



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

MAYARA ALICE CORREIA DE MÉLO

**COMUNIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE TOMATEIRO
CEREJA (*Solanum lycopersicon* var. *cerasiforme*) SOB MANEJO ORGÂNICO
E CONVENCIONAL**

RECIFE
2023

MAYARA ALICE CORREIA DE MÉLO

**COMUNIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE TOMATEIRO
CEREJA (*Solanum lycopersicon* var. *cerasiforme*) SOB MANEJO ORGÂNICO
E CONVENCIONAL**

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

Orientador: Profº Dr. Gladstone Alves da Silva

Coorientadora: Drª Rejane Maria Ferreira da Silva

RECIFE

2023

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Mélo, Mayara Alice Correia de.

Comunidade de fungos endofíticos em folhas de tomateiro cereja (*Solanum lycopersicon* var. *cerasiforme*) sob manejo orgânico e convencional. / Mayara Alice Correia de Mélo. – 2023.

59 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Gladstone Alves da Silva.

Coorientadora: Rejane Maria Ferreira da Silva.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de fungos, 2023.

Inclui referências.

1. Endofíticos. 2. Tomate. 3. Taxonomia. I. Silva, Gladstone Alves da. (Orient.). II. Silva, Rejane Maria Ferreira da. (Coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-117

MAYARA ALICE CORREIA DE MÉLO

**COMUNIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE TOMATEIRO
CEREJA (*Solanum lycopersicon* var. *cerasiforme*) SOB MANEJO ORGÂNICO
E CONVENCIONAL**

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

Aprovada em: 28/02/2023

COMISSÃO EXAMINADORA

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

Dr. Rafael José Vilela de Oliveira (Examinador Externo)

Dra. Cristina Maria de Souza-Motta (Examinador Interno)

À Deus, minha mãe e meu irmão dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora que me guia a todo momento. A minha mãe Marly Barbosa Correia e meu irmão Manoel Arthur Barbosa Correia que são dois educadores e sempre me indicaram o caminho correto para uma boa educação e que Allan Gabriel siga por esse caminho também. Ao meu companheiro Willamy Francelino por aturar meus surtos quando foi preciso, e entender que, no momento, a prioridade era meu mestrado.

Ao meu orientador Gladstone Alves da Silva que me deu a oportunidade de trabalhar ao seu lado desde a graduação, além de ser um grande profissional, é um ótimo conselheiro. A todos do laboratório 1 que me ajudaram, ensinaram e sempre estiveram à disposição. Com a apresentação deste trabalho, me despeço de vocês e concluo o meu ciclo neste laboratório que muitas vezes foi um local além do acadêmico, sentirei saudades...

A minha coorientadora Rejane Ferreira que sempre esteve disposta a tudo, desde a coleta até o ponto final deste trabalho, agradeço a Deus por ter colocado ela na minha vida, e desejo tudo de melhor sempre.

Agradeço também as amizades feita durante o curso, Marília Melo, Vitória Alves, Victória Alves e Jailma Alves que desde o início estamos juntos nessa caminhada, que foi bastante conturbada devido a pandemia, e mesmo assim uma deu força a outra, agradeço imensamente, que Deus abençoe vocês e ilumine sempre, que nossa amizade seja daqui até a eternidade.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento à pesquisa. Agradeço ao departamento de micologia pela oportunidade de poder contribuir com o legado científico do departamento. Aos avaliadores por terem aceitado o convite, e terem participado da minha vida acadêmica, não somente como banca. Por fim agradeço a todos que colaboraram com esse trabalho e com o meu mestrado.

RESUMO

Os fungos endofíticos são caracterizados por habitarem o interior dos tecidos vegetais, sem causar dano aparente ao hospedeiro e sem produzir estrutura externa visível. Esses fungos podem conferir melhor desenvolvimento ao vegetal e resistência contra doenças e pragas. O tomateiro (*Solanum lycopersicon* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.), é considerada uma espécie cosmopolita, e tem como origem a América do Sul. O tomate é um dos vegetais mais cultivados no mundo, sendo o Brasil um dos maiores produtores mundiais dessa olerícola segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Devido à importância dos fungos endofíticos em culturas agrônomicas, este trabalho teve por objetivo determinar a diversidade de fungos endofíticos em folhas de tomate cereja Carolina em cultivos orgânico e convencional, no município de Lagoa de Itaenga e Chã Grande, respectivamente. As folhas coletadas foram fragmentadas, lavadas com água corrente, desinfestadas e posteriormente lavadas três vezes em água destilada esterilizada. Após a desinfestação, fragmentos foliares foram colocados em placas de Petri, contendo meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). As placas foram incubadas ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) por até quinze dias. Qualquer tipo de colônia fúngica observada foi isolada, purificada e identificada. Análises morfológicas e moleculares foram realizadas para identificação das espécies. Foram obtidos 415 isolados fúngicos, representados por 76 espécies, das quais 34 estavam associadas exclusivamente ao tomateiro em sistema orgânico, 28 associadas exclusivamente ao tomateiro em sistema convencional e 14 foram compartilhadas entre os tomateiros nos dois sistemas de cultivo. As espécies estão distribuídas em 10 ordens (Pleosporales, Xylariales, Eurotiales, Capnodiales, Hypocreales, Glomerellales, Diaporthales, Trichosphaeriales, Botryosphaeriales e Sporidiobolales). As ordens que possuíram mais espécies foram Glomerellales, Trichosphaeriales e Pleosporales. A espécie *Nigrospora* sp. 2, a qual foi encontrada apenas em folhas de tomateiro em sistema de cultivo orgânico, é uma nova espécie para a ciência.

Palavras-chave: Endofíticos, Tomate, Taxonomia.

ABSTRACT

Endophytic fungi are characterized by inhabiting the interior of plant tissues, without causing apparent host damage and without producing visible external structure. These fungi may confer better development to the plant and resistance against diseases and pests. The tomato plant (*Solanum lycopersicon* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.), is considered a cosmopolitan species, and has as its origin South America, the tomato is one of the most cultivated vegetables in the world, Brazil is one of the largest world producers of this species, according to the Brazilian Institute of Geography and Statistics - IBGE. Due to the importance of endophytic fungi in agronomic crops, this work aimed to determine the diversity of endophytic fungi in healthy leaves of cherry tomatoes in organic and conventional crops, in the municipality of Lagoa de Itaenga and Chã Grande. The collected leaves were fragmented, washed with running water, disinfested and subsequently washed three times in sterile distilled water. After disinfestation, leaf fragments were placed in petri dishes, containing agar dextrose potato (BDA) culture medium. Plates were incubated ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) for up to fifteen days. Any fungal colonies observed were isolated, purified, and identified. Morphological and molecular analyses were carried out to identify the species. Were isolated 415 fungi, represented by 76 species. Thirty-four fungi were associated, exclusively, with tomato plants in organic system, 28 were associated, exclusively, with tomato plants in conventional system and 14 were shared between the two tomato plants cultivation systems. The species found are distributed in 10 orders (Pleosporales, Xylariales, Eurotiales, Capnodiales, Hypocreales, Glomerellales, Diaporthales, Trichosphaeriales, Botryosphaeriales and Sporidiobolales). The orders that possessed the most species were Glomerellales, Trichosphaeriales and Pleosporales. The species *Nigrospora* sp. 2, which was found only in tomato leaves from the organic farming system, is a new species for science.

