalaria verrucosa* L. (Ellis, 1971). Foi isolada como endofítico de folhas de carnaubeira (Freire & Bezerra, 2001).

Podospora é da família Sordariaceae com espécies que apresentam ascósporos providos de até dois tipos de apêndices. Gênero saprofítico e predominantemente coprófilo (Mirza & Cain, 1969). Espécies de *Podospora* foram isoladas como endofíticos em gramíneas na cidade de Salamanca e identificadas através de biologia molecular (Márquez, 2009).

Phomopsis é comumente isolado como endofítico, porém estando na maioria das vezes identificado ao nível de gênero (Costa, 2003). Phomopsis sp. é citado como endófito em plantas tropicais por diversos autores (Petrini & Dreyfuss, 1981; Rodrigues & Samuels, 1990; Rodrigues, 1991; Bills et al., 1992; Fisher et al., 1993; Pereira et al., 1993; Rodrigues, 1994; Fisher et al., 1995; Rodrigues & Dias-Filho, 1996; Southcott & Johnson, 1997; Suryanarayanan et al., 1998; Rodrigues & Samuels, 1999; Fröhlich et al., 2000;

Suryanarayanan *et al.*, 2000; Suryanarayanan & Kumaresan, 2000; Freire & Bezerra, 2001; Gamboa & Bayman, 2001; Kumaresan & Suryanarayanan, 2001; Photita *et al.*, 2001; Cannon & Simmons, 2002; Kumaresan & Suryanarayanan, 2002; Kumaresan *et al.*, 2002; Rodrigues & Menezes, 2002; Souza *et al.*, 2004; Rubini *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2006; Suryanarayanan & Murali, 2006; Magalhães *et al.*, 2008). *Phomopsis archeri* foi isolada de folhas de *Avicennia* L. e *Laguncularia* L. (Costa, 2003).

Leveduras endofíticas são de difícil identificação em nível de espécie, sendo as basidiomicéticas, com pigmento carotenóide, do gênero *Rhodotorula* encontradas endofiticamente. *Rhodotorula glutinis* foi isolada como endofítica de gramíneas e identificada através de sequenciamento molecular (Márquez, 2009). Gai *et al.* (2000) identificaram a mesma levedura em *Citrus* spp. por meio de microscopia eletrônica de varredura e análise por marcadores de RAPD. *Rhodotorula* sp. tem sido isolada de sucos concentrados de uvas (Deak & Baeuchat, 1993). *Rhodotorula acheniorum* e *R. aurantiaca* estão sendo citadas pela primeira vez como endofíticas de videiras.

Sporormiella minima é um fungo coprófilo, importante reciclador de nutrientes no ecossistema, isolado em esterco (Piontelli *et al.*, 2006), solo (Davis & Shafer, 2006), madeira, folhas em decomposição (Barr, 2000), e como endofítico de diferentes vegetais: *Gynoxis oleifolia* Muchler (Fisher *et al.*, 1995), *Stylosanthes* Sw. (Pereira *et al.*, 1993), *Rhizophora* sp. (Kumaresan & Suryanarayanan, 2001; Suryanarayanan & Kumaresan, 2000; Kumaresan & Suryanarayanan, 2002; Costa, 2003).

Stemphylium é um gênero descrito em vários substratos naturais e com bom desenvolvimento em meio de cultura (Simmons, 1969). Márquez (2009) isolou *S. solani* como endofítico de gramíneas e Menendez *et al.* (1995) isolaram *Stemphylium* spp. de folhas de *Juncus* L. na Argentina. *S. vesicarium* foi isolada endofiticamente de folhas e tronco de *Suaeda fruticosa* Forssk. ex J. F. Gmelin (Fisher & Petrini, 1987).

Syncephalastrum é um Zygomycota (Mucolares) que apresenta merosporângio como característica do gênero (Schipper & Stalpers, 1983). Syncephalastrum é um gênero reportado como endófito de *Theobroma cacao* L. (Rubini *et al.*, 2005) e *Zea mays* (Pimentel *et al.*, 2002).

Tritirachium é um gênero que habita o solo e material vegetal em decomposição, podendo vir ser um entomopatógeno (Prezant *et al.*, 2008). *Tritirachium* sp. foi isolada de

folhas de *Picea abies* L. (Lorenzi *et al.*, 2006) e *Tritirachium oryzae* de *Musa* spp. (Assunção, 2010).

Xylaria contém espécies sapróbias (Carrol & Petrini, 1983). É um dos fungos mais isolados como endofítico de regiões tropicais, sendo complicada sua identificação em nível de espécie por ser difícil de esporular em meio de cultura (Davis *et al.*, 2003). Diversos autores citam em suas pesquisas espécies endofíticas de *Xylaria* em diferentes hospedeiros de plantas tropicais: Rodrigues & Samuels (1990); Rodrigues (1991); Pereira *et al.* (1993); Rodrigues (1994); Lodge *et al.* (1996); Fisher *et al.* (1995); Rodrigues & Dias-Filho (1996); Bayman *et al.* (1997); Bayman *et al.* (1998); Fröhlich *et al.* (2000); Gamboa & Bayman (2001); Souza *et al.* (2004); Rubini *et al.* (2005); Santamaría & Bayman (2005); Suryanarayanan & Murali (2006); Novas & Camarán (2008); Magalhães *et al.* (2008).

