



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

DEYSE VIANA DOS SANTOS

**MICROBIOTA ENDOFÍTICA FOLIAR EM ÁRVORES DE SOMBRA DE UM
PLANTIO DE CACAU (CABRUCÁ) NO SUL DA BAHIA**

Recife

2021

DEYSE VIANA DOS SANTOS

**MICROBIOTA ENDOFÍTICA FOLIAR EM ÁRVORES DE SOMBRA DE UM
PLANTIO DE CACAU (CABRUCO) NO SUL DA BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos. Área de concentração: Taxonomia e Ecologia de Fungos.

Orientador (a): Prof^o. Dr. José Luiz Bezerra

Coorientador (a): Dr. Rafael José Vilela de Oliveira

Recife

2021

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Santos, Deyse Viana dos

Micobiota endofítica foliar em árvores de sombra de um plantio de cacau (Cabruca) no sul da Bahia / Deyse Viana dos Santos – 2021.

63 f. : il., fig., tab.

Orientador: José Luiz Bezerra

Coorientador: Rafael José Vilela de Oliveira

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Fungos 2. Cacaueiro 3. Mata Atlântica I. Bezerra, José Luiz (orient.) II. Oliveira, Rafael José Vilela de (coorient.) III. Título

579.5

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-223

DEYSE VIANA DOS SANTOS

**MICROBIOTA ENDOFÍTICA FOLIAR EM ÁRVORES DE SOMBRA DE UM
PLANTIO DE CACAU (CABRUCO) NO SUL DA BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 26/05/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. José Luiz Bezerra (Orientador)
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^o. Dr. Gladstone Alves da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Rejane Maria Ferreira da Silva (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Alexandre Reis Machado (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra (Examinador Externo)
Universidade Federal de Goiás

A Deus e a minha família.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde e força durante minha vida e abençoar sempre meus caminhos;

À minha família, em especial aos meus pais, Schirley e Jessé, obrigada por sempre me apoiarem e acreditarem em mim, pelo cuidado diário e orações. A minha irmã Denise pelo carinho e cuidado;

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Luiz Bezerra obrigada pela confiança e ensinamentos transmitidos, mesmo a distância sempre se mostrou solícito ao que fosse preciso;

Ao meu coorientador, Dr. Rafael José Vilela de Oliveira agradeço pelos estímulos e contribuições neste trabalho, pela sua confiança e amizade;

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos pela oportunidade do meu crescimento profissional;

Aos membros da banca examinadora pelas sugestões e contribuições para este trabalho;

Aos amigos e colegas do Laboratório I, em especial ao grupo de endofíticos pelo companheirismo, momentos divertidos e agradáveis durante este período;

À Universidade Estadual de Santa Cruz pela autorização das coletas;

Ao CNPq pela bolsa de estudos;

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para finalização deste trabalho, agradeço!

RESUMO

Os fungos endofíticos são micro-organismos encontrados no interior de tecidos vegetais de modo assintomático, estudados em uma grande variedade de plantas de interesse econômico. No sul da Bahia em sistema agroflorestal, o cacau (*Theobroma cacao* L.) é cultivado sob a sombra de espécies arbóreas nativas de Mata Atlântica após o raleamento do sub-bosque da floresta, no entanto, os agricultores veem substituindo as árvores sombreadoras nativas por espécies exóticas de valor econômico. Além disso trabalhos sobre a comunidade dos fungos endofíticos em agroflorestas no mundo são escassos. Este estudo teve por objetivo conhecer a comunidade de fungos endofíticos em folhas saudáveis de *Cariniana legalis*, *Paubrasilia echinata* e *Guarea macrophylla* presentes em sistema agroflorestal de cultivo de cacau (cabruca) na Bahia. As folhas foram lavadas em água corrente e detergente neutro e posteriormente fragmentadas em discos foliares (6 mm de diâmetro) e submetidas à desinfestação superficial com álcool 70% (30 s), hipoclorito de sódio 3% (NaOCl) (2 min e 30 s), novamente com álcool 70% (30 s) e a seguir lavadas com água destilada esterilizada. Os discos foram transferidos para placas de Petri contendo (Malte-Dextrose-Ágar) mais cloranfenicol (50 mg L⁻¹). A análise morfológica foi realizada através de literatura especializada, posteriormente foi realizado o sequenciamento dos genes ITS (*Internal Transcribed Spacer*), TUB2 (β -tubulina) e GAPDH (Gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase) e análises filogenéticas para confirmação das espécies. Foram obtidos 662 isolados fúngicos distribuídos em 21 gêneros e 43 espécies, principalmente encontrados no filo Ascomycota. *Colletotrichum* representou o gênero com maior número de isolados, enquanto *Diaporthe* apresentou o maior número de espécies, sendo *C. siamense* (15,86%) a espécie mais frequente. Alguns isolados obtiveram baixas similaridades quando comparadas com outras sequências recuperadas do GenBank. Além disso, este é o primeiro relato de *N. lacticolonia* para a região Neotropical isolada de folhas saudáveis de *Guarea macrophylla*. Ressaltamos a importância de mais estudos sobre a comunidade de fungos endofíticos em sistemas agroflorestais no mundo.

Palavras-chave: Fungos endofíticos; Mata Atlântica; Sistema agroflorestal; Taxonomia.

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms found inside plant tissues asymptotically, studied in a wide variety of plants of economic interest. In the south of Bahia in the agroforestry system, cocoa (*Theobroma cacao* L.) is grown under the shade of native tree species from the Atlantic Forest after the grating of the forest understory, however, farmers see the replacement of native shade trees by exotic species of economic value. Also, work on the endophytic fungi community in agroforests in the world is scarce. The present study aimed to meet the community of endophytic fungi in healthy leaves of *Cariniana legalis*, *Paubrasilia echinata* and *Guarea macrophylla* present in an agroforestry system of cultivation of cocoa (cabruca) in Bahia. The leaves were washed in running water and neutral detergent and later fragmented into leaf discs (6 mm in diameter) and subjected to surface disinfestation with 70 % alcohol (30 s), 3 % sodium hypochlorite (NaOCl) (2 min and 30 s), again with 70% alcohol (30 s), and then washed with sterile distilled water. The discs were transferred to Petri dishes containing Malto-Dextrose Agar (MEA) plus chloramphenicol (50 mg L⁻¹). The morphological analysis was carried out through specialized literature, afterwards the sequencing of the ITS (*Internal Transcribed Spacer*), TUB2 (β -tubulin) and GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase) genes and phylogenetic analyzes to confirm the species were performed. We obtained 662 fungal isolates distributed in 21 genera and 43 species, mainly found in the phylum Ascomycota. *Colletotrichum* represented the group with the highest number of isolates, while *Diaporthe* presented the highest number of species, being *C. siamense* (15.86%) the most frequent species. Some isolates obtained low similarities when compared to other sequences recovered from GenBank. In addition, this is the first report of *N. lacticolonina* in the Neotropical region isolated from healthy leaves of *Guarea macrophylla*. We emphasize the importance of further studies on the community of endophytic fungi in agroforestry systems worldwide.

Keywords: Cabruca. Endophytic fungi; Atlantic Forest; Agroforestry system; Taxonomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Diagrama de Venn indicando o número de espécies comuns entre *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*.....32
- Figura 2 – Similaridade de fungos endofíticos isolados de folhas de *Paubrasilia echinata* (PB), *Guarea macrophylla* (LR) e *Cariniana legalis* (JT).....33
- Figura 3 – Árvore filogenética construída usando a região ITS do rDNA mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*. *Urocystis piptatheri* (PUP Bot. 202) e PB 233 (neste estudo) foram utilizados como grupo externo (Basidiomycota).....35
- Figura 4 – Árvore filogenética de *Diaporthe* construída usando o gene β -tubulina, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*. *Diaporthe corylina* (CBS 121124) foi usada como grupo externo. Os valores de suporte foram obtidos a partir da análise Bayesiana.....36
- Figura 5 – Árvore filogenética de *Colletotrichum* construída usando o gene GAPDH, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*. *Monilochaetes infuscans* (CBS 869.96) foi usada como grupo externo. Os valores de suporte foram obtidos a partir da análise Bayesiana.....37
- Gráfico 1 - Distribuição dos fungos endofíticos nos três hospedeiros estudados (*Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*).....31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Fungos endofíticos isolados em árvores de Mata Atlântica.....	16
Tabela 2 –	Cultivos de cacau em sistemas agroflorestais no mundo.....	18
Tabela 3 –	Principais fungos patogênicos ao cacaueiro.....	20
Tabela 4 –	Fungos endofíticos obtidos de folhas de <i>Cariniana legalis</i> (JT), <i>Guarea macrophylla</i> (LR) e <i>Paubrasilia echinata</i> (PB), com respectivo número de isolados, frequência relativa (Fr), ordens, número de acesso ao GenBank e percentual de identidade.....	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS	13
2.1.1 Importância dos fungos endofíticos	14
2.1.2 Fungos endofíticos no Brasil	15
2.1.3 Fungos endofíticos em Sistemas Agroflorestais	17
2.2 SISTEMA AGROFLORESTAL CABRUCÁ	17
2.2.1 <i>Theobroma cacao</i> L.	19
2.3 MATA ATLÂNTICA	21
2.3.1 <i>Cariniana legalis</i>	22
2.3.2 <i>Paubrasilia echinata</i>	22
2.3.3 <i>Guarea macrophylla</i>	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 ÁREA DE COLETA	25
3.2 COLETA DO MATERIAL	25
3.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	25
3.4 EXTRAÇÃO DE DNA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	26
3.5 AMPLIFICAÇÃO, PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO DNA	26
3.6 ANÁLISES FILOGENÉTICAS	27
3.7 ANÁLISE DA COMUNIDADE DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	27
4 RESULTADOS	28
4.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS	28
4.2 COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS PRESENTES NAS ESPÉCIES VEGETAIS	31
4.3 ANÁLISE DO ÍNDICE DE SIMILARIDADE DE SORENSEN	33
4.4 ANÁLISE FILOGENÉTICA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	33
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

Os fungos endofíticos são micro-organismos que habitam o interior dos vegetais, não causando sintomas ou prejuízos aparentes (DUTTA et al., 2014). O fungo e o hospedeiro estabelecem uma relação no qual o endófito promove o crescimento da planta (YOU et al., 2012; KHAN et al., 2015) contribuindo na tolerância a ambientes estressantes (GIAUQUE et al., 2019). Além disso, algumas espécies podem ser utilizadas no controle biológico de pragas e doenças de interesse econômico (POLLI et al., 2012).

O estudo da diversidade de fungos endofíticos tem sido cada vez mais frequente e a região Nordeste do Brasil tem se destacado como fonte de novos táxons. É o caso de recentes relatos como de Silva et al. (2019a), no qual *Diaporthe myracrodruonis* foi isolada em folhas de *Myracrodruon urundeuva*, enquanto Bezerra et al. (2019a) reportaram *Pseudoplagiostoma myracrodruonis* no mesmo hospedeiro, em um fragmento de Mata Atlântica. Ainda, Silva et al. (2019b) descreveram um novo gênero em Magnaporthaceae a partir de folhas de *Sorghum bicolor*. Na Caatinga, Bezerra et al. (2017), propuseram novos gêneros, *Bezerromyces* e *Xiliomyces*. Em folhas de *Cocos nucifera* e *Vitis labrusca* Oliveira et al. (2014a) registraram novas espécies de *Cladosporium*. Além disso, *Phaeosphaeria nodulispota* foi descrita como uma nova espécie pertencente a Coelomycetes (OLIVEIRA et al. 2016).

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é um fruto que pertence à família Malvaceae, nativo da região Amazônica (LORENZI, 2006). O cacauzeiro é uma árvore de pequeno porte de clima tropical (COLLI-SILVA, 2020), é uma espécie de alto valor comercial sendo o Brasil o sétimo produtor mundial de acordo com a *International Cocoa Organization* (2020), no qual Bahia e Pará são considerados os principais produtores (IBGE, 2019). No século XX, o cacau era a principal fonte econômica do Sudeste da Bahia, no entanto, a produção foi devastada em 1989 com o surgimento de uma doença, conhecida como vassoura-de-bruxa, causada pelo basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa* que afetou diretamente o cultivo (SANCHES, 2019).

Sistemas agroflorestais utilizam o uso ou manejo da terra no qual plantas lenhosas são cultivadas com espécies herbáceas ou animais, a fim de proporcionar benefícios ecológicos e econômicos (MACEDO, 2000). O sistema agroflorestal cabruca é um cultivo que consiste na plantação de mudas de cacau à sombra das árvores nativas de Mata Atlântica, após esta ter sido submetida a um raleamento de seu sub-bosque (OLIVEIRA et al., 2011). É considerado um dos principais modos de cultivo sustentável, pois além de ser favorável e adequado conserva os recursos naturais (SETENTA, 2003), importante para conservação dos remanescentes de Mata Atlântica no sul da Bahia.

A Mata Atlântica é um dos grandes *hotspots* de biodiversidade por apresentar um grande reservatório de espécies endêmicas e raras (SILVA, 2019). Segundo dados da SOS Mata Atlântica de sua floresta original restam apenas 12,4%, sendo o sul da Bahia uma região que apresenta alto nível de espécies endêmicas concentradas nos remanescentes de Mata Atlântica existentes (SOUZA, 2018; SILVA, 2019).

Os fungos endofíticos que ocorrem em plantas de florestas tropicais apresentam alta diversidade (ASSUNÇÃO, 2010; BANERJEE, 2011; CORREIA et al., 2018; FERREIRA et al., 2020), outros estudos corroboram esta evidência (ARNOLD et al., 2000; CANNON; SIMMONS, 2002), no qual os gêneros *Cladosporium*, *Xylaria*, *Colletotrichum* e *Diaporthe* estão entre os mais frequentes endófitos fúngicos encontrados em florestas tropicais (SURYANARAYANAN et al., 2002).

Diante da crise econômica, os agricultores têm substituído as árvores sombreadoras nativas por árvores exóticas que geram maior lucro (SAMBUICHI, 2006). De acordo com Silva (2019), são poucos os estudos taxonômicos de fungos em sistema agroflorestal cabruca, região que apresenta grande relevância para os remanescentes de Mata Atlântica no sul da Bahia. Os estudos sobre a comunidade de fungos endofíticos em árvores florestais podem proporcionar melhor compreensão para o uso destes endófitos no biocontrole de pragas e doenças, bem como o desempenho do ecossistema florestal. Dado o exposto, o objetivo do trabalho foi conhecer a comunidade de fungos endofíticos em folhas saudáveis de *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*, presentes em remanescentes de Mata Atlântica em uma área de cultivo de cacau (cabruca) no sul da Bahia, Brasil.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS

A palavra “endófito” foi introduzida pela primeira vez pelo alemão De Bary em 1866, derivada do grego (*éndon*= dentro + *phytón*= planta) atribuída a micro-organismos que habitam o interior de tecidos vegetais (AZEVEDO, 2000). Segundo Carroll (1986), endófitos são micro-organismos que infectam os tecidos vegetais de forma assintomática. Após novas descobertas, Petrini (1991) ampliou o termo endófito, propondo que são micro-organismos que em parte do seu ciclo de vida habitam em tecidos vegetais sem causar prejuízos ao hospedeiro.

Fungos endofíticos são descritos como micro-organismos que habitam o interior do tecido dos vegetais, que crescem ou não em meios de cultura, e não causam danos aparentes ou prejuízos aos seus hospedeiros (HYDE; SOYTONG 2008; DUTTA et al., 2014). Krings e colaboradores (2007) associaram que a relação entre endófitos fúngicos e plantas ocorre há mais de 400 milhões de anos. Estudos tem relatado a ocorrência desses fungos em uma enorme variedade de plantas em diferentes partes do tecido vegetal (PIRTTILÄ et al., 2008; ZHENG et al., 2016; POTSHANGBAM et al., 2017; GODINHO et al., 2019; FERREIRA et al., 2020; SILVA et al., 2019; CHAUHAN et al., 2019) no qual das 300.000 espécies de plantas existentes no planeta, cada uma possa abrigar mais de uma espécie de fungos endofíticos (SMITH et al., 2008).

A transmissão do fungo endofítico geralmente ocorre horizontalmente, dando-se a penetração no hospedeiro por meio de aberturas naturais das plantas como estômatos e hidatódios. No entanto, a transmissão também pode ocorrer verticalmente através de feridas presentes nas raízes (devido ao seu crescimento) além das sementes (AZEVEDO et al., 1998; ASSUNÇÃO, 2010). Endófitos de vários grupos de fungos podem infectar hospedeiros de todas as idades (GAUTAM; AVASTHI, 2019), a maioria dos endófitos fúngicos estão presentes no filo Ascomycota, sendo também encontrado táxons em Basidiomycota, Zygomycota e Oomycota (YU et al., 2014; ALEIXO, 2013; RAJAMANIKYAM et al., 2017). De acordo com Nair e Padmathy (2014), os gêneros comumente isolados são: *Phomopsis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Acremonium* e *Phyllosticta*.

A região ITS do rDNA é altamente conservada e amplamente sequenciada, utilizada como o código de barras universal para os fungos (SCHOCH et al., 2012; VIEIRA et al., 2020), no entanto, é ineficaz para a identificação de certos grupos de fungos a nível de espécie (KISS, 2012). A identificação precisa de espécies de *Colletotrichum*, assim como outros gêneros, só é possível mediante a utilização de marcadores específicos, entre estes GAPDH é ideal, visto que há muitos dados disponíveis para muitas espécies de *Colletotrichum* (VIEIRA et al., 2020). Por outro lado, o

gene β -tubulina representa um marcador útil para identificação de *Diaporthe*, todavia, a análise genética combinada fornece uma base vigorosa em todo o gênero (UDAYANGA et al., 2012).

Os fungos endofíticos podem ser divididos em dois grupos: os clavicipitáceos ou endófitos C (aqueles que infectam ervas) e os não-clavicipitáceos ou endófitos NC (encontrados assintomaticamente em plantas não vasculares, samambaias e angiospermas). Os critérios simbióticos utilizados para caracterizar esses dois grupos incluem as relações evolutivas e taxonômicas, as plantas hospedeiras e as funções ecológicas. Os endófitos NC são amplamente mais diversos, divididos em três classes baseadas nos mecanismos de transmissão, colonização do hospedeiro, diferentes taxas de biodiversidade e relações ecológicas, esses são os fungos endofíticos encontrados principalmente no filo Ascomycota (RODRIGUEZ et al., 2009). Ainda pouco compreendida, a relação entre endófito e hospedeiro pode ser neutra, simbiótica ou antagônica (SOUZA et al., 2004). Conforme Schulz et al. (2015), a relação endófito-hospedeiro é assintomática quando há equilíbrio da proteção do hospedeiro e a capacidade de virulência do endófito, além da harmonização entre bactérias e outros fungos presentes na planta.