Keywords: Endophytes, Tomato, Taxonomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Localização dos municípios de Lagoa de Itaenga e Chã Grande	19
Figura 2 -	Diagrama de Venn mostrando a distribuição das espécies entre os sistemas de cultivos (orgânico e convencional)	26
Figura 3 -	Curva de rarefação do número de espécies de fungos endofíticos em relação ao número de amostras para o sistema de cultivo orgânico	27
Figura 4 -	Curva de rarefação do número de espécies de fungos endofíticos em relação ao número de amostras para o sistema de cultivo convencional	27
Figura 5 -	Análise de Coordenadas (componentes) Principais (PCoA) baseada na dissimilaridade de Bray-Curtis, mostrando a influência dos sistemas de cultivo orgânico (1) e convencional (2) na composição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de tomate cereja carolina	28
Figura 6 -	Distribuição dos fungos endofíticos em nível de ordem, nas duas áreas de cultivo (orgânico e convencional)	29
Figura 7 -	Árvore filogenética construída usando a região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomate. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho	32
Figura 8 -	Árvore filogenética construída usando a região β -tubulina do rDNA, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomate. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho	34
Figura 9 -	Árvore filogenética construída usando a região TEF-1 do rDNA, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomate. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho	35
Figura 10 -	Árvore filogenética construída usando o gene GAPDH, mostrando o posicionamento dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomate. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho	36

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Fungos endofíticos encontrados em folhas de tomate cereja carolina com respectivo número de isolados, frequência relativa (Fr), marcador molecular usado e percentual de identidade obtido a partir do Blastn 23
- Tabela 2 - Riqueza de espécie, número de isolados e índice de Shannon de fungos endofíticos isolados em folhas de tomate cereja carolina, em sistema de cultivo orgânico e convencional 26

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 em plantas do gênero <i>Solanum</i>	15
2.2	SISTEMA DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL	16
2.3	ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO TOMATE	18
3	MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1	ÁREA DE COLETA	19
3.2	COLETA DO MATERIAL	20
3.3	ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	20
3.4	EXTRAÇÃO DE DNA	21
3.5	AMPLIFICAÇÃO, PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO DNA	21
3.6	ANÁLISES FILOGENÉTICAS	22
3.7	ANÁLISE DA COMUNIDADE DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	22
4	RESULTADOS	23
4.1	FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS SAUDÁVEIS DE TOMATE CEREJA CAROLINA (<i>SOLANUM LYCOPERSICON</i> VAR. CERASIFORME)	23
4.2	COMUNIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM SISTEMA ORGÂNICO E CONVENCIONAL	25
4.3	ANÁLISE FILOGENÉTICA DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	28
5	DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÕES	44
	REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

Desde 1878, o termo simbiose vem sendo atribuído a associações entre organismos (OULHEN et al., 2016). Petrini (1991) definiu os fungos endofíticos como colonizadores de tecidos saudáveis de vegetais, em algum momento do seu ciclo de vida, sem causar danos aparentes. Azevedo (2014) conceitua fungos endofíticos como micro-organismos que habitam o interior dos tecidos vegetais sem causar danos aos seus hospedeiros e sem desenvolver estruturas externas aos tecidos vegetais.

Jia et al. (2016) demonstraram que as relações entre plantas e fungos endofíticos podem trazer diversos benefícios para as plantas, entre os quais podemos destacar a proteção contra patógenos e o aumento do crescimento vegetal. A proteção contra patógenos acontece devido ao aumento da resistência a partir da produção de compostos bioativos como alcaloides, flavonoides e isoflavonoides (FIRÁKOVÁ et al., 2007; RODRIGUEZ et al., 2009).

O tomateiro pertence à família Solanaceae e ao gênero *Solanum* que é o maior e mais diversificado da família, com cerca de 1.500 espécies (BARCHI, 2019). O tomateiro foi dividido em seis grupos: Cereja, Santa Cruz, Industrial, Salada, Saladete e Saladinha (ALVARENGA, 2000). A variedade Carolina, pertencente ao grupo cereja, se mostra promissora no ramo comercial, com uma boa produção de frutos e disponibilidade de sementes (PINHO et al., 2011).

O cultivo do tomate pode ser realizado em sistemas orgânicos e convencionais; em sistema orgânico as características organolépticas do tomate são mais intensas do que os cultivados em sistema convencional (PINHO et al., 2011). O sistema convencional consiste em utilizar fertilizantes químicos e pesticidas (SANTOS et al., 2017), gerando alto impacto sobre o ambiente, devido a constante aplicação de agrotóxicos e fertilizantes (SCHMIDT et al., 2013). Por outro lado, o sistema orgânico envolve práticas que enfatizam a agricultura baseada no gerenciamento de ecossistemas, pluralidade de produtos e controle de desastres sem tratamentos químicos tradicionais (SUCIU et al., 2019).

Não há estudos sobre a ocorrência de fungos endofíticos em folhas de *Solanum lycopersicon* var. *cerasiforme* cultivado em sistemas orgânico e

convencional. Diante da atual carência de trabalhos sobre a ocorrência desses fungos nessa planta e a importância econômica da mesma, é de interesse conhecer os fungos que estão interagindo com esse vegetal. Os objetivos deste estudo foram conhecer a micobiota endofítica em folhas de tomate cereja, verificando se há diferença na comunidade de fungos endofíticos de acordo com os diferentes sistemas de cultivos (orgânico e convencional).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS

Diversos autores definiram os endófitos de maneiras distintas, De Bary (1866) caracterizou os endófitos como qualquer organismo que ocorre dentro dos tecidos dos vegetais. Carroll (1988) relatou que os fungos endofíticos são mutualistas e colonizam partes aéreas de tecidos vivos de plantas sem causar sintomas de doenças. Segundo Petrini (1991) os fungos endofíticos são colonizadores de tecidos das plantas, em algum momento do seu ciclo de vida, sem causar danos aparentes, Azevedo & Araújo (2007) definiram como endófitos todos os micro-organismos que vivem no interior do tecido da planta hospedeira sem apresentar estruturas externas visíveis e nem causar danos aparentes. Em 2013, Chapla et al., definiram os fungos endofíticos como micro-organismos que residem no interior de plantas, em suas partes aéreas como caules e folhas, sem causar, teoricamente, qualquer dano aos seus hospedeiros.

Registros fósseis indicam que as plantas têm tido associações com fungos endófitos (KRINGS et al., 2007) e micorrízicos (REDECKER et al., 2000) por mais de 400 milhões de anos. Os fungos representam uma das formas de vida mais diversas neste planeta, com estimativa de cerca de 2,2 a 3,8 milhões de espécies existentes, sendo que apenas 130 mil dessas espécies são conhecidas pela ciência (HAWKSWORTH & LÜECKING, 2017). De acordo com Rosa et al. (2011), os fungos endofíticos apresentam alta diversidade de espécies, principalmente nos filos Ascomycota e Basidiomycota, que estão associadas a diferentes plantas ao redor do mundo e representam importantes grupos da diversidade fúngica. Dados encontrados na literatura indicam que grande parte, ou mesmo todos os vegetais, são colonizados por fungos endofíticos (MAGALHÃES et al., 2008). Nos últimos anos, uma atenção maior tem sido dada a estes fungos, refletindo em um alto número de estudos envolvendo vegetais de valor econômico como manga, acerola, café, sorgo, graviola, entre outros (VIEIRA et al., 2014, NASCIMENTO, 2014, OLIVEIRA et al., 2014, SILVA, 2016, ASSIS et al., 2019).

Alguns fatores exercem uma influência qualitativa e quantitativa sobre a diversidade da comunidade de fungos endofíticos em uma planta, como a

idade da planta, temperatura, salinidade, fauna, flora, condições fisiológicas do vegetal, órgão estudado e métodos empregados para o isolamento de fungos (PEIXOTO NETO et al., 2002; HYDE & SOYTONG, 2008; SILVA, 2023). Esses fungos podem ser transmitidos de forma vertical ou horizontal. A transmissão vertical ocorre através das sementes, já a transmissão horizontal pode ocorrer através da penetração do fungo pelos estômatos, raízes ou, até mesmo, por ferimentos (BREM & LEUCHTMANN, 2002; SAIKKONEN et al., 2004; RODRIGUEZ et al., 2009; ALY et al., 2011).

2.1.1 Importância dos fungos endofíticos

Nos últimos anos os micro-organismos tornaram-se um recurso biológico atraente para descoberta de novos bioativos, com isso a bioprospecção de fungos endofíticos para produtos naturais oferece uma excelente oportunidade para a descoberta de novos bioativos com o potencial para exploração na agricultura, indústria e medicina (YADAV et al. 2022). Os compostos naturais produzido por fungos endofíticos incluem alcaloides, terpenoides, flavonoides, lactonas e vários policetídeos (RUSTAMOVA et al. 2020). Esses fungos apresentam um enorme reservatório de novos produtos farmacêuticos com potentes propriedades anticancerígenas, antifúngicas, antimicrobianas e antioxidantes (TIWARI & BAE 2022).