4.2. Fungos endofíticos isolados por áreas de coletas

Durante os períodos de coleta na Região do Vale do Siriji, nos municípios de Macaparana e São Vicente Férrer, obteve-se o maior número de isolados de fungos endofíticos nas videiras de Macaparana (58,73%), em relação às videiras de São Vicente Férrer (41,27%). Das 40 espécies de fungos endofíticos identificados, 30 espécies foram isoladas no Sítio Sebastião (São Vicente Férrer) e 23 no Engenho Bonito (Macaparana) (Tabela 3).

Um dos fatores para o maior isolamento de fungos endofíticos em folhas sadias de videiras no Engenho Bonito (Macaparana) pode estar relacionado com a baixa exposição solar decorrente do grande bananal próximo da cultura, enquanto que no Sítio Sebastião (São Vicente) o parreiral está sujeito a uma maior exposição à radiação solar, não havendo consórcio com outras frutíferas.

Pimentel *et al.* (2006b), estudando fungos endofíticos de folhas de erva-mate obtiveram um maior número de isolados endofíticos em folhas de erval nativa, encontradas na mata e protegidas da radiação solar em ambiente úmido e sombreado, quando comparadas a erval cultivadas sujeitas a maior exposição solar. Segundo Petrini (1986), fungos endofíticos são organismos sensíveis à radiação solar.

A similaridade, comparada pelo Índice de Sorensen, entre os fungos endofíticos nas duas áreas de estudo (Engenho Bonito e Sítio Sebastião) foi de 49,06%, indicando que praticamente não diferem.

As espécies de fungos endofíticos mais frequentes nos parreirais do Engenho Bonito (Macaparana) foram: *Nigrospora oryzae* (19,28%), *Glomerella cingulata* (14,06%), *N. sphaerica* (12,06%), *Colletotrichum gloeosporioides* (11,66%) e *Cladosporium cladosporioides* (6,84%). Nos parreirais do Sítio Sebastião (São Vicente) os fungos endofíticos: *N. oryzae* (17,71%), *Guignardia bidwellii* (8,57%) e *Cladosporium cladosporioides* (8%) foram os mais frequentes (Tabela 3). Brum (2008) também obteve *C. gloeosporioides* como uma das espécies mais frequentes em *V. labrusca* var. Niagara Rosada.

Tabela 3. Frequência de ocorrência das espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de *Vitis labrusca* cv. Isabel nas áreas de coleta no Vale do Siriji, Pernambuco

	Áreas de coleta			
Fungos endófitos	Macaparana	São Vicente		
_	(%)	(%)		
Acremonium bacillisporum	1,60	3,43		
Alternaria alternata	1,20	0,00		
Beauveria bassiana	0,40	1,15		
Chloridium virescens var. chlamydosporum	0,00	1,15		
Cladosporium cladosporioides	6,84	8,00		
Cladosporium oxysporum	0,00	4,57		
Cladosporium sphaerospermum	0,00	0,57		
Cladosporium tenuissimum	0,00	2,28		
Colletotrichum gloeosporioides	11,66	2,87		
Colletotrichum lindemuthianum	0,00	0,57		
Colletotrichum musae	0,80	0,00		
Curvularia eragrostidis	0,40	0,00		
Curvularia lunata var. aeria	0,00	1,15		
Curvularia pallescens	0,40	0,00		
Fusarium lateritium	0,80	0,00		
Fusarium solani	1,20	0,57		
Gliomastix murorum	0,00	0,57		
Glomerella cingulata	14,06	5,71		
Gonatobotrys simplex	0,40	0,00		
Graphium putredinis	2,00	0,00		
Guignardia bidwellii	4,82	8,57		
Nigrospora oryzae	19,28	17,71		
Nigrospora sphaerica	12,06	1,15		
Nodulisporium gregarium	0,80	5,14		
Paecilomyces marquandii	0,40	0,00		
Paecilomyces variotii	0,00	0,57		
Periconia atropurpurea	0,00	0,57		
Pestalotiopsis maculans	4,42	4,00		
Phaeotrichoconis crotalariae	0,40	2,28		
Phomopsis archeri	2,00	3,43		
Podospora sp.	0,40	0,00		
Rhodotorula acheniorum	0,00	0,57		
Rhodotorula aurantiaca	0,40	0,00		
Rhodotorula glutinis	0,00	0,57		
Rhodotorula mucilaginosa	0,00	1,15		
Sporormiella minima	0,00	0,57		
Ŝtemphylium vesicarium	0,00	0,57		
Syncephalastrum racemosum	0,00	1,15		
Tritirachium oryzae	0,00	0,57		
Xylaria sp.	0,00	1,71		
Mycelia sterilia	13,26	17,13		

4.3. Fungos endofíticos isolados por períodos de coletas

Relacionando o número de isolamentos quanto à sazonalidade, foi verificado maior número de isolados fungos endofíticos de folhas sadias de *V. labrusca* no período chuvoso (53,77%), quando comparado ao período de estiagem (46,23%). Dos 40 fungos endofíticos identificados, 30 espécies ocorreram no período de estiagem e 24 espécies no período chuvoso (Tabela 4).

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 endofíticos pode ser influenciado pela sazonalidade, concordando com Assunção (2010), que estudando fungos endófitos em *Musa* spp., obteve um maior número de isolados endofíticos durante o período chuvoso.