2.1.1 Importância dos fungos endofíticos

Os fungos endofíticos produzem metabólitos secundários que atuam na promoção do crescimento das plantas (ZHANG et al., 2006; BARELLI et al., 2016; FADIJI; BALALOBA, 2020), tolerância a ambientes estressantes (MARINA et al., 2011; JIA et al., 2016) e proteção contra doenças (VEGA et al., 2008). O estudo de Jaber e Enkerli (2016), ressalta a promoção do crescimento de *Vicia faba*, através do inóculo de sementes com *Metarhizium brunneum* e *Beauveria bassiana*. Assim como Khan et al. (2012), que constataram o maior crescimento da parte aérea de *Capsicum annuum* em sementes colonizadas pelo endófito *Chaetomium globosum*. Além de atuar na captação de ferro a através da produção de sideróforos, os endófitos fúngicos também atuam na fixação do nitrogênio e na produção de fito-hormônios (KOZYROVSKA et al., 1996; STOLTZFUS et al., 1997; VESSEY et al., 2003; SANDHIYA et al., 2005; HOFFMAN et al., 2013; AAMIR, 2020).

Os fungos endofíticos veem sendo estudados como agentes efetivos no controle biológico de insetos (AMATUZZI et al., 2018; BRANINE et al., 2019; SAAD et al., 2019), nematoides (SCHOUTEN, 2016; ROGERS et al., 2016) e fungos patogênicos (HALLMANN; SIKORA, 1996; PARSA et al., 2013; BAMISILE et al., 2018). A atuação do endófito ocorre através de mecanismos diretos por meio de competição, antibiose e micoparasitismo (LI et al., 2004; RIVERA-VARAS et al., 2007; AMORIM et al., 2019; GAUTAM; AVASTHI, 2019). A facilidade do fungo endofítico em colonizar o hospedeiro é uma das vantagens de utilizar o método biológico (NAIR; PADMATHY, 2014). Ainda, são capazes de sintetizar compostos bioativos que a planta utiliza para sua defesa contra

patógenos (LU et al., 2000; AMATUZZI et al., 2018). Ting et al. (2010), relataram a habilidade dos endófitos fúngicos em inibir o crescimento do patógeno *Fusarium oxysporum* através de metabólitos voláteis.

Diversos fungos endofíticos já foram estudados pela sua capacidade promissora em sintetizar enzimas utilizadas na área farmacêutica, industrial e na alimentação (TOMITA, 2003; NAIR; PADMATHY, 2014; COSTA, 2016; DANTAS, 2017; DABAJA et al., 2019). Sousa (2017), revisou alguns estudos sobre enzimas lignocelulolíticas produzidas por fungos endofíticos como celulases, amilases, proteases, pectinases, quitinases e lacases provenientes de diferentes hospedeiros botânicos. De acordo com Robl et al. (2013), foi relatada a produção de enzimas hidrolíticas, a partir de *Aspergillus niger*, *Trichoderma atroviride*, *Talaromyces wortmannii* e *Alternaria* sp. usadas para decompor a biomassa da cana-de-açúcar utilizada na indústria.

A produção de metabólitos secundários a partir dos fungos endofíticos é estudada pela sua potencialidade em atividades antivirais, anticancerígenas, antioxidantes e antimicrobianas. Em determinado estudo, foram selecionados alguns endófitos, *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus fumigatus*, *A. nidulans* e *F. oxysporum* que produziram metabólitos secundários como flavonoides, vincristina e vimblastina (SILVA, 2014).

Os compostos derivados de fungos endofíticos têm importância na produção de novos antibióticos contra bactérias resistentes (SUDHA et al., 2016). O estudo de Liang et al. (2012), demonstrou a atividade antibacteriana de fungos endofíticos isolados de *Ophiopogon japonicus*, a partir de extratos miceliais, constatando-se a inibição em 80% de *Staphylococcus aureus* e 70% para *Cryptococcus neoformans*, comprovando a potencialidade dos endófitos fúngicos como agentes antibacterianos. Além de efeitos contra bactérias, os endófitos também são estudados como agentes potenciais antifúngicos (TIAN et al., 2004; LI et al., 2016). Na área biotecnológica Pamphile et al. (2017), demonstraram a atividade de endófitos de *Colletotrichum* na produção de metabólitos secundários importantes em processos industriais.

Os fungos endofíticos presentes em plantas de importância medicinais são frequentemente estudados (SIQUEIRA et al., 2011; WANG et al., 2012; GOUDA et al., 2016). *Taxomyces andreanae*, um fungo endofítico isolado do floema de *Taxus brevifolia* capaz de produzir o taxol utilizado no tratamento contra o câncer (STIERLE et al., 1993). Este composto foi também isolado a partir de *Lasiodiplodia theobromae* encontrado em *Morinda citrifolia* por Pandi et al. (2011). A produção de taxol também já foi relatada em outros gêneros endofíticos, como *Pestalotiopsis*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Monochaetia* e *Pithomyces* (STROBEL et al., 1996).

2.1.2 Fungos endofíticos no Brasil

O Brasil abriga grande riqueza de árvores com cerca de 8.000 espécies, representando 14% do encontrado no mundo, como também apresenta o maior número de árvores endêmicas, com 4.333 espécies (BEECH et al., 2017). Os fungos endofíticos já foram estudados em diversas espécies de plantas de interesse econômico no Brasil, a exemplo do cacau (MAKI, 2006; MOREIRA, 2014), sorgo (SILVA, 2016), coco (OLIVEIRA, 2016), soja (FERNANDES, 2015), acerola (NASCIMENTO, 2014), melancia (ISHIZAWA, 2017), banana (ASSUNÇÃO, 2010), feijão (RODRIGUES; MENEZES, 2002) e cana-de-açúcar (STUART, 2006). Dentre os gêneros frequentemente isolados de plantas podem ser citados: *Fusarium*, *Diaporthe*, *Colletotrichum*, *Phyllosticta*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Pestalotiopsis* e *Penicillium* no qual os estudos concentram-se nas áreas de taxonomia, ecologia e biotecnologia (BEZERRA et al., 2019b).

Novos táxons de endófitos fúngicos têm sido frequentemente descritos, *Pseudoplagiostoma myracrodruonis*, foi isolada em folhas de *Myracrodruon urundeuva* (BEZERRA et al., 2019a). Além disso, o estudo de Silva et al. (2019b) descreveu um novo gênero em Magnaporthaceae, a partir de folhas de *Sorghum bicolor*. Bezerra et al. (2017), reportaram novas espécies na Caatinga, *Bezerromyces brasiliensis*, *B. pernambucoensis* e *Xiliomyces brasiliensis*.

De acordo com Maia et al. (2015), o estudo dos fungos está concentrado em áreas de Mata Atlântica no Brasil, onde já foram registradas pouco mais de 3.000 espécies fúngicas no bioma, sendo a região Nordeste a mais representativa. As florestas tropicais apresentam alta diversidade de endófitos fúngicos (ARNOLD et al., 2000; CANNON; SIMMONS, 2002; ASSUNÇÃO, 2010; CORREIA et al., 2018; FERREIRA et al., 2020), sendo a Mata Atlântica uma região de diversos estudos (Tabela 1), onde tem sido representativa no relato de novas espécies, além de contribuir para a biodiversidade global dos fungos (BEZERRA et al., 2019b). Segundo Suryanarayanan et al. (2002), *Cladosporium cladosporioides*, *Corynespora cassiicola*, *L. theobromae*, *Pestalotiopsis* spp., *Phomopsis* spp., *Phyllosticta* sp., *Sporormiella intermedia* e *Xylaria* spp. foram as espécies mais frequentemente isoladas de árvores localizadas em diferentes tipos de florestas tropicais.

Tabela 1- Fungos endofíticos isolados em árvores de Mata Atlântica.

Hospedeiros	Fungos endofíticos	Referências
<i>Cariniana legalis</i>	<i>Cladosporium dominicanum</i> , <i>Gonatobotryum</i> sp. e <i>Xylaria</i> sp.	SOUZA, 2018
<i>Indigofera suffruticosa</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> , <i>Pseudocochliobolus pallescens</i> , <i>Phomopsis archeri</i> , <i>Pestalotiopsis maculans</i> e <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	SANTOS et al., 2015
<i>Euterpe oleracea</i> , <i>Euterpe guineenses</i> , <i>Bactris acanthocarpa</i> , <i>Euterpe edulis</i> , <i>Bactris ferruginea</i>	<i>Anthostomella</i> , <i>Astrocystis</i> , <i>Astrosphaeriella</i> , <i>Asymmetricospora</i> , <i>Endocalyx</i> , <i>Fasciatispora</i> , <i>Meliola</i> , <i>Linocarpon</i> e <i>Phyllachora</i>	VITÓRIA, 2012

<i>Euterpe edulis</i> , <i>Cecropia glaziovii</i> , <i>Guapira opposita</i> , <i>Bathysa australis</i> , <i>Mollinedia schottiana</i> , <i>Coussarea</i> sp. e <i>Myrcia spectabilis</i>	<i>Alternaria</i> , <i>Ascochyta</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Nigrospora</i> e <i>Microdiplodia</i>	BONFIM et al., 2016
<i>Begonia fischeri</i> , <i>Begonia olsoniae</i> e <i>Begonia venosa</i> .	<i>Colletotrichum</i> , <i>Diaporthe</i> , <i>Phyllosticta</i> , <i>Neopestalotiopsis</i> , <i>Stagonospora</i> e <i>Nigrospora</i>	CORREIA et al., 2018
<i>Hadrolaelia jongheana</i> , <i>Hoffmannseggella caulescens</i> e <i>Hoffmannseggella cinnabarina</i>	<i>Helotiales</i> , <i>Capnodiales</i> e <i>Sordariales</i>	OLIVEIRA et al., 2013
<i>Carapichea ipecacuanha</i>	<i>Colletotrichum</i> , <i>Ceratobasidium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Diaporthe</i> , <i>Pochonia</i> , <i>Calonectria</i> e <i>Xylaria</i>	FERREIRA et al., 2020
<i>Caesalpinia echinata</i>	<i>Botryosphaeria rhodina</i> , <i>Xylaria multiplex</i> e <i>Pestalotiopsis</i> sp.	MACHADO, 2009
<i>Guapira nitida</i> e <i>Nectandra</i> sp.	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Neopestalotiopsis</i> sp., <i>Entonaema pallida</i> , <i>Phyllosticta capitalensis</i> , <i>Annulohypoxylon stygium</i> e <i>Ophioceras</i> sp.	MELO, 2019

Fonte: Deyse Viana (2021).

2.1.3 Fungos endofíticos em Sistemas Agroflorestais

Ainda são poucos os estudos sobre a comunidade de fungos endofíticos em sistemas agroflorestais com foco na diversidade e riqueza desses fungos em diferentes localizações e tipos de manejo nos SAFs. De acordo com Chauhan et al. (2019), em folhas de *Ensete ventricosum* a localização geográfica influenciou a diversidade e distribuição dos endófitos em três diferentes áreas de sistema agroflorestal Enset, no sul da Etiópia. Segundo Wemheuer et al. (2020), a diversidade e riqueza de endófitos podem ser influenciadas pelo tipo de agrofloresta e de práticas de manejo adotadas em plantações de *Theobroma cacao*, na Região Central de Camarões.

2.2 SISTEMA AGROFLORESTAL CABRUCÁ

As implementações de novas práticas sustentáveis e a conservação das florestas foram os principais fatores responsáveis para a criação de sistemas agroflorestais no século XX, cujas interações ecológicas têm garantido o sucesso do sistema (ATANGANA et al., 2014). Sistemas agroflorestais (SAFs) ou Agroflorestas utilizam um manejo da terra onde plantas lenhosas são cultivadas com espécies herbáceas ou animais, a fim de proporcionar benefícios ecológicos e econômicos (MACEDO, 2000). Essa associação garante a disponibilidade de nutrientes no solo e o melhoramento do microclima. Dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.), coco (*Cocos nucifera* L.), caju

(*Anacardium occidentale* L.), café robusta (*Coffea canephora* Pierre) e pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) são algumas culturas cultivadas em sistemas agroflorestais no mundo (ATANGANA et al., 2014). No Brasil, esses sistemas são importantes em áreas agrícolas (RIBASKI et al., 2001) que também podem ser utilizados como alternativa à monocultura sendo capaz de manter a fertilidade do solo (RESCK et al., 1996).

O sistema agroflorestal cabruca consiste no cultivo de cacau (*Theobroma cacao* L.) no sul da Bahia, no qual as mudas são plantadas à sombra das árvores nativas da Mata Atlântica, após esta ter sido submetida a um raleamento de seu sub-bosque (SAMBUICHI, 2006; OLIVEIRA et al., 2011).

O cacau é cultivado à sombra de árvores em diversas regiões no mundo (Tabela 2) (RUF; SCHROTH, 2004). Na Bahia o cultivo de cacau em sistema agroflorestal teve início nas primeiras décadas de 1900 sendo a palavra cabruca (usada localmente) derivada de “cabrocar” que significa retirar parte da vegetação arbórea. O sistema de sombreamento do cacau é um importante método para conservar parte das árvores da Mata Atlântica na Bahia (PIASENTIN; SAITO, 2014) onde se localizam os principais remanescentes deste bioma no Nordeste brasileiro (PIASENTIN et al., 2014).

Tabela 2- Cultivos de cacau em sistemas agroflorestais no mundo.

Localização	Árvores de sombra	Referências
Gana	<i>Terminalia superba</i> , <i>Terminalia ivorensis</i> , <i>Newbouldia laevis</i> , <i>Milicia excelsa</i> , <i>Persea americana</i> , <i>Ficus exasperata</i>	RICHARD E RÆBILD, 2016
Indonésia	<i>Aleurites moluccana</i> , <i>Cocos nucifera</i> , <i>Gliricidia sepium</i>	TIRALLA et al., 2013
Camarões	<i>Elaeis guineenses</i> , <i>Dacryodes edulis</i> , <i>Persea americana</i> , <i>Ficus exasperata</i> , <i>Terminalia superba</i> , <i>Albizia adianthifolia</i>	SONWA et al., 2007
Costa do Marfim	<i>Persea americana</i> , <i>Citrus sinensis</i> , <i>Cola nítida</i> , <i>Mangifera indica</i> , <i>Cocos nucifera</i> , <i>Ficus exasperata</i>	DUMONT et al., 2014
Brasil	<i>Spondias lutea</i> , <i>Pithecelobium polycephalum</i> , <i>Cedrela odorata</i> , <i>Inga affinis</i> , <i>Nectranda</i> sp., <i>Erythrina</i> spp.	SAMBUICHI, 2002
República Dominicana	<i>Erythrina poeppigiana</i> , <i>Gliricidia sepium</i> , <i>Citrus aurantium</i> , <i>Persea americana</i> , <i>Roystonea hispaniolana</i>	NOTARO et al., 2020

Fonte: Deyse Viana (2021).

O sistema agroflorestal cabruca é considerado menos danoso comparado ao sistema de derruba total da mata, além de gerar benefícios econômicos e atuar na conservação dos recursos naturais como nascentes de água, manter a fertilidade do solo, servir como corredor para o fluxo de espécies através dos fragmentos florestais, conservar os exemplares arbóreos e dar abrigo para animais (LOBÃO et al., 2004). Também é responsável pelo sequestro de carbono, de acordo com

Gama-Rodrigues et al. (2010), onde o estoque de carbono no solo foi considerado significativamente maior comparado a outros dois sistemas de uso da terra. A arborização protege o cacauzeiro contra ventos fortes e contribui para menor incidência de doenças (PIASENTIN et al., 2014) e pragas, além de aumentar a longevidade do cacauzeiro e conservar certas características da floresta primária (RUF; SCHROTH, 2004). O sombreamento do cacauzeiro é necessário principalmente pela proteção contra os raios solares (SENAR, 2018).

Muitas espécies presentes em áreas de cabruças são endêmicas da região cacauzeira da Bahia e outras são consideradas raras, como é o caso de *Andreadoxa flava* (KALLUNKI, 1998) com um único exemplar conhecido e situado em área de cacau cabruca (SAMBUICHI et al. 2009). Em um estudo de revisão Cassano e colaboradores (2009), concluíram que os remanescentes de Mata Atlântica adjacentes às áreas de cabruca são mais ricas em espécies do que áreas situadas no entorno de plantios de cacau onde a floresta original foi eliminada. Sambuichi e Haridasan (2007), encontraram um número expressivo de 293 espécies de árvores em cinco áreas de cacau cabruca na Bahia.

O estudo de Piasentin et al. (2014), catalogou a preferência dos agricultores por 45 árvores sombreadoras de cacau cuja maioria é de espécies nativas: o jequitibá (*Cariniana legalis* Mart. Kuntze), cedro (*Cedrela fissilis* Vell.), vinhático (*Plathymenia foliolosa* Benth.), cajazeira (*Spondias mombin* L.), eritrina (*Erythrina* spp.), jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), louro-sabão (*Nectandra* sp.), pau-brasil (*Paubrasilia echinata* Gagnon & Lewis), pau d'arco (*Tabebuia* sp.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.), putumuju (*Centrolobium robustum* Vell.), jacarandá (*Dalbergia nigra* Vell.), jenipapo (*Genipa americana* L.), sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.), pequi (*Caryocar edule* Casar.) e gindiba (*Sloanea obtusifolia* Moric. Schum).

O cultivo de cacau em sistema agroflorestal é visto pelos conservacionistas como uma forma de garantir renda dos agricultores, além de conservar a beleza e a biodiversidade de florestas tropicais, garantindo em muitas regiões o retardamento do desmatamento (RUF; SCHROTH, 2004).

Devido ao manejo de produtividade do cacau, quando ocorre a substituição das árvores sombreadoras, os agricultores optam pelas árvores exóticas por não disporem de mudas de árvores nativas, dando preferência aquelas de rápido crescimento e de maior valor econômico (SAMBUICHI et al., 2006). Árvores exóticas como abacate (*Persea americana* Mill.), pinha (*Annona squamosa* L.), limão (*Citrus limonum* Risso) e jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) são usadas no sombreamento do cacau para consumo de seus frutos em detrimento de espécies nativas, muitas delas empregadas na medicina popular (SAMBUICHI et al., 2009).

2.2.1 *Theobroma cacao* L.

O cacauero (*Theobroma cacao* L.) é árvore pertencente à família Malvaceae, originária da região Amazônica, capaz de atingir 5 a 8 metros de altura podendo haver variações fenotípicas devido as características ambientais (SENAR, 2018). É uma árvore de raiz pivotante cujo comprimento varia de acordo com as características do solo. Quando jovem seus galhos são lisos e posteriormente tornam-se ásperos (LORENZI, 2006). A floração e a maturação dos frutos ocorrem geralmente duas vezes ao ano (LEITE, 2000).

Há diferentes versões sobre a introdução do cultivo de cacau na Bahia, a mais aceita revela que em 1746 sementes de cacau teriam sido plantadas perto das margens do rio Pardo, no município de Canavieiras. No município de Ilhéus teria começado lentamente entre os anos de 1755 e 1760 (CEPLAC, 1982).

