



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

**JADSON DIOGO PEREIRA BEZERRA**

**FUNGOS ENDOFÍTICOS EM CACTOS DE ÁREAS DE CAATINGA  
PRESERVADA E COM ATIVIDADE DE AGRICULTURA FAMILIAR:  
DIVERSIDADE E ESTUDO FILOGENÉTICO**

Recife

2016

**JADSON DIOGO PEREIRA BEZERRA**

**FUNGOS ENDOFÍTICOS EM CACTOS DE ÁREAS DE CAATINGA  
PRESERVADA E COM ATIVIDADE DE AGRICULTURA FAMILIAR:  
DIVERSIDADE E ESTUDO FILOGENÉTICO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Biologia de Fungos.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Maria de Souza Motta

Co-orientador: Prof. Dr. Gladstone Alves da Silva

Co-orientadora: Profa. Dra. Jarcilene Silva de Almeida Cortez

Recife

2016

Catálogo na fonte  
Elaine Barroso  
CRB 1728

**Bezerra, Jadson Diogo Pereira**

**Fungos endofíticos em cactos de áreas de caatinga preservada e com atividade de agricultura familiar: diversidade e estudo filogenético. / Recife: O Autor, 2016.**

**82 folhas: il., fig., tab.**

**Orientadora: Cristina Maria de Souza Motta**

**Coorientadores: Gladstone Alves da Silva e Jarcilene Silva de Almeida Cortez**

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.  
Centro de Biociências. Biologia de Fungos, 2016.**

**Inclui referências e apêndices**

1. Fungos 2. Cactos 3. Caatinga I. Motta, Cristina Maria de Souza (orient.) II. Silva, Gladstone Alves da (coorient.) III. Cortez, Jarcilene Silva de Almeida (coorient.) IV. Título

**579.5**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CCB-2017- 502**

**JADSON DIOGO PEREIRA BEZERRA**

**FUNGOS ENDOFÍTICOS EM CACTOS DE ÁREAS DE CAATINGA  
PRESERVADA E COM ATIVIDADE DE AGRICULTURA FAMILIAR:  
DIVERSIDADE E ESTUDO FILOGENÉTICO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 27/12/2016

**COMISSÃO EXAMINADORA**

Profa. Dra. Cristina Maria de Souza Motta/UFPE

Profa. Dra. Laura Mesquita Paiva/UFPE

Profa. Dra. Leonor Costa Maia/UFPE

Profa. Dra. Patrícia Vieira Tiago/UFPE

Profa. Dra. Oliane Maria Correia Magalhães/UFPE

Prof. Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo/UFPE

Prof. Dr. André Luiz C. M. de Azevedo Santiago/UFPE – Suplente interno

Profa. Dra. Virgínia Michelle Svedese/UNIVASF – Suplente externo

*Dedico este grandioso trabalho à família Bezerra e todas as suas células visíveis e invisíveis: Jailton Bezerra (Pai), Rozineide Bezerra (Mãe) e Romualdo Bezerra (Irmão).*

## AGRADECIMENTOS

Alguns pedem para dissociar o científico do divino, mas para mim isso não se torna possível. Por isso, agradeço ao Deus de bondade pela dádiva da vida e da sabedoria. Estudar o Reino dos Fungos é uma aventura incrível que, para mim, sem uma devida inspiração divina não o é possível. Por isso, aqui registro o meu agradecimento para que ele perdure por séculos e séculos, assim como o Princípio e o Fim, Jesus Cristo nosso Senhor.

Família, familiares, amigos, colegas, parentes, conhecidos e desconhecidos devem ser lembrados em momentos tão especiais. Aqui, silenciosamente e sem citar nomes diretamente, quero agradecer a cada um deles por essa caminhada acadêmica. O trabalho não pode parar, e, contarei com o acompanhamento de vocês para que ele seja contínuo até a minha vida senescer e perpetuar nas boas ações científicas que fizemos. Obrigado!

Quatro longos anos perduraram... agradeço a Universidade Federal de Pernambuco e todos os seus colaboradores pela presença marcante na minha vida acadêmica... já são 10 anos na casa-UFPE. O mesmo tenho que dizer ao Centro de Biociências e ao Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista da UFPE, longos anos vividos que contribuíram, contribuem e contribuirão com a minha formação acadêmico-científica e de muitos que virão. Destaco os nomes dos meus orientadores, neles convergem todos os que têm convivido comigo nesse período: Profa. Cristina Motta, Prof. Gladstone Silva e Profa. Jarcilene Cortez. Muito obrigado pelos seus ensinamentos, eles foram muito importantes para mim!

Às agências de fomento um incentivo para que nunca sejam tratadas com desprezo pelos estudantes, professores e pesquisadores. Que nunca sejam rebaixadas por políticos! Agradeço grandemente a CAPES pela bolsa de doutoramento (2013-2016), e ao CNPq pela bolsa de doutorado sanduíche no CBS Fungal Biodiversity Centre (Utrecht, Holanda) (2015-2016). Experiências acadêmicas, científicas, culturais e de parcerias puderam ser realizadas durante este processo. Também agradeço a FACEPE, PROPESQ/UFPE e FINEP pelos auxílios concedidos aos nossos projetos de pesquisa.

I am very grateful to the staff from CBS Fungal Biodiversity Centre. I had a good partnership there, and this work was very important for me and for the Departamento de Micologia/UFPE. I want to say thanks to Pedro Crous, Ewald Groenewald, and others members (students and technicians) from the Phytopathogenic Fungi Group at CBS. Also, I want to say *Dank je wel* to my friends from Shalom Community NL Mission, *RK Parochie Paus Johannes XXIII gemeenschap St Barbara*, Anton ten Klooster, Berj Kassab and THaier Wahbi for their help in The Netherlands during this sabbatic year. I am very grateful!

Por fim, registro um agradecimento especial aos meus professores (amigos) e colaboradores do Laboratório de Micologia Ambiental (representado pela Profa. Laura Mesquita) e da Micoteca URM da UFPE. Todos foram e são muito importantes para que o meu trabalho pudesse acontecer e gerasse tantos frutos (frutos comunitários!). Sou muito grato e sempre serei! Obrigado!

*“As vezes pensamos que o que fazemos é  
uma gota no oceano... mas o oceano seria  
menor se essa gota faltasse”*

Madre Teresa de Calcutá (1910-1997)

## RESUMO

Fungos endofíticos vivem associados simbioticamente com plantas de diversos ecossistemas em todo o mundo e são relatados como protetores das plantas contra patógenos e estresses ambientais. No Brasil, o ecossistema Caatinga, representante do bioma floresta tropical seca, compreende uma das florestas mais diversas e de importância ambiental e econômica do país. Entretanto, só recentemente tem recebido a atenção dos pesquisadores para a sua preservação, estimativa da diversidade e benefícios econômico-sociais associados. O presente estudo teve com objetivo estudar a diversidade de fungos endofíticos associados a *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei*, *Melocactus zehntneri* e *Tacinga inamoena* em áreas de Caatinga preservada e em áreas com agricultura familiar sustentável no estado de Pernambuco (Brasil). Para isso, foram coletados cladódios de representantes das três espécies de cactos, e após assepsia do material foram utilizados 1.620 fragmentos de tecido vegetal. Para identificação dos fungos endofíticos foi utilizada taxonomia polifásica (morfologia, técnicas moleculares, fisiologia, bioquímica e/ou análise proteômica). No total, 496 fragmentos vegetais foram colonizados (30 %) e 317 fungos endofíticos foram isolados. O cacto *T. inamoena* e a área da Caatinga com agricultura familiar apresentaram as maiores taxas de colonização (16,91 % e 66 %, respectivamente). Os fungos endofíticos foram identificados como pertencentes a 71 táxons, principalmente do filo Ascomycota (classes Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Saccharomycetes e Sordariomycetes), distribuídos em 49 gêneros. Houve diferenças significativas nas comunidades de fungos endofíticos entre os três cactos e entre as duas áreas estudadas. A composição da comunidade de fungos endofíticos diferiu entre os cactos e entre áreas de Caatinga. A maior riqueza de fungos endofíticos foi associada com *T. inamoena* (24 táxons na Caatinga preservada e 27 táxons na Caatinga com agricultura familiar). A diversidade de fungos difere entre os cactos e as áreas de Caatinga estudadas, sendo *M. zehntneri* e a área de Caatinga preservada os que apresentaram a maior estimativa de diversidade. Não foram recuperados os dados estimados para as comunidades de fungos. Entretanto, a riqueza obtida se aproximou da esperada. Os gêneros *Alternaria*, *Penicillium*, *Candida*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Aureobasidium*, *Exophiala* e *Toxicocladosporium* tiveram representantes mais frequentemente isolados, e *Aspergillus lentulus*, *Chaetomium aureum*, *Penicillium simplicissimum*, *Purpureocillium lilacinum* e *Talaromyces aurantiacus* foram espécies indicadoras para o cacto *M. zehntneri*. *Toxicocladosporium* foi um táxon indicador para o hospedeiro *P. gounellei* subsp. *gounellei*. Os endófitos *Alternaria gossypina* e *Talaromyces aurantiacus* foram espécies indicadoras de áreas de Caatinga com agricultura familiar. Alguns endófitos estão sendo descritos como novos táxons. Espécies de cactos da Caatinga possuem uma marcante “micodiversidade endofítica” e devem ser preservadas *in situ* e *ex situ* para contribuir com as estimativas da diversidade fúngica global.

**Palavras-chave:** Cactaceae. Ecologia de fungos. Floresta Tropical Seca. Filogenia. Taxonomia polifásica.



## ABSTRACT

Endophytic fungi lives symbiotically associated with plants in diverse ecosystems around the world, and they are reported as plant protectors against pathogens and environmental stresses. In Brazil, the Caatinga ecosystem, representative of the tropical dry forest biome, comprises one of the most diverse and important forests to environmental and economy. However, it recently received an attention of the researchers for its preservation, estimation of the diversity and associated socio-economic benefits. The present study aimed to study the diversity of endophytic fungi associated with the cacti *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei*, *Melocactus zehntneri* and *Tacinga inamoena* in protected areas of the Caatinga and areas with sustainable family farming in the state of Pernambuco (Brazil). For this purpose, the three cacti species were collected, and after sterilization of the plant material we used 1,620 fragments of the plant tissue. For identification of the endophytic fungi was used polyphasic taxonomy (morphology, molecular techniques, physiology, biochemistry and/or proteomic analysis). In total, 496 tissue fragments were colonized (30%), and 317 endophytic fungi were isolated. The cactus *T. inamoena* and the Caatinga with family farming presented the highest rates of colonization (16.91% and 66%, respectively). The 317 endophytic fungi were identified as belonging to 71 taxa mainly of the Ascomycota (classes Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Saccharomycetes and Sordariomycetes), and they were distributed in 49 genera. There was a significant difference in the endophytic fungi community between the three cacti and the two studied Caatinga areas. The composition of the endophytic fungi community differed between cacti and Caatinga areas. The greatest richness of endophytic fungi was associated with *T. inamoena* (24 taxa in the protected Caatinga, and 27 taxa in the Caatinga with sustainable family farming). The diversity of fungi differs between cacti and Caatinga areas, with the cactus *M. zehntneri* and the protected Caatinga area presented a greater diversity estimate. The estimated data for fungal communities were not recovered. However, the obtained richness was close to the expected richness. The genera *Alternaria*, *Penicillium*, *Candida*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Aureobasidium*, *Exophiala* and *Toxicocladosporium* had representatives more frequently isolated, and *Aspergillus lentulus*, *Chaetomium aureum*, *Penicillium simplicissimum*, *Purpureocillium lilacinum* and *Talaromyces aurantiacus* were indicators species for cactus *M. zehntneri*. *Toxicocladosporium* was an indicator taxon for the host *P. gounellei* subsp. *gounellei*. The endophytes *Alternaria gossypina* and *Talaromyces aurantiacus* were indicators species to the Caatinga with family farming. Some endophytes are described as new taxa. Cacti species in the Caatinga forest have an important endophytic microdiversity, and they have to be protected *in situ* and *ex situ* to contribute to the estimates of the global fungal diversity.

**Key-words:** Cactaceae. Fungal ecology. Tropical dry forest. Phylogeny. Poliphasic taxonomy.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	10
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	13
2.1 “ENDOFITOLOGIA”	13
<b>2.1.1 Breve histórico e conceitos sobre fungos endofíticos</b>	14
<b>2.1.2 Diversidade, distribuição de fungos endofíticos e relação com o hospedeiro</b>	16
2.2 AMBIENTES EXTREMOS SECOS	17
<b>2.2.1 Florestas tropicais secas</b>	20
<b>2.2.2 Família Cactacea</b>	21
2.3 RELAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS COM PLANTAS DE AMBIENTES EXTREMOS SECOS	27
<b>2.3.1 Fungos endofíticos em ambientes secos</b>	28
<b>2.3.2 Diversidade de fungos endofíticos em cactos</b>	30
2.4. TAXONOMIA DE FUNGOS	36
<b>2.4.1 Técnicas moleculares na identificação de fungos</b>	37
<b>2.4.2 Sistemática filogenética</b>	39
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	41
3.1 ÁREAS DE ESTUDO	41
<b>3.1.1 Área de Caatinga preservada</b>	41
<b>3.1.2 Área de Caatinga com agricultura familiar sustentável</b>	41
3.2 COLETA DOS CACTOS	42
3.3 ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	42
3.4 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	43
<b>3.4.1 Identificação de leveduras</b>	43
<b>3.4.2 Identificação de fungos filamentosos</b>	43
3.5 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS E BUSCAS NO <i>GENBANK</i> DO <i>NCBI</i>	45
3.6 ANÁLISE DOS DADOS	46
<b>4 RESULTADOS</b>	48
4.1 COLONIZAÇÃO DOS FRAGMENTOS E ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS	48
4.2 DIVERSIDADE E COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS	48
<b>5 DISCUSSÃO</b>	57
<b>6 CONCLUSÕES</b>	61
<b>REFERÊNCIAS</b>	63
<b>APÊNDICE A – <i>Diaporthe caatingaensis</i> J.D.P. BEZERRA, L.M. PAIVA, G.A. SILVA, C.M. SOUZA-MOTTA &amp; CROUS, SP. NOV. (<i>Persoonia</i> 37:270-271)</b>	78
<b>APÊNDICE B – <i>Bezerromycetales</i> AND <i>Wiesneriomycetales</i> ORD. NOV. (CLASS <i>Dothideomycetes</i>), WITH TWO NOVEL GENERA TO ACCOMMODATE ENDOPHYTIC FUNGI FROM BRAZILIAN CACTUS (<i>Mycological Progress</i>, 16 de dezembro de 2016)</b>	81

## 1 INTRODUÇÃO

Fungos endofíticos são taxonomicamente diversos e habitam todas as espécies de plantas até então estudadas para este fim (SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; HYDE & SOYTONG, 2008; WHITE JR. & BACON, 2012). Estes micro-organismos são definidos como aqueles que habitam o interior de tecidos e órgãos vegetais sem causar prejuízos ao seu hospedeiro (AZEVEDO & ARAÚJO, 2007). Segundo a hipótese de mutualismo defensivo, podem proteger as plantas de estresses ambientais, insetos e mamíferos herbívoros e organismos causadores de doenças (CLAY, 1988; AZEVEDO *et al.*, 2000; TADYCH *et al.*, 2012; WHITE JR. & BACON, 2012).

Muitas das estimativas da diversidade de fungos têm sido realizadas baseando-se em técnicas moleculares que possibilitam uma melhor compreensão a respeito das relações filogenéticas entre diferentes espécies, fornecendo dados importantes para a classificação de novos táxons e estudos ecológicos (ARNOLD *et al.*, 2000; GOU *et al.*, 2000; AZEVEDO *et al.*, 2006). Estudos recentes têm sugerido que a micodiversidade é mais acentuada em áreas tropicais úmidas (ARNOLD *et al.*, 2000; CHANDRA, 2012) do que em regiões secas, desérticas, áridas e/ou semiáridas (FISHER *et al.*, 1994; SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; MURALI *et al.*, 2007; KHIDIR *et al.*, 2010; SURYANARAYANAN *et al.*, 2011; LOPEZ *et al.*, 2012; UNTERSEHER *et al.*, 2012; BEZERRA *et al.*, 2012a, b, 2013, 2015; SILVA-HUGHES *et al.*, 2015, FONSECA-GARCÍA *et al.*, 2016). Sánchez-Azofeifa *et al.* (2005) estimaram que apenas 14 % das florestas tropicais secas possuíam estudos da diversidade biológica. Entretanto, essas especulações mostram o quanto a biodiversidade de ecossistemas de clima semiárido está sendo subestimada, uma vez que essas áreas cobrem cerca de 30–40 % da superfície do planeta (PEEL *et al.*, 2007) e certamente possuem uma alta riqueza de fungos não descoberta e não contabilizada nas estimativas globais, bem como não utilizada em processos biotecnológicos.

Um estudo publicado pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2016) demonstrou que as “terras secas” necessitam diretamente da vegetação nativa para a geração de serviços ambientais, tais como habitats para a biodiversidade, proteção contra a erosão e desertificação, infiltração de água e fertilidade do solo, e a sobrevivência de populações em todo o mundo. Estudos da diversidade de fungos e outros micro-organismos nesses habitats tem demonstrado ser um dos caminhos para a preservação das florestas, já que estes organismos participam de forma natural e

direta na ciclagem de nutrientes além de contribuírem na dispersão e germinação de sementes no ambiente natural (CLAY & HOLAH, 1999; ARNOLD & HERRE, 2003). O Brasil é citado no relatório da FAO (2016) como um país que apresenta zonas de aridez classificadas como “semiáridas” e “subúmida secas” localizadas exclusivamente na região Nordeste, domínio do ecossistema Caatinga.

A Caatinga é uma das duas florestas tropicais secas do Brasil (a outra é o Cerrado); é uma região natural exclusivamente brasileira, apresentando uma floresta sazonalmente seca que cobre a maior parte dos estados da região Nordeste e a parte nordeste de Minas Gerais (PENNINGTON *et al.*, 2009; QUESADA *et al.* 2009). Além disso, abriga espécies endêmicas de vegetais (cerca de 123 famílias botânicas - Flora do Brasil 2020, <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>). A presença de muitas aves, mamíferos, peixes, fungos e demais organismos também garante a importância da variada e marcante paisagem da Caatinga (LEAL *et al.*, 2005; ALBUQUERQUE *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2012; MAIA *et al.*, 2015). Entretanto, apesar de todas as peculiaridades do ecossistema, Bernard *et al.* (2014) demonstraram que a Caatinga é um dos ecossistemas brasileiros que mais tem sofrido modificação (supressão) de áreas protegidas.

Segundo informações da Associação Caatinga, somente cerca de 8% do ecossistema Caatinga está protegido por unidades de conservação. Uma destas unidades é o Parque Nacional do Catimbau (PARNA do Catimbau) que corresponde a uma das áreas de maior importância na Caatinga (ROCHA *et al.*, 2010). O PARNA do Catimbau possui exuberância em suas paisagens, e tem sua flora formada por um verdadeiro mosaico, sendo possível caracterizar várias fitofisionomias, como: caatinga arbustivo-arbórea; arbustiva, com predominância de elementos de cerrado; arbustiva com elementos de campos rupestres; vegetação florestal perenifólia e caatinga arbustiva perenifólia (RODAL *et al.*, 1998). Além do PARNA do Catimbau, regiões do Agreste Meridional de Garanhuns (Pernambuco) são conhecidas por possuírem uma marcante diversidade na Caatinga. No entanto existem poucos estudos científicos com intuito de conhecer a sua biodiversidade, necessitando de políticas públicas que promovam a sua conservação. Essas áreas se destacam nas atividades de agricultura familiar na produção de grãos, forrageiras, agropecuária e indústria de beneficiamento de produtos agrícolas. Vários estudos têm sido conduzidos na Caatinga (LEAL *et al.*, 2005; ALBUQUERQUE *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2012; SIQUEIRA FILHO *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2014; MAIA *et al.*, 2015); entretanto, existem poucas pesquisas relatando a associação simbiótica mutualística entre plantas e fungos endofíticos deste ecossistema, e que foram realizadas

principalmente com espécies de *Cactaceae* (BEZERRA *et al.*, 2012, 2013; FREIRE *et al.*, 2015).

*Cactaceae* Juss. conta com aproximadamente 1.440 espécies distribuídas sobretudo na região neotropical, com exceção de *Rhipsalis baccifera* (J.S. Muell.) Stearn que ocorre nas Américas e atinge a África, Madagascar e Sri Lanka (HUNT *et al.*, 2006; ZAPPI & TAYLOR, 2008). No Brasil estão registradas cerca de 160 espécies, pertencentes a 37 gêneros, perfazendo cerca de 30 % do total das existentes no Novo Mundo (BARROSO *et al.*, 1978; ZAPPI *et al.*, 2010). A Caatinga é o ecossistema brasileiro que abriga a maior diversidade de cactos, com registro de cerca de 90 espécies (ZAPPI *et al.*, 2012; TAYLOR *et al.*, 2015).

Os cactos *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & Rowley subsp. *gounellei* (popularmente conhecido como facheiro), *Melocactus zehntneri* (Britton & Rose) Luetzelb (coroa de frade) e *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Eggli (quipá) são amplamente distribuídos em áreas da Caatinga. Apesar do status de conservação ‘pouco preocupante’ com base nos critérios da Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN, 2001), estas espécies necessitam de atenção por estarem presentes na lista *CITES* (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*), indicando o potencial desses cactos para o comércio internacional de espécies selvagens (MEIADO *et al.*, 2012). Além disso, essas espécies possuem potencial econômico como plantas ornamentais e também na alimentação animal (SILVA *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2007; FABRICANTE *et al.*, 2010) e podem contribuir em programas nacionais de conservação da biodiversidade (ZAPPI *et al.*, 2011; MEIADO *et al.*, 2012; CABRAL *et al.*, 2013; MEIADO *et al.*, 2015).

Estudos em áreas semiáridas necessitam ser realizados para que políticas públicas promovam a criação ou continuidade de programas socioambientais. Além disso, esses estudos podem contribuir com o conhecimento da diversidade de fungos associada com diversos substratos e hospedeiros, com destaque para os fungos endofíticos. Nesse intuito, o objetivo do presente estudo foi conhecer a diversidade de fungos endofíticos – utilizando taxonomia polifásica – associados com *P. gounellei* subsp. *gounellei*, *M. zehntneri* e *T. inamoena* em áreas de Caatinga preservada e com agricultura familiar sustentável no estado de Pernambuco (Brasil).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 “ENDOFITOLOGIA”

Unterseher *et al.* (2012) definiram o estudo de micro-organismos endofíticos como “endofitologia”. Uma parcela dos micro-organismos, principalmente bactérias e fungos que habitam o interior das plantas, são chamados de endófitos, pois colonizam os tecidos saudáveis de partes da planta em alguma parte do seu ciclo de vida sem causar-lhes danos aparentes, nem produzindo estruturas externas visíveis (PETRINI, 1991; AZEVEDO *et al.*, 2000). A diferenciação entre endófitos, epifíticos (micro-organismos que vivem na superfície de plantas) e fitopatogênicos (que causam doenças em plantas) depende do estágio da interação do micro-organismo com o hospedeiro (STROBEL *et al.*, 2004). Portanto, a aplicação destes termos tem puro significado didático havendo ainda dificuldades em determinar limites entre eles (AZEVEDO *et al.*, 2000).

Em um único vegetal podem ser obtidos dezenas a centenas de isolados e, deste único hospedeiro, uma espécie pode se mostrar específica (SIQUEIRA *et al.*, 2008, 2011). Hawksworth & Rossman (1997) sugeriram que uma planta poderia ser habitat de cerca de seis espécies de fungos. Depois da inclusão de fungos endofíticos, essa relação foi aumentada para cerca de 33 espécies de fungos para cada planta, confirmando o fato de que os endófitos são um componente importante da diversidade microbiana (TAN & ZOU, 2001; STROBEL & DAISY, 2003).

Os endófitos podem ser transmitidos verticalmente quando penetram pelas sementes, e horizontalmente quando penetram através da zona radicular, dos estômatos ou diretamente na parede celular utilizando apressórios e haustórios (SAIKKONEM *et al.*, 2004). A colonização endofítica pode ser intracelular e limitada a poucas células, intercelular e localizada, ou ainda inter e intracelular sistêmica e pode se desenvolver em qualquer tecido ou órgão do vegetal: raiz, caule, ramos, folhas, flores e frutos (PEIXOTO-NETO *et al.*, 2002; SCHULZ & BOYLE, 2005; MARINHO *et al.*, 2005; JOHRI, 2006). O estudo dos fungos endofíticos pode ser realizado com os micro-organismos cultiváveis e não cultiváveis, a partir do isolamento em meios de cultura e sob condições controladas, pela observação direta a partir de técnicas de microscopia ou pela detecção por meio de técnicas de amplificação de DNA (SCHULZ & BOYLE, 2005; GAI *et al.*, 2009; IMPULLITTI & MALVICK, 2013).