Nigrospora oryzae (21,49%), Glomerella cingulata (12,71%), Colletotrichum gloeosporioides (9,21%), N. spherica (7,46%) e Pestalotiopsis maculans (7,45%) foram as espécies mais encontradas no período chuvoso. No período de estiagem foram mais presentes as espécies: Nigrospora oryzae (15,30%), Cladosporium cladosporioides (8,16%), Glomerella cingulata (8,24%) e Colletotrichum gloeosporioides (6,63%) (Tabela 4).

A similaridade entre os fungos endofíticos nos períodos de estudo (chuvoso e estiagem) foi de 56%, indicando que mais da metade das espécies de fungos endofíticos isoladas são comuns aos dois períodos de estudo, não diferindo entre as estações.

Tabela 4. Frequência de ocorrência das espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de *Vitis labrusca* cv. Isabel nos períodos de coleta no Vale do Siriji, Pernambuco

Fungos endófitos isolados	Períodos de coleta	
	Chuvoso (%)	Estiagem (%)
Acremonium bacillisporum	1,31	3,57
Alternaria alternata	1,53	0,00
Beauveria bassiana	0,44	1,02
Chloridium virescens var. chlamydosporum	0,00	1,02
Cladosporium cladosporioides	3,95	8,16
Cladosporium oxysporum	2,63	1,02
Cladosporium sphaerospermum	0,00	0,51
Cladosporium tenuissimum	1,53	0,51
Colletotrichum gloeosporioides	9,21	6,63
Colletotrichum lindemuthianum	0,44	0,00
Colletotrichum musae	0,00	1,02
Curvularia eragrostidis	0,00	0,51
Curvularia lunata var. aeria	0,00	1,02
Curvularia pallescens	0,00	0,51
Fusarium lateritium	0,00	1,02
Fusarium solani	1,31	0,51
Gliomastix murorum	0,00	0,51
Glomerella cingulata	12,71	8,24
Gonatobotrys simplex	0,00	0,51
Graphium putredinis	2,19	0,00
Guignardia bidwellii	2,63	10,71
Nigrospora oryzae	21,49	15,30
Nigrospora sphaerica	7,46	7,65
Nodulisporium gregarium	3,95	1,02
Paecilomyces marquandii	0,44	0,00
Paecilomyces variotii	0,44	0,00
Periconia atropurpurea	0,44	0,00
Pestalotiopsis maculans	7,45	0,51
Phaeotrichoconis crotalariae	0,00	2,55
Phomopsis archeri	3,07	2,04
Podospora sp.	0,00	0,51
Rhodotorula acheniorum	0,00	0,51
Rhodotorula aurantiaca	0,44	0,00
Rhodotorula glutinis	0,00	0,51
Rhodotorula mucilaginosa	0,00	1,02
Sporormiella minima	0,88	0,00
Stemphylium vesicarium	0,44	0,00
Syncephalastrum racemosum	0,00	1,02
Tritirachium oryzae	0,00	0,51
Xylaria sp.	1,31	0,00
Mycelia sterilia	12,31	19,85

5. CONCLUSÕES

Os resultados do isolamento de fungos endofíticos de folhas sadias de *Vitis labrusca* cv. Isabel permitem concluir que:

- Em folhas sadias de *Vitis labrusca* cv. Isabel os fungos endofíticos estão representados em sua maioria pelos anamorfos;
- Nigrospora oryzae e Glomerella cingulata, destacaram-se como isolados muito frequentes em Vitis labrusca cv. Isabel;
- As áreas de coleta e os períodos de estudo (chuvoso e estiagem) não diferem significativamente quanto à similaridade;
- Os fungos endofíticos isolados de folhas de *Vitis labrusca* cv. Isabel apresentam espécies sapróbias, fitopatogênicas e entomopatogênicas;
- Gonatobotrys simplex, Graphium putredinis, Paecilomyces marquandii, Rhodotorula acheniorum e R. aurantiaca são citadas pela primeira vez como endofíticos de videira e como endofíticos em países tropicais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarenga, A.A., Abrahão, E., Regina, M.A. 1998. Origem e classificação botânica da videira. *Informe Agropecuário* 19: 5–8.
- Alves, S.B. Fungos entomopatogênicos. 1998. In: S. B. Alves. *Controle Microbiano de Insetos*. 2ª edição, Piracicaba-SP: FEALQ, pp. 289-371.
- 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. 2002. Diversity of endophytic bacterial populations and their interations 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. 2003. *Manual:isolamento de microrganismos endofíticos*. Piracicaba: CALQ, 1: 86p.
- Aritajat, S., Saenphet, K., Srikalayanukul, C. 2005. The toxicity of a crude enzyme extract from *Gliomastix murorum* in swiss albino mice. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health* 36(suppl 4): 242-245.
- 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., Lutzoni F. 2007. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots?. *Ecology* 88: 541-549.
- Assunção, M.M.C. 2010. Fungos endofíticos isolados de bananeira (Musa spp.) e seleção de antagonistas a fitopatógenos dessa cultura. Tese de Doutorado. Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, 171p.
- 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. *Eletronic 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. *Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria*. Caxias do Sul: EDUQS, pp. 235-268.
- 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 TPAinduced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacology* 30(5):771–776.
- 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.
- Barr, M.E. 2000. Notes on coprophilous bitunicate Ascomycetes. *Mycotaxon* 76: 105-112.
- Bastos, D.Z.L., Pimentel, I.C., Dykstra, C., Kania, C.E., Gabardo, J., Oliveira, B.H. 2004. Fungos associados à casaca do caule de *Platanus orientalis* L. *Revista Estudos de Biologia* 26(54): 37-41.
- Barnett, H.C., Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4nd edition, New York, Burgess. 218p.
- Bayaman, P., Lebrón, L., Tremblay, R., Lodge, D.J. 1997. Fungal Endophytes in Roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae). *New Phytologist* 135: 143-149.
- Bayaman, P., Angulosandoval, P., Baezortiz, Z., Lodge, D.J. 1998. Distribution and dispersal of *Xylaria* endophytes in two tree species in Puerto Rico. *Mycological Research* 102: 944-948.
- 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.
- Bills, G.F., J.D. Polishook. 1992. Recovery of endophytic fungi from *Chamaecyparis thyoides*. *Sydowia* 44: 1-12.
- 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.
- 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.