O cacau é um fruto de alto valor econômico usado principalmente para produção do chocolate e na indústria cosmética. De acordo com a *International Cocoa Organization* (2020) o continente africano lidera a produção de cacau, no qual a Costa do Marfim é o maior produtor, seguido de Gana, Indonésia, Equador, Camarões e Nigéria. O Brasil se encontra como o sétimo produtor, representando 4% da produção de cacau referente a safra de 2017/2018. No ano de 2019, a produção mundial de cacau foi de aproximadamente 5,6 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2020) e em território brasileiro a produção foi de 265 mil toneladas (BRAINER, 2021). Dentre os estados brasileiros, o Pará lidera a produção seguido da Bahia, Espírito Santo, Rondônia e Amazonas. Pará e Bahia são responsáveis juntos por mais de 90% da produção (IBGE, 2020). No ano de 2020 o país exportou 0,7% do volume mundial de cacau ocupando a 17ª posição (BRAINER, 2021).

O Brasil já foi o maior produtor de cacau no mundo, com produção acima de 400 mil toneladas (LEITE, 2018), mas na década de 90 o patógeno fúngico *Moniliophthora perniciosa*, agente da vassoura-de-bruxa do cacau ocasionou a queda drástica da produção de cacau na Bahia. Encontram-se vários registros de fungos causadores de doenças ao cacauero (Tabela 3), todavia outros organismos como insetos e lagartas também são considerados pragas importantes do cacauero (SENAR, 2018).

Tabela 3 - Principais fungos patogênicos ao cacauero.

Patógenos fúngicos	Nome comum	Referências
<i>Moniliophthora roreri</i>	Monilíase	BASTIDAS, 1953
<i>Phytophthora</i> spp.	Podridão preta	BRASIER e GRIFFIN, 1979
<i>Moniliophthora perniciosa</i>	Vassoura-de-bruxa	WHEELER e MEPSTED, 1988
<i>Ceratocystis cacaofunesta</i>	Mal do facão	RORER, 1918
<i>Rosellinia</i> sp.	Podridão de raízes	BRITON-JONES, 1934 OLIVEIRA, 1992

<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Antracnose	BARROS, 1981
<i>Verticillium dahliae</i>	Morte súbita	EMECHEBE et al., 1971
<i>Ganoderma philippii</i>	Podridão-vermelha da raiz	OLIVEIRA, 1993
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Podridão do fruto e cancro do caule	OLIVEIRA e LUZ, 2012
Fonte: Deyse Viana (2021).		

2.3 MATA ATLÂNTICA

No século XIX, o café foi um dos principais impulsionadores para a devastação da Mata Atlântica onde se obteve uma perda equivalente a mais de 720 mil hectares (AGNELLO, 2007). Com a exploração da indústria madeireira e a concentração territorial do homem, a Mata Atlântica se tornou um bioma fragmentado por áreas de produção agrícola e pastagens (RIBEIRO et al., 2009; SILVA; MARE, 2012).

A Mata Atlântica já abrangeu uma área equivalente a 1.315.460 km², correspondendo a 15% do território brasileiro presente em 17 estados, atualmente restam apenas 12,4% de área original de Mata Atlântica (SOS MATA ATLÂNTICA, 2019). O estudo de Rezende et al. (2018), sugere através de dados de sensoriamento remoto que a cobertura original é um pouco maior, equivalente a 28% ou 32 milhões de hectares de Mata Atlântica, no entanto, esses dados não diminuem o grau de ameaça a biodiversidade do bioma que é considerado alto.

A Mata Atlântica é um dos *hotspots* de biodiversidade mundial por abrigar grande riqueza e diversidade de espécies ameaçadas de extinção (SOS MATA ATLÂNTICA, 2019). Apenas no território Baiano 331 espécies da fauna e 744 espécies da flora estão ameaçadas de extinção (SEMA, 2017). Segundo dados da SOS Mata Atlântica (2019), é o bioma mais ameaçado do país no qual mais de 70% da população reside as principais ameaças consistem na exploração dos recursos naturais, na desordenada expansão urbana e em práticas agrícolas não sustentáveis.

O bioma abriga 20.000 espécies de plantas, mais de 800 espécies de aves, 370 espécies de anfíbios e 270 espécies de mamíferos, onde muitas são endêmicas e ameaçadas de extinção por isso se deve a importância da sua conservação, além da contribuição para diversidade biológica mundial (SOS MATA ATLÂNTICA, 2019). Além do elevado nível de riqueza e diversidade do bioma, é importante enfatizar os serviços ecossistêmicos que são prestados para o bem-estar humano (JOLY et al., 2019).

A Mata Atlântica no sul da Bahia se destaca pela presença de riqueza de espécies nativas dentre árvores estão aquelas de importância ecológica a exemplo do bacuxumá (*Micropholis crassipedicellata* Mart. & Eichler), cajueiro-bravo (*Hyeronima alchorneoides* Allemão) e conduru

(*Brosimum rubescens* Taub.) na qual seus frutos são atrativos para a fauna, outras são muito utilizadas na construção civil é o caso do dandá (*Joannesia princeps* Vell.), amescla (*Protium heptaphyllum* Aubl. Marchand), araroba (*Vataireopsis araroba* Aguiar Ducke), arapati (*Arapatiella psilophylla* Harms R. S. Cowan), bacupari (*Rheedia macrophylla* Mart. Planch. & Triana), faveca (*Moldenhawera floribunda* Schrad.) e gindiba (*Sloanea obtusifolia* Moric. Schum) (SAMBUICHI et al., 2009).

2.3.1 *Cariniana legalis*

O gênero *Cariniana* compreende 16 espécies encontradas na região Neotropical (HUANG et al., 2008). O jequitibá-rosa *Cariniana legalis* Mart. Kuntze também conhecido como jequitibá, jequitibá-vermelho, caixão, coatinga e pau-de-carga, é originário do nome tupi-guarani, que significa “gigante da floresta” pertence à família Lecythidaceae (CARVALHO, 2005). *Cariniana legalis* se encontra na lista vermelha de espécies ameaçadas, na categoria vulnerável, devido a destruição do habitat e da exploração madeireira, é uma árvore nativa e endêmica do Brasil ocorrendo nos estados de Alagoas, Rio de Janeiro, São Paulo, Bahia, Paraíba, Espírito Santo, Pernambuco e Minas Gerais (IUCN, 2012).

Encontrada na Floresta Ombrófila densa é uma espécie que atinge até 60 m de altura e 15 a 400 cm de diâmetro, podendo chegar até 500 anos de idade, é utilizada na construção civil, paisagismo, medicina e no artesanato, seus frutos e sementes também são utilizados na dieta de animais, sendo os macacos os principais dispersores de suas sementes (LORENZI, 2008; CARVALHO, 2005; CAMPOS-FILHO; SARTORELLI, 2015). A temperatura ideal para o desenvolvimento e crescimento de *C. legalis* varia entre 25 e 30°C, assim como solos férteis e ricos em nutrientes (RÊGO; POSSAMAI, 2001). *Cariniana legalis* é a maior árvore encontrada na Mata Atlântica no qual grande parte de seus indivíduos estão presentes devido a exploração estima-se que sua população já tenha sofrido queda de 50% nos últimos 300 anos (CNCFLORA, 2012).

Na Bahia, *C. legalis* é uma das espécies arbóreas mais ocorrentes no sistema agroflorestal cabruca (LOBÃO, 2007). No entanto, Piasentin et al. (2014) através de entrevistas relataram a diminuição de *C. legalis* em plantações de cacau em 17%.

Em áreas de Mata Atlântica, Souza (2018) reporta *C. legalis* como hospedeiro diverso de fungos endofíticos, patogênicos e decompositores representados por espécies de *Colletotrichum*, *Cladosporium* e *Xylaria*.

2.3.2 *Paubrasilia echinata*

Caesalpinia echinata foi descrita por Lamarck em 1789, no entanto o estudo de Gagnon et al. (2016) propôs um novo gênero para a espécie, a partir de análises moleculares, denominado *Paubrasilia*. O pau-brasil *Paubrasilia echinata* Gagnon & Lewis também conhecido como ibirapitanga, muirapiranga, brasileto ou pau vermelho, pertence à família Fabaceae, é uma árvore nativa de Mata Atlântica de importância histórica e cultural, é endêmica do Brasil encontrada na Floresta Ombrófila Densa, em Restinga e na Floresta Estacional Semi-decidual (CNCFLORA, 2012).

Paubrasilia echinata é uma árvore de porte médio que pode chegar até 25 m de altura e até 70 cm de diâmetro de tronco, apresenta folhas compostas bipenadas e flores amarelas dispostas em cachos, a espécie pode sobreviver até 300 anos de idade (LIMA et al., 2002; CAMPOS-FILHO; SARTORELLI, 2015; MACEDO et al., 2019).

O extrativismo do pau-brasil foi um dos principais contribuintes para destruição de grandes áreas de florestas até 1920 após mais de 500 anos de exploração e perda de habitat, o pau-brasil é atualmente uma das espécies ameaçadas de extinção, de acordo com o livro vermelho da Flora do Brasil (CNCFLORA, 2012). Relativamente poucos indivíduos de *P. echinata* são ainda encontrados nos estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro e Rio Grande do Norte (GAGNON et al. 2020) presentes em remanescentes florestais de Mata Atlântica (ROCHA; SIMABUKURO, 2008).

O pau-brasil é uma árvore com características marcantes de fácil reconhecimento (MACEDO et al., 2019), utilizada no paisagismo e na fabricação de instrumentos musicais (ZANI, 2014). Na medicina estudos demonstram atividades anti-inflamatórias e antitumorais, além de possuir propriedades cicatrizantes e adstringentes (MACIEL, 2005; D'AGOSTINI et al., 2013).

É uma espécie de valor comercial relevante para a conservação dos remanescentes de Mata Atlântica presentes na região cacauieira da Bahia (LOBÃO; VALERI, 2009), símbolo para a conservação da flora do Brasil diante de sua história e cultura (ESSER et al., 2019). O pau-brasil é frequentemente encontrado no sistema agroflorestal cabruca (SAMBUICHI et al., 2009) de acordo com Piasentin et al. (2014), é uma das espécies arbóreas de maior preferência dos agricultores para o sombreamento do cacauieiro.

Alguns estudos de fungos endofíticos em *P. echinata* já foram relatados (LIMA; CAVALCANTI, 2014; COTA et al., 2018). Machado (2009) isolaram a partir do caule e folha os endófitos *Botryosphaeria rhodina*, *Pestalotiopsis* sp. e *Xylaria multiplex*, no qual apresentaram potencial antagonico contra *Pythium debaryanum* e *P. palmivora*. Enquanto, Campos et al. (2015) isolaram 82 fungos endofíticos do caule e casca do pau-brasil, além disso alguns isolados apresentaram atividades antibacterianas e antitumorais.

2.3.3 *Guarea macrophylla*

Pertencente à família Meliaceae, *Guarea macrophylla* Valh conhecida como pau d'arco, marinheiro, ataúba, café bravo e camboatá, é uma árvore nativa, que ocorre em todas as regiões do Brasil em áreas de Mata Atlântica, Cerrado, Pampa, Caatinga e na Amazônia (FLORES, 2020). *Guarea macrophylla* pode atingir até 10 m de altura (LAGO; ROQUE, 2009), o diâmetro do tronco (áspero, de cor amarronzada) chega até 25 cm (LORENZI, 2009), as flores são dispostas em inflorescências de cor vermelha, e a floração ocorre de setembro a novembro (SOUZA et al., 2008).

O pau d'arco é utilizado pela indústria madeireira na produção de brinquedos e embalagens (LORENZI, 2009), seus frutos fazem parte da cadeia alimentar de aves como *Chiroxiphia caudata* (FADINI; MARCO-JÚNIOR, 2004). Já foram realizados estudos químicos da madeira (LAGO; ROQUE, 2009), e óleos voláteis de folhas de *G. macrophylla* no qual determinados compostos são responsáveis pela atração de *Hypsipyla grandella*, um inseto praga que ataca espécies da família Meliaceae (LAGO et al., 2006). Diferentes partes da planta são utilizadas na medicina popular, para uso adstringente, abortivo, purgativo e febrífugo, além de possuir propriedades anti-inflamatórias (LORENZI; MATOS, 2008).

Em alguns estudos, *G. macrophylla* foi uma das espécies encontradas em remanescentes florestais de Mata Atlântica (TANUS et al., 2012; KONDRAT, 2014), como em áreas de cabucas (LOBÃO, 2007) também utilizada na arborização de parques urbanos (SILVA et al., 2007) e no reflorestamento de áreas degradadas (LORENZI, 2009).

Esse é o primeiro estudo de fungos endofíticos em folhas de *G. macrophylla*.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE COLETA

As coletas foram realizadas em sistema agroflorestal cabruca, localizado na Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), no Município de Ilhéus, Bahia.

3.2 COLETA DO MATERIAL

Foram realizadas duas coletas em folhas de três espécies nativas, *Cariniana legalis* (14°47'43"S; 39°10'21"W), *Paubrasilia echinata* (14°47'43"S; 39°10'21"W) e *Guarea macrophylla* (14°47'42"S; 39°10'20"W) presentes em remanescente florestal de Mata Atlântica, localizadas em sistema agroflorestal de cultivo de cacau (cabruca).

As coletas foram realizadas em agosto/2019 e dezembro/2019. Em cada coleta foram retiradas folhas em quatro pontos (seis folhas por ponto) de cada hospedeiro botânico. As folhas foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente etiquetados. Dessa forma foram coletadas seis folhas × quatro pontos × três hospedeiros × duas coletas, o que totalizou 144 amostras de folhas. O material coletado foi transportado ao Laboratório I do Departamento de Micologia, localizado na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para manipulação e processamento no período de 24h.

3.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Primeiramente as folhas foram lavadas com água corrente e detergente neutro, e posteriormente fragmentadas em discos foliares de 6 mm de diâmetro e submetidos ao processo de desinfestação superficial, por meio de lavagem em álcool 70% (30 segundos), hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% (2 minutos e 30 segundos), novamente em álcool 70% (30 segundos), e por fim lavados com água destilada esterilizada, esse processo seguiu a metodologia proposta por Araújo et al. (2002).

Após o processo desinfestação superficial, seis discos foliares foram transferidos para placas de Petri, em triplicata, que continham MEA (Malte-Dextrose-Ágar) acrescido de cloranfenicol (50 mg L⁻¹), em seguida as placas foram incubadas em temperatura ambiente a 28 °C. Assim, durante 15 dias foi observado diariamente o crescimento de colônias ao redor dos discos foliares. Para comprovação da desinfestação superficial, 1 mL da última água destilada esterilizada foi plaqueada em MEA em triplicata (PEREIRA et al., 1999).

Com o crescimento das colônias, os fragmentos de micélio foram transferidos para tubos de ensaio que continham BDA (Batata-Dextrose-Ágar) posteriormente foi realizada análise morfológica

das estruturas macro e microestruturais para identificação das espécies, com auxílio de literatura especializada (CROUS et al., 2007; DOMSCH et al., 2007; AVESKAMP et al., 2010; BENSCH et al., 2010; BENSCH et al., 2012).

3.4 EXTRAÇÃO DE DNA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

A biomassa dos fungos foi obtida a partir de culturas em BDA mantidas a 28 °C por até sete dias em placas de Petri. Com auxílio de uma alça de platina, todo o micélio foi retirado e transferido para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de 0,5g de contas de vidro (glass beads) com dois diâmetros diferentes na proporção de 1:1 (acid-washed, 150-212 µm and 425-600 µm; Sigma, U.S. sieve). Foi realizada a extração do DNA genômico seguindo a metodologia proposta por Oliveira et al. (2016), que inclui homogeneização do material em tampão CTAB 2%, trituração por agitação em alta velocidade através de um FastPrep, uma lavagem com clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 µL de água ultrapura.

3.5 AMPLIFICAÇÃO, PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO DNA

Foram utilizados os iniciadores ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) para a amplificação da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) (WHITE et al., 1990) e os primers LR1 (GGTTGGTTTCTTTTCCT) e LR5 (TCCTGAGGGAAACTTCG) para região LSU do rDNA (rDNA *Large Subunit*) (VILGALYS; SUN, 1994). Outros loci foram escolhidos de acordo com os grupos de fungos identificados, tais como gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH), utilizando os primers GDF1 (GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA) e GDR1 (GGGTGGAGTCGTACTIONTGAGCATG) descrito por Guerber et al. (2003) para espécies de *Colletotrichum* e o gene β -tubulina (TUB2) para *Diaporthe*, com a utilização dos primers BT2a (GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC) e BT2b (ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC) (GLASS; DONALDSON, 1995).

A PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foi realizada com um volume final de 50 µL, os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes que incluem dNTPs, Taq DNA polimerase, iniciadores, água ultrapura e tampão de reação são as mesmas descritas por OLIVEIRA et al. (2014b). Controles negativos, contendo todos os componentes exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações.

Todos os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1%, as amostras foram coradas pela adição de GelRed[®]. Os produtos de PCR oriundos dos fungos endofíticos

foram purificados utilizando-se a enzima ExoSAP-IT® de acordo com as recomendações do fabricante. Posteriormente, as amostras foram enviadas para a Plataforma Multiusuária de Sequenciamento de DNA do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco.

3.6 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

A filogenia foi reconstruída por meio de análises independentes de sequências da região ITS do rDNA e dos genes GAPDH e TUB2. Sequências similares foram obtidas do GenBank pelo portal do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) e o alinhamento realizado por meio do servidor MAFFT v.7 (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) (KATO et al., 2019), as sequências foram editadas quando necessário, a partir do programa MEGA 7.0.14 (KUMAR et al., 2016). Posteriormente, foi realizada análise de Inferência Bayesiana (BI) (1 x 10⁶ gerações) com MrBayes 3.1.2 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003) executado a partir do programa Topali 2.5 (MILNE et al., 2004).

3.7 ANÁLISE DA COMUNIDADE DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Para verificação do número de táxons compartilhados entre os hospedeiros foram construídos diagramas de Venn a partir da ferramenta: calculate and draw custom Venn diagrams (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>).

A Similaridade dos fungos endofíticos entre os hospedeiros foi calculada através do índice de Similaridade de Sorensen (C'):

$$S_s = (2w/a + b + c) \times 100$$

Onde: w = n° de espécies comuns aos três hospedeiros;

a = n° total de espécies ocorrentes *Paubrasilia echinata*;

b = n° total de espécies ocorrentes *Guarea macrophylla*;

c = n° total de espécies ocorrentes *Cariniana legalis*.

4 RESULTADOS

4.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS

Foram utilizados 1.296 discos foliares e obtidos 662 isolados fúngicos de folhas de *C. legalis*, *G. macrophylla* e *P. echinata*. Baseado em análises morfológicas e filogenéticas, a maioria dos endófitos agruparam-se ao filo Ascomycota, enquanto um único isolado foi agrupado ao filo Basidiomycota. A partir do sequenciamento da região ITS do rDNA foi possível identificar a maioria dos isolados fúngicos. No entanto, para identificação de alguns isolados, outras regiões gênicas foram introduzidas, conforme apresentado na Tabela 4. Desse modo, foram encontrados 21 gêneros e 43 espécies.