A transmissão dos endófitos começa a ser entendida principalmente em regiões úmidas, onde se tem verificado a diversidade de fungos. Contudo, em regiões secas, a essa transmissão é pouco estudada. Regiões secas possuem vegetação com baixa densidade e tem baixa precipitação pluviométrica, e a transmissão horizontal de fungos endofíticos de plantas para plantas pode ser minimizada, pois, como observado em regiões úmidas, uma alta diversidade e abundância de plantas em uma comunidade fornecem mais hospedeiros e substratos para a colonização por fungos endofíticos (BAYMAN *et al.*, 1998; ARNOLD *et al.*, 2000; SURYANARAYANAN *et al.*, 2002, 2003, 2005; SUN *et al.*, 2012).

A interação endófito-planta é complexa e dependente de diferentes fatores como características do vegetal, do micro-organismo e do ambiente (OWEN & HUNDLEY, 2004). A relação que se estabelece tem sido bastante questionada, existindo duas hipóteses principais: a do equilíbrio antagônico e da simbiose mutualística (FAETH & FAGAN, 2002; SELOSSE *et al.*, 2004; RUDGERS *et al.*, 2004; SAIKKONEN *et al.*, 2004; MÜLLER & KRAUSS, 2005; SCHULZ & BOYLE, 2005; KOGEL *et al.* 2006; MAHESHWARI, 2006). Estudos *in vitro* mostraram que tanto o endófito como a planta secretam metabólitos que são tóxicos para ambos, fato estranho numa interação assintomática (PETERS *et al.*, 1998) já que como endófito o fungo pode produzir metabólitos tóxicos e em resposta a planta produz metabólitos de defesa (AGRIOS, 1997). Schulz & Boyle (2005) levantaram a hipótese de que a colonização assintomática é consequência da interação antagônica balanceada entre o vegetal e os fungos. Estes mesmos autores ainda relataram que os endófitos produzem exoenzimas necessárias para infectar o hospedeiro e a maioria é capaz de também produzir micotoxinas fitotóxicas. Além disso, o hospedeiro pode reagir com as mesmas defesas contra um patógeno, ou seja, com a produção de metabólitos e respostas mecânicas. Nesse caso há uma estreita harmonia entre a virulência fúngica e a defesa da planta. Se este equilíbrio é afetado, tanto por uma diminuição na defesa da planta como por um aumento da virulência fúngica, há o desenvolvimento de doença (SCHULZ *et al.*, 2002).

### **2.1.1 Breve histórico e conceitos sobre fungos endofíticos**

A utilização do termo “endófito” remonta ao século XIX, quando foi inicialmente utilizado para agrupar organismos que viviam dentro de plantas (DE BARY, 1866, OULHEN *et al.*, 2016). Para a época, esse conceito foi muito abrangente e poderia incluir, além de fungos, bactérias e vírus, protistas e pequenos invertebrados.

Com o avanço dos estudos científicos, outras definições foram sendo apontadas. Uma das mais aceitas foi proposta por Petrini (1991), que estudou principalmente fungos endofíticos e os definiu como aqueles organismos que vivem no interior das plantas sem causar dano aparente ao seu hospedeiro. Hallmann *et al.* (1997) consideraram endófitos todos aqueles micro-organismos que podem ser isolados do interior de plantas saudáveis após desinfestação superficial.

Em 2000, Azevedo e colaboradores propuseram que os micro-organismos endofíticos habitam o interior das plantas, sendo encontrados em folhas, ramos, raízes e sementes, sem produzir estruturas externas visíveis e sem causar doenças. Posteriormente, Azevedo & Araújo (2007) sugeriram como definição que micro-organismos endofíticos são todos aqueles que podem ou não crescer em meio de cultura e que habitam o interior de tecidos e órgãos vegetais sem causar danos ao seu hospedeiro e sem produzir estruturas externas emergindo dos vegetais. Também em 2007, Mendes & Azevedo recomendaram que o estudo de micro-organismos endofíticos deveria ser dividido em dois tipos: tipo I, os que não produzem estruturas externas à planta, e tipo II, os que produzem estruturas externas à planta. Baseando-se no trabalho de Hyde & Soyong (2008), o Quadro 1 reúne algumas definições acerca do termo endófito.

Quadro 1 – Definições do termo endófito ao longo dos estudos científicos (adaptado de Hyde & Soyong, 2008).

Definições	Referência bibliográfica
“Mutualísticos, estes fungos colonizam partes de tecidos de plantas vivas e não causam sintomas de doenças”	CARROLL, 1986
“Fungos que formam inaparente infecção dentro de folhas e caules de plantas saudáveis”	CARROLL, 1988
“organismos que vivem no interior das plantas sem causar dano aparente ao seu hospedeiro”	PETRINI, 1991
“Fungos como colonizadores de tecidos internos vivos de suas plantas hospedeiras”	ROLLINGER & LANGENHEIM, 1993
“Um grupo que coloniza os tecidos internos das plantas vivas sem causar qualquer efeito negativo imediato”	HIRSCH & BRAUN, 1992
“Endófitos são qualquer fungo isolado de tecidos assintomáticos internos da planta”	CABRAL <i>et al.</i> , 1993
“Fungos e bactérias que tem todo ou uma parte do seu ciclo de vida dentro de tecidos de plantas vivas e causam infecções inaparentes ou assintomáticas inteiramente dentro de tecidos vegetais, mas não causam sintomas de doenças”	WILSON, 1995
“Micro-organismos que habitam o interior das plantas, sendo encontrados em folhas, ramos, raízes e sementes, sem produzir estruturas externas visíveis e sem causar doenças”	AZEVEDO <i>et al.</i> , 2000
“Endófitos verdadeiros – cuja colonização nunca resulta em sintomas visíveis de doenças”	MOSTERT <i>et al.</i> , 2000
“Fungos que colonizam a planta sem causar sintomas de doenças visíveis em qualquer momento específico”	SCHULZ & BOYLE, 2005
“Micro-organismos que podem ou não crescer em meio de cultura e que habitam o interior de tecidos e órgãos vegetais sem causar danos ao seu hospedeiro e sem	AZEVEDO & ARAÚJO, 2007



produzir estruturas externas emergindo dos vegetais” Endófitos podem ser divididos em dois tipos: “Tipo I, os que não produzem estruturas externas à planta e; Tipo II, os que produzem estruturas externas à planta”	MENDES & AZEVEDO, 2007
--	---------------------------

Fonte: O autor, 2016.

Semelhante aos conceitos historicamente conhecidos, alguns autores têm sugerido que durante o estudo dos endófitos sua fase como fungo endofítico pode ser denominada de “endofitismo” (SURYANARAYANAN, 2013) e outros chamam esses organismos de “micoendófitos” (RAI *et al.*, 2014).

### 2.1.2 Diversidade, distribuição de fungos endofíticos e relação com o hospedeiro

Estima-se que exista mais de um milhão de espécies de fungos, mas somente cerca de 160 mil foram descritas (HAWKSWORTH & ROSSMAN, 1997; KIRK *et al.*, 2008). O número estimado de espécies de fungos conhecidas tem aumentado, e alguns autores acreditam que existem cerca de 1,5 milhão de espécies somente de fungos endofíticos ainda a serem descobertas (HAWKSWORTH, 1991; DREYFUSS & CHAPELA, 1994). Entretanto, estimativas mais recentes incluindo estudos moleculares sugerem que existam mais de 5,1 milhões de espécies de fungos (BLACKWELL, 2011). Dentre as mais de 300 mil espécies de plantas existentes, poucas ainda foram completamente estudadas quanto à microbiota endofítica (STROBEL *et al.*, 2002) e de quase todas as plantas hospedeiras estudadas os micro-organismos endofíticos foram isolados (WANG & DAI, 2011). Investigações detalhadas da micobiota interna de plantas frequentemente têm relatado a descoberta de novos táxons e revelado novas distribuições de espécies conhecidas. Pelo fato dos endófitos não serem percebidos sem utilização de técnicas específicas, a diversidade de espécies ser relativamente alta e uma pequena porção de potenciais hospedeiros terem sido até então examinados, endófitos representam um número substancial de fungos ainda não descobertos (ARNOLD *et al.*, 2000; SIQUEIRA *et al.*, 2008; BAUCOM *et al.*, 2012). Estudos sobre fungos endofíticos são necessários para fornecer informações fundamentais sobre a avaliação da diversidade e distribuição global desses micro-organismos (STONE *et al.*, 2004; SURYANARAYANAN, 2013; VAZ *et al.*, 2014).

Os micro-organismos endofíticos se relacionam com diversos tipos de vegetais, tais como plantas herbáceas (TAECHOWISAN *et al.*, 2003), de florestas tropicais (STROBEL, 2002; ARNOLD & HERRE, 2003), cultivadas (BEZERRA *et al.*, 2012a, IMPULLITTI & MALVICK, 2013), medicinais (HUANG *et al.*, 2001; SIQUEIRA *et al.*, 2011; BEZERRA

*et al.*, 2015) e aquáticas (CHEN *et al.*, 2003; SANDBERG *et al.*, 2014). Comumente, de dezenas a centenas de indivíduos de várias espécies de fungos endofíticos podem ser isolados a partir de um único vegetal, e muitas vezes são encontrados representantes endêmicos em único hospedeiro, corroborando a hipótese que os endófitos são um componente importante da diversidade microbiana (TAN & ZOU, 2001; STROBEL & DAISY, 2003).

A partir da observação de tecidos vegetais fossilizados, alguns autores sugerem que as relações endofíticas podem ter evoluído há mais de 400 milhões de anos (TAYLOR & TAYLOR, 2000; KRINGS *et al.*, 2007) e, provavelmente, os fungos foram os responsáveis pelo movimento das plantas para a terra (PIROZYNSKI & MALLOCH, 1975), demonstrando a importância da verificação dessa associação ainda não totalmente compreendida.

Apesar dos primeiros trabalhos com fungos endofíticos terem sido realizados na década de 1940, com destaque para regiões tropicais úmidas e temperadas (BOSE, 1947; CARROLL *et al.*, 1977; PETRINI & CARROLL 1981; CLAY *et al.*, 1985; CARROLL, 1986; RODRIGUES & PETRINI, 1997; ARNOLD *et al.*, 2000), a relação de micro-organismos endofíticos com o hospedeiro ainda não é totalmente conhecida. Hawksworth & Rossman (1997) sugerem que há evidência de que as plantas tropicais são um grande reservatório de espécies de fungos. Contudo, ainda há uma grande lacuna no estudo de micro-organismos endofíticos de regiões tropicais, principalmente das secas ou de ambientes áridos e semiáridos onde são poucos os trabalhos sobre micro-organismos endofíticos e menor ainda é o entendimento da relação dos fungos com as plantas desses ambientes (BILLS, 1996; FISHER *et al.*, 1994b; SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; SUN *et al.*, 2012; BEZERRA *et al.*, 2012a; BEZERRA *et al.*, 2013; SILVA-HUGHES *et al.*, 2015).

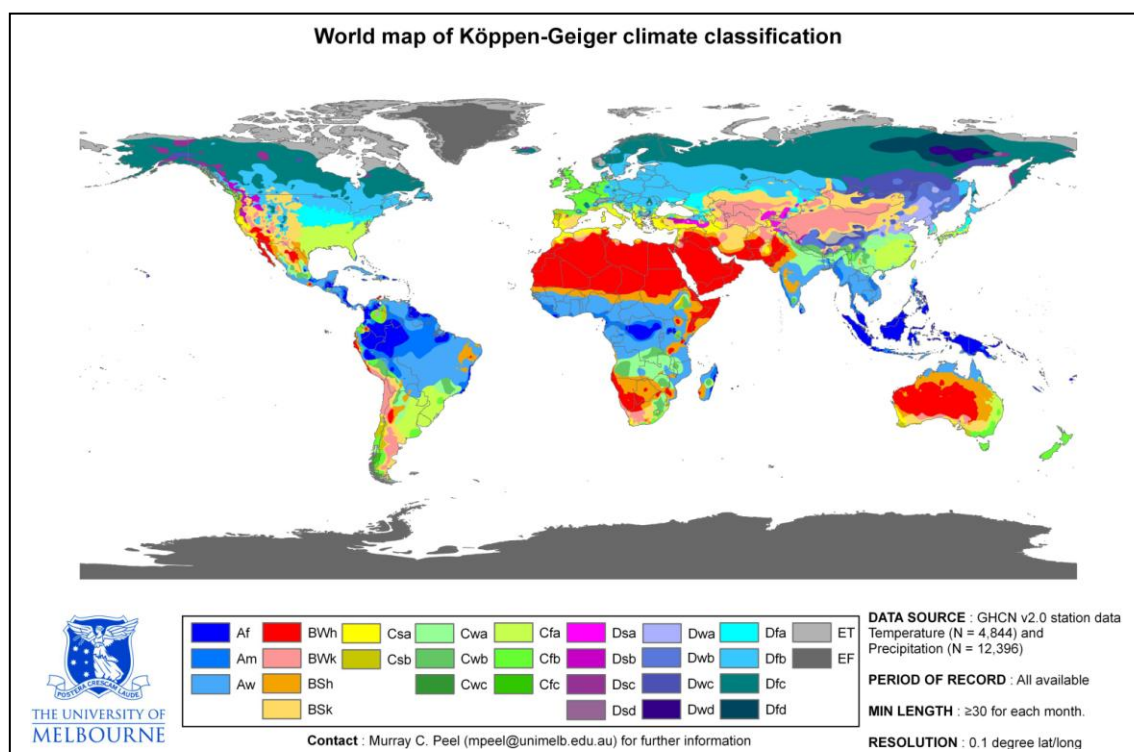
## 2.2 AMBIENTES EXTREMOS SECOS

Ambientes extremos são aqueles onde se acredita que a existência ou permanência de vida é escassa, possuindo pouca riqueza ou diversidade. Segundo ROTHSCILD & MANCINELLI (2001), o termo ‘extremo’ inclui extremos físicos (por exemplo, temperatura, radiação ou pressão) e geoquímicos (por exemplo, dissecação, salinidade, pH, espécies dependentes de oxigênio ou potencial redox). Esses mesmos autores também afirmam que organismos que se desenvolvem em um ambiente extremo podem ser

chamados de ‘extremófilos’, já aqueles que vivem em mais de um desses ambientes é um ‘poliextremófilo’. Apesar de as definições propostas facilitarem o estudo desses organismos, discussões filosóficas, físicas e/ou coloquiais também auxiliam no entendimento desse estilo de vida. Alguns ecossistemas são citados como ambientes extremos, entre eles, fontes termais e gêiseres, mar profundo, ambientes hipersalinos, depósitos evaporíticos, desertos, atmosfera, gelo e neve (ROTHSCHILD & MANCINELLI, 2001).

Quando nos referimos aos ambientes extremos secos, incluímos distintos ambientes em todo o mundo que podem ser agrupados no tipo de clima árido e/ou tropical seco (KÖPPEN-GEIGER, 1948; PEEL *et al.*, 2007). Esses climas são caracterizados por apresentarem um pronunciado período seco, precipitação anual total média entre 380 e 760 mm (em regiões desérticas precipitação anual média pode ser <250 mm) e temperaturas elevadas (>17 °C). Segundo a classificação climática de Köppen-Geiger (1948), os climas estão divididos em cinco grandes grupos (árido, frio, tropical, temperado e polar) e são relacionados com a vegetação natural de cada região, considerando a sazonalidade e os valores de temperatura do ar e precipitação. Peel *et al.* (2007) construíram um novo mapa global de clima usando o sistema de Köppen-Geiger (Figura 1). Estes autores concluíram que a classe climática globalmente dominante é a árida (30,2 %) e o tipo de clima mais comum é o BWh (14,2 %, *Hot desert*), seguido por Aw (11,5 %, *Tropical savannah*).

Figura 1 – Mapa do tipo climático mundial segundo Köppen-Geiger.



Fonte: Peel *et al.*, 2007.

Ambientes secos abrigam plantas que possuem características peculiares que lhes auxiliam a sobreviver em condições extremas. Tais adaptações podem incluir diferenciação da cutícula, controle estomático, armazenamento de água e associação com micro-organismos, outras plantas e/ou animais. Várias famílias de plantas, entre elas *Cactaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Malvaceae* e *Salicaceae* são comumente encontradas em ambientes secos de todo o mundo (SIQUEIRA FILHO, 2012; CABRAL *et al.*, 2013; THE PLANT LIST, 2013) e abrigam exemplos de espécies que resistem às condições secas às quais são submetidas.

Relacionando estes estudos climáticos com os estudos de verificação da associação de micro-organismos endofíticos com plantas de diversos ambientes naturais de todo o mundo (principalmente tropicais e temperados), percebe-se a necessidade de estimular estudos sobre a diversidade de endófitos em plantas de ambientes secos, já que estes habitats representam uma parcela considerável do clima global. Pesquisas desse tipo contribuirão com o conhecimento da diversidade de endófitos e entendimento da relação planta-fungo endofítico e os seus benefícios para que o hospedeiro sobreviva às condições extremas às quais estão submetidos. Além disso, esse conhecimento poderá auxiliar na formulação de técnicas que promovam a resistência de plantas de interesse econômico às

mudanças climáticas globais. Como sugerido por Newsham (2012), novas pesquisas sobre fungos em ambientes extremos, embora às vezes desafiadoras, são claramente justificadas.

### 2.2.1 Florestas tropicais secas

Baseando-se em critérios climáticos, como temperatura e umidade relativa do ar, Holdridge (1967) dividiu os trópicos em zonas ecológicas, e então definiu as florestas secas como aquelas presentes em áreas livres de frio, onde a temperatura média anual é maior que 17 °C, a precipitação média é de 250 a 2000 mm e a taxa anual de evapotranspiração potencial sob precipitação é maior que um. Para Murphy & Lugo (1986), que compararam diversas florestas secas e úmidas neotropicais, as florestas secas são aquelas que ocorrem em áreas com precipitação média anual de 500 a 2000 mm, marcadas por uma forte estação seca.

As florestas secas são formações florestais semidecíduas que ocorrem nos trópicos, sob estação seca bem definida. Essas florestas, com estrutura e composição florística muito variadas, têm sido definidas assim devido ao seu ritmo estacional, que se traduz por avançado grau de deciduidade foliar durante a seca (ANDRADE-LIMA, 1981).

De acordo com Sabogal (1992), as florestas tropicais secas são a terceira maior formação vegetal dos trópicos em área. No Brasil, as florestas secas estão representadas por aquelas que perdem parte das folhas durante um determinado período do ano (semidecíduas) e aquelas que perdem todas as folhas (decíduas), durante um período determinado do ano, localizadas no Cerrado e na Caatinga (QUESADA *et al.*, 2009; EMBRAPA, 2011).

No nordeste do Brasil a maior formação vegetacional seca é a Caatinga, o principal ecossistema da região, estendendo-se pelo domínio de climas semiáridos, numa área de 73.683.649 ha, ou cerca de 6,83% do território nacional (PEREIRA *et al.*, 1989; ARAÚJO FILHO, 1996; MEIADO *et al.*, 2015). Na cobertura vegetal da região Nordeste, a Caatinga representa cerca de 800.000 km<sup>2</sup>, o que corresponde a 70% da região, sendo que aproximadamente 50% das terras recobertas com Caatinga são de origem sedimentar e ricas em água subterrânea (MARACAJÁ & BENEVIDES, 2006).

A Caatinga, um dos maiores e exclusivos patrimônios ecossistêmicos do país, é caracterizada por formações arbóreo-arbustivas, hierarquizadas em diversas tipologias, muitas das quais ainda praticamente desconhecidas do ponto de vista ecológico (PEREIRA *et al.*, 2001). A vegetação desta região ocorre em faixas descontínuas, estando fortemente

marcada pela influência de uma estação chuvosa curta e uma estação seca mais prolongada. Esta característica climática é também responsável pela caducifolia de grande parte das árvores em resposta ao período de deficiência hídrica (MURPHY & LUGO, 1986; RODAL, 1992; MEIADO *et al.*, 2015).

Devido às características bióticas da Caatinga e à exploração de seus recursos vegetais de forma não sustentável, este ecossistema vem passando por modificações. As alterações na Caatinga tiveram início com o processo de colonização do Brasil, inicialmente como consequência da pecuária bovina, associada às práticas agrícolas rudimentares (ANDRADE *et al.*, 2005), estando a economia desta região fortemente sustentada pela exploração dos recursos naturais, que em geral, vem sendo desenvolvida sem qualquer tipo de preocupação conservacionista (SAMPAIO, 2002). Ao longo do tempo, outras formas de uso da terra foram sendo adotadas, como a diversificação da agricultura e da pecuária e o aumento da extração de lenha para produção de carvão (ZANETTI, 1994). No entanto a eliminação sistemática da cobertura vegetal e o uso indevido das terras têm acarretado graves problemas ambientais, entre os quais se destacam a redução da biodiversidade, a degradação dos solos e o comprometimento dos sistemas produtivos (JAPAN, 1990; BRASIL, 1991, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 2013). Apesar disso, algumas áreas desse ecossistema têm sido tratadas como prioritárias, e se tem incentivado a preservação natural em Unidades de Conservação da natureza, onde recentemente também foram verificados eventos de redução e/ou desclassificação (BERNARD *et al.*, 2014).

### **2.2.2 Cactaceae Juss.**

A família Cactaceae é originária principalmente do México, ocorre em todos os continentes e é dividida em quatro subfamílias: Maihuenioideae, Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae (TAYLOR & ZAPPI, 2008). As suas espécies estão entre as mais conspícuas e típicas dos ambientes áridos e semiáridos do Novo Mundo, sendo encontradas desde o sudeste da Patagônia (Argentina) até o sul do Canadá, em habitats variados que vão desde regiões áridas até florestas úmidas (HUNT & TAYLOR, 1990; ANDERSON, 2001; MEIADO *et al.*, 2012). Entretanto, são mais frequentemente encontradas em regiões de clima quente e seco, exceto na região úmida equatorial (TAYLOR & ZAPPI, 2004).

Os cactos são plantas perenes, xerófitas, suculentas, em geral espinhosas e que possuem hábitos diversos (BARROSO *et al.*, 1978): arbóreo, arbustivo, subarbustivo, trepador, epifítico ou geófito, de raiz fibrosa ou tuberosa. O caule apresenta formas diversas e em geral, sem folhas. São capazes de auxiliar no desenvolvimento de ambientes, permitindo o estabelecimento de outros vegetais sobre rochas nuas e em alguns ecossistemas são consideradas base da cadeia alimentar (PAULA & RIBEIRO, 2004).

Os centros de diversidade e distribuição dos cactos localizam-se principalmente no sudeste dos Estados Unidos, México, Andes e leste do Brasil (TAYLOR & ZAPPI, 2004), com exceção de *Rhipsalis* Gaertn. que é encontrado desde os neotrópicos até a África e o sul do continente asiático (ANDERSON, 2001; MEIADO *et al.*, 2012). O Brasil é considerado o terceiro maior centro de diversidade da família no continente americano (TAYLOR, *in* OLDFIELD, 1997), com um total de 37 gêneros de Cactaceae nativos, compreendendo cerca de 30% de 120 espécies relatadas no Novo Mundo (ZAPPI *et al.*, 2010).

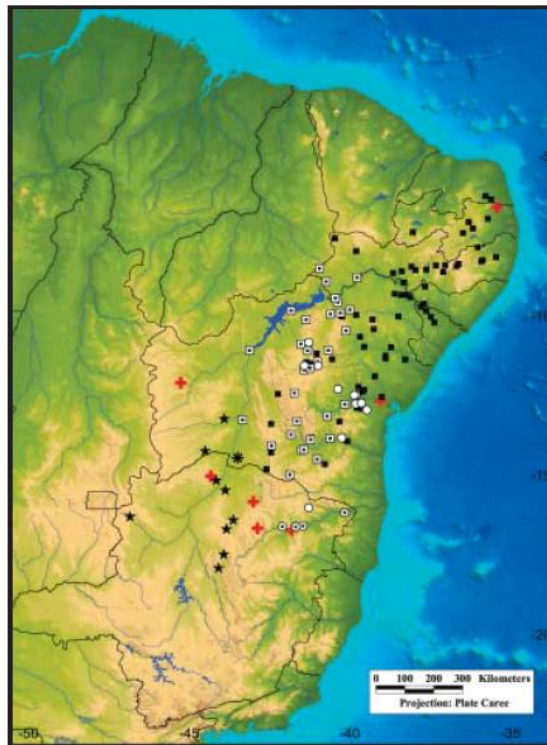
No ambiente de Caatinga, que possui uma grande diversidade de cactos com cerca de 90 espécies registradas (TAYLOR *et al.*, 2015), representantes de três gêneros são encontrados abundantemente: *Tacinga* Britton & Rose, *Pilosocereus* Byles & G. D. Rowley e *Melocactus* (L.) Link & Otto. Pertencente à tribo Opuntieae, e à subfamília Opuntideae, *Tacinga* possui seis espécies, das quais quatro são endêmicas para o Nordeste do Brasil. *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N. P. Taylor & Stuppy (conhecida popularmente como quipá) é uma das mais comuns na Caatinga, sendo endêmica desse ecossistema. Usualmente encontrada sob rochas ou solo muito pedregoso, na Caatinga aberta ou em campos rupestres, esse cacto é localmente um elemento codominante da flora da Caatinga, sendo considerada como “menos preocupante” para status de conservação (TAYLOR & ZAPPI, 2004) (Figuras 2 e 3).