Os fungos endofíticos promovem diversos benefícios a planta hospedeira como, aumento da resistência da planta hospedeira aos herbívoros, ao calor, à seca, às doenças, além de permitirem um aumento da massa vegetal, tanto na parte aérea quanto na subterrânea (SAIKKONEN et al., 1998; REDMAN et al., 2001; MÁRQUEZ et al., 2007; RODRIGUEZ & REDMAN, 2008). Esses fungos são considerados potenciais ferramentas no biocontrole de pragas e doenças de culturas de importância econômica, incluído o tomate (PARADZA et al. 2021, LÓPEZ et al., 2021, SAIKIA et al., 2022). Paradza et al. (2021), relataram que o endófito *Trichoderma atroviride*, auxiliou no crescimento das partes aérea de *Solanum lycopersicum*, durante todo o período de crescimento da planta. Nesse mesmo estudo foi possível mostrar o potencial dos endófitos *Hypocrea lixii* e *Trichoderma asperellum* como ferramentas de biocontrole em *Solanum lycopersicum* e *Phaseolus Vulgaris*.

Os produtos naturais obtidos a partir desses organismos estão sendo analisados para atender a elevada demanda de novas drogas, agentes quimioterápicos e agroindustriais que sejam, ao mesmo tempo, mais efetivos, menos tóxicos e que apresentem menor impacto ambiental (SILVA, 2009). Além de metabolitos secundários (SILVA, 2014), os fungos endofíticos são responsáveis por produzir enzimas, que são geradas principalmente durante a colonização do fungo na planta (BATEMAN, 2001). De acordo com TAN & ZOU (2001) a produção de enzimas, a partir de fungos endofíticos, é variável, dependendo da especificidade fungo - planta hospedeira. A produção industrial de enzimas utilizando micro-organismos representa um dos principais setores da biotecnologia (MICHELIN, 2005).

2.1.2 Fungos endofíticos em plantas do gênero *Solanum*

Os fungos endofitos são encontrados nos mais diversos tipos de vegetais e podem colonizar diferentes órgãos das plantas, tais como: sementes, caules, folhas, espinhos, raízes, flores e frutos (MAGALHÃES et al., 2008; CARVALHO et al., 2012; QADRI et al., 2014; DA SILVA et al., 2014; FERNANDES et al., 2015; SANTOS et al., 2020).

Esses fungos podem estar presentes em espécies vegetais das mais variadas regiões (SILVA, 2014) sendo encontrados em briófitas (PIRES et al., 2020), pteridófitas (OLMO-RUIZ & ARNOLD, 2014), gimnospermas (HORMAZABAL & PIONTELLI, 2009) e angiospermas (IMPULLITTI & MALVICK, 2013). Entre as regiões, as florestas tropicais são relatadas como o hábitat onde ocorre a maior diversidade de fungos endofíticos (ARNOLD et al., 2000).

Solanum L. é um gênero com ampla distribuição mundial com aproximadamente 1400 espécies (WEESE & BOHS 2007) com muitos representante de grande importância econômica (SILVA et al. 2022). Apesar do grande número de espécies pouco se sabe sobre as comunidades endofitas associada a plantas de tomate cultivadas sob manejo orgânico e convencional. Em estudo realizado por Khan et al. (2017), um total de 42 isolados foram encontrados em *Solanum nigrum*, o mesmo estudo demonstrou o papel

melhorador dos endófitos sob condições tóxicas de cádmio. Vieira et al. (2011) analisaram a diversidade e atividade antimicrobiana de fungos endofíticos associados à planta medicinal brasileira *Solanum cernuum* cultivadas em diferentes estações (verão e inverno). Em outro estudo realizado por Dastogeer et al. (2020), 1.742 isolados fúngicos foram encontrados em tecidos de caule de sete diferentes cultivares de tomate no Japão. Marak & Kayang (2018) relataram 44 isolados de fungos endofíticos associados a diferentes partes de *Solanum tuberosum* L. (batata), como folhas, caules, raízes e tubérculos cultivados no distrito de South West Garo Hills, Índia. Estudo feito com plantas de tomate cultivado em estufa, relataram que a diversidade de fungos endofíticos pode variar de acordo com os órgãos vegetais analisado (DONG et al. 2021).

Possivelmente todas as mais de 300.000 espécies de vegetais abrigam micro-organismos endófitos, incluindo as espécies do gênero *Solanum* (STROBEL & DAISY, 2003). Diversos fatores podem influenciar a diversidade endofítica em relação aos hospedeiros vegetais, tais como; comunidade e composição botânica, tipo de tecido, condições climáticas, e regiões biogeográficas (MASSIMO et al., 2015; SILVA, 2023). A maior frequência e riqueza dos fungos endofíticos têm sido associadas a ecossistemas com maior diversidade (HAWKSWORTH, 2001). Além disso, a diversidade na comunidade endofítica pode estar relacionada às necessidades de adaptação das espécies vegetais em relação ao meio (RODRIGUES, 2010). Estudos sobre a ocorrência de fungos endofíticos são imprescindíveis para fornecer informações acerca da diversidade e distribuição dos fungos, bem como a provável descoberta de novas espécies (STONE et al., 2004; SIQUEIRA et al., 2008).

2.2 SISTEMA DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

Dados do IBGE, do censo agropecuário de 2006 a 2017, apontam que o número de plantios certificados como agricultura orgânica tiveram um crescimento considerável no Brasil, indo de 5.106 para 68.716 (IBGE, 2019). As exigências para a certificação orgânica e as práticas agrícolas variam em

todo o mundo, porém, os alimentos orgânicos são geralmente cultivados sem pesticidas, fertilizantes ou hormônios de crescimento (LUTTIKHOLT, 2007).

No sistema orgânico o agricultor utiliza tecnologias conservacionistas e não utiliza agrotóxico e fertilizante químico de alta concentração (BRASIL, 2010). O sistema de produção orgânico, além de não prejudicar a natureza, desenvolve produtos mais valorizados no comércio por serem alimentos de qualidade elevada (SOUZA & RESENDE, 2006).

O aumento da agricultura e do mercado de orgânicos tem sido significativo no Brasil nos últimos anos (MOOZ & SILVA, 2014; COSTA et al., 2017). Alimentos provenientes de sistemas orgânicos são mais procurados devido aos aspectos relacionados à saúde, ética, segurança alimentar, meio ambiente e teor nutricional (LIMA et al., 2011; DIAS et al., 2015).

O progresso da agricultura orgânica carece de mais apoio do Estado, quando comparamos com a agricultura convencional, principalmente em relação ao apoio a pesquisa e ao trabalho de extensão, tal como um maior entendimento dos consumidores sobre a relevância destes produtos (BUAINAIN & BATALHA, 2007). Os custos de produção em sistemas orgânicos são 17,1% mais baixos que em sistemas convencionais e o lucro em sistemas orgânicos é 113,6% maior que o obtido em cultivo convencional (LUZ et al., 2007).

O sistema convencional recebe influência do que foi estabelecido no período da revolução verde na década de 1970, onde o avanço da agricultura foi estimulado pela mecanização da agricultura e o uso de agroquímicos nas plantações (WEEGE & NEGRI, 2018). O sistema convencional gera grande impacto sobre o ambiente, devido ao excessivo revolvimento do solo, aplicação de fertilizantes e agrotóxicos (SCHMIDT et al., 2013) e geram resíduos com elevado potencial poluidor a natureza, além de ser uma fonte de risco a saúde humana (KOBI et al., 2018).

Andrade et al. (2012) propõem que para manter uma produção adequada, o ideal é aplicar uma adubação completa, que concilie adubos orgânicos (esterco) e químicos ocorrendo a substituição gradativa do adubo químico, possibilitando melhor qualidade final do produto.