De todos os fungos endofíticos obtidos nas três espécies vegetais, os representantes de Glomerellales apresentaram o maior número de isolados (44,56%), seguidos de Amphisphaeriales (19,79%), Diaporthales (13,14%), Botryosphaeriales (10,12%) e Xylariales (9,06%). O gênero *Colletotrichum* foi o mais representado (44,56%), seguido por *Diaporthe* (13,14%) *Neopestalotiopsis* (12,08%), *Pseudopestalotiopsis* (7,55%), *Lasiodiplodia* (6,34%), *Xylaria* (5,14%), *Phyllosticta* (3,47%) e *Daldinia* (2,72%). Em relação a frequência relativa das espécies, *C. siamense* (15,86%) foi a mais frequente, seguida de *C. theobromicola* (12,39%), *Neopestalotiopsis* sp. 2 (9,82%), *Pseudopestalotiopsis* sp. 3 (7,10%), *L. theobromae* (5,89%), *Xylaria* sp. 3 (4,83%), *Phyllosticta* sp. (3,47%) e *Daldinia* sp. (2,72%).

Dentre as espécies endofíticas encontradas, 18 foram consideradas raras por apresentarem até dois isolados. As sequências de alguns isolados apresentaram baixa identidade quando comparadas com outras sequências depositadas no GenBank, identificadas como PB239, PB217, PB107, JT27, JT35, JT93 e PB233. A espécie *Nigrospora lacticolonina*, isolada de folhas de *G. macrophylla* (LR11), é descrita pela primeira vez para os Neotrópicos.

Algumas espécies endofíticas observadas nas plantas nativas, tais como *C. siamense*, *C. theobromicola*, *C. tropicale*, *C. fructicola*, *Corynespora cassiicola* e *L. theobromae*, já foram relatadas como patógenas do cacauero.

Tabela 4- Fungos endofíticos obtidos de folhas de *Cariniana legalis* (JT), *Guarea macrophylla* (LR) e *Paubrasilia echinata* (PB), com respectivo número de isolados, frequência relativa (Fr), ordens, número de acesso ao GenBank e percentual de identidade.

Código (isolados)	Identificação final	Nº isolados			Nº total de isolados	Fr (%)	Ordens	Blast (Nº de acesso ao GenBank)	ID (%)
		JT	LR	PB					
Ascomycota									
JT250	<i>Apioclypea</i> sp.	1	-	-	1	0,15	Amphisphaeriales	KU747826, <i>Apioclypea</i> sp.	100
PB90	<i>Annulohypoxyton stygium</i>	-	-	1	1	0,15	Xylariales	MH370739, <i>Annulohypoxyton stygium</i>	100
JT58	<i>Aspergillus</i> sp.	1	-	-	1	0,15	Eurotiales	MH876775, <i>Aspergillus chevalieri</i> **	99.1
PB61	<i>Calonectria</i> sp.	-	-	1	1	0,15	Hypocreales	JN417233, <i>Calonectria sulawesiensis</i>	99.5
PB239	<i>Chaetomium</i> sp.	-	-	1	1	0,15	Sordariales	MH873359, <i>Chaetomium gangligerum</i> **	91
JT213, LR93	<i>Colletotrichum karstii</i>	13	10	-	23	3,47	Glomerellales	MG602035, <i>Colletotrichum karstii</i> ▲	100
PB22	<i>Colletotrichum tropicale</i>	-	-	1	1	0,15	Glomerellales	MK796223, <i>Colletotrichum tropicale</i> ▲	96.9
JT148, LR23, PB69	<i>Colletotrichum theobromicola</i>	47	16	19	82	12,39	Glomerellales	MK796226, <i>Colletotrichum theobromicola</i> ▲	98.1
JT3, LR95	<i>Colletotrichum fructicola</i>	75	3	-	78	11,78	Glomerellales	MN982433, <i>Colletotrichum fructicola</i> ▲	100
JT114, PB20, LR17	<i>Colletotrichum siamense</i>	15	38	52	105	15,86	Glomerellales	KT777678, <i>Colletotrichum siamense</i> ▲	97.2
LR138, PB115	<i>Colletotrichum</i> sp.	-	1	5	6	0,91	Glomerellales	MK344237, <i>Colletotrichum brevisporum</i> ▲	98.8
LR55, PB229	<i>Corynespora cassiicola</i>	-	1	3	4	0,60	Pleosporales	MN809263, <i>Corynespora cassiicola</i>	100
JT136, LR112, PB181	<i>Daldinia</i> sp.	10	1	7	18	2,72	Xylariales	KU204514, <i>Daldinia eschscholtzii</i>	99
PB217	<i>Diaporthe</i> sp. 1	-	-	2	2	0,30	Diaporthales	KP189344, <i>Diaporthe</i> sp. *	97.7
PB107	<i>Diaporthe</i> sp. 2	-	-	2	2	0,30	Diaporthales	KF778872, <i>Diaporthe macadamie</i> *	94.1
JT27, LR125	<i>Diaporthe</i> sp. 3	3	16	-	19	2,87	Diaporthales	MT409301, <i>Diaporthe passiflorae</i> *	98.3
LR217	<i>Diaporthe pseudomangiferae</i>	-	2	-	2	0,30	Diaporthales	KC344149, <i>Diaporthe pseudomangiferae</i> *	100
PB88	<i>Diaporthe incospicua</i>	-	-	7	7	1,06	Diaporthales	MH122535, <i>Diaporthe incospicua</i> *	100
LR141	<i>Diaporthe mayteni</i>	-	6	-	6	0,91	Diaporthales	KP189348, <i>Diaporthe mayteni</i> *	97.7
JT60	<i>Diaporthe pseudophoenicicola</i>	4	-	-	4	0,60	Diaporthales	MN424531, <i>Diaporthe pseudophoenicicola</i> *	98.0
LR134	<i>Diaporthe yunnanensis</i>	-	40	-	40	6,04	Diaporthales	MW514137, <i>Diaporthe yunnanensis</i> *	97.3
LR144	<i>Diaporthe tectonae</i>	-	5	-	5	0,76	Diaporthales	MT077087, <i>Diaporthe tectonae</i> *	98.3
LR172	<i>Endomelanconiopsis</i> sp.	-	2	-	2	0,30	Botryosphaeriales	MK33652, <i>Endomelanconiopsis endophytica</i>	99.8
PB236	<i>Fusarium</i> sp.	-	-	3	3	0,45	Hypocreales	FJ890384, <i>Fusarium polyphialidicum</i> **	99.6
JT188	<i>Hypoxyton</i> sp. 1	3	-	-	3	0,45	Xylariales	JQ862607, <i>Hypoxyton</i> sp. **	98.3
JT6, PB195	<i>Hypoxyton</i> sp. 2	1	-	2	3	0,45	Xylariales	MF663790, <i>Hypoxyton anthochroum</i>	99.7

JT208	<i>Hypoxylon</i> sp. 3	1	-	-	1	0,15	Xylariales	JX183075, <i>Hypoxylon pulicicidum</i>	98.3
PB120	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	-	-	3	3	0,45	Botryosphaeriales	KP872320, <i>Lasiodiplodia margaritacea</i>	98.1
JT52, LR44, PB5	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	2	21	16	39	5,89	Botryosphaeriales	MT372632, <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	100
JT35	<i>Lasiosphaeria</i> sp.	5	-	-	5	0,76	Sordariales	AY436415, <i>Lasiosphaeria sorbina</i> **	85.8
JT62	<i>Neopestalotiopsis</i> sp. 1	15	-	-	15	2,27	Amphisphaeriales	LC521879, <i>Neopestalotiopsis formicarum</i> *	99.5
JT100, PB7, LR167	<i>Neopestalotiopsis</i> sp. 2	16	4	45	65	9,82	Amphisphaeriales	MT706634, <i>Neopestalotiopsis saprophytica</i> *	99.7
LR11	<i>Nigrospora lacticolonia</i>	-	2	-	2	0,30	Trichosphaeriales	MK408564, <i>Nigrospora lacticolonia</i> *	99.7
PB126	<i>Nigrospora</i> sp.	-	-	3	3	0,45	Trichosphaeriales	JX966550, <i>Nigrospora oryzae</i>	99.5
JT37, LR10, PB98	<i>Phyllosticta</i> sp.	9	11	3	23	3,47	Botryosphaeriales	MT649668, <i>Phyllosticta capitalensis</i>	99.8
JT29	<i>Pseudopestalotiopsis</i> sp. 1	1	-	-	1	0,15	Amphisphaeriales	MK74309, <i>Pseudopestalotiopsis avicenniae</i> **	99.8
PB44	<i>Pseudopestalotiopsis</i> sp. 2	-	-	2	2	0,30	Amphisphaeriales	MK764356, <i>Pseudopestalotiopsis curvatispora</i> *	99.5
JT126, LR29, PB49	<i>Pseudopestalotiopsis</i> sp. 3	5	9	33	47	7,10	Amphisphaeriales	KM510412, <i>Pseudopestalotiopsis theae</i>	97.3
JT93	<i>Stolonocarpus</i> sp.	1	-	-	1	0,15	Sordariales	MH874464, <i>Stolonocarpus gigasporus</i> **	95
PB87	<i>Xylaria</i> sp. 1	-	-	1	1	0,15	Xylariales	MN744731, <i>Xylaria longipes</i>	99.5
PB79	<i>Xylaria</i> sp. 2	-	-	1	1	0,15	Xylariales	GU300098, <i>Xylaria multiplex</i>	96.8
JT139, LR186, PB99	<i>Xylaria</i> sp. 3	6	6	20	32	4,83	Xylariales	FJ799949, <i>Xylaria</i> sp.	99.5
Basidiomycota									
PB233	<i>Urocystis</i> sp.	-	-	1	1	0,15	Urocystidales	DQ838576, <i>Urocystis colchici</i> **	93
Total		234	194	234	662	100			

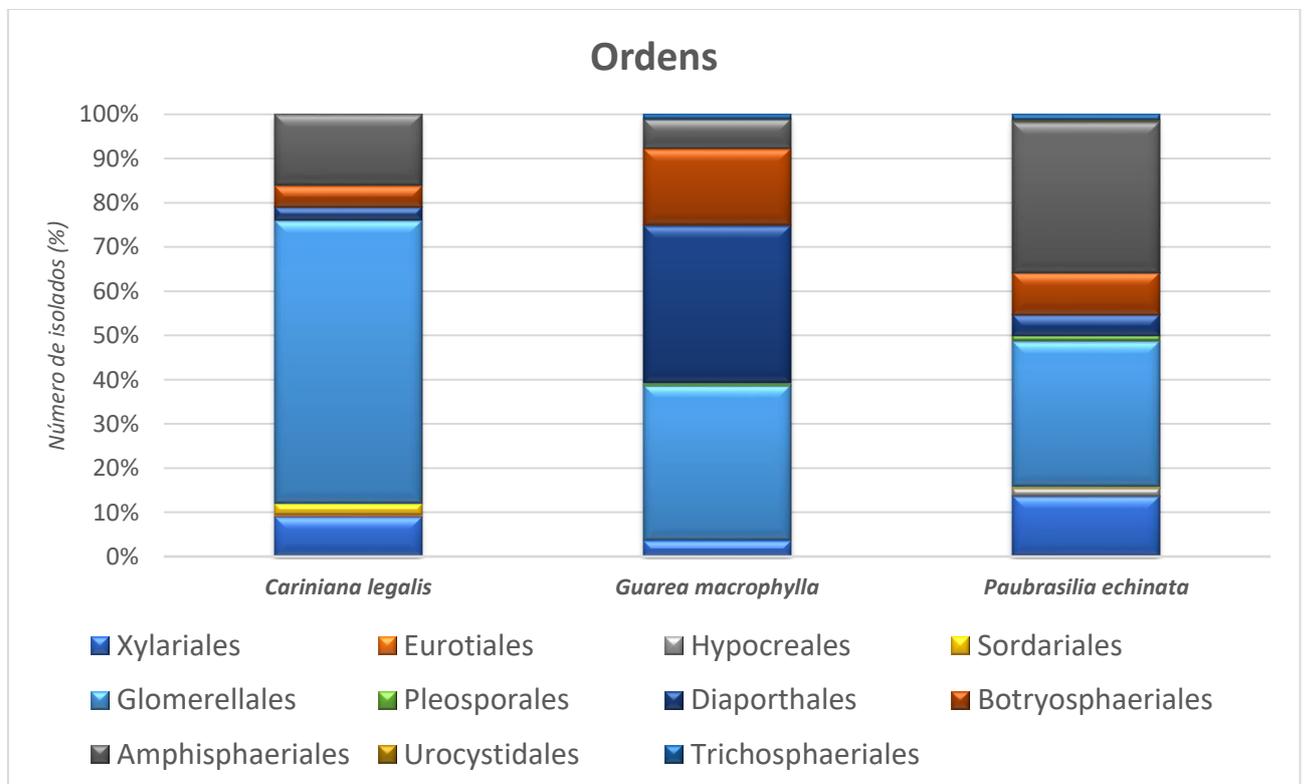
Os símbolos (*) e (**) correspondem as sequências de β -tubulina (TUB2) e larga subunidade ribossomal (LSU), respectivamente, enquanto o símbolo (▲) corresponde a sequências do gene GAPDH.

Fonte: Deyse Viana (2021).

4.2 COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS PRESENTES NAS ESPÉCIES VEGETAIS

A fim de apresentar a composição e distribuição da comunidade de fungos endofíticos presentes nas espécies vegetais estudadas, foi elaborado um gráfico a partir das 11 ordens obtidas (Gráfico 1). Assim, foram verificadas diferenças quanto a distribuição dessas ordens. Em *P. echinata* foram relatadas 10 ordens, enquanto *C. legalis* e *G. macrophylla* apresentaram sete ordens cada. Em relação a frequência, Glomerellales foi a ordem mais frequentemente encontrada nas três espécies vegetais, contudo foi mais abundante em *C. legalis*. Em seguida, aparecem Amphisphaeriales, Diaporthales, Botryosphaeriales e Xylariales. As ordens, Sordariales (*C. legalis* e *P. echinata*), Pleosporales e Trichosphaeriales (*G. macrophylla* e *P. echinata*) foram comuns a duas espécies vegetais. Outras ordens foram relatadas especificamente em uma única espécie vegetal, é o caso de Hypocreales e Urocystidales (*P. echinata*) e Eurotiales (*C. legalis*).

Gráfico 1- Distribuição dos fungos endofíticos nos três hospedeiros estudados (*Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*).

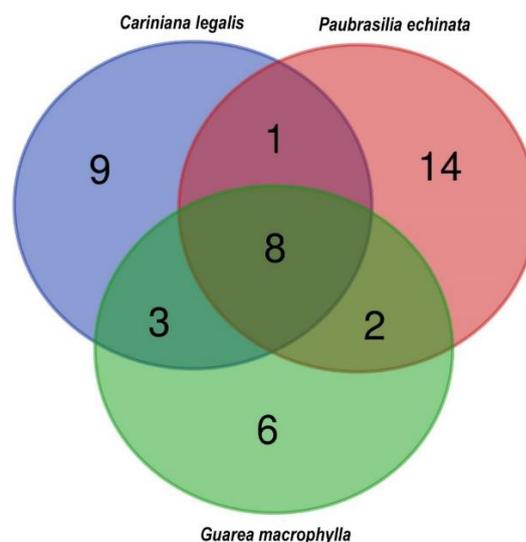


Fonte: Deyse Viana (2021).

Em relação aos gêneros, *Colletotrichum* foi predominante nos hospedeiros estudados, *Diaporthe* destacou-se em *G. macrophylla*, enquanto que *Neopestalotiopsis*, *Pseudopestalotiopsis* e *Xylaria* prevaleceram em *P. echinata*. *Colletotrichum fructicola* foi dominante em folhas de *C. legalis*, seguido de *C. theobromicola*, enquanto *D. yunnanensis* e *C. siamense* foram frequentes em *G. macrophylla*. *Colletotrichum siamense* também se destacou em *P. echinata*, juntamente com *Neopestalotiopsis* sp. 2 e *Pseudopestalotiopsis* sp. 3. Os gêneros *Apioclypea*, *Annulohyphoxylon*, *Aspergillus*, *Calonectria*, *Chaetomium*, *Endomelanconiopsis*, *Fusarium*, *Lasiosphaeria*, *Stolonocarpus* e *Urocystis* ocorreram em uma única espécie vegetal. Salienta-se que a maioria desses gêneros apresentou poucos isolados.

A partir de análise dos diagramas de Venn (Figura 1), foi possível compreender a distribuição dos endófitos fúngicos nos três hospedeiros estudados, dessa forma *C. siamense*, *C. theobromicola*, *Daldinia* sp., *L. theobromae*, *Phyllosticta* sp., *Pseudopestalotiopsis* sp. 3, *Neopestalotiopsis* sp. 2 e *Xylaria* sp. 3 correspondem a espécies comuns em folhas de *C. legalis*, *G. macrophylla* e *P. echinata*. *Guarea macrophylla* compartilhou *C. fructicola*, *Diaporthe* sp. 3 e *C. karstii* com *C. legalis* e *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum* sp. com *P. echinata*. No entanto, *C. legalis* e *P. echinata* compartilharam apenas *Hypoxylon* sp. 2. De acordo com a análise dos diagramas de Venn, muitos táxons endofíticos não foram compartilhados entre os hospedeiros.

Figura 1 - Diagrama de Venn indicando o número de espécies comuns entre *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*.

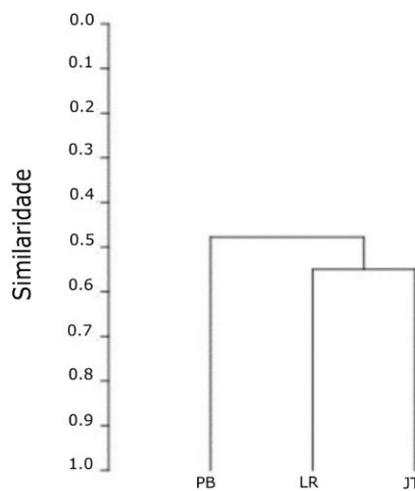


Fonte: Deyse Viana (2021).

4.3 ANÁLISE DO ÍNDICE DE SIMILARIDADE DE SORENSEN

A similaridade da comunidade de endófitos fúngicos entre os hospedeiros correspondeu a 25%. Foi elaborado um dendrograma (Figura 2) para demonstrar a similaridade das comunidades dos fungos endofíticos entre as espécies vegetais. Desse modo, as comunidades foram mais similares entre *G. macrophylla* e *C. legalis*, em comparação com *P. echinata*.

Figura 2- Similaridade de fungos endofíticos isolados de folhas de *Paubrasilia echinata* (PB), *Guarea macrophylla* (LR) e *Cariniana legalis* (JT).



Fonte: Deyse Viana (2021).

4.4 ANÁLISE FILOGENÉTICA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Para confirmação dos resultados obtidos na análise de BLASTn, foi construída uma árvore filogenética a partir de sequências ITS do rDNA, usando Inferência Bayesiana (BI). Os isolados fúngicos agruparam-se em nove ordens (Pleosporales, Eurotiales, Botryosphaeriales, Diaporthales, Hypocreales, Glomerellales, Trichosphaeriales, Amphisphaeriales e Xylariales) pertencentes ao filo Ascomycota, e uma única ordem (Urocystidales) do filo Basidiomycota (Figura 3), entretanto, não foi possível identificar a ordem Sordariales por meio da região ITS do rDNA.