Figura 2 – *Tacinga* em seu ambiente natural de Caatinga, Águas Belas-PE, Brasil (9°8.63' S, 37°12.061' O).



Fonte: O autor, 2016.

Figura 3 – Distribuição de *Tacinga*: *T. funalis*, *T. braunii*, *T. weneri*, *T. palmadora*, *T. saxatilis* & supsp. *estesvii*; e *T. inamoena*. Somente os registros mais ocidentais, mais meridionais e mais orientais.



Fonte: TAYLOR & ZAPPI, 2004.



*Pilosocereus* é outro gênero de cactáceas pertencente à tribo *Cereeae* e à subfamília *Cactoideae*, muito comum e amplamente difundido no Nordeste do Brasil. Possui aproximadamente 37 espécies distribuídas em alguns países e em vários estados do Brasil, sendo o maior e mais importante gênero de Cactaceae no nordeste brasileiro. Representado por 20 espécies, ocorre em uma ampla variedade de tipos vegetacionais, e algumas vezes restritos em afloramentos rochosos (principalmente no Cerrado e na Mata Atlântica). As espécies encontradas no território brasileiro são classificadas em dois subgêneros e vários grupos de espécies (TAYLOR & ZAPPI, 2004) (Figuras 4 e 5).

Figura 4 – *Pilosocereus* em seu ambiente natural de Caatinga, Águas Belas-PE, Brasil (9°8.63' S, 37°12.061' O).



Fonte: O autor, 2016.

Figura 5 – Distribuição de *Pilosocereus* subg. *Gounellea*: *P. tuberculatus* e *P. gounellei* subsp. *gounellei* & subsp. *zehntneri*.



Fonte: TAYLOR & ZAPPI, 2004.

*Melocactus* é um dos gêneros mais largamente distribuídos da família Cactaceae, compreendendo 34 espécies e ocorrendo do sul-oeste e norte-nordeste do Brasil (16-17 espécies). O Nordeste do Brasil, especialmente o estado da Bahia, é considerado o centro de diversidade e o local de maior concentração de táxons, com 18 das 22 espécies registradas sendo endêmicas da região. Espécies de *Melocactus* são características de caatingas-agrestes, campos rupestres e somente *M. violaceus* Pfeiff. ocorre em areia de dunas da Mata Atlântica e *M. ernestii* Vaupel é ocasionalmente encontrado em rochas de brejos de altitude (POREMBSKI *et al.*, 1998; TAYLOR & ZAPPI, 2004) (Figuras 6 e 7).

Figura 6 – *Melocactus* em seu ambiente natural de Caatinga, Águas Belas-PE, Brasil (9°8.63' S, 37°12.061' O).



Fonte: O autor, 2016.

Figura 7 – Distribuição do Grupo de espécies *Melocactus violaceus* (I): *M. salvadorensis*, *M. zehntneri* e *M. lanssensianus* (Mapa 45, in Taylor e Zappi, 2004).



Fonte: TAYLOR & ZAPPI, 2004.

## 2.3 RELAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS COM PLANTAS DE AMBIENTES EXTREMOS SECOS

Os habitats secos representam um promissor ambiente de pesquisas que, por causa dos seus desafios ambientais, podem ser utilizados para analisar e caracterizar a estrutura e compreender a relação e simbiose entre fungos e plantas de ambientes extremos (KHIDIR *et al.*, 2010).

No estudo de fungos endofíticos de plantas de regiões secas e desérticas, destaca-se o isolamento de espécies pigmentadas, por exemplo, as dos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium* e *Phoma* (SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; SUN *et al.*, 2012). O trabalho de REDMAN *et al.* (2002), em condições de laboratório, sugere que a melanina presente na parede das células dos fungos confere proteção térmica ao hospedeiro. Os autores verificaram a proteção conferida por *Curvularia protuberata* quando isolada de *Dichantherium* (Poaceae). No entanto, os benefícios de fungos endofíticos pigmentados ainda não são totalmente conhecidos (SUN *et al.*, 2012).

Além da tolerância a temperaturas elevadas, o acúmulo de melanina nos fungos tem sido considerado um mecanismo para conferir tolerância a estresses ambientais, tais como: radiação UV e lise microbiana (HYAKUMACHI *et al.*, 1987; WANG & CASADEVALL, 1994; MOSSE & LYAKH, 1994; JACOBSON *et al.*, 1995; KAWAMURA *et al.*, 1997; BUTLER & DAY 1998; REDMAN *et al.*, 2002; GENG *et al.*, 2008; HUBBARD *et al.*, 2014). Entretanto, alguns experimentos sugerem que o acúmulo de melanina em algumas espécies de fungos, tais como *Alternaria alternata* e *Magnaporthe grisea* é um dos caminhos para a patogenicidade (KAWAMURA *et al.*, 1997) e também parece estar envolvido com o fator de virulência de fungos patogênicos de humanos e de vegetais (LANGFELDER *et al.*, 2003).

Nos poucos experimentos de verificação da associação de fungos endofíticos com plantas de ambientes secos, foi observado que em muitos campos semiáridos a comunidade de fungos endofíticos é composta principalmente por fungos pigmentados, independentemente da latitude (LORO *et al.*, 2012), sugerindo-se que os fungos pigmentados podem conferir à planta tolerância ao calor e a seca, uma das suas principais funções ecológicas (KHIDIR *et al.*, 2010; HUBBARD *et al.*, 2014).

Além das adaptações vegetais para sobreviverem em ambientes extremos, sugere-se que a capacidade das plantas em conferir tolerância à seca pode ser uma herança dos endófitos (RODRIGUEZ *et al.*, 2008), já que existe um possível envolvimento de genes na

expressão da capacidade de tolerância e as plantas estão relacionadas com esses fungos há milhões de anos (KRINGS *et al.*, 2007; MORSY *et al.*, 2010). Os fungos pigmentados podem absorver mais energia radiante que o micélio hialino compactado de outros fungos (CRABTREE & GESSNER, 1982) e em regiões extremas, como aquelas onde os cactos são muitas vezes encontrado, existe baixa diversidade e alta frequência de colonização por espécies de fungos pigmentados (SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; BEZERRA *et al.*, 2012b, 2013).

### **2.3.1 Fungos endofíticos em ambientes secos**

Alguns autores indicam que a baixa diversidade de fungos endofíticos em plantas de áreas secas pode ser explicada pela baixa precipitação e densidade da vegetação (ARNOLD *et al.*, 2000; SURYANARAYANAN *et al.*, 2002, 2003, 2005). É conhecido que endófitos também podem ser transmitidos horizontalmente de plantas para plantas (BAYMAN *et al.*, 1998) e as condições úmidas são favoráveis para esporulação e infecção fúngica (WILSON, 1995), alta riqueza e abundância de plantas em uma comunidade pode fornecer mais hospedeiros e substratos para a infecção por estes fungos (LOSOS & LEIGH, 2004; SUN *et al.*, 2012).

A geografia da região também pode influenciar os padrões de distribuição dos fungos endofíticos e essa diferença pode ser influenciada por características ecológicas, incluindo a composição botânica e condições climatológicas (COLLADO *et al.*, 1999; SUN *et al.*, 2012). Diferindo de algumas proposições prévias, Hoffman & Arnold (2008) relatam que a diversidade de endófitos foi três vezes maior em plantas de ambientes xéricos (Arizona) em comparação com floresta semidecídua messiânica (Carolina do Norte). Micro-organismos endofíticos de plantas de áreas desérticas podem sofrer seleção particularmente forte para atuar como hospedeiros generalistas e o benefício de colonizar o hospedeiro supera o custo da exposição prolongada ao calor intenso, radiação ultravioleta e dessecação (HOFFMAN & ARNOLD, 2008).

Fungos endofíticos podem ter preferência de colonização por família de plantas e o intemperismo da cutícula, textura do tecido e alterações na fisiologia e química do vegetal podem influenciar a preferência dos fungos pelo hospedeiro (PETRINI & CARROLL, 1981; PHOTITA *et al.*, 2001). Contudo, as observações sugerem que os fungos endofíticos de zonas áridas têm distribuição cosmopolita (SURYANARAYANAN *et al.*, 2005), pois podem colonizar outros substratos após “deixar” seu hospedeiro e infectar outros na

próxima geração. Sun *et al.* (2012) também afirmam que muitos dos fungos endofíticos de plantas de áreas desérticas podem não sobreviver após deixar seus hospedeiros devido à baixa umidade, podendo morrer se não encontrar substratos alternativos disponíveis, sugerindo que fungos de áreas desérticas podem não apresentar preferência pela planta hospedeira.

Outros estudos da associação de fungos endofíticos com plantas de regiões semiáridas encontraram uma marcante riqueza de endófitos. Estas pesquisas foram realizadas nos Estados Unidos por Khidir *et al.* (2010), que estudaram a comunidade de fungos endofíticos em raízes de gramíneas e relataram a presença de fungos Pleosporales, Agaricales e Sordariales, e por Loro *et al.* (2012), que analisaram a diversidade de fungos endofíticos de plantas na Venezuela e verificaram maior dominância dos gêneros *Phoma* e *Cochliobolus*. Em áreas desérticas da China, Sun *et al.* (2012) também exploraram a comunidade de fungos endofíticos em folhas e caules de plantas daquela região onde enumeraram principalmente os gêneros *Alternaria* e *Fusarium*. Em outras regiões chinesas com clima temperado, semiárido, continental e/ou continental-árido com precipitação anual variando de 50-381,8 mm e temperatura de 6,7-11 °C, algumas pesquisas revelaram uma riqueza de endófitos composta principalmente por ascomicetos (Sordariomycetes e Dothideomycetes) (UNTERSEHER *et al.*, 2012; JIN *et al.*, 2013).

Ainda com relação a estudos de endófitos em raízes de gramíneas, em campos de areia de regiões semiáridas, na Hungria, Knapp *et al.* (2015) demonstraram a presença de três novos gêneros com oito novas espécies pertencentes à Pleosporales. Trabalhando com plantas de área desértica no Arizona (EUA), Massimo *et al.* (2015) avaliaram a diversidade, a afiliação com o hospedeiro e a distribuição de fungos endofíticos destes vegetais e observaram que a comunidade de endófitos foi rica em espécies e filogeneticamente diversa, sendo *Preussia* spp. o endófito mais isolado. Estudando a micobiota endofítica associada com uma espécie de Fabaceae na Mata Atlântica e na Caatinga (Brasil), Santos *et al.* (2015) demonstraram que a sazonalidade apresentou maior influência na comunidade de fungos que o fator geográfico. Estes estudos têm contribuído para o entendimento da relação dos micro-organismos endofíticos e os seus benefícios para os hospedeiros, sugerindo a contribuição benéfica (resistência a fatores abióticos) deles para as plantas encontradas em regiões de ambientes secos.

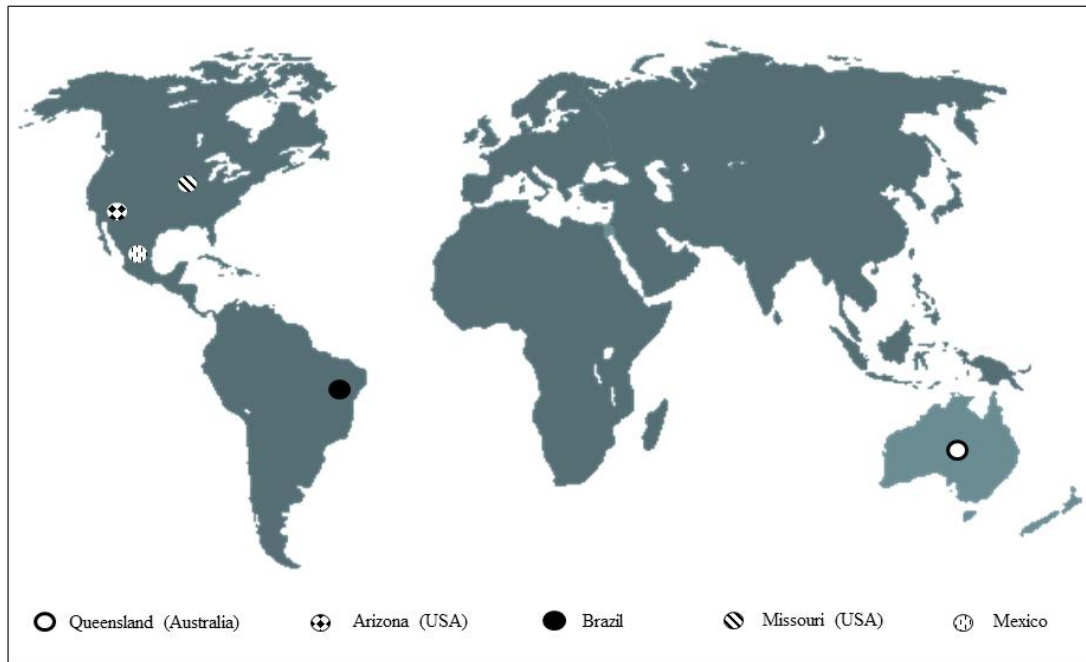
### 2.3.2 Diversidade de fungos endofíticos em cactos

Os cactos compõem uma das famílias mais interessantes de regiões áridas, semiáridas e desérticas, devido ao extenso conjunto de adaptações peculiares em resposta à escassez de água, que lhes permitem ser perenes, apesar das condições de seca extremas do ambiente em que são encontrados (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000).

Na literatura são conhecidos apenas sete estudos da associação de fungos endofíticos com cactos, o primeiro de Fisher *et al.* (1994b) que estudaram em regiões da Austrália a associação de fungos endofíticos com *Opuntia stricta*; o segundo, em áreas desérticas no Arizona em que Suryanarayanan *et al.* (2005) estudaram a associação de fungos endofíticos com 21 espécies de cactos; o terceiro e o quarto no Brasil, onde Bezerra *et al.* (2012a; 2013) verificaram a composição endofítica fúngica de *Opuntia ficus-indica* e *Cereus jamacaru* em regiões da floresta tropical seca conhecida como Caatinga; o quinto estudo por Silva-Hughes *et al.* (2015), os quais verificaram a diversidade e a atividade antifúngica do cacto medicinal *Opuntia humifusa* em Missouri (EUA); a sexta pesquisa foi realizada no Brasil por Freire *et al.* (2015), que verificaram a influência do inseto *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae) na comunidade de fungos endofíticos de *O. ficus-indica* cultivada em área de Caatinga com agricultura familiar sustentável; a sétima pesquisa foi realizada no México por Fonseca-García *et al.* (2016), os quais estudaram a diversidade de bactérias, arquea e fungos associada com duas espécies simpátricas de cactos (*Myrtillocactus geometrizans* e *O. robusta*) (Figura 8 e Tabela 2). Estes estudos têm demonstrado a grande diversidade de endófitos associados com espécies de cactos em diferentes ecossistemas em vários países.



Figura 8 – Localização dos estudos que acessaram a diversidade de fungos endofíticos associados com espécies da família Cactaceae.



Fonte: O autor, 2016.

Além de fungos endofíticos, outros estudos exploraram a comunidade de bactérias endofíticas e do rizoplasma em cactos de áreas desérticas no México e verificaram a influência desses micro-organismos na germinação de sementes e na permanência dos cactos no seu ambiente natural (PUENTE *et al.*, 2004a, 2004b, 2009a, 2009b; LOPEZ *et al.*, 2011, 2012). Bezerra *et al.* (2012b) reuniram os trabalhos sobre a associação de micro-organismos endofíticos com espécies da família Cactaceae e destacaram a riqueza e o benefício que proporcionam aos cactos. O Quadro 2 reúne os trabalhos sobre endófitos (fungos e bactérias) associados a cactos.



Quadro 2 – Resumo dos trabalhos sobre a diversidade de endófitos (fungos, bactérias e/ou Arquea) associados com espécies da família Cactaceae (adaptado de Bezerra *et al.*, 2012b).

Cactos	Endófitos		Número de isolados	Identificação	País	Referencia
	Fungos	Bactérias e/ou Arquea				
<i>Opuntia stricta</i> (Haw.) Haw.	<i>Alternaria</i> , <i>Ascochyta</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Coniella</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Geniculosporium</i> , <i>Leptosphaeria</i> , <i>Nigrospora</i> , <i>Nodulisporium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Phoma</i> , <i>Phomopsis</i> , <i>Sordaria</i>	-	617	Morfologia	Austrália	FISHER <i>et al.</i> (1994)
<i>Opuntia</i> Mill. <i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill. <i>O. engelmannii</i> Salm-Dyck ex Engelm. <i>Carnegiea gigantea</i> (Engelm.) Britton & Rose <i>Consolea</i> Lem. <i>Cylindropuntia</i> (Engelm.) F.M. Knuth <i>C. acanthocarpa</i> (Engelm. & J.M. Bigelow) F.M. Knuth <i>C. arbuscula</i> (Engelm.) F.M. Knuth <i>C. bigelovii</i> (Engelm.) F.M. Knuth <i>C. californica</i> (Torr. & A. Gray) F.M. Knuth <i>C. echinocarpa</i> (Engelm. & J.M. Bigelow) F.M. Knuth <i>C. fulgida</i> (Engelm.) F.M. Knuth <i>C. imbricata</i> (Haw.) F.M. Knuth <i>C. multigeniculata</i> Backeb. <i>C. ramosissima</i> (Engelm.) F.M. Knuth <i>C. versicolor</i> (Engelm. ex J.M. Coult.) F.M. Knuth <i>C. whipplei</i> (Engelm. & J.M. Bigelow) F.M. Knuth	<i>Alternaria</i> , <i>Ascochyta</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Drechslera</i> , <i>Epicocum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Nigrospora</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Phoma</i> , <i>Stemphylium</i> , <i>Ulocladium</i>	-	900	Morfologia	EUA	SURYANARAYANAN <i>et al.</i> (2005)

Bezerra, J. D. P. – Fungos endofíticos em cactos...

<p><i>Echinocereus fasciculatis</i> (Engelm. ex S. Watson) L.D. Benson  <i>E. engelmannii</i> (Parry ex Engelm.) Lem.  <i>Mammillaria viridiflora</i> (Britton &amp; Rose) Boed.  <i>Pachycereus pringlei</i> (S. Watson) Britton &amp; Rose  <i>Stenocereus thurberi</i> (Engelm.) Buxb.  <i>Opuntia cholla</i> F.A.C. Weber</p>	-	<p><i>Acinetobacter</i>,  <i>Bacillus</i>, <i>Citrobacter</i>,  <i>Paenibacillus</i>,  <i>Klebsiella</i>,  <i>Pseudomonas</i>,  <i>Staphylococcus</i></p>	26	16S rRNA gene	México	PUENTE <i>et al.</i> (2009a)
<p><i>Mammillaria fraileana</i> (Britton &amp; Rose) Boed.</p>	-	<p><i>Azotobacter</i>,  <i>Enterobacter</i>, <i>Bacillus</i>,  <i>Pseudomonas</i></p>	-	16S rRNA gene	México	LOPEZ <i>et al.</i> (2011)
<p><i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.</p>	-	<p><i>Agrobacterium</i>,  <i>Paracoccus</i>,  <i>Sphingomonas</i>,  <i>Citrobacter</i>,  <i>Enterobacter</i>,  <i>Escherichia</i>,  <i>Klebsiella</i>, <i>Kluyvera</i>,  <i>Samonella</i>,  <i>Stenotrophomonas</i>,  <i>Bacillus</i>,  <i>Chryseobacterium</i>,  <i>Paenibacillus</i></p>	37	Fisiologia e bioquímica	Brasil	COSTA & MELO (2012)
<p><i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.</p>	<p><i>Acremonium</i>, <i>Aspergillus</i>,  <i>Cladosporium</i>, <i>Fusarium</i>,  <i>Monodictys</i>, <i>Nigrospora</i>,  <i>Penicillium</i>, <i>Pestalotiopsis</i>,  <i>Phoma</i>, <i>Phomopsis</i>,  <i>Tetraploa</i>, <i>Xylaria</i></p>	-	44	Morfologia	Brasil	BEZERRA <i>et al.</i> (2012a)
<p><i>Opuntia</i> sp. (cultivars)</p>	-	<p><i>Azospirillum</i>,  <i>Herbaspirillum</i>,  <i>Azotobacter</i>,  <i>Azomonas</i>,  <i>Gluconacetobacter</i></p>	22	16S rRNA gene	Brasil	LYRA <i>et al.</i> (2013)
<p><i>Cereus jamacaru</i> DC. subsp. <i>jamacaru</i></p>	<p><i>Acremonium</i>, <i>Aspergillus</i>,  <i>Aureobasidium</i>, <i>Boeremia</i>,</p>	-	560	Morfologia, fisiologia e	Brasil	BEZERRA <i>et al.</i> (2013)

	<i>Candida</i> , <i>Chrysonilia</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Cochiliobolus</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Cytospora</i> , <i>Debaryomyces</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Gibberella</i> , <i>Guignardia</i> , <i>Nigrospora</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Phoma</i> , <i>Phomopsis</i> , <i>Pseudocochiliobolus</i> , <i>Purpureocillium</i> , <i>Redaellia</i> (=Aspergillus), <i>Sarocladium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Sporobolomyces</i> , <i>Sterigmatomyces</i> , <i>Tritirachium</i> , <i>Cunninghamella</i> , <i>Syncephalastrum</i>			bioquímica		
<i>Opuntia humifusa</i> (Raf.) Raf	<i>Aureobasidium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Disporthe</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Paraconiothyrium</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Biscogniauxia</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Phoma</i>	-	108	ITS rDNA, <i>tefl</i> e $\beta$ - tubulina genes	USA	SILVA-HUGHES <i>et al.</i> (2015)
<i>O. ficus-indica</i> healthy and infested by <i>Dactylopius opuntiae</i>	<i>Acremonium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Chrysonilia</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Cunninghamella</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Phoma</i> , <i>Rhinochadiela</i>	-	100	Morfologia	Brasil	FREIRE <i>et al.</i> (2015)
<i>Myrtillocactus geometrizans</i> (Mart. ex Pfeiff.) Console and <i>Opuntia robusta</i> H.L.Wendl. ex Pfeiff.	<i>Agaricales</i> , <i>Ascomycota</i> , <i>Capnodiales</i> , <i>Chaetothyriales</i> , <i>Coniochaetales</i> , <i>Dothideales</i> , <i>Eurotiales</i> , <i>Hymenochaetales</i> ,	<i>Acidobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i> , <i>Alphaproteobacteria</i> , <i>Bacilli</i> , <i>Betaproteobacteria</i> , <i>Chloracidobacteria</i> ,	-	Técnicas moleculares	México	FONSECA-GARCIA <i>et al.</i> (2016)

Bezerra, J. D. P. – Fungos endofíticos em cactos...

<p><i>Tacinga inamoena</i> (K. Schum.) N. P. Taylor &amp; Stuppy, <i>Pilosocereus gounellei</i> (F. A. C. Weber) Byles &amp; G. D. Rowley, and <i>Melocactus zehntneri</i> (Britton &amp; Rose) Luetzelb.</p>	<p><i>Hysteriales, Hypocreales, Helotiales, Leotiales, Pleosporales, Sordariales, Xylariales</i></p> <p><i>Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycotina</i></p>	<p><i>Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Oscillatoriophycideae, Spartobacteria, Solibacteres, Sphingobacteria, Thaumarchaeota</i></p> <p>-</p>	<p>-</p>	<p>Taxonomia polifásica</p>	<p>Brasil</p>	<p>BEZERRA <i>et al.</i> (este trabalho)</p>
---	--	---	----------	-----------------------------	---------------	--

Fonte: O autor, 2016.

## 2.4. TAXONOMIA DE FUNGOS

O termo taxonomia tem origem grega e significa *taxis* (ordem) e *nomos* (lei, norma). Foi usado pela primeira vez em 1735 pelo cientista e médico sueco Carl Von Linné, com a publicação da versão inicial da obra *Systema Naturae* (AGANETTE *et al.*, 2010). A taxonomia morfológica é hoje definida como um sistema de classificação dos organismos que tem como base a análise dos caracteres fenotípicos para classificação (CAMACHO *et al.*, 2013). Surgiu da necessidade do homem em classificar, agrupar e organizar os seres vivos com o intuito de facilitar o estudo e compreensão dos organismos (MACHADO, 2006).

Uma abordagem morfológica na identificação de fungos cultiváveis considera alguns aspectos, como: textura e diâmetro da colônia, velocidade de crescimento, pigmentação, forma e cor da hifa, presença ou não de septos, forma e ornamentação dos esporos, entre outras estruturas (QUADROS *et al.*, 2009). No entanto, este método apresenta limitações por não fornecer informações suficientes no processo de distinção de espécies morfológicamente indistintas, visto que estas características podem variar conforme as condições ambientais, meio de cultura, substrato e condições de incubação, muitas vezes criando certa dificuldade dos taxonomistas em determinar quais as características fenotípicas que realmente delimitam um gênero ou espécie (OLIVEIRA, 2011; SANTOS *et al.*, 2010; GUARRO *et al.*, 1999).