Entre as espécies que necessitam de defensivos agrícolas destaca-se o tomateiro, que é caracterizado como um vegetal muito propenso a inúmeras

pragas e doenças, e quando não é efetuado o manejo apropriado, impedem seu cultivo, gerando significativos danos econômicos (BEJINHA, 2006).

Camatti-Sartori et al. (2005) mostraram que os fungos endofíticos isolados de folhas das macieiras de uma fazenda orgânica exibiram maior número de isolados quando comparados ao cultivo convencional. Enquanto, Oliveira et al. (2014) evidenciaram que as comunidades de fungos endofíticos tinham poucas variações nos índices de diversidade e riqueza de espécies no café, indicando que o cultivo do café orgânico e convencional abrigam numerosos indivíduos semelhantes.

2.3 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO TOMATE

O tomateiro (*Solanum lycopersicon* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.), é uma hortaliça pertencente à família Solanaceae (SIBBr). Considerada uma espécie cosmopolita, o tomate tem como origem a América do Sul (REIS FILGUEIRA, 2013) foi domesticado no México por tribos primitivas (RICK, 1978; ALCAZAR-ESQUINAS, 1981) e introduzido na Europa em 1544 (DAM, 2006), onde foi adaptado, selecionado e propagado para o mundo todo (JENKINS, 1948; RICK, 1958).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO (2014) o tomate é um dos vegetais mais cultivados no mundo. O Brasil é um dos maiores produtores mundiais dessa olerícola, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2018). Nos últimos anos houve um aumento da demanda e consequentemente bons retornos financeiros para os agricultores (LENUCCI et al., 2006).

O tomateiro é uma planta arbustiva, e apesar de ser perene é cultivada anualmente. Sua raiz pode alcançar até 60 cm de profundidade (MESQUITA, 2001). O fruto é do tipo baga e apresenta ampla diversidade de tamanho, forma, cor, textura e sabor (CANÇADO et al., 2003). Sua temperatura ótima está entre 21 e 24°C. A cultura não tolera gelo, causando perdas irreparáveis à lavoura e áreas com valores de pH entre 5,5 e 6,8 são consideradas ideais para cultivo dessa planta (DAM, 2006).

O tomate contém uma ampla variedade de antioxidantes, como os carotenoides, compostos fenólicos, ácido ascórbico e flavonoides (SOUZA et

al., 2008). Os alimentos derivados do tomate possuem maior quantidade de licopeno na sua composição (FERREIRA, 2004) essa substância não é produzida pelo organismo, sendo necessária a ingestão de alimentos que possuem este carotenoide.

Atualmente, o tomate é dividido em seis grupos, entre eles se encontra o grupo do tipo cereja, que possui a variedade carolina, essa variedade de tomate vem sendo constantemente encontrada no comércio e possui valor bastante atrativo (ROCHA, 2009). Distingue-se pela alta rusticidade, tolerância a pragas e doenças, boa produtividade, rendimento e boa aceitação dos consumidores (LUCINI et al., 2016; ZANIN et al., 2018; DIAS et al., 2019). Esse fruto é cultivado sob diversos sistemas de manejo, em diferentes épocas do ano e em quase todas as regiões do Brasil (GUILHERME et al., 2014).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE COLETA

As coletas das folhas de tomateiro cereja foram realizadas em sistemas de cultivo orgânico e convencional localizados nos municípios de Lagoa de Itaenga e Chã Grande, respectivamente (Figura 1). Foram coletadas todas as informações sobre o manejo dos cultivos para efeito de comparação entre as coletas.

Figura 1 - Localização do município de Lagoa de Itaenga e Chã Grande



Fonte: Wikipedia (2019)

Lagoa de Itaenga está localizado na mesorregião da Mata Norte do Estado de Pernambuco (7°55'59"S;35°17'30"W). O município está inserido na unidade geoambiental do Planalto da Borborema, com altitude variando entre 650 a 1.000 metros. Apresenta vegetação formada por florestas subcaducifólica e caducifólica e clima considerado tropical com verão seco, e pluviosidade média anual de 989 mm (BELTRÃO et al., 2005).

O município de Chã Grande está inserido na Mesorregião da Mata Sul do Estado de Pernambuco (8°14'18"S 35°27'39"W), com altitude de 470 metros. O clima é do tipo tropical com verão seco, com precipitação média anual de 1309,9 mm. A vegetação é predominantemente do tipo floresta subperenifólia, com partes de floresta hipoxerófila (BELTRÃO et al., 2005).

Para o cultivo em sistema orgânico foi utilizado esterco e não houve rotação de cultura devido ao solo do local se encontrar em equilíbrio, com uma boa ciclagem de nutrientes e baixa incidência de pragas e doenças. Já nas áreas de cultivo convencional foi utilizado nitrato de cálcio na adubação, inseticida Avatar e o fungicida Amistar top. Além disso, anteriormente havia plantio de abobrinha e repolho, nesse caso, rotações de cultura são necessárias para repor a matéria orgânica e proteger o solo.

3.2 COLETA DO MATERIAL

Foram realizadas coletas em novembro de 2020, janeiro e maio de 2021 em três áreas de cultivo orgânico, nas três áreas de cultivo convencional as coletas foram realizadas em junho, outubro e dezembro de 2021. Foram delimitadas três parcelas em cada área de estudo. Dessa forma, o delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (tipos de cultivo) x 3 (áreas), com três repetições (parcelas). Em cada parcela foram delimitados três pontos, sendo coletadas quatro folhas saudáveis de três espécimes em cada ponto. Todo material foi acondicionado em sacos de papel devidamente etiquetados e transportados ao Laboratório I da Pós-Graduação em Biologia de Fungos, sendo manipulado, no tempo máximo de 24 horas.

3.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

As folhas foram lavadas com água corrente e detergente neutro, desinfestadas em álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% (2

minutos) e em seguida lavadas com água destilada esterilizada. Posteriormente, as folhas foram fragmentadas em discos de 6 mm de diâmetro, e seis fragmentos foram transferidos para placas de Petri, em triplicata, contendo Batata Dextrose Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (50 mg L^{-1}), incubados em temperatura ambiente ($28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e observados diariamente por 15 dias quanto ao desenvolvimento das colônias fúngicas ao redor do fragmento foliar. Para o controle da assepsia, 50 μL da última água utilizada na lavagem das folhas, foi plaqueada em BDA como comprovação da desinfestação superficial (PEREIRA et al., 1993). Após o crescimento, as colônias foram repicadas até a obtenção de colônias puras para posterior identificação morfológica e molecular.

No processo de identificação foram observadas características macroscópicas e microscópicas das colônias puras dos fungos endofíticos. A identificação foi realizada com o auxílio de literatura especializada (ELLIS, 1971; SUTTON, 1980; SEIFERT et al., 2011; BENSCH et al., 2012, entre outras).

3.4 EXTRAÇÃO DE DNA

A biomassa dos fungos foi obtida a partir de culturas desenvolvidas em Batata Dextrose Ágar (BDA) mantidas em temperatura ambiente por até sete dias em placas de Petri. A extração do DNA genômico foi realizada com o material previamente triturado, conforme Oliveira et al. (2016), que inclui homogeneização do material em tampão CTAB 2% e uma lavagem com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 μL de água ultrapura.

3.5 AMPLIFICAÇÃO, PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO DNA

Para amplificação das regiões ITS (Internal Transcribed Spacer) do rDNA, β -tubulina, gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH) e translation elongation factor 1- α (Tef-1 α) foram utilizados os primers ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) /ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (WHITE et al., 1990) Bt2a (GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC) /Bt2b (ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC) (GLASS E DONALDSON, 1995), GDF1

(GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA) /GDR1
 (GGGTGGAGTCGTACTTGAGCATG) (TEMPLETON et al., 1992) e EF1-983F (GCYCCYGGHCAYCGTGAYTTYAT)/EF1-2218R (ATG ACA CCR ACR GCR ACR GTY TG) (REHNER, 2001), respectivamente. Os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes (primers, dNTPs, cloreto de magnésio, Taq DNA polimerase e tampão de reação) foram os mesmos descritos por Oliveira et al. (2014). Controles negativos, contendo todos os componentes exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações.