Dentre as ordens presentes no filo Ascomycota, Pleosporales e Eurotiales foram representadas cada uma por um gênero: *Corynespora* e *Aspergillus*, respectivamente. *Corynespora* teve quatro isolados e *Aspergillus* um. Diaporthales, Glomerellales e Trichosphaeriales também apresentaram um único gênero, cada uma: *Diaporthe*,

Colletotrichum e *Nigrospora*, respectivamente. *Colletotrichum* foi o gênero com maior número de isolados (295), *Diaporthe* apresentou 87 isolados e *Nigrospora* apenas cinco.

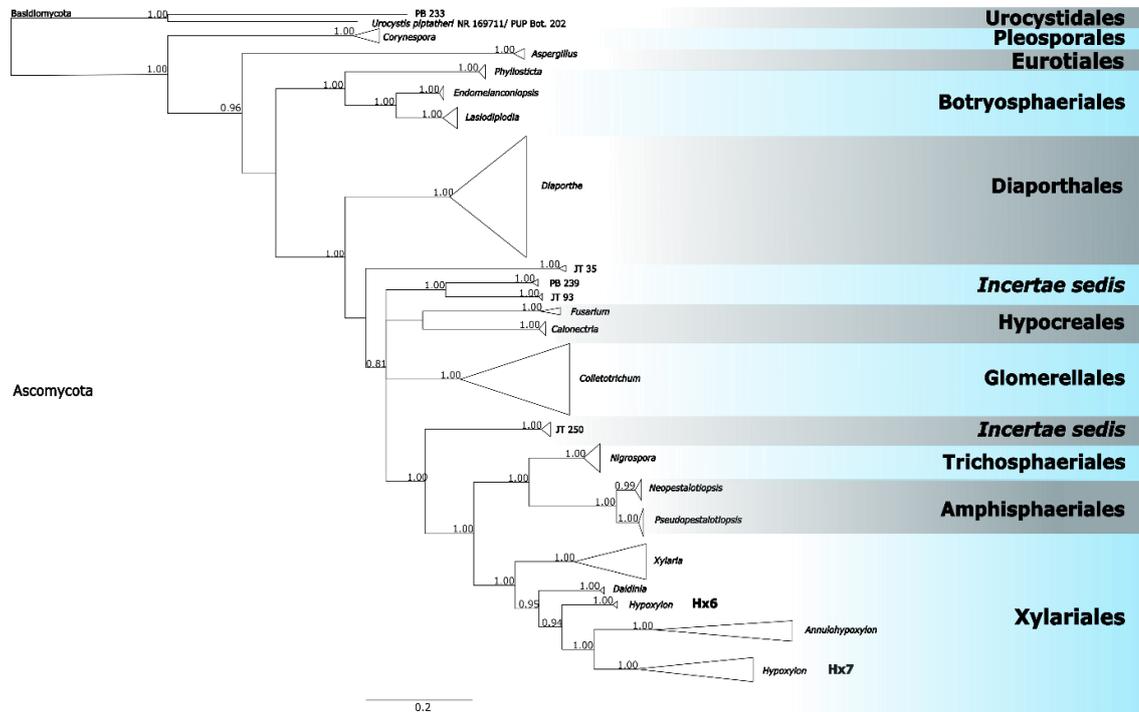
A maioria dos isolados de Botryosphaeriales agruparam-se no gênero *Lasiodiplodia*, correspondendo a 42 isolados. Os gêneros *Phyllosticta* e *Endomelanconiopsis* apresentaram 23 isolados e dois isolados, respectivamente. Foram observados poucos isolados pertencentes a Hypocreales, distribuídos entre *Fusarium* (3 isolados) e *Calonectria* (1 isolado). Na ordem Amphisphaeriales foram observados 130 isolados pertencentes aos gêneros *Neopestalotiopsis* (80) e *Pseudopestalotiopsis* (50).

Foram encontrados 60 isolados de Xylariales, distribuídos entre *Xylaria* (34), *Daldinia* (18), *Hypoxylon* (7) e *Annulohypoxylon* (1). Os isolados de *Hypoxylon* foram distribuídos em dois clados, identificados como H6 e H7.

O filo Basidiomycota foi representado pela ordem Urocystidales com apenas um isolado (PB 233). Este isolado apresentou identidade da sequência no BLASTn mais aproximada a *Urocystis piptatheri* PUP Bot. 202 (grupo externo).

Não foi possível agrupar os isolados JT 35, PB 239, JT 93 e JT 250 em nenhum gênero e em nenhuma ordem, usando a região ITS do rDNA, permanecendo os mesmos como *Incertae sedis*. No entanto, o isolado JT 250 na análise BLASTn correspondeu a Amphisphaeriales.

Figura 3- Árvore filogenética construída usando a região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*. *Urocystis piptatheri* (PUP Bot. 202) e PB 233 (neste estudo) foram utilizados como grupo externo (Basidiomycota).

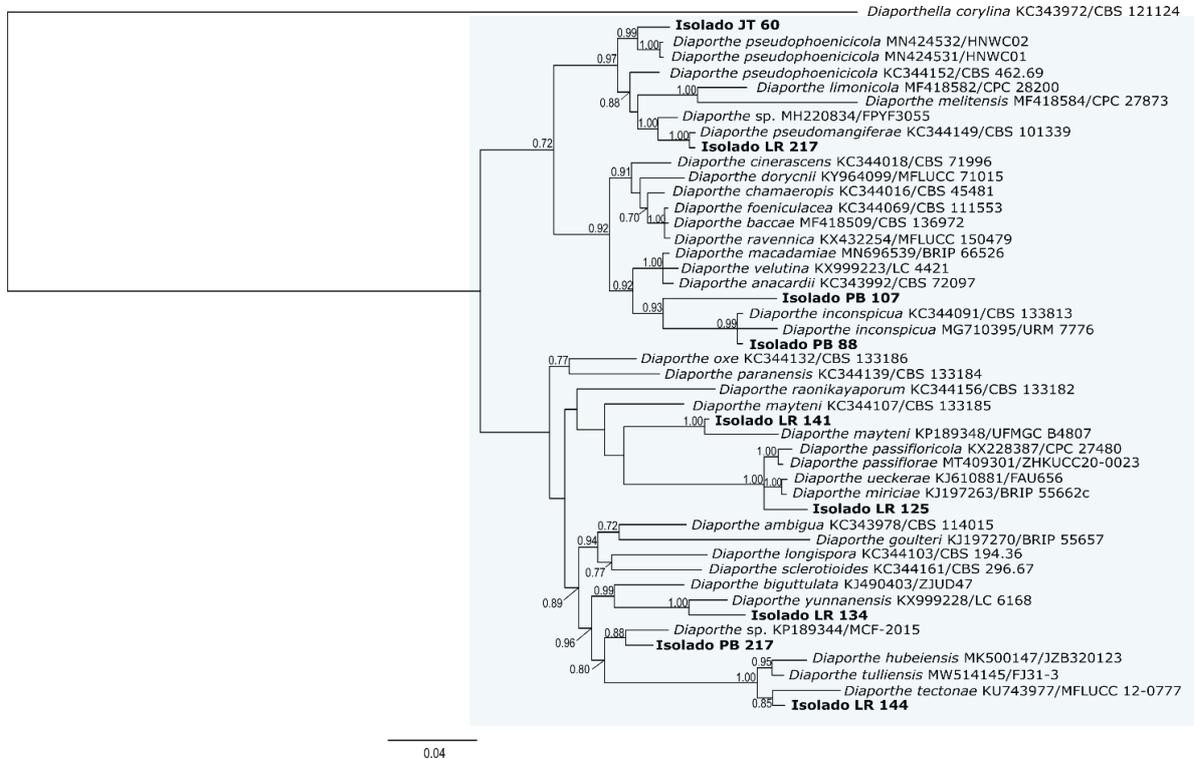


Fonte: Deyse Viana (2021).

Também foi construída uma árvore de Inferência Bayesiana (BI), obtida a partir de sequências do gene β -tubulina de isolados de *Diaporthe* presentes nas três espécies vegetais (Figura 4). Não foi possível identificar os isolados PB 107 e LR 125, no qual apresentaram percentual de identidade referente a 94.1% e 98.3%, respectivamente. No entanto, as sequências dos isolados JT 60, LR 217, PB 88, LR 141 e LR 134 apresentaram altos valores de suporte com *D. pseudophoenicicola*, *D. pseudomangiferae*, *D. inconspicua*, *D. mayteni* e *D. yunnanensis*, respectivamente. Além disso, o isolado LR 144 agrupou-se com *D. tectonae*, contudo não foi possível a identificação com segurança do isolado PB 217, que foi definido como *Diaporthe* sp.

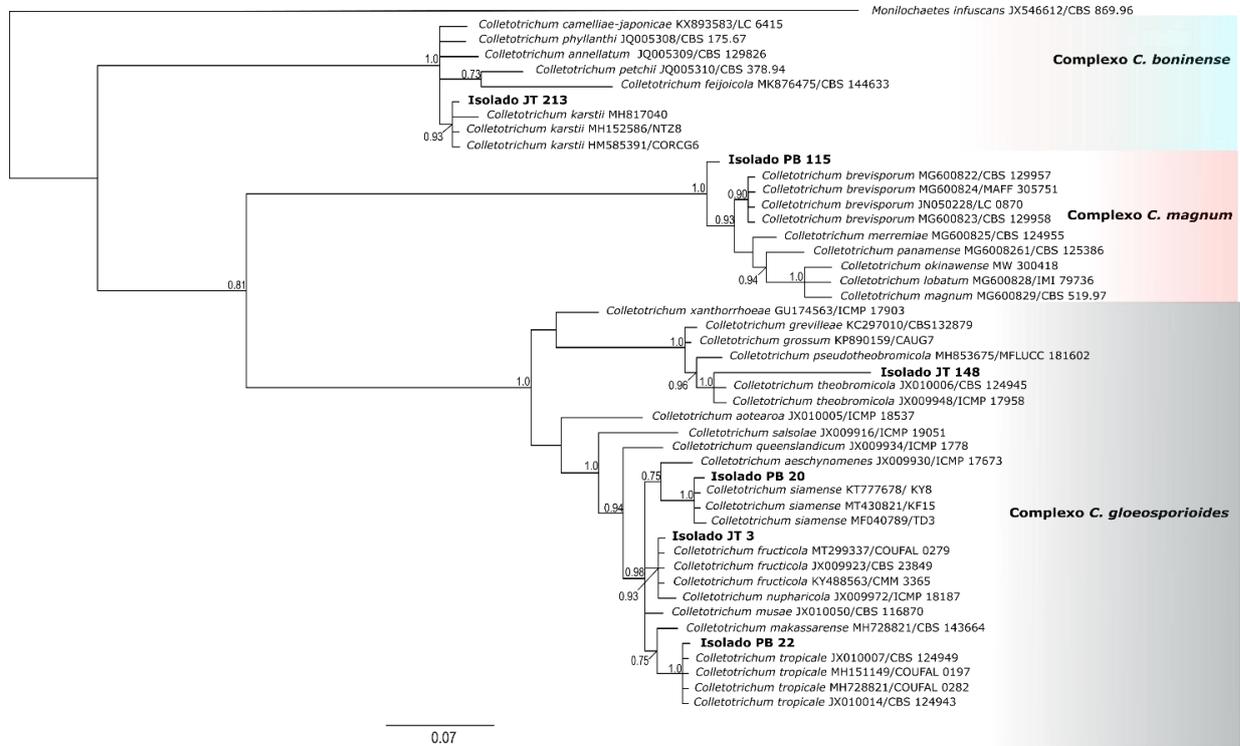
Do mesmo modo, foi construída uma árvore usando análise Bayesiana (BI) a partir de sequências do gene GAPDH de isolados de *Colletotrichum* (Figura 5). As sequências dos isolados obtidos incluíram-se em três complexos do gênero, o isolado JT 213 correspondeu a *C. karstii* agrupando-se ao complexo *C. boninense*. Além disso, os isolados JT 148, PB 20, JT 3 e PB 22 foram confirmados como pertencentes a *C. theobromicola*, *C. siamense*, *C. fructicola* e *C. tropicale*, respectivamente, os quais se agruparam ao complexo *C. gloeosporioides*. Ainda, o isolado PB 115 permaneceu como *Colletotrichum* sp. agrupado ao complexo *C. magnum*.

Figura 4- Árvore filogenética de *Diaporthe* construída usando o gene β -tubulina, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de *Cariniana legalis* (JT), *Guarea macrophylla* (LR) e *Paubrasilia echinata* (PB). *Diaporthella corylina* (CBS 121124) foi usada como grupo externo. Os valores de suporte foram obtidos a partir da análise Bayesiana.



Fonte: Deyse Viana (2021).

Figura 5- Árvore filogenética de *Colletotrichum* construída usando o gene GAPDH, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de *Cariniana legalis* (JT), *Guarea macrophylla* (LR) e *Paubrasilia echinata* (PB). *Monilochaetes infuscans* (CBS 869.96) foi usada como grupo externo. Os valores de suporte foram obtidos a partir da análise Bayesiana.



Fonte: Deyse Viana (2021).

5 DISCUSSÃO

Plantas nativas de Mata Atlântica presentes em sistema agroflorestal cabruca foram analisadas para verificação da comunidade de fungos endofíticos foliares, e assim obtidos 662 isolados atribuídos a 21 gêneros e 43 espécies, a maioria representados pelo filo Ascomycota. Possíveis novas espécies foram identificadas pertencentes aos gêneros *Chaetomium*, *Diaporthe*, *Lasiosphaeria*, *Stolonocarpus* e *Urocystis*. No entanto, são poucos os estudos que investigam a composição da comunidade de fungos endofíticos em agroflorestas no mundo (SAUCEDO-GARCIA et al., 2014; CHAUHAN et al., 2019; WEMHEUER et al., 2020).

Embora a comunidade de fungos endofíticos nas espécies vegetais estudadas compartilhem das mesmas condições ambientais, e os hospedeiros estudados não pertencem à mesma família botânica. Assim, a especificidade do hospedeiro, a disponibilidade de nutrientes e a relação com outros micro-organismos (WEARN et al., 2012; DASTOGEER et al., 2020) poderiam explicar a possível dissimilaridade entre a composição da comunidade dos endófitos nas plantas presentes no sistema cabruca. O estudo de Sun et al. (2012), a partir do isolamento de endófitos fúngicos em três espécies de plantas, demonstraram que o hospedeiro e o tecido do vegetal influenciaram na composição da comunidade de fungos. De acordo com Liu et al. (2019), a identidade do hospedeiro pode ser determinante para compreender a estrutura da comunidade desses endófitos.

Cariniana legalis, *G. macrophylla* e *P. echinata* abrigam uma comunidade de fungos endofíticos expressiva na qual táxons foram exclusivos de um único hospedeiro. De acordo com Baldrian (2017) as espécies arbóreas têm uma grande influência na composição das comunidades fúngicas e muitos grupos de fungos estão particularmente relacionados a certas espécies de árvores. Neste estudo, *N. lacticolonía* foi encontrada em folhas de *G. macrophylla* constituindo o primeiro registro da espécie como endófito em um novo hospedeiro botânico e sua primeira ocorrência registrada nos Neotrópicos. Além disso, é o primeiro estudo de fungos endofíticos isolados a partir de folhas de *G. macrophylla*. A análise filogenética demonstrou que a comunidade de fungos endofíticos presentes em árvores de sombra no sistema cabruca é composta principalmente por isolados do filo Ascomycota, no qual as ordens Glomerellales, Amphispheeriales e Diaporthales foram dominantes.

A predominância do filo Ascomycota observada neste estudo também foi registrada por Wemheuer et al. (2020) em folhas de *T. cacao* em agroflorestas na região central de Camarões e tem sido constatada na maioria dos estudos sobre a microbiota endófito de florestas tropicais (MAULANA et al., 2018; PÁDUA et al., 2019). Glomerellales, bem representada nos três

hospedeiros estudados é igualmente relatada em estudos sobre fungos endófitos (TAN et al., 2012; PÁDUA et al., 2019; CHEN et al., 2020; SILVA et al., 2020). Alguns gêneros encontrados neste estudo foram específicos de uma única espécie vegetal e sobre isto, Terhonen et al. (2019) afirmam que vários fungos endófitos apresentam um certo nível de especificidade ao hospedeiro. Em regiões de agroflorestas produtoras de cacau, Eurotiales, Hypocreales e Botryosphaeriales são grupos dominantes em folhas do cacauzeiro, embora sua população varie entre os locais estudados. A partir de análises funcionais acredita-se que alguns fungos endofíticos possam prevalecer em agroflorestas, mas as diferentes práticas de manejo e as características ambientais influenciam na composição dessas comunidades (WEMHEUER et al., 2020).

Gêneros com muitos isolados e outros com poucos também foram relatados por Melo (2019) em folhas de *Guapira nitida* e *Nectranda* sp. em área de Mata Atlântica. Plantas nativas hospedam muitas espécies de *Colletotrichum*, essas espécies podem se adaptar às plantas de interesse econômico cultivadas em agroflorestas. Wemheuer et al. (2020) reportaram a ocorrência de *C. hymenocallidis* em folhas de *T. cacao* em sistemas agrofloretais, do mesmo modo que *Colletotrichum* spp. foram também isoladas de folhas de *Coffea arabica* em agroflorestas no México (SAUCEDO-GARCÍA et al., 2014). Além disso, espécies de *Colletotrichum* são frequentemente relatadas como endófito em plantas de interesse econômico, a exemplo do sorgo (SILVA, 2016), soja (LEITE et al., 2013), café (SANTAMARÍA; BAYMAN, 2005) e laranja (ARAÚJO et al., 2001). Lima e Cavalcanti (2014) descreveram isolados de *Colletotrichum* como endófitos em folhas de *P. echinata*. Em *Carapichea ipecacuanha*, em um fragmento de Mata Atlântica, 61% dos isolados endofíticos obtidos foram de *Colletotrichum* (FERREIRA et al., 2020). Inúmeras espécies de *Colletotrichum* são patogênicas a muitas plantas cultivadas (CARVALHO et al., 2016; CHAVES, 2018), inclusive em cacauzeiro (ROJAS et al., 2010; SERRATO-DIAZ et al., 2020). A necrose foliar de *C. legalis* em área de Mata Atlântica é causada por uma espécie de *Colletotrichum* (SOUZA et al., 2018). Acredita-se que espécies de *Colletotrichum*, assim como de outros fungos, possam se comportar como endófitas ou como fitopatógenas dependendo de fatores intrínsecos ou extrínsecos às plantas (PHOTITA et al., 2004).