Entre os anos de 1950 e 1960, a taxonomia foi fortemente influenciada pelas informações obtidas através da citologia e genética, com intuito de ampliar os esquemas tradicionalmente utilizados. Já entre as décadas de 1960 e 1970, surgiu a taxonomia numérica com o objetivo de analisar em conjunto uma grande quantidade de dados de origens diversas utilizando algoritmos matemáticos. Em seguida, nos anos de 1970-1980 houve uma grande quantidade de trabalhos de quimiotaxonomia associados à taxonomia morfológica, até que, a partir de 2000 surgiram os primeiros trabalhos utilizando dados baseados nas sequências de DNA e analisados utilizando-se os princípios da cladística, a chamada sistemática molecular (BARROS, 2013). Desde então, a aplicação dessas técnicas moleculares vem possibilitando uma melhor compreensão a respeito das relações filogenéticas entre diferentes espécies de fungos, assim como, fornecendo dados importantes que possibilitam a classificação de novas espécies, e estudos ecológicos de fungos, entre eles os endófitos (ARNOLD *et al.*, 2000; GOU *et al.*, 2000; AZEVEDO *et al.*, 2006).

Em contraste com a abordagem exclusivamente fenotípica, estas análises moleculares trazem vantagens, pois sequências de DNA são pouco susceptíveis a alterações ambientais como observado nas características morfológicas, fornecendo assim caracteres mais estáveis no processo de identificação de espécies (GOMES, 2011). Frequentemente, os resultados obtidos com uma abordagem molecular complementam as hipóteses baseadas em estudos de morfologia, mas em alguns casos, os dados resultantes da análise do DNA não se mostram completamente de acordo com as observações morfológicas (SAMUELS & SEIFERT, 1995). Por exemplo, Zhang *et al.* (1998) distinguiram cinco táxons de *Diaporthe* [*Phomopsis*] isolados de soja (*Glycine max*) utilizando sequências da região ITS do DNA ribossomal, mas não obtiveram dados morfológicos capazes de diferenciá-los. Em 2013, Gomes *et al.* utilizaram cinco marcadores moleculares para resolver a taxonomia e filogenia de culturas de *Diaporthe*.

#### **2.4.1 Técnicas moleculares na identificação de fungos**

Existem vários métodos na biologia molecular utilizados como ferramenta auxiliar à identificação morfológica de fungos; dentre esses, destaca-se a Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) (SHI, 2001). Criada por Karry Mullis em 1985, a PCR é um método de análise molecular que permite a obtenção, *in vitro*, de várias cópias de um determinado segmento do DNA através do uso de um par de oligonucleotídeos (*primers*) específicos para a região a ser amplificada. Esta técnica gera produtos em quantidade suficiente para análises de DNA mesmo a partir de pequenas quantidades de amostra (FUNGARO, 2001). As regiões internas transcritas (ITS - *Internal Transcribed Spacer*) do DNA ribossomal (rDNA) estão situadas entre regiões altamente conservadas e são o principal alvo da PCR para análise filogenética em fungos (LARENA, 1999).

A região ITS esta dividida em ITS1, que separa os genes 18S e 5.8S, e ITS2 que está localizado entre os genes 5.8S e 28S (HILLIS & DIXON, 1991; SCHLOTTERER *et al.*, 1994). Normalmente as regiões 18S, 5.8S e 28S não apresentam variações de sequência, ao contrário da região ITS que evolui rapidamente, apresentando alto nível de polimorfismo e por isso pode variar intraespecificamente na sequência de bases e no comprimento, sendo assim mais utilizada e apropriada para discriminação de espécies próximas ou até variedades de uma mesma espécie.

Além disso, essas sequências aparecem em grande número de cópias no genoma e são relativamente curtas, geralmente apresentando entre 600 e 800 pares de bases de comprimento, podendo ser mais facilmente amplificadas e sequenciadas. Como consequência dessas vantagens, existe atualmente um grande número de sequências de ITS disponíveis em bancos de dados de sequências de nucleotídeos, e programas computacionais possibilitam a comparação destas sequências de organismos, permitindo definir regiões apropriadas para a síntese de *primers* específicos para cada fungo. Com isso, as regiões ITS vem sendo bastante utilizadas na taxonomia de fungos (LARENA, 1999; FUNGARO, 2001; KAWASAKI *et al.*, 2008; MENEZES *et al.*, 2010) como ferramentas úteis em estudos de filogenia e na diferenciação de espécies (KURAMAE & SOUSA, 2002; NAKAZATO, 2005; STRINGARI, 2009). Para o estudo dos fungos, um acordo internacional adotou a região ITS como um marcador de código de barras (*barcode*) universal (SCHOCH *et al.*, 2012). Entretanto, para o estudo filogenético de leveduras, a região D1/D2 de LSU já tinha sido adotada para caracterização de espécies antes do *barcode* para fungos ter sido formalmente proposto (KURTZMAN & ROBNETT, 1998; FELL *et al.*, 2000; SCORZETTI *et al.*, 2002; SCHOCH *et al.*, 2012).

Espécies pouco relacionadas e com caracteres morfológicos claramente distintos, apontam resultados claros em análises filogenéticas mesmo quando realizados com base em apenas um locus (BRAUN *et al.*, 2003). No entanto, em um complexo que abriga organismos morfológicamente semelhantes, apenas um *locus* não é considerado suficiente para discriminação de espécies (SCHUBERT *et al.*, 2007; BENSCH *et al.*, 2012). Alguns pesquisadores sugerem a utilização dos genes actina (ACT), fator de alongação da tradução (TEF1), beta tubulina (BET), histona H3 (HIS) e calmodulina (CAL) para análise dos fungos (CARBONE & KOHN, 1999; TARKKA *et al.*, 2000; WIRSEL *et al.*, 2002; KEELING & INAGAKI, 2004; NAKAZATO, 2005; STRINGARI, 2009; GOMES *et al.*, 2013).

O sequenciamento parcial de genes para estudos de taxonomia e filogenia tem proporcionado a criação de bancos de dados genéticos gratuitos e de amplo acesso, que tem como objetivo reunir e fornecer informações genéticas de táxons de todo o mundo, contribuindo para a realização de pesquisas em diversas áreas como taxonomia e sistemática (BUENO-SILVA, 2012). O *National Center for Biotechnology* (NCBI) é considerado uma base de dados central de informação genômica e conta com uma série de bancos que armazenam dados obtidos de informações biológicas dos organismos como sequências de nucleotídeos e aminoácidos, além de dispor de informações

detalhadas sobre taxonomia. Dentre eles, o *Genetic Sequence Database (GenBank)* é considerado o principal banco de dados de sequências genéticas disponíveis para o público, o qual inclui dados de genomas completos e em andamento (SANTOS *et al.*, 2002, 2003; NCBI, 2014). Especificamente para os fungos endofíticos, está sendo desenvolvida uma nova ferramenta online denominada *Tree-Based Alignment Selector (T-BAS)* para delimitação e classificação de endófitos desconhecidos (CARBONE *et al.*, 2015).

#### **2.4.2 Sistemática filogenética**

Dados moleculares são essenciais para análises de relações filogenéticas entre as linhagens de organismos (SMITH & ONION, 1994). A filogenia retrata a história evolutiva de um grupo de organismos descendente de um ancestral em comum e tem como principal objetivo compreender as relações evolutivas entre as linhagens, inferindo a história de vida desde sua origem, representando esses dados através de árvores filogenéticas. Essas árvores são consideradas hipóteses das relações evolutivas que demonstram a ordem de separação das espécies, podendo representar a história evolutiva de um pequeno grupo de organismos ou mesmo de grandes linhagens (VIANA, 2007). A princípio, essas árvores se baseavam apenas em dados obtidos de análises morfológicas, o que trazia resultados pouco confiáveis, pois espécies que evoluíram de ancestrais distintos poderiam sofrer transformações originando características morfológicas semelhantes. Com o advento da biologia molecular e do acesso à estrutura de macromoléculas como o DNA, as análises filogenéticas passaram a ter um avanço acelerado (FERNANDES-MATIOLI, 2001; VIANA, 2007). Técnicas como sequenciamento do DNA levaram ao desenvolvimento de medidas para análise de distância genética e de construção de árvores capazes de expressar as diferenças observadas entre os organismos, sendo assim uma poderosa ferramenta no estudo evolutivo dos organismos (VIANA, 2007).

Diferentes métodos têm sido utilizados para reconstrução de árvores filogenéticas a partir de dados moleculares. O modelo de *Neighbor-Joining* foi proposto por Saitou & Nei (1987) e tem como princípio encontrar pares de bases vizinhos que se unam e minimizem ao máximo o comprimento total dos ramos de uma árvore em cada estágio do agrupamento. A princípio, estas sequências unidas pela menor distância genética são consideradas como uma só entidade e, em seguida, é feita a busca pelo



terminal seguinte que tenha a menor distância genética deste; o procedimento continua até unir todos os terminais à árvore filogenética. Ao final, o comprimento dos ramos e topologia de uma árvore parcimoniosa pode ser obtido rapidamente através deste método (SAITOU & NEI, 1987). Outro modelo, o de Máxima verossimilhança popularizado por Ronald Fisher entre 1912 e 1922 (PFANZAGL 1994), é um método estatístico baseado em evolução molecular, que calcula cada árvore possível que pode ser derivada dos dados selecionados, além de calcular o comprimento dos ramos de cada árvore diferente. Este método estima a probabilidade do quão bem a matriz de caracteres é explicada por árvores filogenéticas. Em um outro método, o de Máxima parcimônia, a árvore filogenética ideal consiste naquela que apresentar a menor quantidade de mudanças evolutivas necessárias para explicar uma determinada matriz de caracteres, sendo considerada a mais parcimoniosa (PEÑA, 2011).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 ÁREAS DE ESTUDO**

##### **3.1.1 Área de Caatinga preservada**

O Parque Nacional do Catimbau – PARNA do Catimbau (8°24'00'' e 8°36'35'' S e 37°14'40'' O) possui uma área com aproximadamente 62.300 ha e está inserido no sertão Central entre os municípios de Ibimirim, Tupanatinga e Buíque, estado de Pernambuco. Segundo a SNA (2002), a vegetação do PARNA do Catimbau é de Caatinga, apresentando grande diversidade de espécies e de estrutura, com destaque para a presença de muitos indivíduos arbustivo-arbóreos endêmicos da vegetação de campos rupestres, e a grande abundância de bromélias e cactos. O clima predominante na região é o semiárido do tipo Bsh, com transição para o tropical chuvoso, do tipo As' segundo escala de Köppen (KÖPPEN-GEIGER, 1948). A precipitação média anual nesta região varia entre 650 a 1.100 mm, com grande irregularidade no regime interanual. Geralmente, cerca de 60 a 75 % das chuvas ocorrem no período de março/abril até junho/julho. O período de menor pluviosidade vai de setembro a janeiro, sendo outubro o mês mais seco. A temperatura média anual oscila em torno dos 23 °C sendo julho o mês de temperatura mais baixa, com valores equivalentes a 21 °C, enquanto dezembro, com temperatura média de 25 °C, é o mês mais quente.

##### **3.1.2 Área de Caatinga com agricultura familiar sustentável**

As coletas foram realizadas na Fazenda Curral Velho, município de Itaíba, Agreste Meridional de Garanhuns, estado de Pernambuco, em áreas de agricultura familiar sustentável (sem utilização de agrotóxicos e adubos químicos e com cultivos de milho, feijão e/ou palma forrageira) (9°08'89'' S e 37°12'06'' O). Esta área está localizada na Microrregião do Vale do Ipanema, 9° Sul do Equador e a 315 km do Recife-PE, inserida na unidade geoambiental do Planalto da Borborema, formada por maciços e outeiros altos, com altitude variando entre 650 a 1.000 metros. Ocupa uma área em arco que se estende do sul de Alagoas até o Rio Grande do Norte. O relevo é geralmente movimentado, com vales profundos e estreitos dissecados. Ocorrem ainda afloramentos de rochas. A vegetação desta unidade é formada por Florestas Subcaducifólias e Caducifólias (Caatinga), próprias das áreas agrestes. O clima é do tipo semiárido com temperaturas variando entre 25–37 °C, e precipitação entre 380–800 mm

concentrada em um curto período de 2–4 meses, seguido por um longo período de estiagem que pode se estender por até oito meses (CPRM/PRODEEM, 2005; IBGE, 2012).

### 3.2 COLETA DOS CACTOS

As coletas foram realizadas no período seco entre agosto e outubro de 2013. Amostras de três indivíduos de cada espécie de cacto, aparentemente saudáveis, foram coletadas aleatoriamente em cada uma das expedições (duas em cada área), totalizando 36 amostras (18 de cada área estudada, sendo seis indivíduos de cada espécie de cacto – 3 cactos × 6 indivíduos × 2 áreas). Foram coletados seis cladódios de 30–50 cm de comprimento de diferentes indivíduos de *P. gounellei* subsp. *gounellei* de até 3 m de altura; seis cladódios de indivíduos de *M. zehntneri* de até 20 cm de altura; e seis cladódios de indivíduos de *T. inamoena* de até 40 cm de altura. As amostras foram acondicionadas em sacos de nylon, transportadas para o laboratório e processadas em até 48 h.

As coletas foram autorizadas pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA)/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio); número de permissão: 40331-1/código de autenticação 87451826 emitida em 4 de novembro de 2013.

### 3.3 ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

O material botânico foi assim processado: para assepsia do material vegetal foram cortados segmentos de cerca de 5 cm de cada cladódio e esterilizados superficialmente pela sequência de lavagem em etanol 70 % durante 60 s, hipoclorito de sódio 2-2,5 % por 180 segundos, etanol 70 % durante 30 segundos, e então lavados três vezes em água destilada e esterilizada. Depois do processamento o material foi cortado em fragmentos de cerca de 1 cm<sup>2</sup>, totalizando 45 fragmentos de cada cladódio. Os fragmentos foram transferidos para a superfície do meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) com adição dos antibióticos cloranfenicol (100 mg/l) e tetraciclina (50 mg/l) para restringir o crescimento bacteriano, contido em placas de Petri de 9 cm. Em cada placa foram colocados cinco fragmentos. As placas foram incubadas a 28 ± 2 °C por até 30 dias. O crescimento fúngico foi observado diariamente e todas as colônias de fungo encontradas foram isoladas, purificadas e mantidas em BDA para posterior identificação. Para verificar a eficácia da esterilização da superfície, 1 ml de água da

última lavagem foi semeado em placas de Petri, contendo o mesmo meio e submetidas as mesmas condições de incubação.

### 3.4 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

#### 3.4.1 Identificação de leveduras

Leveduras endofíticas previamente cultivadas em meio de cultura Sabouraud adicionado de extrato de levedura foram analisadas utilizando o sistema automatizado de identificação microbiana VITEK<sup>®</sup> 2 (bioMérieux) e o cartão VITEK 2 YST-ID, seguindo as instruções do fabricante. Testes adicionais foram realizados utilizando a metodologia proposta por Kurtzman *et al.* (2011). Para identificação de algumas leveduras endofíticas, que não foram identificadas no VITEK 2 ou pertenciam a complexos de espécies, foi utilizado o MALDI-TOF/MS como descrito por Kolečka *et al.* (2013). Além dessas técnicas, partes das regiões ITS e LSU do rDNA foram estudadas para verificação dos resultados obtidos nas metodologias previamente descritas. Extração do DNA, amplificação, reações de sequenciamento, análises das sequências e sequências consenso foram realizadas como descrito por Bezerra *et al.* (2016) (Apêndice B).

#### 3.4.2 Identificação de fungos filamentosos

Todos os fungos filamentosos isolados foram cultivados em meio de cultura Extrato de Malte Ágar (EMA) e incubados a 25 °C em ciclo de luz 12/12h. Após sete a 15 dias de crescimento foram avaliadas as características macroscópicas e microscópicas dos isolados. Todos os fungos que apresentaram estruturas reprodutivas foram identificados ao nível genérico utilizando-se técnica e literatura específica (ELLIS, 1971, 1976; SUTTON, 1980; SAMSON & FRISVAD, 2004; DOMSCH *et al.*, 2007; SAMSON & VARGA, 2007; CROUS *et al.*, 2007; BENSCH *et al.*, 2010; AVESKAMP *et al.*, 2010; ROSSMAN & SEIFERT, 2011; SAMSON *et al.*, 2011a, 2011b; BENSCH *et al.*, 2012; PHILLIPS *et al.*, 2013).

Para obtenção do DNA genômico, todos os fungos endofíticos filamentosos foram cultivados em meio de cultura MEA (25 °C em ciclo natural de luz por até sete dias). O DNA foi extraído utilizando o kit Wizard<sup>®</sup> Genomic DNA Purification Kit (Promega, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. Para amplificação da região ITS do rDNA foram utilizados os *primers* ITS5 e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990).

Para ITS e demais genes estudados (Tabela 3), a amplificação, as reações de sequenciamento, as análises das sequências e as sequências consenso foram realizados como descrito por Groenewald *et al.* (2013). Após a busca, via *BLASTn* e *MOLE-BLAST*, de sequências da região ITS do rDNA similares, depositadas no banco de dados *GenBank* do *NCBI*, os estudos foram direcionados para o sequenciamento de genes mais específicos, usados para a identificação de espécies em cada gênero de acordo com informações previamente publicadas (Tabela 3).

Tabela 1 – *Primers* utilizados para obtenção de sequências de genes específicos para identificação molecular dos fungos endofíticos.

Nome	Sequências (5' – 3')	Referências	Gêneros estudados
<b>Actina</b>			
ACT2Rd	ARR TCR CGD CCR GCC ATG TC	QUAEDVLIEG <i>et al.</i> (2011) e GROENEWALD <i>et al.</i> (2013)	<i>Cladosporium</i> , <i>Toxicocladosporium</i>
ACT-512F	ATG TGC AAG GCC GGT TTC GC	CARBONE & KOHN (1999)	
ACT-783R	TAC GAG TCC TTC TGG CCC AT	CARBONE & KOHN (1999)	
<b>Beta-tubulina</b>			
Bt2a	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	GLASS & DONALDSON 1995	<i>Aureobasidium</i> , <i>Diaporthe</i> , <i>Exophiala</i> ,
Bt2b	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	GLASS & DONALDSON (1995)	<i>Penicillium</i> , <i>Phoma</i> , <i>Talaromyces</i> ,
T1	AAC ATG CGT GAG ATT GTA AGT	O'DONNELL & CIGELNIK (1997)	<i>Toxicocladosporium</i> , "Novo gênero 3
TUB4Fd	GGH GCY GGH AAC AAC TGG GC	GROENEWALD <i>et al.</i> (2013)	( <i>Dothideomycetes</i> )"
TUB4Rd	CCR GAY TGR CCR AAR ACR AAG TTG TC	GROENEWALD <i>et al.</i> (2013)	
<b>Calmodulina</b>			
CAL-228F	GAG TTC AAG GAG GCC TTC TCC C	CARBONE & KOHN (1999)	<i>Aspergillus</i> , <i>Diaporthe</i>
CAL-737R	CAT CTT TCT GGC CAT CAT GG	CARBONE & KOHN (1999)	
CMD5	CCG AGT ACA AGG AGG CCT TC	Hong <i>et al.</i> (2006)	
CMD6	CCG ATA GAG GTC ATA ACG TGG	Hong <i>et al.</i> (2006)	
<b>TEF1</b>			
EF1-2218R	ATG ACA CCR ACR GCR ACR GTY TG	www.aftol.org/pdfs/EF1 primer.pdf	<i>Alternaria</i> , <i>Aureobasidium</i> ,
EF1-728F	CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG	CARBONE & KOHN (1999)	<i>Bezerromyces</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Diaporthe</i> ,
EF1-986R	TAC TTG AAG GAA CCC TTA CC	CARBONE & KOHN (1999)	<i>Exophiala</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Neosectalidium</i> ,
EF-2	GGA RGT ACC AGT SAT CAT GTT	O'DONNELL <i>et al.</i> (1998)	<i>Paraconiothyrium</i> , <i>Purpureocillium</i> ,
EF3Fd	GAG CGT GAG CGT GGT ATC AC	GROENEWALD <i>et al.</i> (2013)	<i>Xiliomyces</i> , "Novo gênero 1 ( <i>Teichosporaceae</i> )" e "Novo gênero 3 ( <i>Dothideomycetes</i> )"

<b>GAPDH</b>		
GPD1	CAA CGG CTT CGG TCG CAT TG	BERBEE <i>et al.</i> (1999) <i>Alternaria</i>
GPD2	GCC AAG CAG TTG GTT GTG C	BERBEE <i>et al.</i> (1999)
<b>Histona</b>		
H3-1b	GCG GGC GAG CTG GAT GTC CTT	GLASS & DONALDSON (1995) <i>Diaporthe</i>
CYLH3F	AGG TCC ACT GGT GGC AAG	CROUS <i>et al.</i> (2004)
HIS2Rd	GGA TGG TRA CAC GCT TRG CGT G	GROENEWALD <i>et al.</i> (2013)
<b>ITS</b>		
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	WHITE <i>et al.</i> (1990) Todos os gêneros listados na Tabela 5.
ITS5	GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G	WHITE <i>et al.</i> (1990)
<b>LSU</b>		
LR0R	ACC CGC TGA ACT TAA GC	VILGALYS & HESTER (1990) Todos os gêneros listados na Tabela 5, com exceção de <i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Purpureocillium</i> .
LR5	TCC TGA GGG AAA CTT CG	VILGALYS & HESTER (1990)
<b>SSU</b>		
NS1	GTA GTC ATA TGC TTG TCT C	WHITE <i>et al.</i> (1990) <i>Bezerromyces</i> , <i>Xiliomyces</i> e “Novo gênero 3 ( <i>Dothideomycetes</i> )”
NS4	CTT CCG TCA ATT CCT TTA AG	WHITE <i>et al.</i> (1990)
<b>endoPG</b>		
PG2b	GAG AAT TCR CAR TCR TCY TGR TT	ANDREW <i>et al.</i> (2009) <i>Alternaria</i>
PG3	TAC CAT GGT TCT TTC CGA	ANDREW <i>et al.</i> (2009)
<b>RPB1</b>		
RPB1-A	GAR TGY CCD GGD CAY TTY GG	STILLER & HALL (1997) <i>Fusarium</i>
RPB1-Cr	CCN GCD ATN TCR TTR TCC ATR TA	MATHENY <i>et al.</i> (2002)
<b>RPB2</b>		
RPB2-5F2	GGG GWG AYC AGA AGA AGG C	SUNG <i>et al.</i> (2007) <i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> , “Novo gênero 3 ( <i>Dothideomycetes</i> )”
fRPB2-7cR	CCC ATR GCT TGY TTR CCC AT	LIU <i>et al.</i> (1999)

Fonte: O autor, 2016.

### 3.5 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS E BUSCAS NO GENBANK DO NCBI

Cromatogramas das sequências obtidas foram analisados para a determinação da sequência consenso, utilizando os programas MEGA v. 6 (TAMURA *et al.*, 2013) e/ou SeqMan v. 7.0.0 (DNASTAR, Madison, WI, USA). Após a edição, todas as sequências foram utilizadas para busca das mais similares depositadas no banco de dados *GenBank* do *NCBI*, utilizando a ferramenta *BLASTn* e/ou *MOLE-BLAST*. As sequências obtidas

foram então alinhadas em conjunto com outras recuperadas da base de dados utilizando o programa MAFFT (KATO & STANDLEY, 2013; <http://mafft.cbrc.jp/alignment/server>) e ajustadas manualmente utilizando o programa MEGA v. 6.

### 3.6 ANÁLISE DOS DADOS

A taxa de colonização (TC%) foi calculada pela razão entre o número de fragmentos com crescimento fúngico (Nf) e o número total de fragmentos (Nt) ( $FI = Nf/Nt \times 100$ ) (ARAÚJO *et al.*, 2002). A frequência relativa (Fr) de isolamento de endófitos foi calculada como o número de isolados de uma espécie (frequência absoluta – Fa) dividido pelo total do número de isolados, como proposto por Photita *et al.* (2001). A diferença na taxa de colonização dos fragmentos dos cactos nas áreas estudadas foi avaliada utilizando a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey.

A comunidade de fungos endofíticos foi avaliada quanto à riqueza e à diversidade de espécies, considerando as variáveis cactos hospedeiros (três espécies) e tipo de Caatinga (preservada e com agricultura familiar). A riqueza de espécies foi mensurada como o número de espécies observadas de acordo com as observações morfológicas e resultados de buscas *BLASTn* e *MOLE-BLAST* de sequências de DNA dos fungos endofíticos com sequências similares depositadas no banco de dados *GenBank* do *NCBI*. O número estimado de espécies foi calculado usando a estimativa *bootstrap*. Para o cálculo de diversidade foi utilizado o índice Fisher- $\alpha$  que é robusto para variação em tamanho de amostragem (MASSIMO *et al.*, 2015).

As diferenças na composição da comunidade de fungos endofíticos dos cactos e das áreas estudadas foram avaliadas utilizando análise de similaridade (ANOSIM) e a análise multivariada PERMANOVA. A correção de Bonferroni foi aplicada aos valores de *P* para a comparação entre os cactos hospedeiros, o *P* foi considerado significativo quando  $P < 0,0166$ . Similaridades na composição das comunidades de fungos endofíticos foram visualizadas usando o escalonamento multidimensional não métrico (NMDS). Valores de espécies indicadoras, uma combinação da abundância relativa e da frequência relativa de espécies, foram calculados para fungos endofíticos de cactos e das áreas estudadas. Espécies foram consideradas boas indicadoras se o valor indicador foi  $\geq 40$  e  $P < 0,05$  (SILVA *et al.*, 2014).