Os resultados das extrações de DNA e das reações de PCR (5 µL) foram visualizados sob luz UV, a partir de gel de agarose 1%, corado com GelRed. Os produtos de PCR foram purificados utilizando a enzima ExoSAP-IT® de acordo com as recomendações do fabricante. Posteriormente os produtos purificados foram encaminhados para sequenciamento na Plataforma Multiusuária de Sequenciamento e Expressão Gênica do Centro de Biociências da UFPE. As sequências obtidas foram submetidas a comparação com o banco de dados do NCBI a partir da utilização do BLASTn para identificação dos fungos isolados.

3.6 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

A filogenia foi reconstruída por meio de análises independentes dos marcadores utilizados no estudo. As sequências obtidas foram editadas e alinhadas com outras recuperadas do GenBank (de acordo com o grupo de fungos em questão) com o auxílio do programa MEGA, versão 5.05 (TAMURA et al., 2007). A caracterização molecular final foi realizada com a avaliação filogenética e construção de árvores. Foi realizada a análise bayesiana (1×10^6 gerações) a partir do programa MrBayes 3.1.2 (RONQUIST & HUELSENBECK 2003), executado a partir do Topali 2.5 (MILNE et al., 2004). O modelo de substituição nucleotídica foi estimado usando Topali 2.5.

3.7 ANÁLISE DA COMUNIDADE DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Para verificar a estrutura da comunidade de fungos endofíticos foram estimados a riqueza de espécies (S'), diversidade (Shannon 'H') e Análise de Coordenadas Principais (PCoA) que foram calculados a partir do software

estatístico R (<http://www.R-project.org>). A Frequência relativa (Fr) de isolamento foi calculada como o número de isolados de uma espécie dividido pelo total do número de isolados (BEZERRA et al., 2013). O Diagrama de Venn foi construído utilizando a ferramenta <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>.

4. RESULTADOS

4.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS SAUDÁVEIS DE TOMATEIRO CEREJA, VARIEDADE CAROLINA (*SOLANUM LYCOPERSICON* VAR. *CERASIFORME*)

Foram obtidos 415 isolados fúngicos em folhas sadias de tomateiro cereja carolina. De acordo com as análises morfológicas e moleculares os isolados foram distribuídos em 25 gêneros e 76 espécies. Um dos isolados foi identificado apenas em nível de classe (Tabela 1). A maioria das espécies pertencem ao filo Ascomycota, com exceção de uma que pertence ao filo Basidiomycota.

O gênero *Nigrospora* (20,96%) foi o mais representativo, seguido de *Stemphylium* (19,04%) e *Colletotrichum* (13,25%). Levando em consideração a frequência relativa das espécies, as mais frequentes foram *Stemphylium lycopersici* (12,77%) seguida de *Stagonosporopsis cucurbitacearum* (6,75%), *Nigrospora sphaerica* (5,54%), *Nigrospora brasiliensis* (4,10%) e *Colletotrichum plurivorum* (4,10 %) (Tabela 1). Trinta e nove espécies foram consideradas raras por apresentarem apenas um ou dois isolados.

Tabela 1- Fungos endofíticos encontrados em folhas de tomateiro cereja, variedade carolina, com respectivo número de isolados, frequência relativa (Fr), marcador molecular e percentual de identidade obtido a partir da busca no Blastn.

Código	Identificação	Marcador molecular	ID (%)	Orgânico	Convencional	Total	Fr. (%)
TO59	<i>Alternaria dauci</i>	ITS	100%	1	0	1	0,24
TO7	<i>Alternaria</i> sp. 1	ITS	96.41%	0	5	5	1,20
TO180	<i>Alternaria</i> sp. 2	ITS	100%	1	0	1	0,24
TO14	<i>Annulohyphoxylon</i> sp.	ITS	99.21%	0	1	1	0,24
TC70	<i>Annulohyphoxylon stygium</i>	ITS	99.21%	1	0	1	0,24
TO2	<i>Aspergillus chevalieri</i>	β -tubulina	99.50%	2	0	2	0,48
TO70/TC6	<i>Aspergillus niger</i>	β -tubulina	100%	4	1	5	1,20

TO155	<i>Aspergillus stellifer</i>	β -tubulina	100%	1	0	1	0,24
TO159	<i>Aspergillus sydowii</i>	β -tubulina	100%	7	0	7	1,69
TC219	<i>Aspergillus tubingensis</i>	β -tubulina	100%	0	7	7	1,69
TC172	<i>Biscogniauxia</i> sp.	ITS	99.82%	0	3	3	0,72
TO5	<i>Cladosporium oxysporum</i>	β -tubulina	99.65%	1	0	1	0,24
TC167	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	ITS	100%	0	2	2	0,48
TO138	<i>Clonostachys rosea</i>	ITS	100%	2	0	2	0,48
TC40	<i>Colletotrichum brasiliense</i>	GAPDH	100%	0	1	1	0,24
TO97	<i>Colletotrichum cliviicola</i>	GAPDH	100%	3	0	3	0,72
TO31/TC224	<i>Colletotrichum fructicola</i>	GAPDH	100%	2	8	10	2,41
TC257	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ITS	100%	2	3	5	1,20
TO114/TC34	<i>Colletotrichum karsti</i>	GAPDH	100%	1	1	2	0,48
TO88	<i>Colletotrichum musicola</i>	GAPDH	99.47%	3	0	3	0,72
TO125	<i>Colletotrichum orchidearum</i>	GAPDH	98.48%	1	0	1	0,24
TO62	<i>Colletotrichum plurivorum</i>	GAPDH	100%	14	2	16	4,10
TC281	<i>Colletotrichum siamense</i>	GAPDH	100%	1	3	4	0,72
TC211	<i>Colletotrichum</i> sp. 1	GAPDH	99.61%	0	1	1	0,24
TC46	<i>Colletotrichum</i> sp. 2	GAPDH	99.47%	0	1	1	0,24
TC9	<i>Colletotrichum</i> sp. 3	GAPDH	99.48%	1	0	2	0,48
TO121	<i>Colletotrichum</i> sp. 4	ITS	100%	0	2	2	0,48
TO68	<i>Colletotrichum truncatum</i>	GAPDH	99.59%	4	0	4	0,96
TO24/TC287	<i>Corynespora cassiicola</i>	ITS	100%	6	2	8	1,93
TO215	<i>Curvularia geniculata</i>	ITS	100%	2	0	2	0,48
TC123	<i>Curvularia intermedia</i>	ITS	94.50%	0	3	3	0,72
TO19	<i>Daldinia eschscholtzii</i>	ITS	98.25%	2	0	2	0,48
TO96	<i>Daldinia</i> sp.	ITS	99.59%	4	0	4	0,96
TO116	<i>Daldinia theissenii</i>	ITS	99.21%	1	0	1	0,24
TC300	<i>Diaporthe helianthi</i>	ITS	100%	0	1	1	0,24
TO57	<i>Diaporthe masirevicii</i>	β -tubulina	99.58%	12	0	12	2,89
TC8	<i>Diaporthe passiflorae</i>	ITS	99.35%	0	7	7	1,69
TO237/TC197	<i>Diaporthe</i> sp. 1	β -tub/ITS	100%	9	3	12	2,89
TO74	<i>Diaporthe</i> sp. 2	β -tubulina	96.51%	1	0	1	0,24
TO123	<i>Diaporthe</i> sp. 3	β -tubulina	98.78%	2	0	2	0,48
TO10	<i>Fusarium keratoplasticum</i>	ITS	99.80%	1	0	1	0,24
TO100	<i>Kalmusia itálica</i>	ITS	99.58%	5	0	5	1,20
TC61	<i>Monosporas</i> sp.	TEF1	96.34%	0	5	5	1,20
TO50/TC83	<i>Nigrospora brasiliensis</i>	TEF1	97.86%	6	11	17	4,10
TC33	<i>Nigrospora hainanensis</i>	TEF1	99.78%	0	7	7	1,69
TC295	<i>Nigrospora osmanthi</i>	TEF1	100%	0	11	11	2,65
TO17	<i>Nigrospora saccharicola</i>	TEF1	98.99%	6	0	6	1,45
TO129	<i>Nigrospora</i> sp. 1	ITS	99.01%	2	0	2	0,48
TO194	<i>Nigrospora</i> sp. 2	TEF1	86.43%	1	0	1	0,24
TO178	<i>Nigrospora</i> sp. 3	TEF1	98.99%	1	0	1	0,24
TC289	<i>Nigrospora</i> sp. 4	TEF2	99.45%	0	4	4	0,96
TC81	<i>Nigrospora</i> sp. 5	TEF1	88.96%	0	2	2	0,48
TC277	<i>Nigrospora</i> sp. 6	ITS	100%	0	7	7	1,69
TO185	<i>Nigrospora sphaerica</i>	TEF1	99.45%	21	2	23	5,54