- Brown, K.B., Hide, K.D., Guest, D.I. 1998. Preliminary stydies on endophytic fungal communities of *Musa acuminata* species complex in Hong Kong and Australia. *Fungal Diversity* 1: 27-51.
- 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.
- Cannon, P.F., Simmons, C.M. 2002. Diversity and host preference of leaf endophytic fungi in the Iwokrama Forest Reserve, Guyana. *Mycologia* 94: 210-220.
- Cao, L.X., You, J.L., Zhou, S.N. 2002. Endophytic fungi from *Musa acuminata* leaves and roots in South China. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18(2): 169-171.
- Carroll, G.C., Carrol, 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., Petrini, O. 1983. Patterns of substrate utilization by some endophytes from *Coniferous foliage. Mycologia* 75: 75-63.
- 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. 2 nd edition, New York, Marcel Dekker. 976p.
- Chareprasert, S., Piapukiew, J., Thienhirun, S., Whaley, A.J.S., Sihanonth, P. 2006. Endophytic fungi of teak leaves *Tectona grandis* L. and rain tree leaves *Samonea saman* Merr. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22:481-486.
- Chaves, R.C., Pereira, R.T.G., Castro, H.A. 2002. Obtenção de isolados de Cladosporium com potencial de biocontrole pós-colheita. In: *Anais do Congresso de Iniciação Científica da UFLA*, Lavras: UFLA, p.191.
- Clay, K.1988. Fungal endophytes of grasses: A defensive mutualism between plant and fungi. *Ecology* 69: 2-9.
- 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.
- Conti, R. 2007. Diversidade e atividade antimicrobiana de microrganismos endofíticos da planta medicinal *Borreria verticillata* (L.) G.F.W. Meyer. Dissertação de Mestrado.

- Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, 59p.
- Corrêa, A.S. 2008. Avaliação da microbiota endofítica de citros com potencial antagônico no controle biológico de *Guignardia citricarpa*. Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, 57p
- Costa, I.P.M.W. 2003. Fungos endofíticos isolados de vegetais do manguezal do Rio Paripe, Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil. Recife, Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, 82p.
- Davis, E.C., Franklin, J.B., Shaw, A.J., Vilgalys, R. 2003. Endophytic *Xylaria* (Xylariaceae) among liverworts and angiosperms: phylogenetics, distribution, and symbiosis. *American Journal of Botany* 90: 1661-1667.
- Davis, O.K., Shafer, D. 2006. *Sporormiella* fungal spores, a palynological means of detecting herbivore density. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 237 (1): 40-50.
- Deak, T., Baeuchat, L.R. 1993. Yeasts associated with fruit juice concentrates. *Journal food Protection* 56 (9):777-782.
- Dias, M.S.C., Souza, S.M.C., Pereira, A.F. 1998. Principais doenças da videira. *Informe Agropecuário* 19 (194):76-84.
- Domsch, K. H., Gams, W., Anderson, T.H. 1993. *Compendium of soil fungi*. Verlag: IHW, 1264p.
- 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.
- Durán, L.E., Ploper, D., Ramalho, J.C., Grandi, R.A.P., Giancoli, A.C.H., Azevedo, J.L. 2005. The foliar fungal endophytes of *Citrus limon* in Argentina. *Canadian Journal of Botany* 83(4): 350-335.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 608p.
- Ellis, M.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew. England. 507p.
- Esposito, E., Azevedo, J.L. 2004. *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: Edusc, 510p.
- Falcade, I., Mandelli, F. 1999. *Vale dos Vinhedos: caracterização geográfica da região*. Caxias do Sul: EDUCS, 144p.