Análise de diversidade (Fisher  $\alpha$ ) foi realizada utilizando o *software* BioEstat 5.0 (AYRES *et al.*, 2007). Análise de agrupamento e curvas de acumulação de espécies

foram realizadas usando *Primer* 6.0 (CLARKE & GORLEY, 2006). ANOSIM foi realizado utilizando PAST (HAMMER *et al.*, 2001), PERMANOVA e espécie indicadora utilizando PC-ORD 6.0 (MCCUNE & MEFFORD, 2011). NMDS foi visualizado utilizando o pacote *Vegan* 2.0-10 (OKSANEN *et al.*, 2013) no *software* R versão 3.0.2 (VENABLES *et al.*, 2013).



## 4 RESULTADOS

### 4.1 COLONIZAÇÃO DOS FRAGMENTOS E ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS

Dos 1.620 fragmentos de indivíduos das três espécies de cactos em Caatinga preservada e na área de agricultura familiar, 496 (30,61 %) foram colonizados, correspondendo a 274 (16,91 %) em *T. inamoena*, 129 (7,96%) em *M. zehntneri* e 93 (5,74%) em *P. gounellei* subsp. *gounellei*. Considerando as áreas estudadas, a maior taxa de colonização foi encontrada na área de agricultura familiar (329 – 40,61%), seguida da área de Caatinga preservada (167 – 20,61%) (Tabela 4).

Tabela 2 – Número de fragmentos colonizados (A), e taxa de colonização (B) por fungos endofíticos isolados de 270 fragmentos de cada um dos cactos (*Melocactus zehntneri*, *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* e *Tacinga inamoena*) em áreas de Caatinga preservada (Parque Nacional do Catimbau) e com agricultura familiar sustentável, Pernambuco, Brasil.

	<i>Melocactus zehntneri</i>		<i>Pilosocereus gounellei</i> subsp. <i>gounellei</i>		<i>Tacinga inamoena</i>	
	Preservada	Agricultura	Preservada	Agricultura	Preservada	Agricultura
A	20	109	35	58	112	162
B	7,4%	40,5%	13%	21,5%	41,5%	60%

Fonte: O autor, 2016.

As análises demonstraram que houve diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade, no número de fragmentos colonizados entre os cactos e as áreas estudadas ( $F = 11,51$ ). A magnitude destas diferenças foi avaliada estatisticamente demonstrando diferença significativa entre a taxa de colonização dos tecidos dos cactos *M. zehntneri* (Agricultura)  $\times$  *T. inamoena* (Preservada e Agricultura), *M. zehntneri* (Preservada)  $\times$  *P. gounellei* subsp. *gounellei* (Preservada), *P. gounellei* subsp. *gounellei* (Preservada)  $\times$  *T. inamoena* (Preservada e Agricultura) e *P. gounellei* subsp. *gounellei* (Preservada)  $\times$  *T. inamoena* (Agricultura).

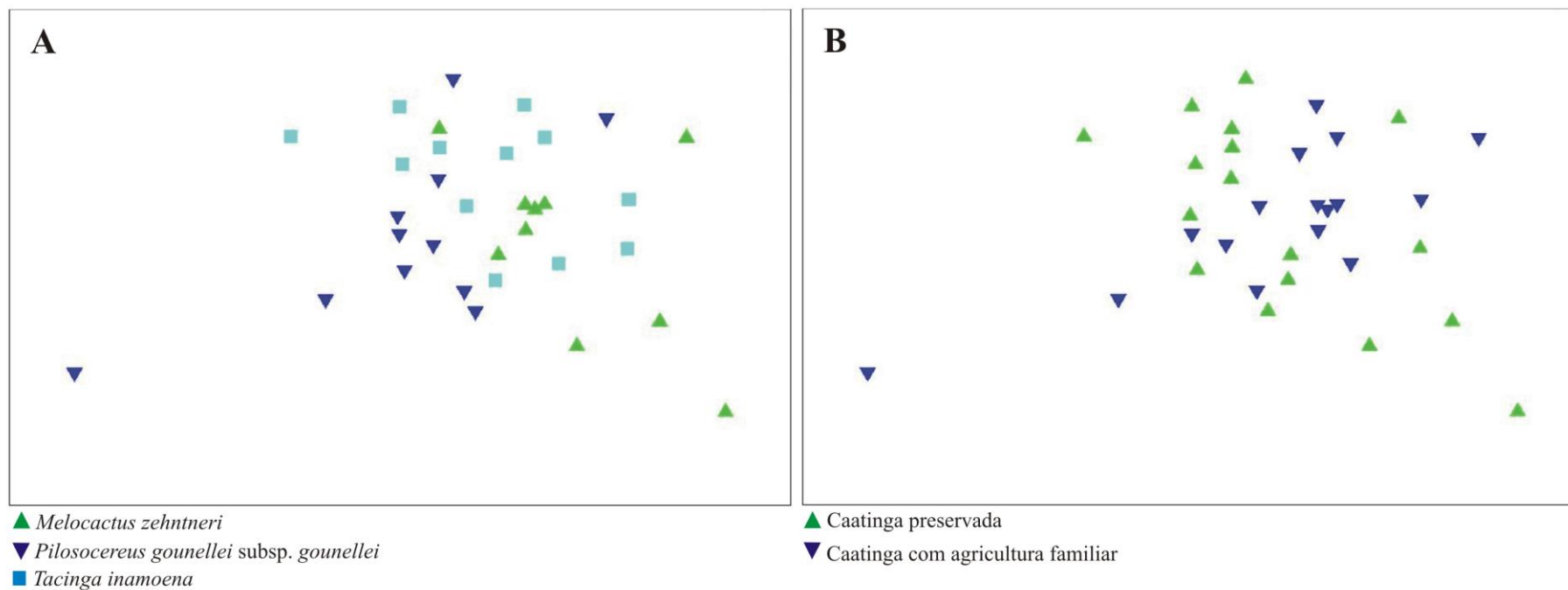
### 4.2 DIVERSIDADE E COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS

A partir de características morfológicas e das sequências da região ITS do rDNA dos fungos endofíticos, foi possível verificar que os 317 isolados obtidos representam 71 táxons. A maioria das espécies de fungos endofíticos aqui identificadas pertence ao filo Ascomycota (classes Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Saccharomycetes, Sordariomycetes) distribuídas em 49 gêneros, seguido pelo filo Basidiomycota (classes

Cystobasidiomycetes, Microbotryomycetes, Tremellomycetes, Ustilaginomycetes), distribuídos em quatro gêneros, e Mucoromycota (Mucorales), com um gênero. Em Ascomycota, a classe Dothideomycetes apresentou mais representantes (25 gêneros, incluindo quatro novos), seguida pelas classes Sordariomycetes (18 gêneros, incluindo um novo), Eurotiomycetes (cinco gêneros) e Saccharomycetes (dois gêneros). As classes em Basidiomycota (incluindo um novo gênero) e Mucoromycota foram representadas, cada uma, por um gênero.

A Figura 10 A e B ilustra as diferenças nas comunidades de fungos endofíticos entre os três cactos e as duas áreas estudadas. A composição da comunidade de fungos endofíticos diferiu entre as espécies de cactos ( $F = 1,9713$ ;  $p = 0,0001$ ) e entre as áreas de Caatinga ( $F = 1,9930$ ;  $p = 0,0016$ ). As comunidades de fungos de *M. zehntneri* × *P. gounellei* subsp. *gounellei* e *M. zehntneri* × *T. inamoena* foram diferentes, com valores de  $p$  menores que 0,0166.

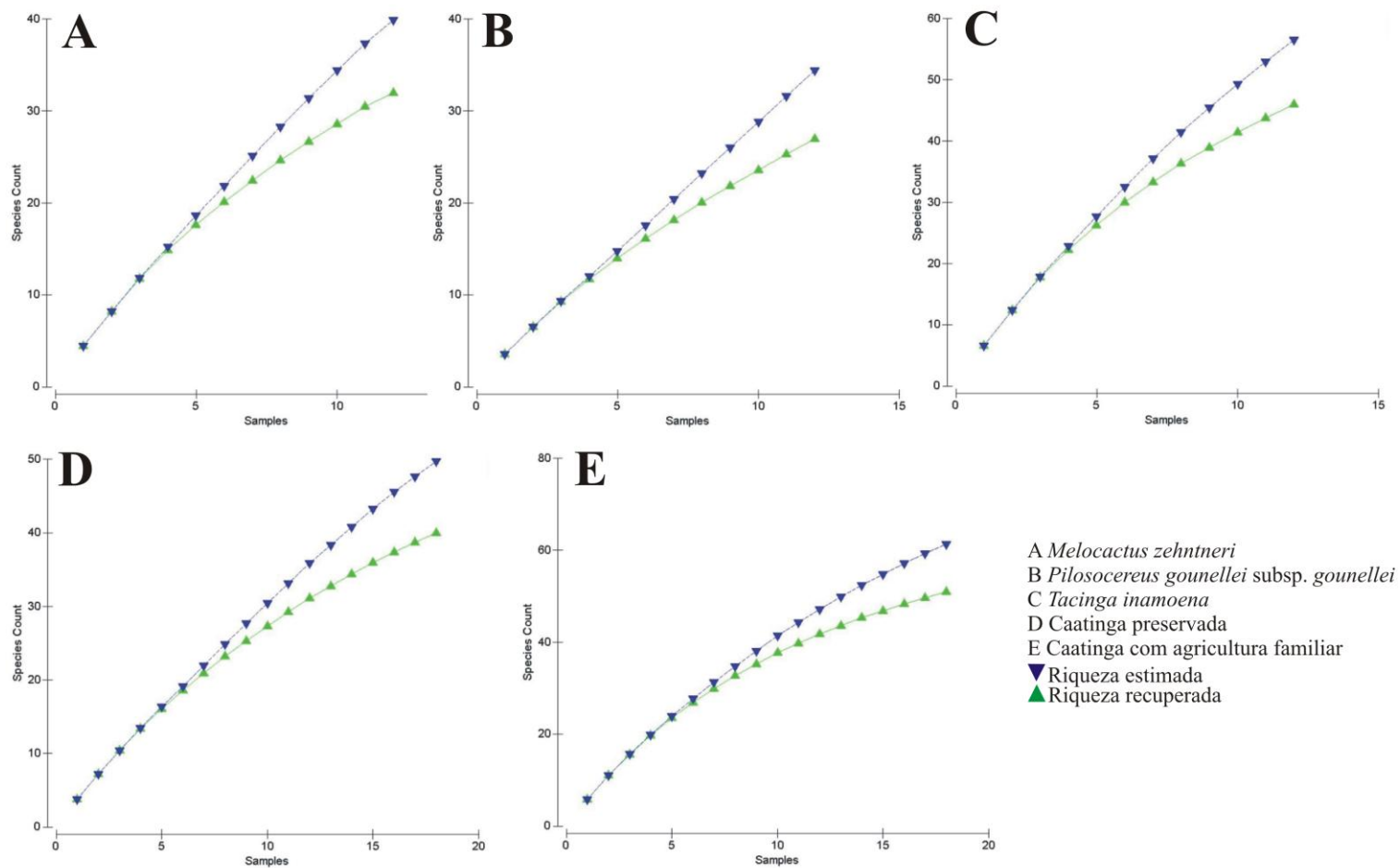
Figura 10 – Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) baseado nas comunidades de fungos endofíticos de *Melocactus zehntneri*, *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* e *Tacinga inamoena* (A) e na composição das comunidades de endófitos nas áreas de Caatinga preservada (Parque Nacional do Catimbau) e com agricultura familiar (B), Pernambuco, Brasil.



Fonte: O autor, 2016.

A maior riqueza de fungos endofíticos foi encontrada associada a *T. inamoena*, onde foram identificados 24 táxons na Caatinga preservada e 27 na Caatinga com agricultura familiar, sendo compartilhados seis (6) entre as áreas. Um total de 17 táxons foi identificado em *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* na Caatinga preservada e 15 na área de agricultura familiar, compartilhando cinco (5) entre as áreas. Em *Melocactus zehntneri* foram registrados 17 táxons na Caatinga preservada e 23 na área de agricultura familiar, compartilhando seis (6). A diversidade de fungos difere entre os cactos e as áreas de Caatinga estudadas, sendo *M. zehntneri* ( $F = 20,76$ ) e a área de Caatinga preservada ( $F = 24,52$ ) os que apresentaram a maior diversidade estimada. Com base na estimativa de riqueza via *bootstrap*, o número estimado de espécies de fungos endofíticos associados aos cactos foi 40 em *M. zehntneri* (recuperadas 32 = 80%), 35 em *P. gounellei* subsp. *gounellei* (recuperadas 27 = 77%) e 55 em *T. inamoena* (recuperadas 46 = 83%). Com relação às áreas de Caatinga estudadas, 50 foi o valor estimado para área preservada (recuperados 40 táxons = 80%) e 60 para área com agricultura familiar (recuperados 51 táxons = 85%) (Figura 11).

Figura 11 – Curvas de acumulação de espécies de fungos endofíticos (▲) e estimativa da riqueza baseada em *bootstrap* (▼) em *Melocactus zehntneri* (A), *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* (B) e *Tacinga inamoena* (C), e nas áreas de Caatinga preservada (Parque Nacional do Catimbau) (D) e com agricultura familiar (E), Pernambuco, Brasil.



Fonte: O autor, 2016.

Dos 71 táxons registrados, 55 foram identificados em nível específico, dez foram identificados em nível genérico e quatro não se enquadraram em um gênero conhecido (Tabela 5). Os gêneros mais frequentes foram *Alternaria* (8,83 %), *Penicillium* (8,20 %), *Candida* (8,20 %), *Cladosporium* (7,25 %), *Phoma* (6,30 %), *Aureobasidium* (4,41 %), *Exophiala* (4,41 %), *Toxicocladosporium* (4,73 %) e “Novo gênero 1 (*Teichosporaceae*)” (3,78 %). Os demais gêneros apresentaram frequência de ocorrência menor que 1–2 %, sendo a maioria com frequência entre um e dois isolados (0,31 % e 0,63 %, respectivamente) (exemplo, *Acremonium*, *Bisifusarium*, *Clavispora* e *Cryptococcus*).

*Purpureocillium lilacinum* foi a espécie mais frequente em *M. zehntneri* sendo encontrada nas áreas preservadas (0,31 %) e com agricultura familiar (2,52 %). Em *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* o táxon mais frequente foi *Toxicocladosporium* sp., sendo relatado nas áreas preservada (2,52 %) e com agricultura familiar (1,57 %).. *Tacinga inamoena* foi o cacto com maior número de isolados de fungos endofíticos, sendo *Phoma* o gênero com exemplares mais frequentemente isolados, seguido por *Alternaria jacinthicola* e pelo complexo *Cladosporium cladosporioides*. *Aspergillus lentulus*, *Chaetomium aureum*, *Penicillium simplicissimum*, *Purpureocillium lilacinum* e *Talaromyces aurantiacus* foram espécies indicadoras para o hospedeiro *M. zehntneri* e *Toxicocladosporium* para o hospedeiro *P. gounellei* subsp. *gounellei*. Para as áreas de Caatinga estudadas, *Alternaria gossypina* e *Talaromyces aurantiacus* foram espécies indicadoras de áreas com agricultura familiar ( $IV \geq 40$  e  $P < 0,05$ ).

Tabela 3 – Comunidades de fungos endofíticos isolados de *Melocactus zehntneri*, *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* e *Tacinga inamoena* em áreas de Caatinga preservada (Parque Nacional do Catimbau) e com agricultura familiar sustentável, Pernambuco, Brasil. fa = frequência absoluta, fr = frequência relativa.

Fungos endofíticos	Cactos						fa	fr (%)	
	<i>Melocactus zehntneri</i>		<i>Pilosocereus gounellei</i> subsp. <i>gounellei</i>		<i>Tacinga inamoena</i>				
	Áreas estudadas						CP	AFS	
	CP	AFS	CP	AFS	CP	AFS			
<i>Acremonium</i> sp.				2			2	0,63	
<i>Alternaria burnsii</i> Uppal, Patel & Kamat				1		7	8	2,52	
<i>Alternaria gossypina</i> (Thüm.) J.C.F. Hopkins		1				3	4	1,26	
<i>Alternaria jacinthicola</i> Dagno & Jijakli						16	16	5,05	
<i>Aspergillus arcovendensis</i> Y. Horie, Matsuz., Yaguchi & Takaki	1		1				2	0,63	
<i>Aspergillus lentulus</i> Balajee & K.A. Marr	4	1					5	1,58	
<i>Aspergillus pseudofelis</i> Janyce A. Sugui, Stephen W. Peterson & Kyung Joo Kwon-Chung		2				1	3	0,95	
<i>Aspergillus pulvinus</i> Kwon-Chung & Fennell	1						1	0,32	
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud	2	2	1	3	6		14	4,42	
<i>Bartalinia</i> sp.	2	4		1			7	2,21	
<i>Bezerromyces</i> sp.					2		2	0,63	
<i>Bisfusarium lunatum</i> (Ellis & Everh.) L. Lombard & Crous					2		2	0,63	
<i>Candida</i> cf. <i>floricola</i>					9		9	2,84	
<i>Candida haemulonii</i> (Uden & Kolip.) S.A. Mey. & Yarrow		3			2	7	12	3,79	
<i>Candida parapsilosis</i> (Ashford) Langeron & Talice	2	1				2	5	1,58	
<i>Chaetomium aureum</i> Chivers		5					5	1,58	
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries complex		3	3	5	1	11	23	7,26	
<i>Clavispora lusitaniae</i> Rodr. Mir.					1		1	0,32	
<i>Clavispora opuntiae</i> Phaff, M. Miranda, Starmer, Tredick & J.S.F. Barker				1			1	0,32	
<i>Cochliobolus geniculatus</i> R.R. Nelson		4	2			3	9	2,84	
<i>Coniochaeta perangusta</i> Udagawa & Y. Sugiy.					3		3	0,95	
<i>Cystobasidium slooffiae</i> (E.K. Novák & Vörös-Felkai) A.M. Yurkov, A. Kachalkin, H.M. Daniel, M. Groenew., Libkind, V. de Garcia, P. Zalar, Gouliamova, Boekhout & Begerow		1				1	2	0,63	
<i>Diaporthe caatingaensis</i> J.D.P. Bezerra, L.M. Paiva, G.A. Silva, C.M. Souza-Motta & Crous				2		3	5	1,58	
<i>Epicoccum nigrum</i> Link						2	2	0,63	
<i>Exophiala bergeri</i> Haase & de Hoog	1		1			9	3	14	4,42
<i>Fusarium</i> sp.		1				1	1	3	0,95
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.		1					1	0,32	
<i>Glioniopsis</i> sp.			2			2	4	1,26	

Bezerra, J. D. P. – Fungos endofíticos em cactos...

<i>Hypoxylon lateripigmentum</i> J. Fourn., Kuhnert & M. Stadle					1		0,32
<i>Leptosphaerulina australis</i> McAlpine						6	1,89
<i>Macrodiplodiopsis</i> sp.					1	1	0,95
<i>Medicopsis</i> sp.							2
<i>Neocosmospora rubicola</i> L. Lombard & Crous							2
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i> (Penz.) Crous & Slippers					1		0,32
<i>Noosia</i> Crous, R.G. Shivas & McTaggart					3		0,95
<i>Paecilomyces formosa</i> Sakag., May. Inoue & Tada ex Houbraken & Samson						1	0,32
<i>Paraconiothyrium archidendri</i> Verkley, Göker & Stielow							1
<i>Passalora loranthincola</i> (Petr.) U. Braun					1	1	2,52
<i>Penicillium citrinum</i> Thom							6
<i>Penicillium</i> sp.					2	3	1,89
<i>Penicillium ludwigii</i> Udagawa					2	2	4,42
<i>Penicillium simplicissimum</i> (Oudem.) Thom							5
<i>Penicillium singorense</i> Visagie, Seifert & Samson							2
<i>Penicillium sublateritium</i> Biourge							1
<i>Penicillium wotroi</i> Houbraken, López-Quintero, Frisvad & Samson							1
<i>Phaeoacremonium tardicrescens</i> L. Mostert, Summerb. & Crous							1
<i>Phaeosphaeria</i> sp.							2
<i>Phoma</i> sp.							5
<i>Phyllosticta capitalensis</i> Henn.					2	6	1,58
<i>Phyllosticta yuccae</i> Bissett							7
<i>Pithomyces sacchari</i> (Speg.) M.B. Ellis							15
<i>Plectosphaerella alismatis</i> (Oudem.) A.J.L. Phillips, Carlucci & M.L. Raimondo							1
<i>Pleurostoma ootheca</i> (Berk. & M.A. Curtis) M.E. Barr					1		0,32
<i>Preussia persica</i> Asgari & Zare							2
<i>Pseudozyma hubeiensis</i> F.Y. Bai & Q.M. Wang							1
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson					1	1	0,63
<i>Pyrenochaeta pinicola</i> Crous							1
<i>Rhizopus arrhizus</i> A. Fisch.							2
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (A. Jörg.) F.C. Harrison							1
<i>Rhytidhysterium</i> Speg.							1
<i>Roussoella intermedia</i> Y.M. Ju, J.D. Rogers & Huhndorf							1
<i>Sarocladium terricola</i> (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Giraldo, Gené & Guarro							1
<i>Talaromyces aurantiacus</i> (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Samson, N. Yilmaz & Frisvad							2
<i>Toxicocladosporium</i> sp.					3		0,95
							3
					10	4	4,42



Bezerra, J. D. P. – Fungos endofíticos em cactos...

<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	1				1	2	0,63
<i>Xiliomyces</i> sp.					2	2	0,63
<i>Xylaria</i> sp.	1					1	0,32
Novo gênero 1 ( <i>Teichosporaceae</i> )				1	1	10	3,79
Novo gênero 2 ( <i>Hypocreales</i> )						1	0,32
Novo gênero 3 ( <i>Dothideomycetes</i> )	1	1			2	3	0,95
Novo gênero 4 ( <i>Tremellales</i> )					1	1	0,32
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>55</b>	<b>32</b>	<b>31</b>	<b>64</b>	<b>108</b>	<b>317</b>

CP = Caatinga preservada; AFS = Caatinga com agricultura familiar sustentável

Fonte: O autor, 2016.

## 5 DISCUSSÃO

As comunidades de fungos endofíticos associadas com cactos da Caatinga possuem uma marcante diversidade considerando o elevado número de táxons registrados (71). A variedade de fungos endofíticos de regiões áridas e semiáridas tem sido relatada em diversos ecossistemas na Austrália, China, Brasil, Estados Unidos, México e Venezuela (LORO *et al.*, 2012; JIN *et al.*, 2013; MASSIMO *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2015; KNAPP *et al.*, 2015; FONSECA-GARCÍA *et al.*, 2016). Estes estudos têm demonstrado resultados opostos a algumas das estimativas de que a diversidade de fungos endofíticos em ambientes quentes e secos é inferior à de ambientes temperados, tropicais e/ou subtropicais (ver ARNOLD *et al.*, 2000, 2001, 2007). Pesquisas em ambientes considerados extremos ainda são escassas, o que impossibilita a revisão dessas estimativas, contribuindo apenas com a inclusão de dados nos cálculos da diversidade global de fungos (SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; KHIDIR *et al.*, 2010; SUN *et al.*, 2012; LORO *et al.*, 2012; HUBBARD *et al.*, 2014; MASSIMO *et al.*, 2015).

Estudos sobre fungos endofíticos em ambientes áridos têm apresentado baixa taxa de colonização dos fragmentos dos tecidos vegetais. Além disso, também tem sido observado número reduzido de isolados fúngicos quando comparados com estudos em ambientes temperados, tropicais e subtropicais (SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; KHIDIR *et al.*, 2010; SUN *et al.*, 2012; LORO *et al.*, 2012; BEZERRA *et al.*, 2012, 2013; HUBBARD *et al.*, 2014; MASSIMO *et al.*, 2015). Alguns autores têm discutido que essa diferença nas taxas de colonização e isolamento de endófitos pode estar relacionada com diversos fatores, tais como, idade, tipo e composição química do tecido vegetal, transmissão endofítica fúngica, posicionamento geográfico (latitude), tipo vegetacional e uso do solo (ARNOLD *et al.*, 2000; ARNOLD & HERRE 2003; ARNOLD & LUTZONI 2007; VAZ *et al.*, 2014).