Diaporthe, *Neopestalotiopsis*, *Pseudopestalotiopsis*, *Lasiodiplodia* e *Xylaria* representam outros grupos mais frequentemente isolados neste estudo, de comum ocorrência em plantas de regiões tropicais e comumente isolados como fungos endofíticos (COSTA et al., 2012; SINGH et al., 2017; COUTINHO et al., 2017; TIBPROMMA et al., 2018; GIOIA et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2021). A maioria dos isolados de *Diaporthe* encontrados neste trabalho

ocorreram em folhas de *G. macrophylla*, sendo este gênero responsável pelo maior número de espécies obtidas no estudo. *Diaporthe* apresenta espécies de hábito endofítico, sapróbio e patogênico em diversos hospedeiros (GOMES et al., 2013; LAWRENCE et al., 2015; GAO et al., 2016; GUARNACCIA; CROUS, 2017; YANG et al., 2020). De acordo com Ferreira et al. (2020), *Diaporthe* foi um dos grupos dominantes em tecidos saudáveis de *C. ipecacuanha* em área de Mata Atlântica. Novas espécies de *Diaporthe* têm sido descritas como endófitas em florestas tropicais, a exemplo de *D. myracrodruonis* (SILVA et al., 2019a) no Brasil e *D. pandanicola* na Tailândia (TIBPROMMA et al., 2018). Espécies deste gênero são frequentemente relatadas causando doenças em plantas de interesse econômico (THOMPSON et al., 2011; UDAYANGA et al., 2015; DÍAZ et al., 2017). Recentemente, quatro novas espécies patogênicas foram descritas em pomares de macadâmia na Austrália e na África do Sul, encontradas causando podridão de casca (WRONA et al., 2020).

Os endófitos pertencentes a *Lasiodiplodia* e *Colletotrichum*, dentre outros fungos endofíticos encontrados nas espécies arbóreas deste estudo, são também encontrados como patógenos do cacau (SERRATO-DIAZ et al., 2020). Em áreas de agroflorestas, os endófitos fúngicos *L. brasiliensis* e *C. hymenocallidis* foram isolados a partir de folhas do cacau, no entanto, estes mesmos fungos são patógenos latentes, visto que folhas de *T. cacao* não apresentavam nenhum sintoma de doença (WEMHEUER et al., 2020). Segundo Terhonen et al. (2019), a diversidade de endófitos no ecossistema florestal pode desempenhar um papel extremamente importante que confere mais do que apenas benefícios para o indivíduo, como melhora a adaptabilidade do ecossistema da floresta. Baldrian (2017) afirma que a identidade das espécies arbóreas influencia grande parte do microbioma encontrado na floresta o qual afeta a composição da comunidade de bactérias e fungos, bem como o desempenho microbiano no solo e serrapilheira.

É importante conhecer a comunidade de fungos endofíticos em árvores que estão vivendo no mesmo ambiente que o cultivo do cacau, principalmente devido a estudos terem demonstrado a importância dos micro-organismos em diferentes sistemas agroflorestais. Análises metagenômicas em agroflorestas demonstram que a abundância microbiana do solo no consórcio de *Canna* sp. e seringueira (*Hevea brasiliensis*) é maior que no solo onde não existe *Canna* sp. (EFFENDI et al., 2020). Além disso, em solo cultivado com café (*C. arabica*) à sombra de árvores frutíferas e de espécies florestais ocorreu grande adição de matéria orgânica ao solo, contribuindo para manter o alto teor de carbono e fertilidade, bem como a atividade microbiana do solo (NOTARO et al., 2014). O consórcio cafeeiro-araucária proporcionou maior acúmulo de matéria orgânica no solo, bem como maior formação de micorrizas em plantações

de café (MELLONI et al., 2018). Relacionado às bactérias, bananeiras (*Musa* spp.) cultivadas sob condições agroflorestais apresentaram aumento de bactérias endofíticas como *Pseudomonas* e *Stenotrophomonas*, potencialmente benéficas para as plantas por atuarem na promoção do crescimento, bem como na proteção contra possíveis estresses. Em contraste com bananeiras cultivadas fora de um sistema agroflorestal observou-se um aumento significativo de *Erwinia* spp., um patógeno vegetal de *Musa* spp. nas áreas sem a presença do sombreamento (Koberl et al., 2015).

Partindo do princípio de que os vegetais estudados estão relacionados com o cacaueteiro, no presente estudo foram isoladas algumas espécies de fungos endofíticos que já foram previamente relatadas no uso de biocontrole de pragas nessa cultura. Segundo MEJÍA et al. (2008), a partir de folhas saudáveis do cacaueteiro, o endófito *C. gloeosporioides* apresentou uma diminuição significativa de frutos com sintomas da podridão negra causada pelo patógeno *Phytophthora palmivora*. Cepas de *L. theobromae*, também isoladas de tecidos saudáveis de *T. cacao*, foram relatadas inibindo o crescimento de *Moniliophthora* spp., atuando como micoparasita (VILLAVICENCIO-VÁSQUEZ et al., 2018). Da mesma forma, Arnold et al. (2003), a partir de uma combinação de espécies endofíticas obteve a diminuição da necrose e mortalidade de folhas causada por *Phytophthora* sp. em mudas de *T. cacao*. Todavia, o uso desses endófitos para o biocontrole requer mais estudos, visto que são comumente relatados como fitopatógenos (MEJÍA et al., 2008). Outros autores reportam o potencial biocontrolador de fungos endofíticos contra patógenos ao cacaueteiro (RUBINI et al., 2005; MAKI, 2006; HOYOS, 2008; HANADA et al., 2010; VILLAMIZAR-GALLARDO et al., 2017; ASMAN et al., 2018). Sob o aspecto molecular, Mejía et al. (2014), a partir da inoculação de folhas de *T. cacao* com o endófito *C. tropicale*, ampliou a expressão de genes do hospedeiro, responsáveis pela resistência das plantas contra o ataque de patógenos.

Estudos futuros deverão elucidar os fatores que influenciam a estrutura da comunidade de fungos endofíticos, bem como sua utilização para o biocontrole de pragas e doenças. Ressalta-se a importância do sistema agroflorestal cabruca para a conservação dos remanescentes florestais de Mata Atlântica, e a necessidade de estudos sobre as comunidades microbianas de árvores florestais associadas a endosfera. A pesquisa bibliográfica realizada neste trabalho revelou uma carência de estudos específicos sobre fungos endofíticos em sistemas agroflorestais.

6 CONCLUSÕES

O estudo mostrou a existência de espécies de fungos endófitos que são generalistas e outras que são específicas quanto aos hospedeiros. Revelou também a ocorrência de fungos fitopatogênicos vivendo como endófitos avirulentos em árvores de sombra do cacauzeiro. Essas espécies podem ser utilizadas futuramente como agentes de biocontrole e promoção de crescimento. A pesquisa contribuiu para ampliar o conhecimento da distribuição geográfica de *N. laticolonia* e para mostrar um padrão populacional de fungos endófitos na Mata Atlântica além de gerar subsídios para futuros estudos.

REFERÊNCIAS

- AAMIR, M. et al. Endophytic actinomycetes in bioactive compounds production and plant defense system. In: **Microbial Endophytes**. Woodhead Publishing, p. 189-229, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818734-0.00009-7>
- AGNELLO, S. **Composição, estrutura e comunidade de aves da Mata Atlântica no Parque Estadual da Serra do Mar, núcleo Cubatã, São Paulo**. 2007. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Recursos Florestais, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- ALEIXO, A. M. F. **Biodiversidade de fungos endofíticos em *Halimione portulacoides***. 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, A Universidade de Aveiro, Aveiro, 2013.
- ARNOLD, A. E. et al. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse?. **Ecology letters**, v. 3, n. 4, p. 267-274, 2000. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2000.00159.x>.
- ARNOLD, A.E. et al. Os endófitos fúngicos limitam os danos do patógeno em uma árvore tropical. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 26, p. 15649-15654, 2003. doi:10.1073/pnas.2533483100.
- AMATUZZI, R. F. et al. Fungos endofíticos para o biocontrole de *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae). **Brazilian Journal of Biology**. 2018, vol.78, n.3, pp.429-435. ISSN 1678-4375. 2018. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.166681>.
- AMORIM, A. O. et al. Controle de Patógenos do Cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) por fungos Endofíticos dos gêneros *Trichoderma* e *Clonostachys*. **Revista Uningá Review**, [S.l.], v. 34, n. 1, p. 1-10, mar. 2019. ISSN 2178-2571. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/3139>>. Acesso em: 05 abr. 2021.
- ARAÚJO, W.L. et al. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian journal of Microbiology**, vol. 47, p. 229- 236. 2001. doi: 10.1139/w00-146
- ARAÚJO, W. L. et al. **Manual: isolamento de microrganismos endofíticos**. [S.l: s.n.], 2002.
- ASMAN, A. et al. Endophytic fungi associated with cacao branch and their potential for biocontrol vascular streak dieback disease on cacao seedling. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2018. p. 012039.
- ASSUNÇÃO, M. M. C. **Fungos endofíticos isolados de folhas de bananeira (*Musa* spp.) e seleção de antagonistas a fitopatógenos dessa cultura**. 173f. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2010.
- ATANGANA, A. et al. **Tropical Agroforestry**. Netherlands: Springer, 2014. 340p.

- AVESKAMP, M. M. et al. Highlights of the Didymellaceae: a polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera. **Studies in mycology**, v. 65, p. 1-60, 2010.
- AZEVEDO, J. L. et al. Microrganismos endofíticos. Ecologia microbiana. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 117-137, 1998.
- AZEVEDO, J.L. et.al. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 40-65, 2000.
- BAMISILE, B. S. et al. Prospects of endophytic fungal entomopathogens as biocontrol and plant growth promoting agents: An insight on how artificial inoculation methods affect endophytic colonization of host plants. **Microbiological research**, v. 217, p. 34-50, 2018.
- BANERJEE, D. Endophytic Fungal Diversity in Tropical and Subtropical Plants. **Research Journal of Microbiology**. v. 6. p. 54-62. 2011. doi:10.3923/jm.2011.54.62.
- BARELLI, L. et al. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. **Plant molecular biology**, v. 90, n. 6, p. 657-664, 2016. doi:10.1007/s11103-015-0413-z
- BARROS, N. O. 1981. **Cacao**. Bogotá, Instituto Colombiano Agropecuario. 286 p. Manual de assistência técnica n ° 23.
- BASTIDAS, A. 1953. Pathogenicidad de *Monilia* sp. en *Theobroma cacao* L. en Colombia 2z 139-154.
- BEECH, E. et al. GlobalTreeSearch: The first complete global database of tree species and country distributions. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 36, n. 5, p. 454-489, 2017. doi:10.1080/10549811.2017.1310049
- BENSCH, K. et al. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales) **Studies in Mycology**, v. 67, n. 1, p. 1-94, 2010.
- BENSCH, K. et al. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology**, v. 72, p. 1-401, 2012. doi: <https://doi.org/10.3114/sim0003>.
- BEZERRA, J. D. P. et al. Bezerromycetales and Wiesneriomycetales ord. nov. (class Dothideomycetes), with two novel genera to accommodate endophytic fungi from Brazilian cactus. **Mycological Progress**, v.16, n. 4, p. 297–309. 2017. <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1254-0>
- BEZERRA, J. D. P. et al. *Pseudoplagiostoma myracrodruonis* (Pseudoplagiostomataceae, Diaporthales): a new endophytic species from Brazil. **Mycological Progress**, v. 18, n. 11, p. 1329-1339, 2019a. <https://doi.org/10.1007/s11557-019-01531-0>
- BEZERRA, J. D. P. et al. The Explosion of Brazilian Endophytic Fungal Diversity: Taxonomy and Biotechnological Potentials. In: SATYANARAYANA, Tulasi; DESHMUKH, Sunil Kumar; DESHPANDE, Mukund V. **Advancing Frontiers in Mycology e Mycotechnology: basic and applied aspects of fungi**, Singapore: Springer, 2019b. p. 685.

BONFIM, J. A. et al. Dark septate endophytic fungi of native plants along an altitudinal gradient in the Brazilian Atlantic forest. **Fungal Ecology**, v. 20, p. 202-210, 2016.

BALDRIAN, P. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 2, p. 109-130, 2017. doi: 10.1093/femsre/fuw040

BRAINER, M. S. C. P. **Produção de cacau**. Fortaleza: Caderno Setorial Etene. p. 23. 2021. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482dspace/bitstream/123456789/650/3/2021_CDS_149.pdf. Acesso em: 06 abr. 2020

BRANINE, M.; BAZZICALUPO, A. BRANCO, S. Biology and applications of endophytic insect-pathogenic fungi. **PLoS Pathogens** v. 15, n. 7, p. e1007831, 2019.

BRASIER, C. M.; GRIFFIN, M. J. Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cacao. Transactions of the british. **Mycological Society**, v. 72, n. 1, p. 111-143. 1979. doi: [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(79\)80015-7](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(79)80015-7).

BRITON-JONES, H. R. **The diseases and curing of Cacao**. Macmillan: London. 1934.

CAMPOS-FILHO, E. M.; SARTORELLI, P. A. R. **Guia de árvores com valor econômico**. São Paulo: Agroicone, 2015.

CAMPOS, F. F. et al. Bioactive endophytic fungi isolated from *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood) and identification of beauvericin as a trypanocidal metabolite from *Fusarium* sp. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 1, p. 65-74, 2015. doi: 10.1590/0074-02760140243.

CANNON P. F.; SIMMONS C.M. Diversity and host preference of leaf endophytic fungi in the Iwokrama Forest Reserve, Guyana. **Mycologia**. v. 94, n. 2, p. 210-220, 2002. doi: <https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833226>

CARROLL, G. C. Fungal endophytes in stem and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. **Ecology**. n.69, p. 2–9. 1986.

CARVALHO, P. E. R. Jequitibá-rosa. Circular Técnica. **Embrapa Florestas**. Colombo PR. n 107, 10 p., 2005.

CARVALHO, B. M. **Infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em folhas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims)**. 2016. 59 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, 2016.

CASSANO, C. R. et al. Landscape and farm scale management to enhance biodiversity conservation in the cocoa producing region of southern Bahia, Brazil. **Biodiversity Conservation**, v. 18, p. 577-603, 2009. doi: 10.1007/s10531-008-9526-x.

CHAUHAN, N. M.; GUTAMA, A. D.; AYSA, A. Endophytic fungal diversity isolated from different agro-ecosystem of Enset (*Ensete ventericosum*) in Gedeo zone, SNNPRS,

Ethiopia. **BMC microbiology**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2019. doi: <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1547-y>

CHAVES, T. P. **Caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas a flores tropicais no Estado de Alagoas**. 2018. 48 f. Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2018.

CHEN, J. et al. Fungal Endophyte Communities of Crucifer Crops Are Seasonally Dynamic and Structured by Plant Identity, Plant Tissue and Environmental Factors. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1519, 2020. doi:10.3389/fmicb.2020.01519

CNCFLORA. *Caesalpinia echinata* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2. Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Caesalpinia echinata](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Caesalpinia%20echinata). Acesso em: 20 abril 2020.

CNCFLORA. *Cariniana legalis* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cariniana legalis](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cariniana%20legalis). Acesso em 6 abril 2021.

COLLI-SILVA, M.; PIRANI, J.R. 2020. ***Theobroma* in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB23618>. Acesso em: 04 abr. 2021

COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA (Brasil). **Atlas de bolso do cacau**. Itabuna: CEPLAC, p.32. 1982.

CORREIA, A. M. L. *et al.* Fungal endophyte communities in Begonia species from the Brazilian Atlantic Rainforest. **Current Microbiology**, Heidelberg, v. 75, n. 4, p. 441-449, 2018. doi: 10.1007/s00284-017-1400-1.

COSTA, I. P. M.; MAIA, L. C.; CAVALCANTI, M. Diversity of leaf endophytic fungi in mangrove plants of Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v. 43, n. 3, p. 1165-1173. 2012. doi: 10.1590/S1517-83822012000300044.

COSTA, E. C. **Bioprospecção de fungos endofíticos potencialmente produtores de enzimas lipolíticas aplicáveis na área de alimentos**. p. 97. 2016. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. 2016.

COTA, B. B. et al. Leishmanicidal compounds of *Nectria pseudotrichia*, an endophytic fungus isolated from the plant *Caesalpinia echinata* (Brazilwood). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. v. 113, n. 2, p. 102-110, 2018. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762018000200102&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 06 abril 2021. doi: <https://doi.org/10.1590/0074-02760170217>.

COUTINHO, I. B. L. et al. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. **Plant Pathology**, v. 66, n. 1, p. 90-104, 2017. doi:10.1111/ppa.12565

CROUS, P. W. et al. Fungal Planet description sheets: 625–715. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 39, p. 625-715, 2017.
doi: 10.3767/persoonia.2017.39.11.

CROUS, P. W., BRAUN, U., SCHUBERT, K. The genus *Cladosporium* and similar Dematiaceous hyphomycetes. **Studies in Mycology**. CBS, Central bureau voor Schimmel cultures, 2007.

DABAJA, M. Z. et al. Avaliação da atividade enzimática de fungo endofítico isolado de *Annona crassiflora* (marolo) com interesse biotecnológico. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v.17, n. 1, p. 1-10, 2019.

D'AGOSTINI, S. et al. Ciclo econômico do pau-brasil - *Caesalpinia echinata* Lam. 1785. **Páginas do Instituto Biológico**, São Paulo, v.9, n.1, p. 15-30, 2013.

DANTAS, P. V. P. **Prospecção biotecnológica de fungos endofíticos de bambu (*Bambusa vulgaris*) micropropagado na produção de enzimas e atividade antimicrobiana**. Vitória de Santo Antão, 2017. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco. 2017.

DASTOGEER, K. et al. Host Specificity of Endophytic Fungi from Stem Tissue of Nature Farming Tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) in Japan. **Agronomy**, v.10, n.7, p. 1019, 2020. doi: 10.3390/agronomy10071019.

DÍAZ, G. A. et al. Identification and Characterization of *Diaporthe ambigua*, *D. australafricana*, *D. novem*, and *D. rudis* Causing a Postharvest Fruit Rot in Kiwifruit. **Plant disease**, v. 101, n. 8, p. 1402-1410, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1535-RE>.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**. 2nd Ed. Eching Germany. IHW-Verlag. 2007.

DUMONT, E. S. et al. Farmers in Côte d'Ivoire value integrating tree diversity in cocoa for the provision of ecosystem services. **Agroforestry Systems**, v. 88, n.6, p.1047-1066, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9679-4>

DUTTA, D; et al. Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 57 n.5, p. 621-629, 2014.

EMECHEBE, A. M.; LEAKEY, C. L. A.; BANAGE, W. B. *Verticillium* wilt of cacao in Uganda: symptoms and establishment of pathogenicity. **Annals of Applied Biology**, v. 69, n. 3, p. 223-227, 1971. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1971.tb04674.x>.

ESSER, L. F.; SARAIVA, D. D.; JARENKOW, J. A. Future uncertainties for the distribution and conservation of *Paubrasilia echinata* under climate change. **Acta Botanica Brasilica** Belo Horizonte, v. 33, n. 4, p. 770-776, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0102-33062019abb0173>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062019000400770&lng=en&nrm=iso. Acesso: 06 abril 2021.

EFFENDI, Y. et al. Metagenomics analysis of soil microbial communities in plant agroforestry system rubber tree (*Hevea brasiliensis*) - Ganyong (*Canna* sp.). **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 468: 012045, 2020. doi:10.1088/1755-1315/468/1/012045

FADINI, R. F.; DE MARCO, M. Interações entre aves frugívoras e plantas em um fragmento de mata atlântica de Minas Gerais. **Ararajuba**, v. 12, n. 2, p. 97-103, 2004. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/68023>. Acesso em: 7 de ago. 2020.