- Fisher, P.J., Petrini, O. 1987. Location of fungal endophytes in tissues of *Suaeda fruticosa*: a preliminary study. *Transactions of the Mycological Society of Japan* 89(2): 246-249.
- Fisher, P.J., Petrini, O., Lappin-Scott, M. 1993. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytologist* 122: 299-305.
- Fisher, P.J., Petrini, L.E., Sutton, B.C., Petrini, O. 1995. A study of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Gynoxis oleifoli* a Muchler (Compositae) from Ecuador. *Nova Hedwigia* 60: 589-594.
- Freire, S.V.P., Paiva, L.M., Lima, E.A.L., Maia, L.C. 1998. Morphological, cytological, and cultural aspects of *Curvularia pallescens. Revista de Microbiologia* 29: 3.
- Freire, F.C.O., Bezerra, J.L. 2001. Foliar endophytic fungi of Ceará State (Brazil): a preliminary study. *Summa Phytopathologica* 27(3): 304-308.
- 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.
- Furtado, D.C.M., Amorim, E.P.R., Galvão, A.L.B., Carnaúba, J.P., Oliveira, M.N. 2007. Ocorrência de *Curvularia lunata* e *Curvularia eragrostidis* em *Tapeinochilus ananassae* no estado de Alagoas. *Summa Phytopathologica* 33(2): 201.
- Gai, C.S., Maccheroni Jr, W., Araújo, W.L., Azevedo, J.L. 2000. Microscopia eletrônica de varredura para localização de leveduras endofíticas em citros (*Citrus sinensis*) e análise de variabilidade entre os isolados através de marcadores de RAPD. *In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo*, Piracicaba, SP, Brasil.
- Gallo, M.B.C., Pupo, M.T., Bastos, J.L., Nunes, A.S., Cavalcanti, B.C., Moraes, M.O., Costa-Lotufo, L.V., Pessoa, C.O. 2007. Atividade citológica de extratos de fungos endofíticos isolados de *Smallanthus sonchifolius*. *Revista Brasileira de Biociências* 5 (2): 402-404.
- Gamboa, M.A., Bayman, P. 2001. Communities of endophytic fungi in leaves of a tropical timber tree (*Guarea guidonia*: Meliaceae). *Biotrópica* 2 (33): 352-360.
- Garrido, L.R., Sônego, O.R, Gomes, V.N. 2004. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no estado do Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira* 29 (3): 322-324.
- Giovannini, E. 1999. *Produção de uvas para vinho, suco e mesa*. Porto Alegre, Renascença. 364p.

- Gond, S.K., Verma, V.C., Kumar, A. Study of endophytic fungal community from differents parts of *Argle marmelos* Correae (Rutaceae) from Varanasi (India). 2007. *Would Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 1371-1375.
- Gouka, R.J., van der Heiden, M., Swarthoff, T., Verrips, T. 2001. Cloning of a phenol oxidase gene from *Acremonium murorum* and its expression in *Aspergillus awamori*. *Applied Environmental Microbiology* 67 (6): 2610-1616.
- Grandi, R.A.P., Silva, T.V. 2006. Fungos anamorfos decompositores do folhedo de *Caesalpinia echinata* Lam. *Revista Brasileira de Botânica* 29 (2): 275-287.
- Grigoletti Jr., A., Sônego, O.R. 1993. *Principais doenças fúngicas da videira no Brasil*. Bento Gonçalves, EMBRAPA-CNPUV. 36p.
- Hallmann, J., Kloepper, J., Rodriguez-Kabana, R., Sikora, R.A. 1995. Endophytic rhizobacteria as antagonists of Meloidogyne incognita on cucumber. *Phytopathology* 85:1136.
- 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.
- 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.
- Jerba, V.F., Rodella, R.A., Furtado, E.L. 2005. Relação entre a estrutura foliar de feijoeiro e a pré-infecção por *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40 (3): 217-223.
- Johri, B.N. 2006. Endophytes to the rescue of plants! Current Science 90 (10): 1315-1316.
- Johnson, G.I., Mead, A.J., Cooke, A.W., Dean, J.R. 1992. Mango stem and rot pathogens Fruit infection by endophytic colonisation of inflorescence and pedicel. *Annual Applied Biology* 120: 225-234.
- Kharwar, R.N., Verma, V.C., Strobel, G., Ezra, D. 2008. The endophytic fungal complex of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Current Science* 95(2): 228-233.
- Kiffer, E., Morelet, M. 1997. Les deutéromycètes classification et clés d'identification générique. Louis-Jean France. 273p.