No presente, a taxa de colonização por endófitos foi cerca de 30 %. Em pesquisas semelhantes, com plantas das famílias Salicaceae, Thymelaeaceae, Chenopodiaceae, Zygophyllaceae e Tamaricaceae em regiões áridas e/ou desérticas na China, Sun *et al.* (2012), Unterseher *et al.* (2012) e Jin *et al.* (2013) observaram uma taxa de colonização por fungos endofíticos variando em torno de 50%. Massimo *et al.* (2015) utilizaram 22.656 fragmentos de plantas de ambientes secos no Arizona (EUA) e recuperaram 457 fungos endofíticos. Esse número foi proporcionalmente pequeno, em comparação com o recuperado no presente estudo, onde se obteve 371 isolados em 1620 fragmentos. Apesar do baixo número de

isolados, os autores também demonstraram que endófitos de ambientes desérticos possuem elevada riqueza e diversidade filogenética. Estudando 21 espécies de cactos no Arizona, Suryanarayanan *et al.* (2005) utilizaram 1.050 fragmentos e isolaram 900 fungos endofíticos. Estudos subsequentes com outras espécies de cactos também demonstraram baixa taxa de colonização e isolamento de endófitos, contudo foi recuperada uma marcante riqueza de espécies fúngicas (BEZERRA *et al.*, 2012, 2013; SILVA-HUGHES *et al.*, 2015; FREIRE *et al.*, 2015). Comparando os dados de plantas de ambientes secos com estudos em outros biomas, tais como florestas tropicais úmidas, a taxa de colonização e isolamento, riqueza e abundância de endófitos demonstra que as características ambientais podem influenciar a associação endofítica (ARNOLD *et al.*, 2000, 2001, 2007).

A alta riqueza de endófitos (71 táxons) foi marcante quando comparada com estudos que acessaram as comunidades de fungos endofíticos cultiváveis em cactos (FISHER *et al.*, 1994; SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; BEZERRA *et al.*, 2012, 2013; SILVA-HUGHES *et al.*, 2015; FREIRE *et al.*, 2015). As comunidades de fungos endofíticos não cultiváveis dos cactos *Myrtillocactus geometrizans* e *Opuntia robusta* foram estudadas no México e SILVA-HUGHES *et al.* (2015) verificaram uma marcante riqueza de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) pertencentes a 14 ordens fúngicas e muitas outras OTUs foram identificadas como pertencentes ao filo Ascomycota. Outros estudos, utilizando diferentes espécies de plantas em regiões secas na China, relataram a presença de 35 táxons (SUN *et al.*, 2012; UNTERSEHER *et al.*, 2012) e 91 OTUs (JIN *et al.*, 2013). Na Venezuela, Loro *et al.* (2012) estudaram 13 espécies vegetais e recuperaram 198 fungos, sendo de 6 a 8 táxons em cada planta, um número muito baixo comparando com os demais estudos. Em outra pesquisa, nos EUA, foram recuperadas 89 OTUs de plantas de ambiente desértico (Massimo *et al.*, 2015).

A quase totalidade dos estudos sobre fungos endofíticos não conseguiu atingir o número de espécies estimado nos cálculos da riqueza esperada (BEZERRA *et al.*, 2013; VAZ *et al.*, 2014; MASSIMO *et al.*, 2015). Apesar de no presente estudo a riqueza de espécies esperada também não ter sido atingida, obteve-se números de táxons bem próximos daqueles estimados (Figura 11). Florestas temperadas e tropicais úmidas e secas também tem apresentado essa mesma característica em estudos sobre a comunidade de fungos endofíticos (ARNOLD & HERRE, 2003; ARTZ *et al.*, 2007; BEZERRA *et al.*, 2013; VAZ *et al.*, 2014) como demonstrado por Massimo *et al.* (2015), que utilizaram um grande esforço amostral para tentar recuperar o máximo da riqueza de endófitos associados com plantas de ambiente

desértico. Segundo os autores, a diversidade de fungos endofíticos nesse ecossistema foi rica em espécies, mas apresentou reduzida frequência de isolamento, fazendo com que a abundância fosse baixa. Fato similar foi observado por Bezerra *et al.* (2013) que, estudando 27 indivíduos do cacto *Cereus jamacaru* subsp. *jamacaru*, também não conseguiram atingir o valor estimado de riqueza de espécies endofíticas fúngicas.

No presente estudo, *Alternaria*, *Penicillium*, *Candida*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Aureobasidium*, *Exophiala* e *Toxicocladosporium* foram os gêneros mais frequentemente isolados. A maioria dos fungos endofíticos isolados de plantas de ambientes secos, especialmente de cactos, são pigmentados (FISHER *et al.*, 1994; SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; KHIDIR *et al.*, 2010; BEZERRA *et al.*, 2012, 2013; SILVA-HUGHES *et al.*, 2015). Diversidade similar de endófitos foi observada por Fisher *et al.* (1994), quando estudaram *Opuntia stricta* na Austrália e recuperaram um elevado número de isolados dos gêneros *Alternaria*, *Phoma* e *Aureobasidium*. Resultados semelhantes também foram obtidos por Suryanarayanan *et al.* (2005) que, além de obterem esses três gêneros como mais frequentes, isolaram outros fungos pigmentados dos tecidos de 21 cactos nos EUA. No Brasil, a maioria dos endófitos relatados em cactos são fungos pigmentados, sendo *Cladosporium* o gênero com exemplares mais frequentemente isolado em tecidos de *O. ficus-indica* e *C. jamacaru* subsp. *jamacaru* em áreas de Caatinga (Bezerra *et al.* 2012, 2013). Nos EUA, Silva-Hughes *et al.* (2015) verificaram que os mais frequentes endófitos associados com o cacto *Opuntia humifusa* são espécies de *Alternaria*, *Aureobasidium* e *Diaporthe*. Esses gêneros são frequentemente associados com plantas (endófitos, fitopatógenos e/ou patógenos latentes) e relatados em todo o mundo (FISHER *et al.*, 1994; ARNOLD *et al.*, 2000, 2001, 2007; SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2010; KHIDIR *et al.*, 2010; SUN *et al.*, 2012; UNTERSEHER *et al.*, 2012; JIN *et al.*, 2013; BEZERRA *et al.*, 2012, 2013; BOMFIM *et al.*, 2013; SILVA-HUGHES *et al.*, 2015; WOUDEBERG *et al.*, 2015; CROUS *et al.*, 2016). Além desses gêneros mais frequentes, o isolamento de poucas amostras da mesma espécie endofítica demonstra a possibilidade de recuperação de táxons relatados raramente como fungos endofíticos (BEZERRA *et al.*, 2013; MASSIMO *et al.*, 2015).

Os resultados do presente estudo apontam *Aspergillus lentulus*, *Chaetomium aureum*, *Penicillium simplicissimum*, *Purpureocillium lilacinum* e *Talaromyces aurantiacus* como espécies indicadoras para o cacto *M. zehntneri*, e *Toxicocladosporium* para *P. gounellei* subsp. *gounellei*. A área de agricultura familiar apresenta *Alternaria gossypina* e *Talaromyces aurantiacus* como espécies indicadoras. Espécies desses gêneros são relatadas associadas com

diversos substratos e hospedeiros, e também podem estar relacionadas com doenças em humanos e outros animais (BALAJEE *et al.*, 2005; ALHAMBRA *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2010; LUANGSA-ARD *et al.*, 2011; BOMFIM *et al.*, 2013; WOUDEMBERG *et al.*, 2015). Por exemplo, *A. lentulus* foi primeiramente relatado a partir de amostras clínicas nos EUA (BALAJEE *et al.*, 2005) e costuma ser observado associado com alguns tipos de micoses (ALHAMBRA *et al.*, 2008). Fato similar é observado com *P. lilacinum* que tem sido observado, principalmente, a partir de amostras clínicas, mas também é comumente relatado como endófito (LUANGSA-ARD *et al.*, 2011). *Toxicocladosporium* tem sido associado principalmente com material vegetal, sendo que duas de suas espécies têm sido ligadas a doenças em humanos. O presente estudo constitui o primeiro relato de *Toxicocladosporium* como endófito. *Alternaria gossypina* tem sido relatado exclusivamente como fungo fitopatogênico em diversas plantas cultiváveis (WOUDEMBERG *et al.*, 2015) e outras espécies de *Alternaria* têm causado sérios danos aos cactos (SOUZA *et al.*, 2010; BOMFIM *et al.*, 2013). Espécies de *Alternaria* têm sido referidas em cactos de diversos países (FISHER *et al.*, 1994; SURYANARAYANAN *et al.*, 2005; BEZERRA *et al.*, 2012, 2013). Estes resultados suscitam a discussão sobre o conceito de fungos endofíticos, sua relação com plantas em ambientes secos e o conhecimento da diversidade fúngica global associada com diversos substratos e hospedeiros.

## 6 CONCLUSÕES

- Os cactos *Melocactus zehntneri*, *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* e *Tacinga inamoena* são ricos em fungos endofíticos encontrados em abundância nos tecidos de cladódios.
- A taxa de colonização dos tecidos dos cactos e a presença de fungos endofíticos parecem ser influenciadas pelo hospedeiro. Essas variáveis também são afetadas pela área de ocorrência das plantas na Caatinga.
- Análises morfológicas associadas com análises multigênicas contribuem diretamente para melhor estimar a riqueza de espécies de fungos endofíticos.
- *Tacinga inamoena* possui maior riqueza de fungos endofíticos do que *Melocactus zehntneri* e *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei*, sendo indicada para futuros estudos da diversidade de endófitos da Caatinga.
- *Melocactus zehntneri* possui maior diversidade de fungos endofíticos entre as espécies estudadas, sendo um importante hospedeiro da riqueza de endófitos nas áreas de Caatinga.
- A área de Caatinga preservada possui maior diversidade de endófitos nos cactos estudados, demonstrando a necessidade de preservação dos cactos na sua área natural.
- A composição da comunidade de fungos endofíticos difere de modo significativo entre os cactos e as áreas de Caatinga estudadas, demonstrando que pode existir hospedeiro específico para fungos endofíticos em áreas de Caatinga.
- A perturbação antrópica das áreas estudadas tem importância ecológica, considerando que cactos de área de Caatinga preservada apresentam menor associação com endófitos que aqueles de áreas de Caatinga com agricultura familiar.
- A composição das comunidades de fungos endofíticos em cactos da Caatinga (*Melocactus zehntneri*, *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* e *Tacinga inamoena*) tem predominância de espécies de Ascomycota, especial as pigmentadas.
- Nas espécies de cactos *Melocactus zehntneri*, *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* e *Tacinga inamoena* encontram-se com mais frequência espécies de *Alternaria*, *Penicillium*, *Candida*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Aureobasidium*, *Exophiala* e *Toxicocladosporium* são mais frequentes como endófitos de cactos da Caatinga.
- Tecidos de cactos da Caatinga constituem ambiente propício para fungos endofíticos raros.
- Diferentes espécies de fungos endofíticos são registradas com maior frequência nos mesmos hospedeiros vegetais, dependendo da área de Caatinga onde se encontram (ex. *Aureobasidium*

*pullulans* e *Exophiala bergeri* são as espécies mais frequentes em áreas de Caatinga preservada enquanto o complexo *Cladosporium cladosporioides* é mais frequente nas áreas de agricultura familiar).

- Estudos da composição da comunidade de fungos endofíticos da Caatinga, principalmente de espécies de cactos, podem contribuir com informações acerca do status ecológico do ecossistema, constituindo subsídios para programas de preservação ambiental.

## REFERÊNCIAS

- AGANETTE, E., ALVARENGA, L., SOUZA, R. R. Elementos constitutivos do conceito de Taxonomia. **Informação & Sociedade: Estudos**, v. 20, n. 3, 2010.
- AGRIOS, G. H. **Plant Pathology**. London: Academy Press, 1997.
- ALBUQUERQUE, U. P., ANDRADE, L. D. H. C., SILVA, A. C. O. Use of plant resources in a seasonal dry forest (Northeastern Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 27-38.
- ALHAMBRA, A., CATALÁN, M., MORAGUES, M. D., BRENA S., PONTÓN, J., MONTEJO, J. C., PALACIO, A. Isolation of *Aspergillus lentulus* in Spain from a critically ill patient with chronic obstructive pulmonary disease. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 25, p. 246-249, 2008.
- ANDERSON, E. F. **The Cactus Family**. Portland: Timber Press, Inc., 2001.
- ANDRADE, L. A., PEREIRA, I. M., LEITE, U. T., BARBOSA, M. R. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, estado da Paraíba. **Cerne**, v. 11, n. 3, p. 253-262, 2005.
- ANDRADE-LIMA, D. The Caatinga Dominium. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 4, p. 149-163, 1981.
- PFANZAGL, J. **Parametric statistical theory**. Berlin: Walter de Gruyter, 1994.
- ANDREW, M., PEEVER, T. L., PRYOR, B. M. An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. **Mycologia**, v. 101, p. 95-109, 2009.
- ARAÚJO FILHO, J. A. **Desenvolvimento sustentável da caatinga**. Sobral: Ministério da Agricultura/EMBRAPA/CNPC, 1996.
- ARAÚJO, W.L., MARCON, J., MACCHERONI JUNIOR, W., ELSAS, J.D.V., VUURDE, J.W.L., AZEVEDO, J.L. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction 175 with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 176, p. 4906-4914, 2002.
- ARNOLD, A. E., HERRE, E. A. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). **Mycologia**, v. 95, p. 388–398, 2003.
- ARNOLD, A. E., LUTZONI, F. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? **Ecology**, v. 88, n. 3, p. 541–549, 2007.
- ARNOLD, A. E., MAYNARD, Z., GILBERT, G. S., COLEY, P.D., KURSAR, T. A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? **Ecology Letters**, v. 3, p. 267–274, 2000.
- ARTZ R R. E., ANDERSON, I. C., CHAPMAN, S. J., HAGN, A., SCHLOTTER, M., POTTS, J. M., CAMPBELL, C. D. Changes in Fungal Community Composition in Response to Vegetational Succession During the Natural Regeneration of Cutover Peatlands. **Microbial Ecology**, v. 54, p. 508–522, 2007.
- AVESKAMP, M., GRUYTER, H., WOUDEBERG, J., VERKLEY, G., CROUS, P. W. **Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera**. Studies in Mycology 65. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2010.
- AYRES, M., AYRES JR., M., AYRES, D. L. SANTOS, A. S. BioEstat 5.0 – aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, p. 364, 2007.
- AZEVEDO, J. L., ARAÚJO, W. L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: GANGULI, B. N., DESHMUKH, S. K. (eds.) **Fungi: multifaceted microbes**. Boca Raton: CRC Press, p. 189-207, 2007.



- AZEVEDO, J. L., MACCHERONI, J. Jr., PEREIRA, O., ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 40-65, 2000.
- BALAJEE, S. A., GRIBSKOV, J. L., HANLEY, E., NICKLE, D., MARR, K. A. *Aspergillus lentulus* sp. nov., a New Sibling Species of *A. fumigatus*. **Eukaryotic Cell**, v. 4, n. 3, p. 625-632, 2005.
- BARROS, F. Filogenia × taxonomia: um caso de amor e ódio. **Anais do 30º Encontro sobre temas de genética e melhoramento "Evolução, sistemática e biologia de populações de orquídeas"** Piracicaba – SP, 2013.
- BARROSO, G., GUIMARÃES, E., ICHASO, C., COSTA, C., PEIXOTO, A. **Sistemática das Angiospermas do Brasil**, v 1. São Paulo: LTC/ Edusp, 1978.
- BAYMAN, P., ANGULO-SANDOVAL, P., ZOILA, B. A., BÁEZ-ORTIZ, Z., LODGE, D. J. Distribution and dispersal of *Xylaria* endophytes in two tree species in Puerto Rico. **Mycological Research**, v. 102, n. 8, p. 944-948, 1998.
- BENSCH, K., BRAUN, U., GROENEWALD, J. Z., CROUS, P. W. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology**, v. 72, p. 1–401, 2012.
- BENSCH, K., GROENEWALD, J. Z., DIJKSTERHUIS, J., STARINK-WILLEMSE, M., ANDERSEN, B., SUMMERELL, B. A., SHIN, H-D., DUGAN, F. M., SCHROERS, H-J., BRAUN, U., CROUS, P. W. **Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*)**. Studies in Mycology 67. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2010.
- BERBEE, M. L., PIRSEYEDI, M., HUBBARD, S. *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. **Mycologia**, v. 91, p. 964-977, 1999.
- BERNARD, E., PENNA, L. A. O., ARAÚJO, E. Downgrading, Downsizing, Degazettement, and Reclassification of Protected Areas in Brazil. **Conservation Biology**, v. 28, p. 939–950, 2014.
- BEZERRA, J. D. P., LOPES, D. H. G., SANTOS, M. G. S., SVEDESE, V. M., PAIVA, L. M., ALMEIDA-CORTEZ, J. S., SOUZA-MOTTA, C. M. Riqueza de micro-organismos endofíticos em espécies da família Cactaceae. **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas**, v. 9, p. 19–23, 2012b.
- BEZERRA, J. D. P., NASCIMENTO, C. C. F., BARBOSA, R. N., SILVA, D. C. V., SVEDESE, V. M., SILVA-NOGUEIRA, E. B., GOMES, B.S., PAIVA, L. M., SOUZA-MOTTA, C. M. Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 49-57, 2015.
- BEZERRA, J. D. P., OLIVEIRA, R. J. V., PAIVA, L. M., SILVA, G. A., GROENEWALD, J. Z., CROUS, P. W., SOUZA-MOTTA, C. M. *Bezerromycetales* and *Wiesneriomycetales* ord. nov. (class *Dothideomycetes*), with two novel genera to accommodate endophytic fungi from Brazilian cactus. **Mycological Progress**, In press, 2016.
- BEZERRA, J. D. P., SANTOS, M. G. S., BARBOSA, R. N., SVEDESE, V. M., LIMA, D. M. M., FERNANDES, M. J. S., GOMES, B. S., PAIVA, L. M., ALMEIDA-CORTEZ, J. S., SOUZA-MOTTA, C. M. Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study. **Symbiosis**, v. 60, p. 53-63, 2013.
- BEZERRA, J. D. P., SANTOS, M. G. S., SVEDESE, V. M., LIMA, D. M. M., FERNANDES, M. J. S., PAIVA, L. M., SOUZA-MOTTA, C. M. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 28, p. 1989-1995, 2012a.
- BILLS, G. F. Isolation and analysis of endophytic fungal communities from woody plants. In: REDLIN, S. C., CARRIS, L. M. (eds.) **Endophytic fungi in grasses and woody plants:**

- systematics, ecology, and evolution.** Saint Paul: American Phytopathological Society Press, p.31–65, 1996.
- BOMFIM, A. G. J., ALBUQUERQUE, G.M.R., BEZERRA, J. D. P., SILVA, D.C.V., SVEDESE, V. M., PAIVA, L. M., SOUZA-MOTTA, C. M. Fungos fitopatogênicos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cultivada em área de floresta tropical seca no Brasil. **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas**, v. 10, p. 27-33, 2013.
- BOSE, S. R. Hereditary (Seed-Borne) Symbiosis in *Casuarina equisetifolia* Forst. **Nature**, v. 159, p. 512-514, 1947.
- BRASIL. **Nordeste: uma estratégia de desenvolvimento sustentável.** Brasília: Ministério do Planejamento e Orçamento, 1995.
- BRASIL. **Subsídios Técnicos para elaboração do relatório nacional do Brasil para a CNUMAD.** Brasília: Ministério das Relações Exteriores, 1991.
- BRAUN, U., CROUS, P. W., DUGAN, F. M., GROENEWALD, J. Z., DE HOOG, G. S. Phylogeny and taxonomy of cladosporium-like hyphomycetes, including *Davidiella* gen. nov., the teleomorph of *Cladosporium* s.str. **Mycological Progress**, v. 2, n. 1, p. 3–18, 2003.
- BUENO-SILVA, M. Genética molecular e sistemática animal: Um breve histórico, contribuições e desafios. **Estudos de Biologia, Ambiente e Diversidade**, v. 34, n. 83, p. 157-163, 2012.
- BUTLER, M. J., DAY, A. W. Fungal melanins: a review. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 1115–1136, 1998.
- CABRAL G. A. L., SAMPAIO E. V. S. B., ALMEIDA-CORTEZ J. Estrutura Espacial e Biomassa da Parte Aérea em Diferentes Estádios Sucessionais de Caatinga, Santa Terezinha-PB. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 6, n. 3, p. 566-574, 2013.
- CABRAL, D., STONE, J., CARROL, G. C. The internal mycoflora of *Juncus* spp.: microscopic and cultural observation of infection patterns. **Mycological Research**, v. 97, p. 367-376, 1993.
- CAMACHO PÉREZ, A. I., ÁLVAREZ DORDA, B., REY FRAILE, I. Integrating DNA and morphological taxonomy to describe a new species of the family Bathynellidae (Crustacea, Syncarida) from Spain. **Graellsia**, v. 69, n. 2, p. 179-200, 2013.
- CARBONE, I., KOHN, L. M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia**, v. 91, p. 553–556, 1999.
- CARROLL, F. E., MÜLLER, E., SUTTON, B. C. Preliminary studies on the incidence of needle endophytes in some European conifers. **Sydowia**, v. 29, p. 87–103, 1977.
- CARROLL, G. C. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. **Ecology**, v. 69, p. 2-9, 1988.
- CARROLL, G. C. The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In: FOKKOMA, N. J., VAN DE HEUVEL, J. (eds.). **Microbiology of the Phyllosphere.** Cambridge: Cambridge University Press, p. 205-222, 1986.
- CHEN, G., LIN, Y., WEN, L., VRIJMOED, L. L. P., JONES, E. B. G. Two new metabolites of a marine endophytic fungus from an estuarine mangrove on the South China Sea Coast. **Tetrahedron**, v. 59, p. 4907-4909, 2003.
- CLARKE, K. R., GORLEY, R. N. **PRIMER v6: User Manual/Tutorial.** Plymouth: PRIMER-E, 2006.
- CLAY, K., HARDY, T. N., HAMMOND, A. M. Jr. Fungal endophytes of grasses and their effects on an insect herbivore. **Oecologia**, v. 66, p. 1-5, 1985.
- COLLADO, J., PLATAS, G., GONZALES, I., PELAÉZ, F. Geographical and seasonal influence on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. **New Phytologist**, v. 143, p. 525–532, 1999.

- COSTA, F. E. C., MELO, I. S. Endophytic and rhizospheric bacteria from *Opuntia ficus-indica* Mill and their ability to promote plant growth in cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 6, p. 1345-1353, 2012.
- CPRM/PRODEEM. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Águas Belas, estado de Pernambuco.** MASCARENHAS, J.C., BELTRÃO, B.A., SOUZA-JUNIOR, L.C., GALVÃO, M.J.T.G., PEREIRA, S.N., MIRANDA, J.L.F. (orgs). Recife: CPRM/PRODEEM, 2005.
- CRABTREE, S. L., GESSNER, R. V. Growth and nutrition of the salt marsh fungi *Pleospora gaudefroyi* and *Camarosporium roumeguerii*. **Mycologia**, v. 74, p. 640–647, 1982.
- CROUS, P. W. *et al.* Fungal Planet description sheets: 469–550, **Persoonia**, In press, 2016.
- CROUS, P. W., BRAUN, U., SCHUBERT, K., GROENEWALD, J. Z. **The genus *Cladosporium* and similar dematiaceous hyphomycetes.** Studies in Mycology 58. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2007.
- CROUS, P. W., GROENEWALD, J. Z., RISEDE, J-M., HYWEL-JONES, N. L. *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaeropedunculate vesicles. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 415–429, 2004.
- CROUS, P. W., GROENEWALD, J. Z., SLIPPERS, B., WINGFIELD, M. J. Global food and fibre security threatened by current inefficiencies in fungal identification. Philosophical Transactions of the Royal Society B, v. 371, 20160024. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2016.0024>, 2016.
- DE BARY, A. **Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten.** Engelann, Leipzig, Alemanha, 1866.
- DOMSCH, K. H., GAMS, W., ANDERSON, T-H. **Compendium of soil fungi.** Eching: IHW-189 Verlag, 2007.
- DREYFUSS, M. M., CHAPELA, I. H. Potential of fungi in the discovery of novel, low-molecular weight pharmaceuticals. In: GULLO, V. P. (ed) **The discovery of natural products with therapeutic potential.** London: Butterworth-Heinemann, p. 49–80, 1994.
- ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes.** Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971.
- ELLIS, M. B. **More Dematiaceous Hyphomycetes.** Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1976.
- EMBRAPA. **Vegetação florestal.** Brasília: EMBRAPA Cerrado, Disponível em: < [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG01\\_15\\_911200585232.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG01_15_911200585232.html)>. Acesso em: 11 jan. 2011.
- FAETH, S. H., FAGAN, W. F. Fungal endophytes: common host plant symbionts but uncommon mutualists. **Integrative and Comparative Biology**, 42, p. 360-368, 2002.
- Fernandes-Matioli, F. M. Noções de Filogenética Molecular. **Biológico**, v. 63, n. 1/2, p. 37-38, 2001.
- FISHER, P. J., SUTTON, B. C., PETRINI, L. E., PETRINI, O. Fungal endophytes from *Opuntia stricta*: a first report. **Nova Hedwigia**, v. 59, p. 195–200, 1994.
- FONSECA-GARCÍA, C., COLEMAN-DERR, D., GARRIDO, E., VISEL, A., TRINGE, S. G., PARTIDA-MARTÍNEZ, L. P. The Cacti Microbiome: Interplay between Habitat-Filtering and Host-Specificity. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 150, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00150>.
- FREIRE, K. T. L. S., ARAÚJO, G. R., BEZERRA, J. D. P., BARBOSA, R. N., SILVA, D. C. V., SVEDESE, V. M., PAIVA, L. M., SOUZA-MOTTA, C. M. Fungos endofíticos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) sadia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae). **Gaia Scientia**, v. 9, n. 2, p. 104-110, 2015.
- FUNGARO, M. H. P. PCR na Micologia – Diagnóstico e Análise de Variabilidade. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 14, p. 12–16, 2001.