TC165	<i>Nigrospora zimmermanii</i>	TEF1	99.10%	0	1	1	0,24
TO195	<i>Penicillium citrinum</i>	β -tubulina	99.06%	1	0	1	0,24
TO192	<i>Periconia byssoides</i>	ITS	100%	8	0	8	1,93
TC231	<i>Phomopsis</i> sp.	ITS	100%	0	9	9	2,17
TO149	<i>Phyllosticta</i> sp. 1	ITS	99.52%	2	0	2	0,48
TO150/TC269	<i>Phyllosticta</i> sp. 2	ITS	99.83%	2	3	5	1,20
TC298	<i>Phyllosticta</i> sp. 3	ITS	100%	0	17	17	4,10
TO166	<i>Pithomyces chartarum</i>	ITS	100%	1	0	1	0,24
TO140	<i>Rhodotorula</i> sp.	ITS	99.81%	1	0	1	0,24
TO43	<i>Sarocladium</i> sp.	ITS	97.33%	1	0	1	0,24
TC39	<i>Sordariomycetes</i> sp.	ITS	99.75%	0	2	2	0,48
TC23	<i>Stagonosporopsis cucurbitacearum</i>	ITS	100%	0	28	28	6,75
TO221/TC26	<i>Stagonosporopsis</i> sp.	ITS	99.59%	1	5	6	1,45
TO23/ TC100	<i>Stemphylium lycopersici</i>	ITS	100%	52	1	53	12,77
TC54	<i>Stemphylium solani</i>	ITS	100%	0	22	22	5,30
TC57	<i>Stemphylium</i> sp.	ITS	100%	0	4	4	0,96
TC266	<i>Xylaria berteroi</i>	ITS	99.54%	0	1	1	0,24
TO87	<i>Xylaria cubensis</i>	β -tubulina	95.86%	1	0	1	0,24
TC66	<i>Xylaria muscula</i>	ITS	94.84%	0	2	2	0,48
TO64	<i>Xylaria</i> sp. 1	ITS	99.80%	1	0	1	0,24
TO29	<i>Xylaria</i> sp. 2	ITS	99.59%	2	0	2	0,48
TC30	<i>Xylaria</i> sp. 3	ITS	95.87%	2	4	6	1,45
TOTAL				215	200	415	100

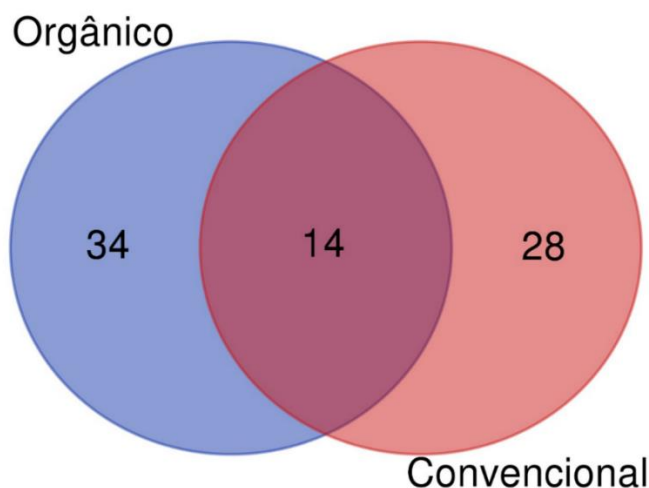
Fonte: A autora (2023) *TO = tomate orgânico, TC = tomate convencional.

4.2 COMUNIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM SISTEMA ORGÂNICO E CONVENCIONAL

Dos 415 isolados fúngicos, 215 foram encontrados associados ao cultivo orgânico e 200 ao cultivo convencional. Das 76 espécies encontradas, 34 foram exclusivamente encontradas associadas ao sistema orgânico e 28 ao convencional, 14 espécies foram encontradas em plantas associadas aos dois sistemas de cultivo (Figura 2), demonstrando que os diferentes manejos agrícolas nos sistemas (orgânico e convencional) influenciam na distribuição das espécies de fungos endofíticos.

A espécie *Nigrospora* sp. 2 que foi encontrada apenas em folhas de tomate do sistema de cultivo orgânico, é uma nova espécie para a ciência. Um representante da ordem Sporidiobolales (*Rhodotorula* sp.) foi exclusivo do cultivo orgânico, sendo o único do filo Basidiomycota. No sistema convencional todas as espécies encontradas pertencem ao filo Ascomycota.

Figura 2 - Diagrama de Venn mostrando a distribuição das espécies entre os sistemas de cultivos (orgânico e convencional).



Fonte: A autora (2023)

O número de isolados e a riqueza de espécies encontrados nos dois cultivos foram maiores para o sistema de cultivo orgânico. Em relação ao índice de Shannon, os dados indicam que os dois sistemas de cultivo (convencional e orgânico) apresentam alta diversidade de espécies, no entanto não houve diferença significativa entre os sistemas de cultivo (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de isolados, riqueza de espécie e índice de Shannon de fungos endofíticos isolados em folhas de tomate cereja carolina, em sistema de cultivo orgânico e convencional.

Sistema	Número de isolados	Riqueza de espécies	Shannon 'H'
Orgânico	215	48	3,093
Convencional	200	42	3,265

Foram realizadas curvas de rarefação para cada sistema de cultivo (orgânico e convencional) com o intuito de investigar a relação entre o número de táxons de fungos e o esforço amostral (Figuras 3 e 4). O número total de espécies esperadas não foi encontrado, portanto, nenhuma das curvas atingiram a assíntota, ou seja, se houvesse um maior esforço amostral a riqueza continuaria aumentando. A riqueza estimada foi de 62 táxons, para o sistema de cultivo orgânico, entretanto apenas 48 espécies foram recuperadas o que corresponde a 77% do esperado. Com relação ao sistema de cultivo convencional também foi estimada em 62 espécies, onde só foram recuperados 42, correspondendo a 67% do valor esperado.

Figura 3- Curva de rarefação do número de espécies de fungos endofíticos em relação ao número de amostras para cada sistema de cultivo orgânico.