- Kim, S., Shin, D.S., Lee, T., Oh, K.B. 2004. Periconicins, two new fusicoccane diterpenes produced by an endophytic fungus *Periconia* sp. with antibacterial activity. *Journal of Natural Products* 67: 448-450.
- Kogel, K.H., Franken, P., Hückelhoven, R. 2006. Endophyte or parasite what decides? *Current Opinion in Plant Biology* 9: 358-363.
- Koide, K., Osono, T., Takeda, H. 2005. Fungal succession and decomposition of *Camellia japonica* leaf litter. *Ecological Research* 20: 599-609.
- Kubátavotá, A., Dvorák, L. 2005. Entomopathogenic fungi associated with insect hibernating in underground shelters. *Czech Mycology* 57: (3-4): 221-237.
- Kumaresan, V., Suryanarayanan, T.S. 2001. Ocorrence and distribuition 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.
- Kumaresan, V., Suryanarayanan, T.S., Jonhson, J.A. 2002. Ecology of mangrove endophytes. *In:* Hyde, K.D. (ed.) *Fungi of Marine Environments*. Fungal Diversity Research Series 7, Fungal Diversity Press, Hong Kong, pp.145-166.
- Larran, S., Mónaco, C., Alipi, H.E. 2001. Endophytic fungi in leaves of *Lycopersicon esculentum* Mill. *World Journal of Microbiology and Biotecnology* 17: 181-184.
- Larran, S., Rollán, C., Ángeles, H.B., Alippi, H.E., M.I. Urrutia, M.I. 2002. Endophytic fungi in healthy soybean leaves. *Investimento na Agricultura e Proteção Vegetal* 17 (1): 173-178.
- 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.
- Lodge, D.J., Fisher, P.J., Sutton, B.C. 1996. Endophytic fungi of *Manilkara bidentata* leaves in Puerto Rico. *Mycologia* 5 (88): 733-738.
- Lorenzi, E., Lorando, E., Picco, A.M. 2006. Microfunghi endofitici ed epifitici di *Picea abies* (L.) Karst. in ambiente naturale ed antropizzato in Lombardia. *Forest*@ 3 (3): 426-436.
- Magalhães, W.C.S., Missagia, R.V., Costa, F.A.F., Costa, M.C.M. 2008. Diversidade de fungos endofíticos em candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish. *Cerne* 14 (3): 267-273.
- Maki, C.S. 2006. Diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos do cacau (*Theobroma cacao* L.). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 127p.
- 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.
- Márquez, M.S.S. Estudio de la micobiota endofítica associada a las gramíneas *Dactylis glomerata*, *Holcus lanatus*, *Ammophila arenaria* y *Elymus farctus*. 2009. Tesis de Doctorado. Universidad de Salamanca, Facultad de Biología, Departamento de Microbiología y Genética. 286p.
- Mcinroy, J.A., Kloepper, J.W. 1995. Analysis of population densities and identification of endophytic bacteria of maize and cotton in the field. *Bulletin SROP* 14: 328-331.
- Melo, I.S., Azevedo, J.L. 1998. *Controle Biológico*. Jaguariúna, São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, v.1. 488p.
- 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*. http://www.cnpuv.embrapa.br/ Acesso em: 15 maio 2009.
- Mendes, R., Azevedo, J.L. 2007. Valor biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas de interesse econômico. In: *Micologia, Avanços no Conhecimento*, V Congresso Brasileiro de Micologia, Recife, pp.129-140.
- Menedez, A., Bertoni, M.D., Cabral, D. 1995. Comparative study of occurrence of fungal endophytes in Juncus species of Argentina. *Nova Hedwigia* 60 (3-4): 583-588.
- Menezes, M. 2002. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum. Fitopatologia brasileira* 27 (suplemento): S23.
- Mirza, J.H., Cain, R.F. 1969. Revision of the genus *Podospora*. *Canadian Journal of Botany* 47: 1999-2048.
- Misagui, I.J., Donndelinger, C.R. 1990. Endophytic bactéria in symptom-free cotton plants. *Phytopathology* 80: 808-811.
- 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.
- Mota, A.M., Gasparotto, L. 1998. Fungos associados à "síndrome da queda de frutos" da pupunheira. *Revista da Universidade do Amazonas: Série Ciência Agrária* 7: 69-79.
- Muniz, M.F.S, Santos, R.C.R., Barbosa, G.V.S. 1998. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre algumas plantas frutíferas. *Summa Phytopathologica* 24: 177-179.

- 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.
- Norse, D. 1992. Fungi isolated from surface sterilized Tobacco leaves. *Transactions of the British Mycological Society* 58: 515-518.
- Novas, M.V., Carmarán, C.C. 2008. Studies on diversity of foliar fungal endophytes of naturalised trees from Argentina, with a description of *Haplotrichum minutissimum* sp. *Flora Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 203 (7(1)): 610-616.
- Oller-Lopez, J.L., Iranzo, M., Mormeneo, S., Oliver, E., Cuerva, J.M., Oltra, J.E. 2005. Bassianolone: an antimicrobial precursor of cephalosporolides E and F from the entomoparasitic fungus *Beauveria bassiana*. *Organic and Biomolecular Chemistry* 3: 1172-1173.
- Orlando, T.D., Regina, M.A., Soares, A.M., Chalfun, N.N., Souza, C.M., Freitas, G.F., Toyota, M. 2003. Caracterização agronômica de cultivares de videira (*Vitis labrusca* L.) em diferentes sistemas de condução. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras. Edição Especial, pp. 1460-1469.
- 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.
- Peixoto-Neto, P.A.S., Azevedo, J.L., Araújo, W.L. 2002. Microrganismos endofíticos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 29: 62-76.
- Pereira, J.O. 1993. Fungos endofíticos dos hospedeiros tropicais *Stylosanthes guianensis* e *Musa cavendish*. São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba,105p.
- Pereira, J.O., Azevedo, J.L., Petrini, O. 1993. Endophytic fungi of *Stylosanthes*. *Mycologia* 85: 362-364.
- Petrini, O., Dreyfuss, M. 1981. Endophytische pilze in epiphytischen Araceae, Bromeliaceae und Orquidaceae. *Sydowia* 38: 216-234.
- Petrini, O. 1986. Taxonomy of endophitic fungi of aerial plant tissues. In: Fokkema, N.J.; Heuvel, J. Vam Den (Eds.) *Microbiology of the phyllosphere*. Cambridge, Cambridge University Press, pp.175-187.
- Petrini, O., Fisher, P.J. 1990. Occurrence of fungal endophytes in twigs of *Salix fragilis* and *Quercus robur*. *Mycological Research* 94: 1077-1080.
- Petrini, O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: *Microbial Ecology of Leaves*. Springer Verlag, 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.
- Petrini, O. 1996. Ecological and physiological aspects of host specific and endophytic fungi. In: Redlin, S.C.; Caris, L.M. (Ed.). *Endophytic fungi in grasses and woody plants*. St Paul: American Phytopatological Society Press, pp. 87-100.
- Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P., Hyde, K. 2001. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. *Mycological Research* 12 (105): 1508-1513.
- Pileggi, S.A.V. 2006. Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. por meio de marcadores RAPD e seu potencial farmacológico. Dissertação de Doutorado. Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 141p.
- Pimentel, I.C., Campos, R.A., Araújo, W.L., Barros, N.M., Azevedo, J.L. 2002. Endophytic fungi isolated from maize (*Zea mays*) and their possible roles for biological control. *7th International Mycological Congress*, Oslo, p.555.
- Pimentel, I.C., Glienke-Blanco, C., Gabardo, J., Stuart, R.M., Azevedo, J.L. 2006a. Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merril) under different environmental conditions. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49 (5): 705-711.
- Pimentel, I.C., Kuczkowski, F.R., Chime, M.A., Auer, C.G., Grigoletti Júnior, A. 2006b. Fungos endofíticos em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). *Floresta* 36 (1): 123-128.
- Piontelli, E.L., Cruz, R.C., Toro, M.A.S.M. 2006. Coprophilous fungal community of wild rabbit in a park of a hospital (Chile): a taxonomic approach. *Boletín Micológico* 21: 1-7.
- Prezant, B., Weekes, D.M., Miller, J.D. 2008. *Recognition, evaluation, and control of indoor mold.* Virginia: AIHA. 253p.
- 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.
- 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.
- Punithalingam, E. 1981. Studies on Sphaeropsidales in culture III. *Mycological Papers* 149: 1-60.
- Raviraja, N.S. 2005. Fungal endophytes in five medicinal plant species from Kundremukh Range, Western Ghats of India. *Journal of Basic Microbiology* 45 (3): 230-235.