- GAI, C. S., LACAVA, P. T., MACCHERONI Jr., W., GLIENKE, C., ARAÚJO, W. L., MILLER, T. A., AZEVEDO, J. L. Diversity of endophytic yeasts from sweet Orange and their localization by scanning electron microscopy. **Journal of Basic Microbiology**, v. 49, p. 441-451, 2009.
- GENG, J., YUB, S-B., WANA, X., WANGA, X-J., SHENA, P., ZHOUB, P., CHENA, X-D. Protective action of bacterial melanin against DNA damage in full UV spectrums by a sensitive plasmid-based non cellular system. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, n. 6, p. 1151–1155, 2008.
- GLASS, N. L., DONALDSON, G. Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 1323–1330, 1995.
- GOMES, S. I. F. **Caracterização morfológica e molecular de *Tricholoma equestre* / *T. Auratum* para uma abordagem taxonômica**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Lisboa. Faculdade de Ciências, 2011.
- GROENEWALD, J. Z., NAKASHIMA, C., NISHIKAWA, J., SHIN, H. D., PARK, J. H., JAMA, A. N., GROENEWALD, M., BRAUN, U., CROUS, P. W. Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. **Studies in Mycology**, v. 75, p. 115–170, 2013.
- GUARRO, J., GENÉ, J., STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, p. 454–500, 1999.
- HALLMANN, J. A., QUADT-HALLMANN, W., MAHAFFEE, F., KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 895-914, 1997.
- HAMMER, Ø., HARPER, D. A. T., RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Version 2.17. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 9, 2001. <[http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01htm)>.
- HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycology Research**, v. 95, p. 641-655, 1991.
- HAWKSWORTH, D. L., ROSSMAN, A. Y. Where are all the undescribed fungi? **Phytopathology**, v. 87, p. 888-891, 1997.
- HILLIS, D. M., DIXON, M. T. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. **Quarterly Review of Biology**, v. 66, n. 4, p. 411- 453, 1991.
- HIRCH, G. U., BRAUN, U. Communities of parasitic microfungi. In: WINTERHOFF, W. (ed.). **Handbook of vegetation science: Fungi in vegetation science**. Dordrecht: Kluwer Academic, p. 225-250, 1992.
- HOFFMAN, M. T., ARNOLD, A. E. Geographic locality and host identity shape fungi endophyte communities in cupressaceous trees. **Mycological Research**, v. 112, p. 31–344, 2008.
- HOLDRIDGE, L. R. **Life zone ecology**. San Jose: Tropical Science Center, 1967.
- HONG, S. B., CHO, H. S., SHIN, H. D., FRISVAD, J. C., SAMSON, R. A. Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. **International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology**, 2: 477–486, 2006.
- HUANG, Y., WANG, J., LI, G., ZHENG, Z., SU, W. Tumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortune* and *Torreya grandis*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 31, p. 163-167, 2001.
- HUBBARD, M., GERMIDA, J. J., VUJANOVIC, V. Fungal endophytes enhance wheat heat and drought tolerance in terms of grain yield and second-generation seed viability. **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, p. 109–122, 2014.

- HUNT, D., TAYLOR, N. The genera of Cactaceae: progress towards consensus. **Bradleya**, v. 8, p. 85-107, 1990.
- HYAKUMACHI, M., YOKOYAMA, K., UI, T. Role of melanin in susceptibility and resistance of *Rhizoctonia solani* to microbial lysis. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 89, p. 27-33, 1987.
- HYDE, K. D., SOYTONG, K. The fungal endophyte dilemma. **Fungal Diversity**, v. 33, p. 163-173, 2008.
- IBGE. **IBGE Cidades@ Águas Belas-PE.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=260050#>>. Acesso em: 7 nov. 2012.
- IMPULLITTI, A. E., MALVICK, D. K. Fungal endophyte diversity in soybean. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 5, p. 1500-1506, 2013.
- JACOBSON, E. S., HOVE, E., EMERY, H. S. Antioxidant function of melanin in black fungi. **Infection and Immunity**, v. 63, p. 4944-4945, 1995.
- JAPAN. **Environment Agency. Global Environment Program and Global Environment Monitoring Program for Fiscal Year.** Tokyo: Environment Agency, 1990.
- JIN, H., YAN, Z., LIU, Q., YANG, X., CHEN, J., QIN, B. Diversity and dynamics of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Stellera chamaejasme* L. in northwestern China. **Antonie Leeuwenhoek**, v. 104, p. 949-963, 2013.
- JIN, H., YAN, Z., LIU, Q., YANG, X., CHEN, J., QIN, B. Diversity and dynamics of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Stellera chamaejasme* L. in northwestern China. **Antonie Leeuwenhoek**, v. 104, p. 949-963, 2013.
- JOHRI, B. N. Endophytes to the rescue of plants! **Current Science**, v. 90, n. 10, p. 1315-1316, 2006.
- KATO, K., STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, p. 772-780, 2013.
- KAWAMURA, C., MORIWAKI, J., KIMURA, N., FUJITA, Y., FUJI, S., HIRANO, T., KOIZUMI, S., TSUGE, T. The Melanin Biosynthesis Genes of *Alternaria alternata* Can Restore Pathogenicity of the Melanin Deficient Mutants of *Magnaporthe grisea*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 10, n. 4, p. 446-453, 1997.
- KAWASAKI, M., ANZAWA, K., WAKASA, A., TAKEDA, K., TANABE, H., MOCHIZUKI, T., ISHIZAKI, H. HEMASHETTAR, B. M. Different genes can result in different phylogenetic relationships in *Trichophyton* species. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**, v. 49, n. 4, p. 311-318, 2008.
- KEELING, P. J., INAGAKI, Y. A class of eukaryotic GTPase with a punctate distribution suggesting multiple functional replacements of translation elongation factor 1 $\alpha$ . **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 43, p. 15380-15385, 2004.
- KHIDIR, H. H., EUDY, D. M., PORRAS-ALFARO, A., HERRERA, J., NATVIG, D. O., SINSABAUGH, R. L. A general suite of fungal endophytes dominate the roots of two dominant grasses in a semiarid grassland. **Journal of Arid Environmental**, v. 74, p. 35-42, 2010.
- KIRK, P., CANNON, P. F., MINTER, D. W., STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi.** 10th edn. Wallingford: CAB International, 2008.
- KNAPP, D. G., KOVÁCS, G. M., ZAJTA, E., GROENEWALD, J. Z., CROUS, P. W. Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid areas. **Persoonia**, v. 35, p. 87-100, 2015.
- KOGEL, K.-H., FRANKEN, P., HÜCKELHOVEN, R. Endophyte or parasite – what decides? **Current Opinion Plant Biology**, v. 9, n. 4, p. 358-363, 2006.

- KOLECKA, A., KHAYHAN, K., GROENEWALD, M., THEELEN, B., ARABATZIS, M., VELEGRAKI, A., KOSTRZEWA, M., MARES, M., TAJ-ALDEENS, J., BOEKHOUT, T. MALDI-TOF MS identification of medically relevant species of arthroconidial yeasts. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, p. 2491-500, 2013.
- KRINGS, M., TAYLOR, T. N., HASS, H., KERP, H., DOTZLER, N., HERMSEN, E. J. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. **New Phytologist**, v. 174, p. 648–657, 2007.
- KURAMAE, E. E., SOUZA, N. L. Variabilidade genética entre *formae speciales* de *Fusarium oxysporum* e raças 1 e 2 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* através de RAPD e sequências de regiões ITS e rDNA. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 5, p. 1481-1485, 2002.
- KURTZMAN, C. P., FELL, J. W. **The Yeasts, A Taxonomic Study**. Amsterdam: Elsevier Science, 1998.
- KURTZMAN, C. P., FELL, J. W., BOEKHOUT, J. **The Yeasts: A Taxonomic Study**. 5th Edition. Elsevier Science, p. 2384, 2011.
- LANGFELDER, K., STREIBELA, M., JAHNB, B., HAASEC, G., BRAKHAGEA, A. A. Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 38, n. 2, p. 143–158, 2003.
- LARENA, I., SALAZAR, O., GONZÁLEZ, V., JULIÁN, M. C., RUBIO, V. Design of a primer for ribosomal DNA internal transcribed spacer with enhanced specificity for ascomycetes. **Journal of Biotechnology**, v. 75, n. 2, p. 187-194, 1999.
- LIU, Y. L., WHELEN, S., HALL, B. D. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, p. 1799-1808, 1999.
- Lopez BR, Bashan Y, Bacilio M. 2011. Endophytic bacteria of *Mammillaria fraileana*, an endemic rock-colonizing cactus of the southern Sonoran Desert. **Archives of Microbiology**, 193: 527–541.
- LOPEZ, B. R., TINOCO-OJANGUREN, C., BACILIO, M., MENDOZA, A., BASHAN, Y. Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus *Mammillaria fraileana* affect plant growth and mobilization of elements from rocks. **Environmental and Experimental Botany**, v. 81, p. 26–36, 2012.
- LORO, M., VALERO-JIMÉNEZ, C. A., NOZAWAC, S., MÁRQUEZ, L. M. Diversity and composition of fungal endophytes in semiarid Northwest Venezuela. **Journal of Arid Environments**, v. 85, p. 46–55, 2012.
- LOSOS, E. C., LEIGH, E. G. Jr. **Tropical forest diversity and dynamism: findings from a large-scale plot network**. Chicago: University of Chicago Press, 2004.
- LUANGSA-ARD, J., HOUBRAKEN, J., VAN DOORN, T., HONG, S. B., BORMAN, A. M., HYWEL-JONES, N. L., SAMSON, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 321, n. 2, p. 141-149, 2011.
- LYRA, C. P., SANTOS, D. C., MONDRAGON-JACOBO, C., SILVA, M. R. L. B., MERGULHÃO, A. C. E. S., MARTÍNEZ-ROMERO, E. Isolation and molecular characterization of endophytic bacteria associated with the culture of forage cactus (*Opuntia* spp.). **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 011-016, 2013.
- Machado, A. P. S. **Uso de técnicas de detecção rápidas de fungos filamentosos na água**. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia da Universidade do Minho, 2006.
- MAHESHWARI, R. What is an endophytic fungus? **Current Science**, v. 90, n. 10, p. 1309, 2006.

- MARACAJÁ, P. B., BENEVIDES, D. S. Estudo da Flora Herbácea da Caatinga no Município de Caraúbas no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, p. 165-175, 2006.
- MASSIMO, N. C., NANDI DEVAN, M. M., ARENDT, K. R., WILCH, M. H., RIDDLE, J. M., FURR, S. H., STEEN, C., U'REN, J. M., SANDBERG, D. C., ARNOLD, A. E. Fungal endophytes in aboveground tissues of desert plants: infrequent in culture, but highly diverse and distinctive symbionts. **Microbial Ecology**, v. 70, n. 61-76, 2015.
- MATHENY, P. B., LIU Y. J., AMMIRATI, J. F., *et al.* Using RPB1 sequences to improve phylogenetic inference among mushrooms (*Inocybe*, *Agaricales*). **American Journal of Botany**, v. 89, p. 688–698, 2002.
- MCCUNE, B., MEFFORD, M. J. PC-ORD. **Multivariate analysis of ecological data**. Version 6.0. MjM Software. Oregon, U.S.A: Gleneden Beach, 2011.
- MEIADO, M. V., MACHADO, M. C., ZAPPI, D. C., TAYLOR, N. P., SIQUEIRA FILHO, J. A. Ecological attributes, geographic distribution and endemism of cacti from the São Francisco watershed. **Gaia Scientia**, v. 9, n. 2, p. 40-53, 2015.
- MEIADO, M. V., MACHADO, M. C., ZAPPI, D. C., TAYLOR, N. P., SIQUEIRA FILHO, J. A. Cactos do Rio São Francisco: atributos ecológicos, distribuição geográfica e endemismo. In: SIQUEIRA FILHO, J. A. (Org.). **A Flora das Caatingas do Rio São Francisco: história natural e conservação**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio Editorial, p. 264-305, 2012.
- MENDES, R., AZEVEDO, J. L. Valor biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas de interesse econômico. In: **Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia**, p. 129-140, 2007.
- MENEZES, J. P., LUPATINI, M., ANTONIOLLI, Z. I., BLUME, E., JUNGES, E., MANZONI, C. G. Variabilidade genética na região ITS do rDNA de isolados de *Trichoderma* spp. (biocontrolador) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *Chrysanthemi*. **Ciência agrotécnica**, v. 34, n. 1, p. 132-139, 2010.
- MORSY, M. R., OSWALD, J., HE, J., TANG, Y., ROOSSINCK, M. J. Teasing apart a three way symbiosis: transcriptome analyses of *Curvularia protuberata* in response to viral infection and heat stress. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 401, p. 225-230, 2010.
- MOSSE, B., LYAKH, I. P. Influence of Melanin on Mutation Load in *Drosophila* Populations after Long-Term Irradiation. **Radiation Research**, v. 139, n. 3, p. 357-359, 1994.
- MOSTERT, L., CROUS, P. W., PETRINI, O. Endophytic fungi associated with shoots and leaves of *Vitis vinifera*, with specific reference to the *Phomopsis viticola* complex. **Sydowia**, v. 52, p. 46-58, 2000.
- MÜLLER, C. B., KRAUSS, J. Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 8, n. 450–456, 2005.
- MURPHY, P. G., LUGO, A. E. Ecology of tropical dry forest. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 17, p. 67-88, 1986.
- NAKAZATO, L. **Desenvolvimento de um sistema de expressão em *Metarhizium anisopliae* baseado no promotor homólogo do gene *tef-1 α***. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, 2005.
- NASCIMENTO, T. L., OKI, Y., LIMA, D. M. M., ALMEIDA-CORTEZ, J. S., FERNANDES, G. W., SOUZA-MOTTA, C. M. Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of *Calotropis procera* and their antimicrobial activity. **Fungal Ecology**, v. 14, p. 79-86, 2015.
- NEWSHAM, K. K. Fungi in extreme environments. **Fungal Ecology**, v. 5, p. 379-380, 2012.

- O'DONNELL, K., CIGELNIK, E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 7, n. 103–116, 1997.
- O'DONNELL, K., KISTLER, H. C., CIGELNIK, E., PLOETZ, R. C. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)**, v. 95, p. 2044–2049, 1998.
- OKSANEN, J., BLANCHET, F.G., KINDT, R., LEGENDRE, P., MINCHIN, P.R., O'HARA, R.B., SIMPSON, G.L., SOLYMOS, P., STEVENS, M.H.H., WAGNER, H. **Vegan: Community ecology Package**. Version 2.0–10, 2013. <<http://vegan.r-forge.r-project.org/>>.
- OLDFIELD, S. **Cactus and Succulent Plants – Status Survey and Conservation Action Plant**. IUCN/SSC Cactus and Succulent Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, p. 212, 1997.
- OLIVEIRA, G., ARAÚJO, M. B., RANGEL, T. F., ALAGADOR, D., DINIZ-FILHO, J. A. F. Conserving the Brazilian semiarid (Caatinga) biome under climate change. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, n. 11, p. 2913–2926, 2012.
- OLIVEIRA, T. O. **Identificação molecular e produção de pectinases por isolados de *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2011.
- OULHEN, N., SCHULZ, B. J., CARRIER, T. J. English translation of Heinrich Anton de Bary's 1878 speech, 'Die Erscheinung der Symbiose' ('De la symbiose'). **Symbiosis**, v. 69, p. 131–139, 2016.
- OWEN, N. L., HUNDLEY, N. Endophytes – the chemical synthesizers inside plants. **Science Progress**, v. 87, n. 2, p. 79–99, 2004.
- PAULA, C. C., RIBEIRO, O. B. C. **Cultivo prático de cactáceas**. Viçosa: UFV, 2004.
- PEEL, M. C., FINLAYSON, B. L., MCMAHO, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 11, p. 1633–1644, 2007.
- PEIXOTO-NETO, P. A. S., AZEVEDO, J. L., ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biociência, Ciência e Desenvolvimento**, v. 29, p. 62–76, 2002.
- PEÑA, C. Métodos de inferência filogenética. **Revista Peruana de Biología**, v. 18, n. 2, p. 265–267, 2011.
- PENNINGTON, R. T., LAVIN, M., OLIVEIRA-FILHO, A. Woody Plant Diversity, Evolution, and Ecology in the Tropics: Perspectives from Seasonally Dry Tropical Forests. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 40, n. 1, p. 437–457, 2009.
- PEREIRA, I. M., ANDRADE, L. A., COSTA, J. R. M., DIAS, J. M. Regeneração natural em um remanescente de caatinga sob diferentes níveis de perturbação, no agreste paraibano. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, v. 3, p. 413–426, 2001.
- PEREIRA, R. M. A., FILHO, J. A. A., LIMA, R. V., PAULINO, F. D. G., LIMA, A. O. N., ARAÚJO, Z. B. Estudos fenológicos de algumas espécies lenhosas e herbáceas da caatinga. **Ciência Agrônômica**, v. 20, p. 11–20, 1989.
- PETERS, S., AUST, H. J., DRAEGER, S., SCHULZ, B. Interactions in dual cultures of endophytic fungi with host and nonhost plant calli. **Mycologia**, v. 90, p. 360–367, 1998.
- PETRINI, O. Fungal endophytes of tree leaves. In: ANDREWS, J. H., HIRANO, S. S. (Eds.). **Microbial ecology of leaves**. New York: Springer, 1991.
- PETRINI, O., CARROLL, G. Endophytic fungi in foliage of some Cupressaceae in Oregon. **Canadian Journal of Botany**, v. 59, p. 629–636, 1981.



- PHILLIPS, A. J. L., SLIPPERS, B., GROENEWALD, J. Z., CROUS, P. W. **Botryosphaeriales known from culture**. Studies in Mycology 76. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2013.
- PHOTITA, W., LUMYONG, S., LUMYONG, P. HYDE, K. D. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. **Mycological Research**, v. 105, p. 1508-1513, 2001.
- PIROZYNSKI, K. A., MALLOCH, D. W. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. **Biosystems**, v. 6, p. 153–164, 1975.
- POSADA, D., BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology**, v. 53, p. 793-808, 2004.
- POSADA, D., CRANDALL, K. A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, v. 14, p. 817-818, 1998.
- PUENTE, M. E., BASHAN, Y., LI, C. Y., LEBSKY, V. K. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. I. Root colonization and weathering of igneous rocks. **Plant Biology**, v. 6, p. 629-642, 2004a.
- PUENTE, M. E., LI, C. Y., BASHAN, Y. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, p. 402–408, 2009b.
- PUENTE, M. E., LI, C. Y., BASHAN, Y. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. II. Growth promotion of cactus seedlings. **Plant Biology**, v. 6, p. 643-649, 2004b.
- PUENTE, M. E., LI, C. Y., BASHAN, Y. Rock-degrading endophytic bacteria in cacti. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, p. 389–401, 2009a.
- QUADROS, M. E., LISBOA, H. M., OLIVEIRA, V. L., SCHIRMER, W. N. Qualidade do ar em ambientes internos hospitalares: estudo de caso e análise crítica dos padrões atuais. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 3, 2009.
- QUAEDVLIEG, W., KEMA, G. H. J., GROENEWALD, J. Z., VERKLEY, G. J. M., SEIFBARGHI, S., *et al.* *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. **Persoonia**, v. 26, p. 57–69, 2011.
- QUESADA, M.; SANCHEZ-AZOFEIFA, G. A.; ALVAREZ-ANORVE, M. Succession and management of tropical dry forests in the Americas: review and new perspectives. **Forest Ecology and Management**, v. 258, p. 1014-1024, 2009.
- RAI, M., RATHOD, D., AGARKAR, G., DAR, M., BRESTIC, M., PASTORE, G. M., JUNIOR, M. R. M. Fungal growth promotor endophytes: a pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. **Symbiosis**, v. 62, n. 2, p. 63-79, 2014.
- REDMAN, R. S., SHEEHAN, K. B., STOUT, R. G., RODRIGUEZ, R. J., HENSON, J. N. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. **Science**, v. 298, p. 1581, 2002.
- RODAL, M. J. N. Fitossociologia da vegetação arbustivo-arbórea em quatro áreas de caatinga em Pernambuco. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas: Campinas – SP, 1992.
- RODRIGUES, K. F., PETRINI, O. Biodiversity of Endophytic Fungi in Tropical Regions. HYDE, K. D. (ed.). **Biodiversity of Tropical Microfungi**. Hong Kong, China: Hong Kong University Press, p. 57-69, 1997.
- RODRIGUEZ, R. J., HENSON, J., VAN VOLKENBURGH, E., HOY, M., WRIGHT, L., BECKWITH, F., KIM, Y., REDMAN, R. S. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. **International Society of Microbial Ecology**, v. 2, p. 404–416, 2008.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M., VÁZQUEZ-YANES, C. Cactus seed germination: a review. **Journal of Arid Environments**, v. 44, p. 85–104, 2000.

- ROLLINGER, J. L., LANGENHEIM, J. H. Geographic survey of fungal endophytic community, composition in leaves of coastal redwood. **Mycologia**, v. 85, p. 149–156, 1993.
- RONQUIST, F., TESLENKO, M., VAN DER, M. P., AYRES, D. L., DARLING, A., HÖHNA, S., LARGET, B., LIU, L., SUCHARD, M. A., HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**, v. 61, p. 539–542, 2012.
- ROSSMAN, A., SEIFERT, K. **Phylogenetic revision of taxonomic concepts in the Hypocreales and other Ascomycota - A tribute to Gary J. Samuels**. Studies in Mycology 68. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011.
- RUDGERS, J. A., KOSLOW, J. M., CLAY, K. Endophytic fungi alter relationships between diversity and ecosystem properties. **Ecology Letters**, v. 7, n. 1, p. 42-51, 2004.
- SABOGAL, C. Regeneration of tropical dry forest in Central America, with examples from Nicaragua. **Journal of Vegetation Science**, v. 3, p. 407–416, 1992.
- SAIKKONEM, K., WÄLI, P., HELANDER, M., FAETH, S. H. Evolution of endophyte-plant symbioses. **TRENDS in Plant Science**, v. 9, n. 6, p. 275-280, 2004.
- SAITOU, N., NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular biology and evolution**, v. 4, n. 4, p. 406-425, 1987.
- SAMPAIO, E. V. S. B. Uso das plantas da caatinga. In: SAMPAIO, E. V. S. B., GIULIETTI, A. M., VIRGÍNIO, J., GAMARRA-ROJAS, C. F. L. **Vegetação e flora da caatinga**. Recife: Associação Plantas do Nordeste – APNE, Centro Nordestino de Informações sobre Plantas – CNIP, p. 49-90, 2002.
- SAMSON, R. A., FRISVAD, J. C. *Penicillium* Subgenus *Penicillium*: new Taxonomics 210 Schemes, Mycotoxins and Other Extralites. **Studies in Micology**, v. 49, p. 1-260, 2004.
- SAMSON, R. A., HOUBRAKEN, J. **Phylogenetic and taxonomic studies on the genera *Penicillium* and *Talaromyces***. Studies in Mycology 7. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011a.
- SAMSON, R. A., VARGA, J. *Aspergillus* systematics in the genomic era. Studies in Mycology 59. The Netherlands: CBS-NAW Fungal Biodiversity Centre, 2007.
- SAMSON, R. A., VARGA, J., FRISVAD, J. C. **Taxonomic studies on the genus *Aspergillus***. Studies in Mycology 69. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011b.
- SAMUELS, G. J., SEIFERT, K. A. The impact of molecular characters on systematic of filamentous ascomycetes. **Annual review of phytopathology**, v. 33, n. 1, p. 37-67, 1995.
- SANTOS, C., FRAGA, M. E., KOZAKIEWICZ, Z., LIMA, N. Fourier transform infrared as a powerful technique for the identification and characterization of filamentous fungi and yeasts. **Research in Microbiology**, v. 161, p. 168-175, 2010.
- SANTOS, F. R., GUIMARÃES, P. E., REDONDO, R. A. Bancos de DNA: coleções estratégicas para estudos da biodiversidade. **Lundiana**, v. 3, n. 1, p. 93-98, 2002.
- SANTOS, I. P., BEZERRA, J. D. P., SOUZA-MOTTA, C. M., CAVALCANTI, M. S., LIMA, V. L. M. Endophytic mycobiota from *Indigofera suffruticosa* Miller (Fabaceae): the relationship between seasonal change in Atlantic Coastal Forest and tropical dry forest (Caatinga), Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, p. 1227-1235, 2015.
- SANTOS, J. C.; LEAL, I. R.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; FERNANDES, G. W.; TABARELLI, M. Caatinga: the scientific negligence experienced by a dry tropical forest. **Tropical Conservation Science**, v.4, p.276-286, 2011.
- SANTOS, M. G., OLIVEIRA, M. T., FIGUEIREDO, K. V., FALCÃO, H. M., ARRUDA, E. C. P., ALMEIDA-CORTEZ, J. S., SAMPAIO, E. V. S. B., OMETTO, J. P. H. B., MENEZES, R. S. C., OLIVEIRA, A. F. M., POMPELLI, M. F., ANTONINO, A. C. D. Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate changes? **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 26, p. 83-99, 2014.