FADIJI, A. E.; BABALOLA, O. O. Exploring the potentialities of beneficial endophytes for improved plant growth. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 12, p. 3622, 2020. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.08.002

FAOSTAT - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Data production and trade. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/>. Acesso em: 20 ago. 2020.

FERNANDES, E. G. et al. Diversity of endophytic fungi in *Glycine max*. **Microbiological Research**, v.181, p. 84-92. 2015. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.010>

FERREIRA, M. C.; DE ASSIS, J. C. S.; ROSA, L. H. Diversity of endophytic fungi associated with *Carapichea ipecacuanha* from a native fragment of the Atlantic Rain Forest. **South African Journal of Botany**, v. 134, p. 225-229, 2020. doi:10.1016/j.sajb.2019.12.031

FLORES, T. B. Meliaceae in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB9997>. Acesso em: 23 abr. 2020.

GAGNON, E. et al. A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). **PhytoKeys**. n. 71, p.1, 2016. doi:10.3897/phytokeys.71.9203.

GAGNON, E.; LEWIS, G. P.; LIMA, H.C. 2020. *Paubrasilia*. **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB602728>. Acesso em: 06 abril 2021.

GAMA-RODRIGUES, E. F. et al. Carbon storage in soil size fractions under two cacao agroforestry systems in Bahia, Brazil. **Environmental management**, v. 45, n. 2, p. 274-283, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s00267-009-9420-7>.

GAUTAM, A. K.; SINGH, A. K.; CHOUDHARY, K.K. Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology || Fungal endophytes: potential biocontrol agents in agriculture. **Woodhead Publishing**. p. 241–283, 2019. doi:10.1016/B978-0-12-817004-5.00014-2

GIAUQUE, D.; ANDERFUHREN-BIGET, S.; VARONE, F. Stress and turnover intent in international organizations: social support and work life balance as resources. **The International Journal of Human Resources Management**, v. 30, n.5, p. 879-901, 2019. doi: 10.1080/09585192.2016.1254105.

GIOIA, L. et al. A Survey of Endophytic Fungi Associated with High-Risk Plants Imported for Ornamental Purposes. **Agriculture**, v. 10, n. 12, p.643, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/agriculture10120643>.

GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 1323–1330, 1995.

GODINHO, B. T. V. et al. ENDOPHYTIC FUNGI COMMUNITY IN *Eremanthus erythropappus* TREE FROM ANTHROPOGENIC AND NATURAL AREAS OF MINAS GERAIS. **CERNE**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 283-293, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/01047760201925032642>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-77602019000300283&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 4 abril 2021.

GOMES, R. R. et al. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v.31, p. 1, 2013. doi: <https://doi.org/10.3767/003158513X666844>.

GOUDA, S. et al. Endophytes: a treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1538, 2016.

GUARNACCIA, V.; CROUS, P. W. Emerging citrus diseases in Europe caused by species of *Diaporthe*. **IMA fungus**, v. 8, n. 2, p. 317-334, 2017. doi: <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2017.08.02.07>.

GUERBER, J.C.; LIU B.; CORRELL, J.C.; JOHNSTON P.R. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. **Mycologia**, v. 95, n. 5, p. 872-895, 2003.

GAO, Y.; LIU, F.; CAI, L. Unravelling *Diaporthe* species associated with Camellia. **Systematics and Biodiversity** v. 14, n. 1, p. 102–117, 2016. doi: <https://doi.org/10.1080/14772000.2015.1101027>

HALLMANN, J.; SIKORA, R.A. Toxicidade de metabólitos secundários de endófitos de fungos em nematóides parasitas de plantas e fungos patogênicos de plantas transmitidos pelo solo. **European Journal of Plant Pathology**, v.102, n. 2, p. 155-162 1996. <https://doi.org/10.1007/BF01877102>

HANADA, R.E. et al. Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. **Fungal Biology**, v. 114, n. 11-12, p. 901-910, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s12228-008-9014-3>.

HOFFMAN, M.T. et al. Endohyphal Bacterium Enhances Production of Indole-3-Acetic Acid by a Foliar Fungal Endophyte. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, p. e73132, 2013. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073132>

HOYOS, J. M. A. **Utilização de fungos endófitos de cacaueteiro como biocontroladores da vassoura-de-bruxa**. (Tese de Mestrado) Universidade Federal de Lavras, 2008.

HUANG, YY.; MORI, S.A.; PRANCE, G.T. A phylogeny of *Cariniana* (Lecythidaceae) based on morphological and anatomical data. **Brittonia**, v. 60, n.1, p. 69, 2008. doi: <https://doi.org/10.1007/s12228-008-9014-3>

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

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal - PAM**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?=&t=o-que-e>. Acesso: 24 dez. 2020.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola - Lavoura Permanente**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/pesquisa/15/11895?tipo=ranking&indicador=11897&ano=2019>. Acesso em: 25 ago. 2020.

INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION. **Production of cocoa beans**. Disponível em: <https://www.icco.org/>. Acesso em: 25 ago. 2020.

ISHIZAWA, T. A. **Microrganismos endofíticos e associados de melancia e aplicação biotecnológica**. 2017. 111f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Gurupi, 2017.

IUCN (2012) INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE. **Red List of Threatened Species**. Version 2012.1. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: set. 2020.

JABER, L. R.; ENKERLI, J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biological control**, New York, v. 103, p. 187-195, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008>.

JIA, M.; et al. A Friendly Relationship between Endophytic Fungi and Medicinal Plants: A Systematic Review. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 906, 2016. doi: [10.3389/fmicb.2016.00906](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00906).

JOLY, C.A.; et al. **1º Diagnóstico Brasileiro de Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos**. Editora Cubo, São Carlos, 2019. doi: <https://doi.org/10.4322/978-85-60064-88-5>

KHAN, A.L. et al. Role of endophyte *Chaetomium globosum* LK4 in growth of *Capsicum annuum* by production of gibberellins and indole acetic acid. **Pakistan Journal Botany**, v. 44, n. 5, p. 1601-1607, 2012.

KHAN, A.R. et al. Plant growth-promoting potential of endophytic fungi isolated from *Solanum nigrum* leaves. **World Journal of 50 Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 9, p. 1461–1466, 2015. doi: [10.1007/s11274-015-1888-0](https://doi.org/10.1007/s11274-015-1888-0).

KOBERL, M. Agroforestry leads to shifts within the gammaproteobacterial microbiome of banana plants cultivated in Central America. **Frontiers in Microbiology**, v. 6: 91, 2015 doi:10.3389/fmicb.2015.00091

KISS, L. Limites das sequências do espaçador transcrito interno do DNA ribossômico nuclear (ITS) como códigos de barras das espécies para Fungos. **Proceedings of the National Academy of Sciences dos Estados Unidos da América**. v. 109 n. 27, p. E1811 – E1812. 2012. <https://doi.org/10.1073/pnas.1207143109>

KRINGS, M. et al. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. **New Phytologist**, v. 174, n. 3, p. 648-657, 2007. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02008.x

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in bioinformatics**, v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia-volume 2. 3 ed.** São Paulo-SP. 1997.

KONDRAT, H. **Dinâmica da comunidade vegetal de remanescente da Mata Atlântica na região metropolitana de São Paulo.** (Dissertação de Mestrado). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 2014.

KOZYROVSKA, N. et al. Novel inoculants for an environmentally friendly crop production. **Resources, conservation and recycling**, v. 18, n. 1-4, p. 79-85, 1996.

KALLUNKI, J. A. *Andreodoxa flava* (Rutaceae, Cuspariinae), a new genus and species from Bahia, Brazil. **Brittonia**, v. 50, n. 1, p. 59-62, 1998.

KUMAR, S.; STECHER G.; TAMURA K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-4, 2016. doi: 10.1093/molbev/msw054. Epub 2016 Mar 22.

LAGO, J. H. G. et al. Volatile oil from *Guarea macrophylla* ssp. tuberculata: Seasonal variation and electroantennographic detection by *Hypsipyla grandella*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 589- 594, 2006

LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. Estudo fitoquímico da madeira de *Guarea macrophylla* (Meliaceae). **Química Nova**. 2009, vol. 32, n.9, p. 2351-2354, 2009. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000900022>.

LAWRENCE, D.P.; TRAVADON, R.; BAUMGARTNER, K. Diversity of *Diaporthe* species associated with wood cankers of fruit and nut crops in northern California. **Mycologia**, v.107, n.5, p. 926-940, 2015. doi: <https://doi.org/10.3852/14-353>.

LEITE, L. **Estudo de Competitividade do Cacau e Chocolate no Brasil: Desafios na Produção e Comércio Global.** Brasília: Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços, 2018.

LEITE, R. M. O. et al. Relações entre a floração e a frutificação do cacauero. Ilhéus, BA, **Revista Agrotrópica**, v. 2, n. 12, p. 75-84. 2000

LEITE, T. S. et al. Novel and highly diverse fungal endophytes in soybean revealed by the consortium of two different techniques. **Journal of Microbiology**, v. 51, p. 56-69, 2013.

LI, H. M. et al. Expression of a novel endophytic fungal chitinase in the infected host grass. **Mycologia** v. 96, n. 3, p. 526-536, 2004. doi: <https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832951>.

LI, W. et al. Anti-phytopathogen, multi-target acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of metabolites from endophytic *Chaetomium globosum*. **Natural product research**, v. 30, n. 22, p. 2616-2619, 2016. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1129328>.

LIANG, H. et al. Antimicrobial activities of endophytic fungi isolated from *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae). **BMC complementary and alternative medicine**, v. 12, n. 1, p. 1-6, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-238>

LIMA, H. C.; LEWIS, G. P.; BUENO, E. **Pau-Brasil**. In: Bueno E et al (ed) Paubrasil: uma biografia. Axis Mundi, São Paulo, p. 39-76, 2002.

LIMA, T. E. F.; CAVALCANTI, M.S. Endophytes and phylloplane fungi of *Caesalpinia echinata* Lam. of estação ecológica de Tapacurá, PE. **Agrotrópica**, v. 26, n. 1, p. 43-50, 2014.

LIU, J. et al. Host identity and phylogeny shape the foliar endophytic fungal assemblages of Ficus. **Ecology and Evolution**, v.9, n. 18, p. 10472-10482, 2019. doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.5568>.

LOBÃO, D. E.; SETENTA, W. C.; VALLE, R. R. Sistema agrossilvicultural cacauero-modelo de agricultura sustentável. **Agrossilvicultura**, Viosa, v. 1, n. 2, p. 163-173, 2004

LOBÃO, D. E. **Agroecossistema Cacauero da Bahia: cacau-cabruca e fragmentos florestais na conservação de espécies arbóreas**. Tese Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo. p. 98. 2007.

LOBÃO, D. E.; VALERI, S. V. Sistema cacau-cabruca: conservação de espécies arbóreas da floresta atlântica. **Agrotrópica**, Ilhéus, v. 21, n. 1, p. 43-54, 2009.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, v. 1, p. 368, 2006.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Plantarum, v.1, p.135, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 544, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2009. v. 2 384 p. il. color.

LU, H. et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. **Plant Science**, v. 151, n. 1, p.67–73, 2000. doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00199-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00199-5).

MELLONI, R. et al. Sistemas agroflorestais cafeeiro-araucária e seu efeito na microbiota do solo e seus processos. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 2, p. 784-795, 2018. doi.org/10.5902/1980509832392.

MACEDO, T. M. et. al. Intraspecific variation of *Paubrasilia echinata* (Fabaceae) wood along a latitudinal gradient in Brazil. **Flora**, v. 258, p. 151437, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151437>.

MACEDO, R. L. G. **Fundamentos básicos para implantação e manejo de sistemas agroflorestais**. In: MACEDO, R. L. G. Princípios básicos para o manejo sustentável de sistemas agroflorestais. Lavras: UFLA/Faepe, p.5-35, 2000.

MACHADO, M. A. B. L. **Isolamento, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae - caesalpinioideae)**. 2009. 126 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) - Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2009.

MACIEL, T. **Testes com pau-brasil são favoráveis na luta contra o câncer**. **Agência de Notícias**. Universidade Federal de Pernambuco, 2005.

MAIA, L. C. et al. Diversity of Brazilian Fungi. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 1033-45, 2015. doi:10.1590/2175-7860201566407

MAKI, C. S. **Diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos de cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 2006. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006. doi:10.11606/T.11.2006.tde-06042006-172002. Acesso em: 05 abril 2021.

MAULANA, A. F. et al. Isolation of endophytic fungi from tropical forest in Indonesia. **Symbiosis**, v. 76, n. 2, p. 151-162, 2018. doi:10.1007/s13199-018-0542-7

MEJÍA, L.C. et al. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. **Biological Control**, v. 46, n. 1, p. 4-14, 2008. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.01.012.

MEJÍA, L.C. *et al.* Pervasive effects of a dominant foliar endophytic fungus on host genetic and phenotypic expression in a tropical tree. **Frontiers Microbiology** v. 5:479, 2014.

MELO, M. A. C. **Fungos endofíticos em duas espécies de remanescentes de mata atlântica (*Guapira nitida* e *Nectandra* sp.) localizadas em sistema agroflorestal cabruca no sul da Bahia, Brasil**. 2019. (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 49f. 2019

MILNE, I. et al. 2004. TOPALi: Software for Automatic Identification of Recombinant Sequences within DNA Multiple Alignments. **Bioinformatics**, v. 20, n. 11, p. 1806-1807, 2004.

MOREIRA, R. L. **Fungos endofíticos e epifíticos associados às folhas de cacaueteiro**. 2014. 47 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/120079>.

NAIR, D. N.; PADMAVATHY, S. Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. **The Scientific World Journal**, 2014. doi:10.1155/2014/250693.

MARINA, M. A. et al. The Plant Growth-Promoting Fungus *Aspergillus Ustus* Promotes Growth and Induces Resistance Against Different Lifestyle Pathogens in Arabidopsis Thaliana. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 7, p. 686–696, 2011. doi:10.4014/jmb.1101.01012.

NASCIMENTO, T. L. **Diversidade de fungos endofíticos de aceroleira, potencial antagônico frente ao agente da antracnose e caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum spp.*** 2014. 124 folhas, Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biologia de Fungos, 2014.

NOTARO, K. A. et al. Agroforestry systems, nutrients in litter and microbial activity in soils cultivated with coffee at high altitude. **Scientia Agricola. (Piracicaba, Braz.)**, Piracicaba, v. 71, n. 2, p. 87-95, 2014. doi.org/10.1590/S0103-90162014000200001

NOTARO, M.; GARY, C.; DEHEUVELS, O. Plant diversity and density in cocoa-based agroforestry systems: how farmers' income is affected in the Dominican Republic. **Agroforestry Systems**, v. 94, n. 3, p. 1071-1084, 2020. doi: 10.1007/s10457-019-00472-7.

OLIVEIRA, M.L. Podridão negra da raiz do cacaueteiro causada por *Rosellinia sp.* no Brasil. **Agrotrópica**, v. 4, p. 21-26, 1992.

OLIVEIRA, M. L. Podridão vermelha da raiz do cacaueteiro causada por *Ganoderma philippii*. **Agrotrópica**, v.5, p 13-18, 1993.

OLIVEIRA, R. M. et al. IMPORTÂNCIA DO SISTEMA AGROFLORESTAL CABRUCO PARA A CONSERVAÇÃO FLORESTAL DA REGIÃO CACAUEIRA, SUL DA BAHIA, BRASIL. **Revista Geográfica de América Central**, vol. 2, p. 1-12, 2011. Universidad Nacional Heredia, Costa Rica. 2011.

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E.D.M.N. Principais doenças do cacaueteiro e seu manejo. In **Ciência Tecnologia e Manejo do Cacaueteiro**. Ed. R.R. VALLE. 2. ed. Comissão executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC). Itabuna. 2012. 688 p.

OLIVEIRA, R. J. V. et al. *Cladosporium* species from hypersaline environments as endophytes in leaves of *Cocos nucifera* and *Vitis labrusca*. **Mycotaxon**, v. 129, n.1, p. 25–31. 2014a.

- OLIVEIRA, R. J.V. et al. Endophytic fungal diversity in coffee leaves (*Coffea arabica*) cultivated using organic and conventional crop management systems. **Mycosphere**, v. 5, n. 4, p. 523–530, 2014b.
- OLIVEIRA, S. F. et al. Endophytic and mycorrhizal fungi associated with roots of endangered native orchids from the Atlantic Forest, Brazil. **Mycorrhiza**, v. 24, n. 1, p. 55-64, 2013. doi:10.1007/s00572-013-0512-0.
- OLIVEIRA, R. J. V. et al. *Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 103, n. 1, p. 185–192, 2016. doi:10.1127/nova_hedwigia/2016/0343
- OLIVEIRA, R. J.V, et al. Seasonality affects the community of endophytic fungi in coconut (*Cocos nucifera*) crop leaves. **Acta Botanica Brasilica**, v. 34, n. 4, p. 704-711, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0102-33062020abb0106>.
- PÁDUA, A. P. S. L. et al. Fungal endophyte diversity in the leaves of the medicinal plant *Myracrodruon urundeuva* in a Brazilian dry tropical forest and their capacity to produce L-asparaginase. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, n. 1, p. 39-49, 2019. doi: <https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0108>.
- PAMPHILE, J. A. et al. APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EXTRAÍDOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS: O CASO DO *Colletotrichum* sp. **REVISTA UNINGÁ**, [S.l.], v. 53, n. 1, jul. 2017. ISSN 2318-0579. Disponível em: <http://34.233.57.254/index.php/uninga/article/view/1403>. Acesso em: 6 abr. 2021.
- PANDI, M. et al. Isolation and detection of taxol, an anticancer drug produced from *Lasiodiplodia theobromae*, an endophytic fungus of the medicinal plant *Morinda citrifolia*. **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.8, p.1428-1435, 2011.
- PARSA, S.; ORTIZ, V.; VEJA, F.E. Establishing fungal entomopathogens as endophytes: towards endophytic biological control. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 74, 2013. doi: 10.3791/50360.
- PHOTITA, W.; et al. Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens? **Fungal Diversity**, v. n.16, p. 131-140, 2004.
- PEREIRA, J. O.; VIEIRA, M.L.C.; AZEVEDO, J. L. Endophytic fungi from *Musa acuminata* and their reintroduction into axenic plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 37-40, 1999. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1008859823806>.
- PETRINI, O. Fungal endophyte of tree leaves. **Microbial Ecology of Leaves**. Andrews, J., and Hirano, S.S. (Eds.), SpringerVerlag, New York, p. 179–197. 1991.
- PIASENTIN, F. B.; SAITO, C. H. Os diferentes métodos de cultivo de cacau no sudeste da Bahia, brasil: aspectos históricos e percepções. **Boletim do museu paraense Emílio Goeldi. Ciências humanas**, v. 9, n.1, p. 61-78, 2014. doi: <https://doi.org/10.1590/S1981-81222014000100005>

PIASENTIN, F. B.; SAITO, C.H.; SAMBUICHI, R.H.R. Preferências locais quanto às árvores do sistema cacau cabruca no sudeste da Bahia. **Ambiente & Sociedade**, v. 17, n. 3, p. 55-78, 2014. doi: <https://doi.org/10.1590/S1414-753X2014000300005>.