- Read, J.C., Camp, B.J. 1986. The effect of the fungal endophytic *Acremonium* coenophialum in tall fescue on animal performance, toxicity, and stand maintenace. *Agronomy Journal* 78: 848-850.
- Ridell, R.W. 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia* 1 (42): 265.
- 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 en zonas no-templadas en Brasil. *Agricola Vergel* 219: 151-157.
- Rodrigues, K.F. 1991. Fungos endofíticos em *Euterpe oleracea* Mart. com ênfase em Xylariaceae. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi* 2(7): 429-439.
- Rodrigues, K.F., Samuels, G.J. 1990. Prelinary 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., Samuels, G.J. 1990. Preliminary study of endophytic fungi in a tropical palm. *Mycological Research* 6 (94): 827-830.
- Rodrigues, K.F., Samuels, G.J. 1994. *Letendraeopsis palmarum*, a new genus and species of cleistothecial Loculoascomycetes. *Mycologia* 86 (2): 254-258.
- 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, A.A.C., Menezes, M. 2002. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupí provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira* 27 (5): 532-537.

- Romero, A., Carrion, G., Rico-Gray, V. 2001. Fungal latent pathogens and endophytes from leaves of *Parthenium hysterophorus* (Asteraceae). *Fungal Diversity* 7: 81-87.
- 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.
- 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.
- Rosa, L.H., Vaz, A.B.M., Caligiorne, R.B., Campolina, S., Rosa, C.A. 2009. Endophytic fungi associated with the Antarctic grass *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae). *Polar Biology* 32: 161–167.
- 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 *Theobroma cacao* and biological control of *Crinipellis perniciosa*, causal agente of Witches Broom disease. *International Journal of Biological Sciences* 1 (1): 24-33.
- Sadaka, N., Ponge, J.F. 2003. Fungal colonization of phyllosphere and litter of *Quercus rodundifolia* Lam. in a holm oak forest (High Atlas, Marocco). *Biology and Fertility of Soils* 39 (1): 30-36.
- Saikkonen, K., Wäli, P., Helander, M., Stanley, H.F. 2004. Evolution of endophyte plant symbioses. *Trends in Plant Science* 9 (6): 275-280.
- Salazar, C.S.S., García, M.C.D. 2005. Aislamiento de hongos endofitos en rosa (*Rosa hybrida*) en Bogotá, Colombia. *Revista Iberoamericana de Micologia* 22: 99-101.
- Samson, R.A. 1974. Paecilomyces and some allied hyphomycetes. *Studies in Mycoloy* 6: 11-113.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., Filtenborg, O. 2000. *Introduction to food-and airborne fungi*. 6th edition. Utrecht, The Netherlands, Centraalbureau voor Schimmelcultures. 387p.
- Santamaría, J., Bayman, P. 2005. Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*). *Microbial Ecology* 50: 1-8.
- Schipper, M.A.A., Stalpers, J.A. 1983. Spore ornamentation and species concept in *Syncephalastrum*. *Persoonia* 12(part 1): 81-85.
- 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.
- Serafine, L.A., Barros, N.M., Azevedo, J.L. 2002. *Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria*. Caxias do Sul. Ed. EDUCS. 235p.
- Shabi, E., Katan, T. 1983. Occurrence and control of anthracnose of almond in Israel. *Plant Disease* 67: 1364-1366.
- Shrikhande, A.J. 2000. Wine by-products with health benefits. *Food Research International* 33: 469–474.
- Silva, C.M.M.S., Melo, I.S. 1999. Requisitos nutricionais para o fungo *Alternaria* alternata. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34 (3): 499-503.
- Silva, R.L.O., Luz, J.S., Silveira, E.B., Cavalcante, U.M.T. 2006. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). *Acta Botanica Brasilica* 20 (3): 649-655.
- Simmons, E.G. 1969. Perfect states of *Stemphylium*. *Mycologia* 61 (1): 1-26.
- Siqueira, V.M. 2008. Fungos endofíticos de folhas e caule de *Lippia sidoides* Cham. e avaliação da atividade antimicrobiana. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, 94p.
- Sivanesan, A. 1984. *The bitunicate Ascomycetes and their anamorphs*. J. Cramer., Germany. 701p.
- 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.
- Soresen, T.A. 1948. A method of establishing of equal amplitud in plant sociology based on similatity on species content, and its application to analysis of the vegetation on Danish commons. *Kongelige Danske Videnskabernes Selskab Biologiske Skrifter* 5: 1-34.
- Southcott, K.A., Johnson, J.A. 1997. Isolation of endophytes from two species of palm, from Bermuda. *Canadian Journal of Microbiology* 43:789-792.
- Souza, 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* Bentham. *Acta Amazônica* 34: 185-195.
- Stamford, T.L.M., Araújo, J.M., Stamford, N.P. 1998. Atividade enzimática de microrganismos isolados do jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 18 (4): 382-385.