- SCHULZ, B., BOYLE, C. The endophytic continuum. **Mycological Research**, v. 109, n. 6, p. 661-686, 2005.
- SCHULZ, B., BOYLE, C., DRAEGER, S., AUST, H. J., RÖMMERT, A. K., KROHN, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, v. 106, n. 9, p. 996-1004, 2002.
- SELOSSE, M.-A., BAUDOIN, E., VANDENKOORNHUYSE, P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. **Comptes Rendus Biologies**, v. 327, n. 7, p. 639-648, 2004.
- SILVA, I. R., MELLO, C. M. A., NETO, R. A. F., SILVA, D. K. A., MELO, A. L., OEHL, F., MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental gradient in the Brazilian semiarid. **Applied Soil Ecology**, v. 84, p. 166-175, 2014.
- SILVA-HUGHES A. F., WEDGE D. E., CANTRELL C. L., CARVALHO C. R., PAN Z., MORAES R. M., MADDOX V. L., ROSA L. H. Diversity and antifungal activity of the endophytic fungi associated with the native medicinal cactus *Opuntia humifusa* (Cactaceae) from the United States. **Microbiological Research**, v. 175, n. 67-77, 2015.
- SIQUEIRA FILHO, J. A., CONCEIÇÃO, A. A., RAPINI, A., COELHO, A. O. P., ZUNTINI, A. R., JOFFILY, A., VIEIRA, A. O. S., PRATA, A. P. N., MACHADO, A. F. P., ALVES-ARAÚJO, A. G., MELO, A. L., AMORIM, A. M. A., FONTANA, A. P., MOREIRA, A. D. R., LIMA, C. T., PROENÇA, C. E. B., LUZ, C. L., KAMEYAMA, C., CAIRES, C. S., BOVE, C. P., MYNSEN, C. M., SÁ, C. F. C., MELO, E., SOUZA, E. B., LEME, E. M. C., FIRETTI-LEGGIERI, F., SALIMENA, F. R. G., FRANCA, F., RAINER, H., FARIA, J. E. Q., MACIEL, J. R., LOPES, J. C., BRAGA, J. M. A., STEHMANN, J. R., JARDIM, J. G., PEREIRA, J. F., PASTORE, J. F. B., VALLS, J. F. M., MELO, J. I. M., PIRANI, J. R., SILVA, J. A., PAULA-SOUZA, J., CARDOSO, L. J. T., MATIAS, L. Q., LOHMANN, L. G., QUEIROZ, L. P., OLIVEIRA, M. A., SOBRAL, M. E. G., SILVA, M. J., MEIADO, M. V., COELHO, M. A. N., SILVA, M. B. C., MAMEDE, M. C. H., LUCENA, M. F. A., PESSOA, M. C. R., LOIOLA, M. I. B., ARBO, M. M., BARBOSA, M. R. V., MARCHIORETTO, M. S., BURIL, M. T., BOVINI, M. G., BUENO, N. C., FIASCHI, P., BORGES, R. A. X., FORZZA, R. C., SEBASTIANI, R., MELLO-SILVA, R., COUTO, R. S., LIMA, R. B., PEREIRA, R. C. A., MARQUETE, R., BARRETO, R. C., XAVIER, S. R. S., PROFICE, S. R., CAVALCANTI, T. B., SILVA, T. R. S., POTT, V. J., KLEIN, V. L. G., SOUZA, V. C. Flora das Caatingas do Rio São Francisco. In: SIQUEIRA FILHO, J.A. (org.). **A Flora das Caatingas do Rio São Francisco: história natural e conservação**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio Editorial, p. 446-542, 2012.
- SIQUEIRA, V. M., BRAUN, U., SOUZA-MOTTA, C. M. *Corynespora subcylindrica* sp. nov., a new hyphomycete species from Brazil and a discussion on the taxonomy of corynespora-like genera. **Sydowia**, v. 60, n. 1, p. 113-122, 2008.
- SIQUEIRA, V. M., CONTI, R., ARAÚJO, J. M., SOUZA-MOTTA, C. M. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. **Symbiosis**, v. 53, p. 89-95, 2011.
- SNE - Sociedade Nordestina de Ecologia. **Projeto técnico para a criação do Parque Nacional do Catimbau/PE – versão final, em cumprimento ao contrato n ° 086-00/02, subprojeto “Proposta para criação do Parque Nacional do Catimbau/PE”**. Coordenação geral: Maria das Dores de V. C. Melo. Recife: SNE, 2002.
- SOUZA, A. E. F., NASCIMENTO, L. C., ARAÚJO, E., LOPES, E. B., SOUTO, F. M. Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) no semiárido paraibano. **Biotemas**, v. 23, n. 3, p. 11-20, 2010.
- STILLER, J. W., HALL, B. D. The origin of red algae: Implications for plastid evolution. **PNAS**, v. 94, p. 4520 – 4525, 1997.

- STONE, J. K., POLISHOOK, J. D., WHITE, JR. F. Endophytic Fungi. In: MULLER, J. M., BILLS, G. F., FOSTER, M. S. **Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods**. San Diego: Elsevier Academic Press, p.241-270, 2004.
- STROBEL, G. A. Rainforest endophytes and bioactive products. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 22, p. 315-333, 2002.
- STROBEL, G. A., DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, p. 491–502, 2003.
- STROBEL, G. A., DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491-502, 2003.
- STROBEL, G. A., DAISY, B., CASTILLO, U., HARPER, J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 257–268, 2004.
- STROBEL, G. A., FORD, E., WORAPONG, J., HARPER, J. K., ARIF, A. M., GRANT, D. M., FUNG, P. C. W., CHAU, R. M. W. Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiopsis microspora*, possessing antifungal and antioxidant activities. **Phytochemistry**, v. 60, p. 179-183, 2002.
- SUN, Y., WANG, Q., LU, X., OKANE, I., KAKISHIMA, M. Endophytic fungal community in stems and leaves of plants from desert areas in China. **Mycological Progress**, v. 11, p. 781–790, 2012.
- SUNG, G-H., SUNG, J-M., HYWEL-JONES, N. L., SPATAFORA, J. W. A multi-gene phylogeny of *Clavicipitaceae* (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, n. 3, p. 1204-23, 2007.
- SURYANARAYANAN, T. S., MURALI, T. S., VENKATESAN, G. Occurrence and distribution of fungal endophytes in tropical forest across a rainfall gradient. **Canadian Journal of Botany**, v. 80, p. 818-826, 2002.
- SURYANARAYANAN, T. S. Endophyte research: going beyond isolation and metabolite documentation. **Fungal Ecology**, v. 6, n. 6, p. 561-568, 2013.
- SURYANARAYANAN, T. S., VENKATESAN, G., MURALI, T. S. Endophytic fungal communities in leaves of tropical forest trees: diversity and distribution patterns. **Current Science**, v. 85, p. 489–493, 2003.
- SURYANARAYANAN, T. S., WITTLINGER, S. K., FAETH, S. H. Endophytic fungi associated with cacti in Arizona. **Mycological Research**, v. 109, n. 635–639, 2005.
- SUTTON, B. C. **The Coelomycetes: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980.
- SWOFFORD, D. L. PAUP\*: phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods), version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2003.
- TAECHOWISAN, T., PEBERDY, J. F., LUMYONG, S. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 381-385, 2003.
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A., KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, p. 2725–2729, 2013.
- TAN R. X., ZOU W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 448–459, 2001.
- TAYLOR, N. P., ZAPPI, D. C. Cacti of Eastern Brazil. Kew: Royal Botanic Gardens, 2004.
- TAYLOR, N., SANTOS, M. R., LAROCCA, J., ZAPPI, D. **Cactaceae**. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB70>. Acesso em: 3 maio 2015.
- TAYLOR, N., ZAPPI, D. Diversidade e endemismo das Cactaceae na Cadeia do Espinhaço. **Megadiversidade**, v. 4, p. 1-2, 2008.

- TAYLOR, T. N., TAYLOR, E. L. The rhynie chert ecosystem: a model for understanding fungal interactions. In: BACON, C.W., WHITE, J.F. (eds.) **Microbial endophytes**. New York: Marcel Decker, 2000.
- UNTERSEHER, M., PETZOLD, A., SCHNITTLER, M. Xerotolerant foliar endophytic fungi of *Populus euphratica* from the Tarim River basin, Central China are conspecific to endophytic ITS phylotypes of *Populus tremula* from temperate Europe. **Fungal Diversity**, v. 54, n. 1, p. 133-142, 2012.
- VAZ, A. B. M., DA COSTA, A. G. F. C., RAAD, L. V. V., GÓES-NETO, A. Fungal endophytes associated with three South American Myrtae (Myrtaceae) exhibit preferences in the colonization at leaf level. **Fungal Biology**, v. 118, n. 3, p. 277-286, 2014.
- VENABLES, W. N., SMITH, D. M., TEAM, R. C. R: A programming environment for data analysis and graphics. Version 2.10.0. Austria, 2013. <<http://www.R-project.org>>.
- Vilgalys, R., Hester, M. Rapid identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. **Journal of Bacteriology**, v. 172, p. 4238-4246, 1990.
- WANG, Y., CASADEVALL, A. Decreased susceptibility of melanized *Cryptococcus neoformans* to UV light. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 3864-3866, 1994.
- WANG, Y., DAI, C-C. Endophytes: a potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. **Annals of Microbiology**, v. 61, p. 207-215, 2011.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS M. A., GELFAND D. H., SNINSKY J. J., WHITE T. J. (eds) **PCR protocols: a guide to methods and applications**. San Diego: Academic Press, p. 315-322, 1990.
- WILSON, D. Endophyte – the evolution of the term, a clarification of its use and definition. **Oikos**, v. 73, p. 274-276, 1995.
- WOUDENBERG, J. H. C., SEIDL, M. F., GROENEWALD, J. Z., DE VRIES, M., STIELOW, J. B., THOMMA, B. P. H. J., CROUS, P. W. *Alternaria* section *Alternaria*: Species, *formae speciales* or pathotypes? **Studies in Mycology**, v. 82, p. 1-21, 2015.
- ZANETTI, R. **Análise fitossociológica e alternativas de manejo sustentável da mata da agronomia, Viçosa, Minas Gerais**. Viçosa: UFV, 1994.
- ZAPPI, D. C., TAYLOR, N. P., MACHADO, M. C. Cactaceae. In: FORZZA, R. C., BAUMGRATZ, F. A., BICUDO, C. E. M., CANHOS, D. A. L., CARVALHO, J. R. A. A., COSTA, A., COSTA, D. P., HOPKINS, M., LEITMAN, P. M., LOHM, A. N. N. L. G., NIC LU GHADHA, E., MAIA, L. C., MARTINELLI, G., MENEZES, M., MORIM, M. P., NADRUZ, C. M. A., PEIXOTO, A. L., PIRANI, J. R., RADO, J., QUEIROZ, L. P., SOUZA, S., SOUZA, V. C., STEHMANN, J. R., SYLVESTRE, L. S., WALTER, B. M. T., ZAPPI, D. C. (Eds.). **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. Rido de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.
- SANTOS, F. R., ORTEGA, J. M. **Bioinformática aplicada à Genômica. Melhoramento Genômico**. Minas Gerais: UFV, 2003.
- SCHLOTTERER, C., HAUSER, M.T., HUESLER, A., TAUTZ, D. Comparative evolutionary analysis of rDNA ITS regions in *Drosophila*. **Molecular Biology and Evolution**, v.11, n.3, p. 513-522, 1994.
- SCHUBERT, K., GROENEWALD, J. Z., BRAUN, U., DIJKSTERHUIS, J., STARINK, M.S., HILL, C.F., ZALAR, P., HOOG, G.S., CROUS, P.W. Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (*Davidiellaceae*, Capnodiales), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. **Studies in Mycolog**, v. 58, p. 105-156, 2007.

- SHI, M. M. Enabling large-scale pharmacogenetic studies by high-throughput mutation detection and genotyping technologies. **Clinical Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 164-172, 2001.
- STRINGARI, D. **Sistemática e diversidade genética de isolados de *Guignardia* spp. e *Phyllosticta* sp. nos estados do Paraná e São Paulo**. Tese de Doutorado. Curitiba-PR, 2009.
- TARKKA, M. T., VASARA, R., GORFER, M., RAUDASKOSKI, M. Molecular characterization of actin genes from homobasidiomycetes: Two different actin genes from *Schizophyllum commune* and *Suillus bovinus*. **Gene**, v. 251, p. 27–35, 2000.
- VIANA, G. V. R. **Técnicas para construção de árvores filogenéticas**. Tese de Doutorado. Fortaleza: UFCE, 2007.
- WIRSEL, S. G. R., RUNGE-FROBÖSE, C., AHRÉN, D. G., KEMEN. E., OLIVER, R.P., MENDGEN, K. W. Four or more species of *Cladosporium* sympatrically colonize *Phragmites australis*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 35, p. 99–113, 2002.
- ZHANG, A. W., RICCIONI, L., PEDERSEN, W. L., KOLLIPARA, K. P., HARTMAN, G. L. Molecular identification and phylogenetic grouping of *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* isolates from soybean. **Phytopathology**, v. 88, p. 1306 -1314, 1998.

Bezerra, J. D. P. – Fungos endofíticos em cactos...

**APÊNDICE A – *Diaporthe caatingaensis* J.D.P. BEZERRA, L.M. PAIVA, G.A. SILVA,  
C.M. SOUZA-MOTTA & CROUS, SP. NOV. (Persoonia 37: 270-271)**







Fungal Planet 491 – 21 December 2016

***Diaporthe caatingaensis*** J.D.P. Bezerra, L.M. Paiva, G.A. Silva, Souza-Motta & Crous, *sp. nov.*

**Etymology.** Name refers to the Caatinga, the Brazilian tropical dry forest where this fungus was isolated as endophyte from cacti species.

**Classification** — *Diaportheaceae*, *Diaporthales*, *Sordariomycetes*.

**Conidiomata** pycnidial, solitary or aggregated, dark brown to black, erumpent, globose to subglobose-conical, up to 465 µm diam, with long black neck (up to 510 µm tall) sometimes hairy at apex, conidial masses hyaline to pale at neck apex; medium brown thick-walled cells of *textura angularis*. **Conidiophores** hyaline, smooth, 3–5-septate, densely aggregated, cylindrical, straight to sinuous, sometimes branched, 30–37.5 × 2(–2.5) µm. **Conidiogenous cells** 16–23.5 × 1–2(–2.5) µm, phialidic, cylindrical, terminal, with slight periclinal thickening; distinct collarette at apex. **Paraphyses** not observed. **Alpha conidia** aseptate, hyaline, smooth, guttulate, fusoid-ellipsoid, tapering towards both ends, apex subobtuse to obtuse, base subtruncate to truncate, (6.5–)8.5–9.5(–10.5) × (1.5–)2(–2.5) µm. **Beta** and **gamma conidia** not observed.

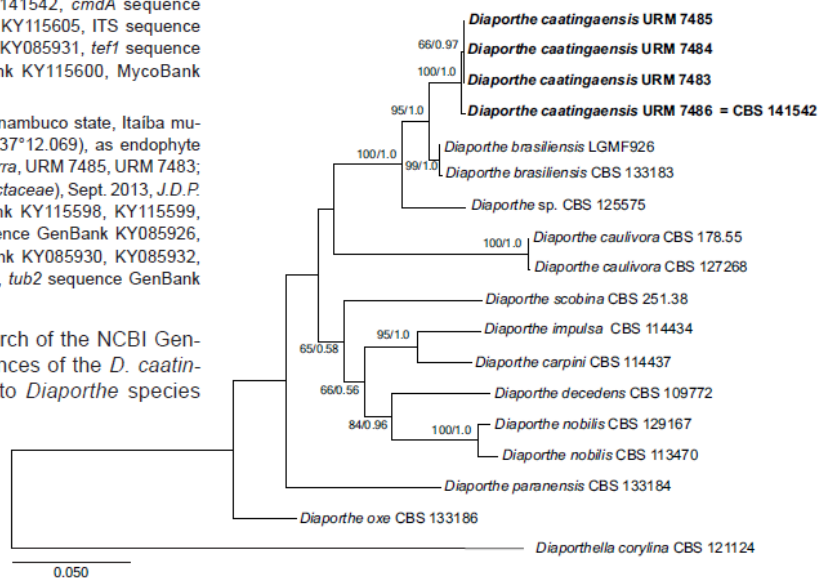
**Culture characteristics** — Colonies covering Petri dishes after 2 wk at 25 °C. On PDA, colonies with smooth margins, and fluffy aerial mycelium, surface and reverse dark grey to black. On MEA, surface dark grey to black and reverse amber to buff. On OA surface and reverse dark grey to black.

**Typus.** BRAZIL, Pernambuco state, Itaíba municipality, Curral Velho farm (S9°08.895 and W37°12.069), as endophyte from *Tacinga inamoena* (*Cactaceae*), Sept. 2013, J.D.P. Bezerra (holotype URM 90021, isotype CBS H-22862, culture ex-type URM 7486 = CBS 141542, *cmdA* sequence GenBank KY115597, *his3* sequence GenBank KY115605, ITS sequence GenBank KY085927, LSU sequence GenBank KY085931, *tef1* sequence GenBank KY115603, *tub2* sequence GenBank KY115600, MycoBank MB818928).

**Additional specimens examined.** BRAZIL, Pernambuco state, Itaíba municipality, Curral Velho farm (S9°08.895 and W37°12.069), as endophyte from *Tacinga inamoena*, Sept. 2013, J.D.P. Bezerra, URM 7485, URM 7483; from *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* (*Cactaceae*), Sept. 2013, J.D.P. Bezerra URM 7484 (*cmdA* sequence GenBank KY115598, KY115599, *his3* sequence GenBank KY115606, ITS sequence GenBank KY085926, KY085928, KY085925, LSU sequence GenBank KY085930, KY085932, KY085929, *tef1* sequence GenBank KY115604, *tub2* sequence GenBank KY115601, KY115602).

**Notes** — Based on a megablast search of the NCBI GenBank nucleotide database, LSU sequences of the *D. caatingaensis* has high identity (98–99 %) to *Diaporthe* species

(e.g. *D. ocoteae*; CBS 141330; GenBank KX228344.1). On ITS sequences, *D. caatingaensis* is 98 % (532/543) similar to *D. brasiliensis* (CBS 133183; GenBank NR\_111844.1), amongst others. Using *his3* sequences *D. caatingaensis* is 98 % (404/412) identical to *D. brasiliensis* (CBS 133183; GenBank KC343526.1), 96 % (396/411) to *Diaporthe* sp. (CBS 125575; GenBank KC343691.1) and has low identity to *Diaporthe* species (e.g. *D. paranensis*; CBS 133184; GenBank KC343655.1, 93% (377/405)). The *tub2* sequences are 97 % (687/708) similar to *D. brasiliensis* (CBS 133183; GenBank KC344010.1) and 95 % (667/701) to *Diaporthe* sp. (CBS 125575; GenBank KC343691.1) and has low identity to *D. oxe* (CBS 133186; GenBank KC344132.1, 93 % (418/450)). On *cmdA* sequences, *D. caatingaensis* is 96 % (483/501) similar to *D. brasiliensis* (CBS 133183; GenBank KC343284.1) and *Diaporthe* sp. (CBS 125575; GenBank KC343449.1). On *tef1* sequences *D. caatingaensis* has low identity to *D. brasiliensis* (CBS 133183; GenBank KC343768.1, 93 % (286/308)). Morphologically, *D. caatingaensis* is different from *D. brasiliensis* in the size of its pycnidia (up to 465 µm vs 70–160 µm diam in *D. brasiliensis*), pycnidial necks (up to 510 µm vs 60–130 µm tall in *D. brasiliensis*), conidiophores (30–37.5 × 2(–2.5) µm, 3–5-septate vs (17–)20–27(–30) × 2(–4) µm, 1–3-septate in *D. brasiliensis*, alpha conidia ((6.5–)8.5–9.5(–10.5) × (1.5–)2(–2.5) µm vs 6–7(–8) × 2–3 µm in *D. brasiliensis*) (Gomes et al. 2013).



Maximum likelihood tree obtained by phylogenetic analyses of the combined ITS rDNA, *cmdA*, *his3*, *tef1*, and *tub2* datasets. Bootstrap support values from Maximum Likelihood and Bayesian posterior probabilities, respectively, are indicated at the nodes. The new species is indicated in **bold** face. *Diaporthella corylina* (CBS 121124) was used as outgroup.

**Colour illustrations.** *Tacinga inamoena* in the Brazilian tropical dry forest (Caatinga); pycnidial conidiomata, conidiogenous cells and conidia. Scale bar = 10 µm.

Jadson D.P. Bezerra, Laura M. Paiva, Gladstone A. Silva & Cristina M. Souza-Motta, Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; e-mail: jadsdpb@gmail.com, mesquitapaiva@terra.com.br, gladstonesilva@yahoo.com & cristina.motta@ufpe.br Pedro W. Crous, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands; e-mail: p.crous@cbs.knaw.nl

**APÊNDICE B – Bezerromycetales AND Wiesneriomycetales ORD. NOV. (CLASS Dothideomycetes), WITH TWO NOVEL GENERA TO ACCOMMODATE ENDOPHYTIC FUNGI FROM BRAZILIAN CACTUS (Mycological Progress, 16 de dezembro de 2016)**

## Bezerromycetales and Wiesneriomycetales ord. nov. (class Dothideomycetes), with two novel genera to accommodate endophytic fungi from Brazilian cactus

Jadson D. P. Bezerra<sup>1,2</sup> · Rafael J. V. Oliveira<sup>1,2</sup> · Laura M. Paiva<sup>1</sup> · Gladstone A. Silva<sup>1,2</sup> · Johannes Z. Groenewald<sup>3</sup> · Pedro W. Crous<sup>3,4,5</sup> · Cristina M. Souza-Motta<sup>1,2</sup>

Received: 7 July 2016 / Revised: 28 November 2016 / Accepted: 30 November 2016  
© German Mycological Society and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

**Abstract** During a survey of endophytic fungi from the cactus *Tacinga inamoena* in a Brazilian tropical dry forest (Caatinga) some undescribed ascomycetous fungi were isolated. These fungi are characterized by superficial and immersed, globose to subglobose, smooth or hairy ascospores, bitunicate asci, and muriformly septate, ellipsoidal ascospores. Multigene phylogenetic analyses using sequences from partial ITS, SSU and LSU nrDNA and the translation elongation factor 1-alpha gene (*tefl*) demonstrated a monophyletic clade accommodating these

endophytic fungi in the class Dothideomycetes, closely related to the order Tubeufiales. Based on morphological features and phylogenetic analyses, these fungi could not be placed in the order Tubeufiales, in the new order Wiesneriomycetales, or any other known genus in the class Dothideomycetes. Thus, two new genera (*Bezerromyces*, with *B. brasiliensis* and *B. pernambucoensis*, and *Xiliomyces* with *X. brasiliensis*), a new family (*Bezerromycetaceae*) and a new order (*Bezerromycetales*) are introduced to accommodate these novel taxa. Our phylogenetic analyses also demonstrated that the clade accommodating *Wiesneriomycetaceae* represents a new order, here introduced as *Wiesneriomycetales*.

Section Editor: Gerhard Rambold

This article is part of the "Special Issue in honour of the 70th birthday of Dr. Eric McKenzie".

✉ Jadson D. P. Bezerra  
jadsondp@gmail.com

Cristina M. Souza-Motta  
cristina.motta@ufpe.br

<sup>1</sup> Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Centro de Biociências, Cidade Universitária, CEP: 50670-901 Recife, PE, Brazil

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos (PPG-BF), Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Centro de Biociências, Cidade Universitária, CEP: 50670-901 Recife, PE, Brazil

<sup>3</sup> CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, The Netherlands

<sup>4</sup> Department of Microbiology and Plant Pathology, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), University of Pretoria, P. Bag X20, Pretoria 0028, South Africa

<sup>5</sup> Microbiology, Department of Biology, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands

**Keywords** Endophytes · Fungal diversity · Multigene phylogeny · *Tacinga inamoena* · Taxonomy

### Introduction

Endophytes are enigmatic microorganisms that live in tissues of all plants without appearing to cause damage. These microorganisms can help their hosts by protecting them against temperature, stresses caused by drought and humidity, UV light, herbivores, and plant pathogenic organisms (Redman et al. 2002; Hubbard et al. 2014; Jia et al. 2016). Endophytes can stimulate the growth of plants via the production of phytohormones, promoting the germination and dispersal of seeds, and the biocontrol of pathogens (Porras-Alfaro and Bayman 2011; Vidal and Jaber 2015). These microorganisms can also be utilized for their biotechnological potential in the production of secondary metabolites, phytoremediation, and in the degradation of environmental pollution (Wang and Dai 2011; Chandra 2012; Santos et al. 2015). In addition to all environmental and biotechnological benefits, these microorganisms are extremely