PIRTTILÄ, A. M. et al. Role of origin and endophyte infection in browning of bud-derived tissue cultures of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 95, n. 1, p. 47-55, 2008. doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9413-x>.

POLLI, A. et al. Aspectos da interação dos microrganismos endofíticos com plantas hospedeiras e sua aplicação no controle biológico de pragas na agricultura. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 2, 2012.

POTSHANGBAM, M. et al. Functional Characterization of Endophytic Fungal Community Associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. **Frontiers in Microbiology**. v. 8, p. 325, 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.00325.

RAJAMANIKYAM, M. et al. Endophytic Fungi as Novel Resources of natural Therapeutics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 60, e17160542, 2017. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160542>.

RÊGO, G. M.; POSSAMAI, E. **Recomposição Florestal: Cultivo do jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*)**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 24, 2001.

RESCK, D. V. S. et al. 1996. **Influência do uso e manejo do solo na produção de CO₂ em diferentes agroecossistemas na região dos cerrados**. Congresso Latino Americano de Ciência do Solo, 13., Águas de Lindóia, 1996. Solo-suelo 96: trabalhos. Piracicaba: SBCS/SLCS. 1996.

REZENDE, C. L. et al. From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. **Perspectives in ecology and conservation**, v. 16, n. 4, p. 208-214, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2018.10.002>.

RIBASKI, J.; MONTOYA VILCAHUAMAN, L. J.; RODIGHERI, H. R. Sistemas agroflorestais: aspectos ambientais e socioeconômicos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, p. 61-67, 2001.

RIBEIRO, M. C. *et al.* The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, Boston, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>

RICHARD, A.; RÆBILD, A. Tree diversity and canopy cover in cocoa systems in Ghana. **New Forests**, v. 47, n. 2, p. 287-302, 2016. doi: <https://doi.org/10.1007/s11056-015-9515-3>.

RIVERA-VARAS, V. V. et al. Mycoparasitism of *Helminthosporium solani* by *Acremonium strictum*. **Phytopathology**, v. 97, n. 10, p. 1331-1337, 2007. doi:10.1094/phyto-97-10-1331.

ROBL, D. et al. The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. **BMC Biotechnology**, v. 13, n. 1, 2013. doi:10.1186/1472-6750-13-94.

- ROCHA, Y. T.; SIMABUKURO, E. A. Estratégias de conservação in situ e ex situ do pau-brasil. **Pau-brasil, da semente à madeira: conhecer para conservar. Instituto de Botânica, São Paulo**, p. 102-113, 2008.
- RODRIGUES, A. A. C; MENEZES, M. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.5, p. 532-537, 2002.
- RODRIGUEZ, R. J. et al. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New phytologist**, v. 182, n. 2, p. 314-330, 2009. 330. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x.
- ROGERS, J. K.; WALKER, N. R.; YOUNG, C. A. The effect of endophytic fungi on nematode populations in summer-dormant and summer-active tall fescue. **Journal of nematology**, v. 48, n. 2, p. 87, 2016. doi: 10.21307/jofnem-2017-013.
- ROJAS, E. I. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panama: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycologia**, v. 102, n. 6, p. 1318-1338, 2010. doi: 10.3852/09-244.
- RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. M. Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003. doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>.
- RORER, J.B. **Enfermedades y plagas del cacao en el Ecuador y metodos modernos apropiados al cultivo del cacao**. Guayaquil, Ecuador: Asociacion de Agricultores. 1918
- RUBINI, M.R. et al. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of, causal agent of Witches' Broom Disease. **International Journal Biological Science**, v. 1, n. 1, p. 24–33, 2005. doi: 10.7150/ijbs.1.24.
- RUF, F; SCHROTH, G. Chocolate forests and monocultures - an historical review of cocoa growing and its conflicting role in tropical deforestation and forest conservation. **Agroforestry and Biodiversity Conservation in Tropical Landscapes**. Washington: Island Press, p. 107-134 2004.
- SAAD, M. M. G; GHAREEB, R. Y.; SAEED, A. A. The potential of endophytic fungi as bio-control agents against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 1-7, 2019. doi:10.1186/s41938-019-0108-x
- SANCHES, G. C. S. **Análise de viabilidade econômica dos principais modais de produção de cacau no Sul da Bahia**: Cabruca e SAF-Cacau Seringueira. 2019. 94 f. Dissertação (Pós-Graduação em Desenvolvimento econômico) – Instituto de Economia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2019.
- SANDHIYA, G. S. et al. Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a diazotrophic *Serratia* sp in rice. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 43, p. 802-807, 2005.

- SAMBUICHI, R. H. R. Fitossociologia e diversidade de espécies arbóreas em cabruca (mata atlântica raleada sobre plantação de cacau) na Região Sul da Bahia, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. São Paulo, v. 16, n. 1, p. 89-101, 2002. doi:<https://doi.org/10.1590/S0102-33062002000100011>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062002000100011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 06 abril 2021.
- SAMBUICHI, R. H. R. Estrutura e dinâmica do componente arbóreo em área de cabruca na região cacauceira do sul da Bahia, Brasil, **Acta botanica Brasilica**. v. 20, n. 4, p. 943-954, 2006. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062006000400018>.
- SAMBUICHI, R. H. R.; HARIDASAN, M. Recovery of species richness and conservation of native Atlantic forest trees in the cacao plantations of southern Bahia in Brazil. **Biodiversity Conservation**, 16, p.3681–3701, 2007.
- SAMBUICHI, R. H. R., et al. Conservation status of ten endemic trees from the Atlantic forest in the south of Bahia-Brazil. **Natureza e Conservação**, v. 6, p. 208-225, 2009.
- SANTAMARÍA, J.; BAYMAN, P. Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*). **Microbial ecology**, v. 50, n. 1, p. 1-8, 2005. doi: 10.1007/s00248-004-0002-1.
- SIQUEIRA, V. M. et al. Endophytic fungi from the medicinal plant *Lippia sidoides* Cham. and their antimicrobial activity. **Symbiosis**, v. 53, n. 2, p. 89-95, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13199-011-0113-7>
- SOUZA, A. E. et al. Antibacterial and antifungal activities of pyroligneous acid from wood of *Eucalyptus urograndis* and *Mimosa tenuiflora*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 1, p. 85-96, 2018. doi: 10.1111/jam.13626.
- SANTOS, I. P. et al. Antibacterial activity of endophytic fungi from leaves of *Indigofera suffruticosa* Miller (Fabaceae). **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 350, 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.00350
- SAUCEDO-GARCÍA, A. et al. Diversity and communities of foliar endophytic fungi from different agroecosystems of *Coffea arabica* L. in two regions of Veracruz, Mexico. **PloS one**, v. 9, n. 6, p. e98454, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0098454
- SCHOUTEN, A. Mechanisms involved in nematode control by endophytic fungi. **Annual review of phytopathology**, v. 54, p. 121-142, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100114>
- SCHOCH, C. L. et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- SCHULZ, B. et al. Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. **Current Science**, v. 109, n. 1, p. 39-45, 2015. Disponível em: www.jstor.org/stable/24905689. Acesso em: 6 abril 2021.

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DA BAHIA (SEMA). **PORTARIA Nº 37, DE 15 DE AGOSTO DE 2017. LISTA OFICIAL DAS ESPÉCIES DA FAUNA AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO DO ESTADO DA BAHIA.** Disponível em: http://www.meioambiente.ba.gov.br/gestor/Consultas/ConsultaPublicacao/publicacaoTexto.php?pub_id=4512. Acesso: 30 agosto 2020.

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DA BAHIA (SEMA). **PORTARIA Nº 40, DE 21 DE AGOSTO DE 2017. LISTA OFICIAL DAS ESPÉCIES ENDÊMICAS DA FLORA AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO DO ESTADO DA BAHIA.** Disponível em: <http://www.meioambiente.ba.gov.br/2017/08/11254/Governopublica-a-Lista-das-Especies-da-Flora-Ameacadas-de-Extincao-do-Estado-daBahia.html>. Acesso: 30 agosto 2020
SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL (SENAR). **Cacau: produção, manejo e colheita.** Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – Brasília: Senar, 2018. 145 p; il. 21 cm (Coleção Senar, 215) ISBN: 978-85-7664-197-1

SERRATO-DIAZ, L. M. et al. First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* and *Colletotrichum siamense* causing cacao pod rot, and first report of *C. tropicale* causing cacao pod rot in Puerto Rico. **Plant Disease**, v.104, n. 2, 2020.

SETENTA, W. C. **Sistema cacau-cabruca:** conservação produtiva na Mata Atlântica do sul da Bahia. Tese de mestrado. Universidade Estadual de Santa Cruz. Ilhéus-BA, 2003.

SILVA, W. C. D. et al. Estudo da regeneração natural de espécies arbóreas em fragmento de Floresta Ombrófila Densa, Mata das Galinhas, no município de Catende, Zona da Mata Sul de Pernambuco. **Ciência florestal**, v. 17, n. 4, p. 321-331, 2007.

SILVA, I. P. **Fungos endofíticos: fonte alternativa a metabólitos secundários de plantas.** ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, (Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Brasil) Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18, 2014.

SILVA, R. M. F. **Diversidade de fungos endofíticos filamentosos em folhas de *Sorghum bicolor* (L.) Moench em Pernambuco**, Brasil. 2016. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia de Fungos., Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016

SILVA, C.S. **Fungos Xylariaceae e Hypoxylaceae (Ascomycota) em cultivos de cacauzeiros sombreados nos municípios de Ilhéus e Ibirataia, sul da Bahia.** 2019. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Vegetal., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2019.

SILVA, R. M. F. et al. Mycological Diversity Description II. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, n. 1, p. 163-173, 2019a. doi:10.1590/0102-33062018abb0411

SILVA, R. M. F. et al. *Bifusisporrella sorghi* gen. et sp. nov. (Magnaporthaceae) to accommodate an endophytic fungus from Brazil. **Mycological Progress**, v. 18, n. 6, p. 847-854, 2019b. <https://doi.org/10.1007/s11557-019-01494-2>

SILVA, R. M. F. **Diversidade de fungos endofíticos em cucurbitáceas de interesse econômico em Pernambuco, Brasil.** 2020. 78 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

SINGH, D. K. et al. Diversity of endophytic mycobiota of tropical tree *Tectona grandis* Linn. f.: Spatiotemporal and tissue type effects. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03933-0>

SMITH, S. A. et al. Bioactive endophytes warrant intensified exploration and conservation. **PLoS One**, v. 3, n. 8, p. e3052, 2008. doi:10.1371/journal.pone.0003052

SONWA, D. J. et al. Diversity of plants in cocoa agroforests in the humid forest zone of Southern Cameroon. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, n. 8, p. 2385-2400, 2007. doi: <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9187-1>.

SOS MATA ATLÂNTICA. **Relatório Anual 2019**. 2019. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/wp-content/uploads/2020/09/Relat%C3%B3rio-Anual-SOS-Mata-Atl%C3%A2ntica-2019.pdf>. Acesso em: 06 abr. 2021

SOUSA, G. P. **Caracterização molecular e enzimática de fungos endofíticos de cana-de-açúcar e seu potencial para desconstrução de biomassa lignocelulósica**. Dissertação (Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO. 2017.

SOUZA, L. A. et al. Morfo-anatomia da flor de *Guarea kunthiana* A. Juss. e de *Guarea macrophylla* Vahl. (Meliaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 24, p. 591-600, 2008. doi:10.4025/actasciobiolsci.v24i0.2372.

SOUZA, A. Q. L.; et al. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Benth. **Acta Amazonica**. Manaus, v. 34, n. 2, p. 185-195, 2004. doi: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672004000200006>.

SOUZA, T. M. **Fungos associados à *Cariniana legalis* (jequitibá-rosa) na Mata Atlântica, Sul da Bahia**. 2018. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Vegetal., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2018.

STIERLE, A.; STROBEL, G.; STIERLE, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. **Science**, v. 260, n. 5105, p. 214-216, 1993. doi: 10.1126/science.8097061.

STOLTZFUS, J. R. et al. Isolation of endophytic bacteria from rice and assessment of their potential for supplying rice with biologically fixed nitrogen. **Plant and Soil**, v. 194, n. 1, p. 25-36, 1997. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1004298921641>.

STROBEL, G. et al. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallachiana*. **Microbiology**, v. 142, n. 2, p. 435-440, 1996. doi: <https://doi.org/10.1099/13500872-142-2-435>.

STUART, R. M. **Comunidade de fungos endofíticos associados a cana-de-açúcar convencional e geneticamente modificada**. 2006. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia Agrícola, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SUDHA, V. et al. Biological properties of Endophytic Fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 59, 2016. doi: <https://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2016150436>.

SUN, X. et al. Community structure and preference of endophytic fungi of three woody plants in a mixed forest. **Fungal ecology**, v. 5, n. 5, p. 624-632, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.04.001>.

SURYANARAYANAN, T. S.; MURALI, T. S.; VENKATESAN, G. Occurrence and distribution of fungal endophytes in tropical forests across a rainfall gradient. **Canadian Journal of Botany**, v. 80, n. 8, p. 818-826, 2002. <https://doi.org/10.1139/b02-069>.

TANUS, M. R. et al. Estrutura e composição de um trecho de Mata Atlântica no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 157-168, Mar/ 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S2236-89062012000100010>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2236-89062012000100010&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 23 Ago. 2020.

TAN, X. M. et al. Isolamento e identificação de fungos endofíticos em raízes de nove plantas *Holcoglossum* (Orchidaceae) coletadas nas províncias de Yunnan, Guangxi e Hainan, na China. **Currenty Microbiology**, v. 64, p. 140–147, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00284-011-0045-8>

TIAN, X. L. et al. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities in vitro. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 303-309, 2004. doi:10.1023/b:wibi.0000023843.83692.3f

TIBPROMMA, S. et al. Identification of endophytic fungi from leaves of Pandanaceae based on their morphotypes and DNA sequence data from southern Thailand. **MycoKeys**, n. 33, p. 25, 2018. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.33.23670>

TERHONEN, E. et al. Forest Tree Microbiomes and Associated Fungal Endophytes: Functional Roles and Impact on Forest Health. **Forests**, v. 10, n. 1, p. 42, 2019. doi:10.3390/f10010042

TING, A. S. Y.; MAH, S.; TEE, C. Identification of volatile metabolites from fungal endophytes with biocontrol potential towards *Fusarium oxysporum* F. sp. cubense Race 4. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 5, n. 2, p. 177-182, 2010. doi:10.3844/ajabssp.2010.177.182

TIRALLA, N.; PANFEROV, O.; KNOHL, A. Allometric relationships of frequently used shade tree species in cacao agroforestry systems in Sulawesi, Indonesia. **Agroforestry systems**, v. 87, n. 4, p. 857-870, 2013. doi: <https://doi.org/10.1007/s10457-013-9602-4>.

THOMPSON, S. M. et al. Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 27, p. 80, 2011. doi: 10.3767/003158511X617110.

TOMITA, F. Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic diversity and potential applications. **Fungal Diversity**, v.14, p. 187-204, 2003.

UDAYANGA, D. et al. Uma avaliação filogenética multi-locus de *Diaporthe* (*Phomopsis*). **Fungal Diversity** v. 56, p. 157–171, 2012. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0190-9>

UDAYANGA, D. et al. The *Diaporthe sojae* species complex: Phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. **Fungal Biology**, v. 119, n. 5, p. 383-407, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.10.009>.

VEGA, F. E., et al. Entomopathogenic fungal endophytes. Publications from USDA-ARS / UNL Faculty, v. 46, n. 1, p. 72-82, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.008>.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant Soil**, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>.

VILLAMIZAR-GALLARDO, R. A.; ORTIZ-RODRIGUEZ, O. O.; ESCOBAR, J.W. Symbiotic and endophytic fungi as biocontrols against cocoa (*Theobroma cacao* L.) phytopathogens. **Summa phytopathology**, Botucatu, v. 43, n. 2, p. 87-93, June 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052017000200087&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 6 abril 2021. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2175>.

VIEIRA, W. A. S. et al. Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 143, p. 10669, 2020. doi:10.1016/j.ympev.2019.106694

VITÓRIA, N. S. **Diversidade de Ascomycota em palmeiras nativas e exóticas em áreas de Mata Atlântica nos Estados da Bahia e de Pernambuco** 2012. 220 folhas, Biologia de Fungos, (Teses de Doutorado - Biologia de Fungos) Universidade Federal de Pernambuco-Recife. 2012.

VILGALYS, R.; SUN, B. L. Ancient and recent patterns of geographic speciation in the oyster mushroom *Pleurotus* revealed by phylogenetic analysis of ribosomal DNA sequences **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 91, p. 4599-4603, 1994.

VILLAVICENCIO-VÁSQUEZ, M. et al. Endófitos foliares como candidatos a biocontroladores contra *Moniliophthora* spp. de *Theobroma cacao* Malvaceae en Ecuador. **Acta Biológica Colombiana**, v. 23, n. 3, p. 235–241, 2018. doi:10.15446/abc.v23n3.69455

WANG, Li-Wei. et al. Bioactive metabolites from *Phoma* species, an endophytic fungus from the Chinese medicinal plant *Arisaema erubescens*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 1231-1239, 2012. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3472-3>.

WEMHEUER, F. et al. Agroforestry management systems drive the composition, diversity, and function of fungal and bacterial endophyte communities in *Theobroma cacao* leaves. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, p. 405, 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030405>.

WHEELER, B.E.J.; MEPSTED, R. Pathogenic variability amongst isolates of *Crinipellis pernicioso* from cocoa (*Theobroma cacao*). **Plant Pathology**, v. 37, n. 4, p. 475-488, 1988. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1988.tb02105.x>.

WEARN, J. A. et al. Species and organ specificity of fungal endophytes in herbaceous grassland plants. **Journal of Ecology**, v. 100, n. 5, p. 1085-1092, 2012. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2012.01997.x>.

WHITE, T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.

WRONA, C. J. et al. *Phomopsis* husk rot of macadamia in Australia and South Africa caused by novel *Diaporthe* species. **Plant Pathology**, v. 69, n. 5, p. 911-921, 2020. doi:10.1111/ppa.13170

YANG, Q.; DU, Z.; TIAN, C. Phylogeny and morphology reveal two new species of *Diaporthe* from Traditional Chinese Medicine in Northeast China. **Phytotaxa**, v. 336, n. 2, p.159, 2018. doi:10.11646/phytotaxa.336.2.3

YOU, Y; et al. Fungal diversity and plant growth promotion of endophytic fungi from six halophytes in suncheon bay. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 22, n. 11, p. 1549-1556, 2012. doi: 10.4014/jmb.1205.05010.

YU, N.H. et al. Diversity of endophytic fungi associated with bryophyte in the maritime Antarctic (King George Island). **Polar Biology**, v. 37, n. 1, p. 27-36, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00300-013-1406-5>

ZANI, L. B. **Caracterização da ontogenética do pau-brasil**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais. 75f. 2014.

ZHANG, H. W. et al. Biology and Chemistry of Endophytes. **Natural Product Reports**, v. 23, n 5, p. 753, 2006. doi:10.1039/b609472b.

ZHENG, Y.K. et al. Diversity, distribution and biotechnological potential of endophytic fungi. **Annals of Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 529-542, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1153-7>