- Stone, J.K., Sherwood, M.A., Carroll, G.C. 1996. Canopy microfungi: function and diversity. *Northwest Science* 70: 37-45.
- Stone J.K. 2006. Ecological roles of endophytes in forest ecosystems. *Phytopathology* 96: 136.
- Stovall, M.E., Clay, K. 1991. Fungiotoxic 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.
- Suryanarayanan, T.S., Kumaresan, V., Johnson, J.A. 1998. Foliar fungal endophyes from two species of the mangrove *Rhizophora*. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 1003-1006.
- Suryanaryanan, T.S., Kumaresan, V. 2000. Endophytic fungi of some halophytes from an estuarine mangrove forest. *Mycological Research* 104: 1465-1467.
- Suryanarayanan, T.S., Senthilarasu, G., Muruganandam, V. 2000. Endophytic fungi from *Cuscuta reflexa* and its host plants. *Fungal Diversity* 4: 117-123.
- Suryanarayanan, T.S., Murali, T.S. 2006. Incidence of *Leptosphaerulina crassiana* in leaves of peanut in southern India. *Mycological Research* 104: 305-309.
- Sutton, B.C. 1980. *The Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 696p.
- Takahashi, J.A., Lucas, E.M.F. 2008. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. Química Nova 31 (7): 1807-1813.
- Tan, R.X., Zou, W.X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports* 18: 448-459.
- Tang, A., Hyde, K.D., Corlett, R.T.C. 2003. Diversity of fungi on wild fruits in Hong Kong. *Fungal Diversity* 14: 165-185.

- 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.
- 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.
- Teles, H.L., Sordi, R., Silva, G.H., Castro-Gamboa, I., Bolzani, V.S., Pfenning, L.H., Abreu, L.M., Costa-Neto, C.M., Young, M.C.M., Araújo, A.R. 2006. Aromatic compounds produced by *Periconia atropurpurea*, an endophytic fungus associated with *Xylopia aromatica*. *Phytochemistry* 67 (24): 2686-2690.
- 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., Cavalheiro, 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.
- 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.
- Tothill, I.E., Best, D.J., Seal, K.S. 1998. The isolation of *Graphium putredinis* from a spoilt emulsion paint and the characterisation of its cellulase complex. *Internacional Biodeterioration* 24 (4-5): 359-365.
- Ventura, J.A., Costa, H. 2006. Epidemiologia e manejo das doenças causadas por *Fusarium. Fitopatologia brasileira* 31: 93.
- Von Mühlen, G., Silva M.E. 2005. Ocorrência de fungos endofíticos em cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.). *Acta Biologica Leopoldensia* 27 (3): 183-186.
- Vu, T., Hauschild, D. R., Siroka, R.A. 2006. *Fusarium oxysporum* endophytes induced 2 systemic resistance against *Radopholus similis* on banana. *Nematology* 847-852.
- Wagenaar, M., Corwin, J., Strobel, G.A., Clardy, J. 2000. Three new chytochalasins produced by an endophytic fungi in the genus *Rhinocladiella*. *Journal of Natural Products* 63: 1692-1695.
- Wagner, B.L., Lewis, L.C. 2000. Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3468-3473.
- Walker, J.C., Minter, D.W. 1981. Taxonomy of *Nematogonum*, *Gonatobotrys*, *Gonatobotryum* and *Gonatorrodiella*. *Transactions British Mycological Society* 77 (2): 229-319.

- 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: 235–60.
- 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.
- Yanna, H.O.W.H., Hyde, K.D., Goh, T.K. 2002. Fungal succession on fronds of *Phoenix hanceana* in Hong Kong. *Fungal Diversity* 10: 185-211.
- Zanuz, M.C. 1991. Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva. Dissertação de Mestrado em Fitotecnia. Faculdade de Agronomia, 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, J.X., Xu, T., Ge, Q.X. 2003. Notes on *Pestalotiopsis* from Southern China. *Mycotaxon* 85: 91-92.