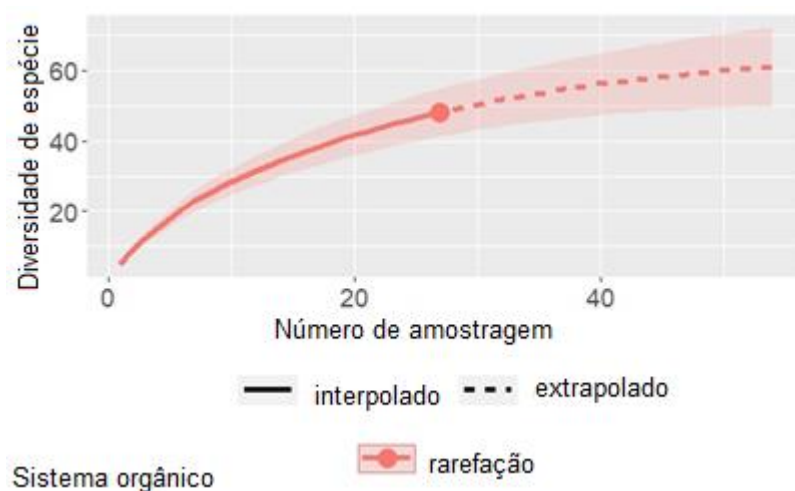
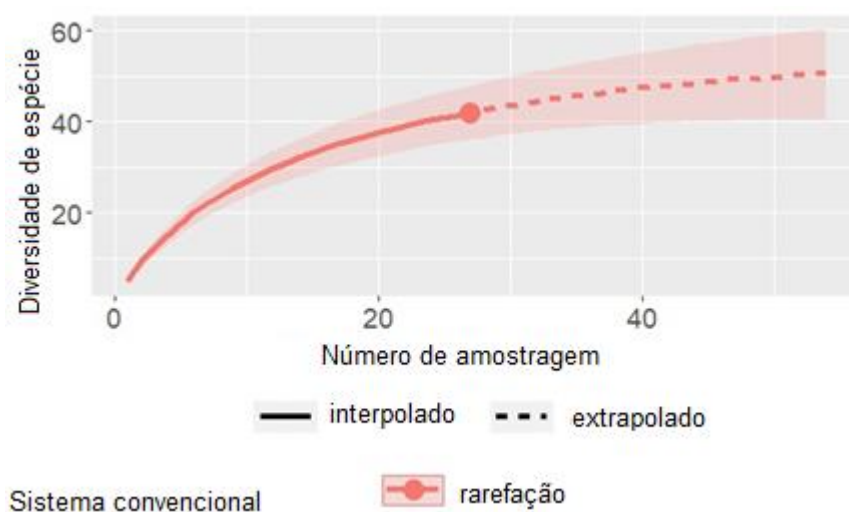
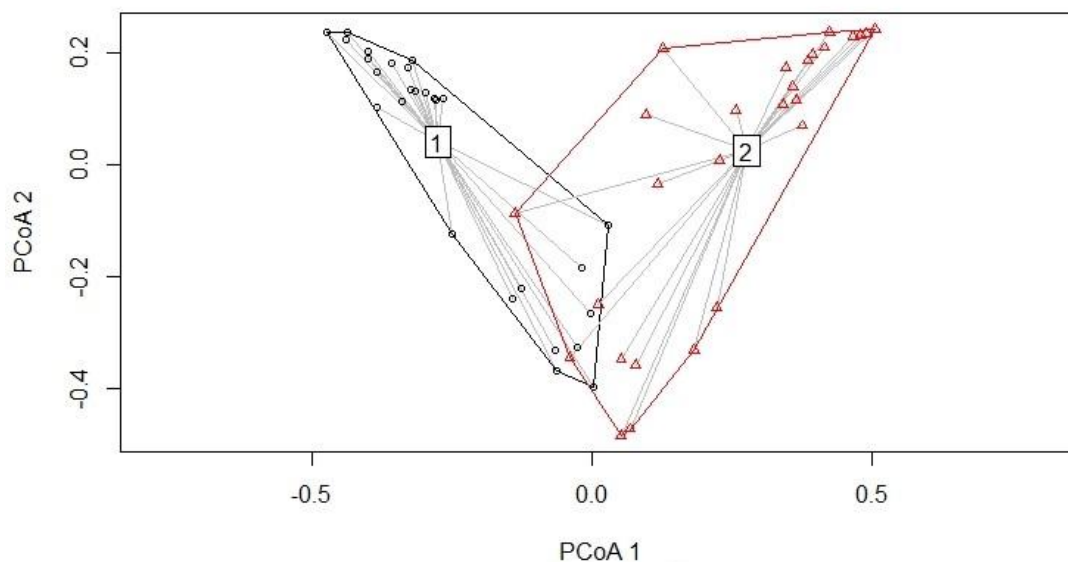


Figura 4- Curva de rarefação do número de espécies de fungos endofíticos em relação ao número de amostras para o sistema de cultivo convencional.



Uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis foi gerada para verificar a estrutura da comunidade de fungos endofíticos dentre os diferentes tipos de sistemas de cultivo (Figura 5). A análise de Coordenadas Principais (PCoA) indicou que existe uma semelhança na composição das comunidades, porém, podemos observar também que existe um número significativo de fungos endofíticos que não é compartilhado entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional. Ambos os sistemas apresentaram algumas espécies únicas.

Figura 5 - Análise de Coordenadas (componentes) Principais (PCoA) baseada na dissimilaridade de Bray-Curtis, mostrando a influência dos sistemas de cultivo orgânico (1) e convencional (2) na composição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de tomate cereja, variedade carolina.

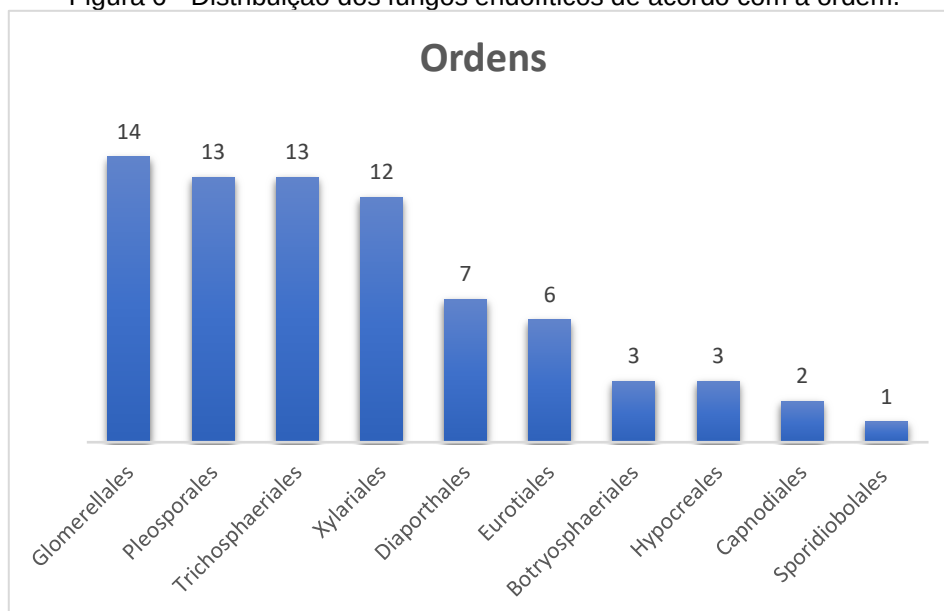


Fonte: A autora (2023)

4.3 Análise filogenética dos fungos endofíticos

Para identificar os isolados fúngicos foram usadas quatro regiões diferentes do DNA: região ITS do rDNA, β -tubulina, Tef-1 α e GAPDH. Essas regiões são comumente usadas para alguns grupos de fungos já descritos em literatura. As sequências geradas nesse estudo foram comparadas com outras utilizando o banco de dados do NCBI. A partir dos resultados obtidos, foi possível distribuir as espécies em 10 ordens (Pleosporales, Xylariales, Eurotiales, Capnariales, Hypocreales, Glomerellales, Diaporthales, Trichosphaeriales, Botryosphaeriales e Sporidiobolales). Porém, para uma espécie, só foi possível a identificação em nível de classe (Gráfico 1).

Figura 6 - Distribuição dos fungos endofíticos de acordo com a ordem.



Fonte: A autora (2023)

Dentro do filo Ascomycota as ordens que possuíram mais espécies foram Glomerellales, Trichosphaeriales e Pleosporales. Todos os isolados de Glomerellales pertencem ao gênero *Colletotrichum*, correspondendo a 55 isolados fúngicos. A ordem Trichosphaeriales foi representada por um único gênero como representante, *Nigrospora*, que teve 82 isolados. Já a ordem Pleosporales teve 147 isolados fúngicos, distribuídos entre os gêneros *Alternaria*, *Corynespora*, *Curvularia*, *Kalmusia*, *Periconia*, *Pithomyces*, *Stagonosporopsis* e *Stemphylium*.

Xylariales foi representada pelos gêneros *Annulohypoxyton*, *Biscogniauxia*, *Daldinia* e *Xylaria*, em Eurotiales foram encontradas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Diaporthales foi representada pelos gêneros *Diaporthe* e *Phomopsis*. Em Hypocreales foram encontrados os gêneros *Clonostachys*, *Fusarium* e *Sarocladium*. Capnodiales, Botryosphaeriales e Sporidiobolales foram representados apenas por um gênero cada, são eles: *Cladosporium*, *Phyllosticta* e *Rhodotorula*, respectivamente. O isolado TC39 teve a identificação apenas em nível de classe, sendo identificado como *Sordariomycetes* sp.

Alguns isolados apresentaram baixa identidade quando comparada a sua sequência com outras do Genbank, são eles: TC81, TO87, TC123 e

TO194. O isolado TO194 (*Nigrospora* sp. 2.) é uma nova espécie para a ciência.

Uma árvore filogenética foi construída, a partir de sequências ITS do rDNA, para confirmação dos resultados obtidos na análise de BLASTn, usando Inferência Bayesiana (BI) (Figura 6). O isolado TC39 agrupou com sequências de *Sordariomycetes* sp., já os isolados TO121 e TC211 foram agrupados como sequências de *Colletotrichum* sp. 4, e *Colletotrichum* sp. 1, respectivamente. Os isolados TC257 e TO138 agruparam-se com *Colletotrichum gloeosporioides* e *Clonostachys rosea*, respectivamente. A sequência de TO10 agrupou-se como *Fusarium keratoplasticum* e TO43 com *Sarocladium* sp., enquanto *Biscogniauxia* sp. foi representada na árvore pela sequência TC172.

Os isolados TO178, TC277, TC289, TO129 agruparam-se com outras sequências de *Nigrospora*, no entanto não foi possível sua identificação a nível de espécie. Quatro sequências (TC66, TO64, TC266, TC30) agruparam com espécies do gênero *Xylaria*, *Xylaria muscula*, *Xylaria* sp. 1, *Xylaria berteroi* e *Xylaria* sp. 3, respectivamente. Os isolados TO14 e TC70 agruparam-se com sequências de *Annulohypoxylon* sp. e *Annulohypoxylon stygium*, respectivamente. Os isolados TO116, TO96, TO19 agruparam-se com espécies de *Daldinia* sendo, respectivamente, *Daldinia theissenii*, *Daldinia* sp. e *Daldinia eschscholtzii*. As sequências dos isolados TC300 e TC197 incluíram-se no gênero *Diaporthe* (*Diaporthe helianthi* e *Diaporthe* sp. 1), enquanto o isolado TC231 foi identificado na árvore filogenética como *Phomopsis* sp. Os isolados do gênero *Phyllosticta* foram representados por *Phyllosticta* sp. 1 (TO149), *Phyllosticta* sp. 2 (TO150/TC269) e *Phyllosticta* sp. 3 (TC298).

O filo Basidiomycota foi representado pela ordem Sporidiobolales, que apresentou apenas um isolado (TO140), essa espécie foi identificada como *Rhodotorula* sp. com um percentual de identidade de 99.81%, de acordo com o Blastn. O isolado TO192 agrupou filogeneticamente com *Periconia byssoides* e TO166 agrupou com *Pithomyces chartarum*. *Kalmusia italica* foi representada pelo isolado TO100. Os isolados TO24 e TC287 foram agrupados com *Corynespora cassiicola*.

O gênero *Stagonosporopsis* foi filogeneticamente representado pelas espécies *Stagonosporopsis* sp. (TO221 e TC26) e *Stagonosporopsis cucurbitacearum* (TC23). Os isolados TO59, TO7 e TO180 agruparam-se com

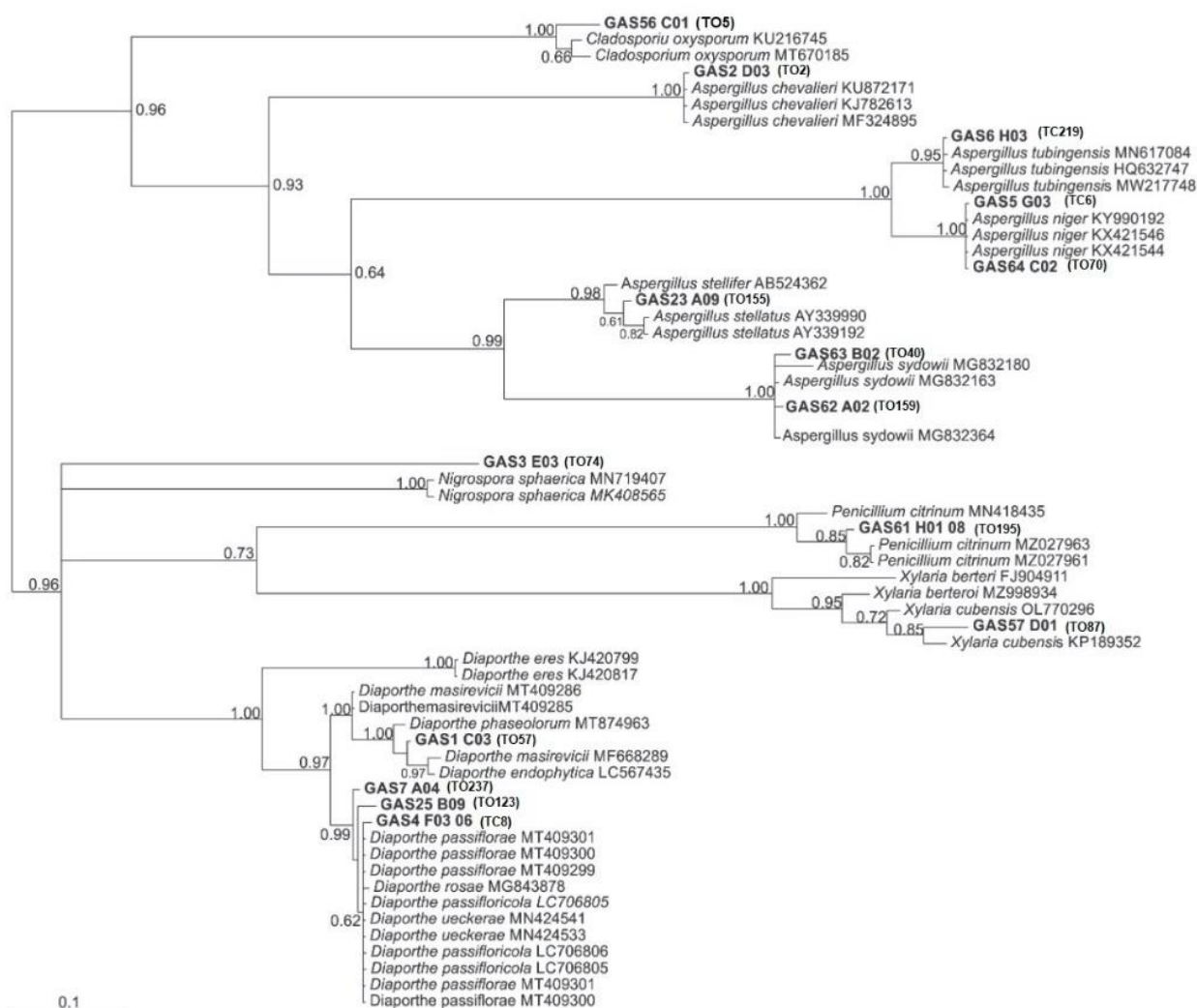
Alternaria dauci, *Alternaria* sp. 1 e *Alternaria* sp. 2, respectivamente. Os espécimes TO215 e TC123 agruparam com *Curvularia geniculata* e *Curvularia intermedia*, respectivamente. O gênero *Stemphylium* foi filogeneticamente representado por quatro isolados *Stemphylium lycopersici* (TO23/TC100), *Stemphylium solani* (TC54) e *Stemphylium* sp. (TC57).

Figura 7- Árvore filogenética construída usando a região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento das sequências dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomateiro. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho.



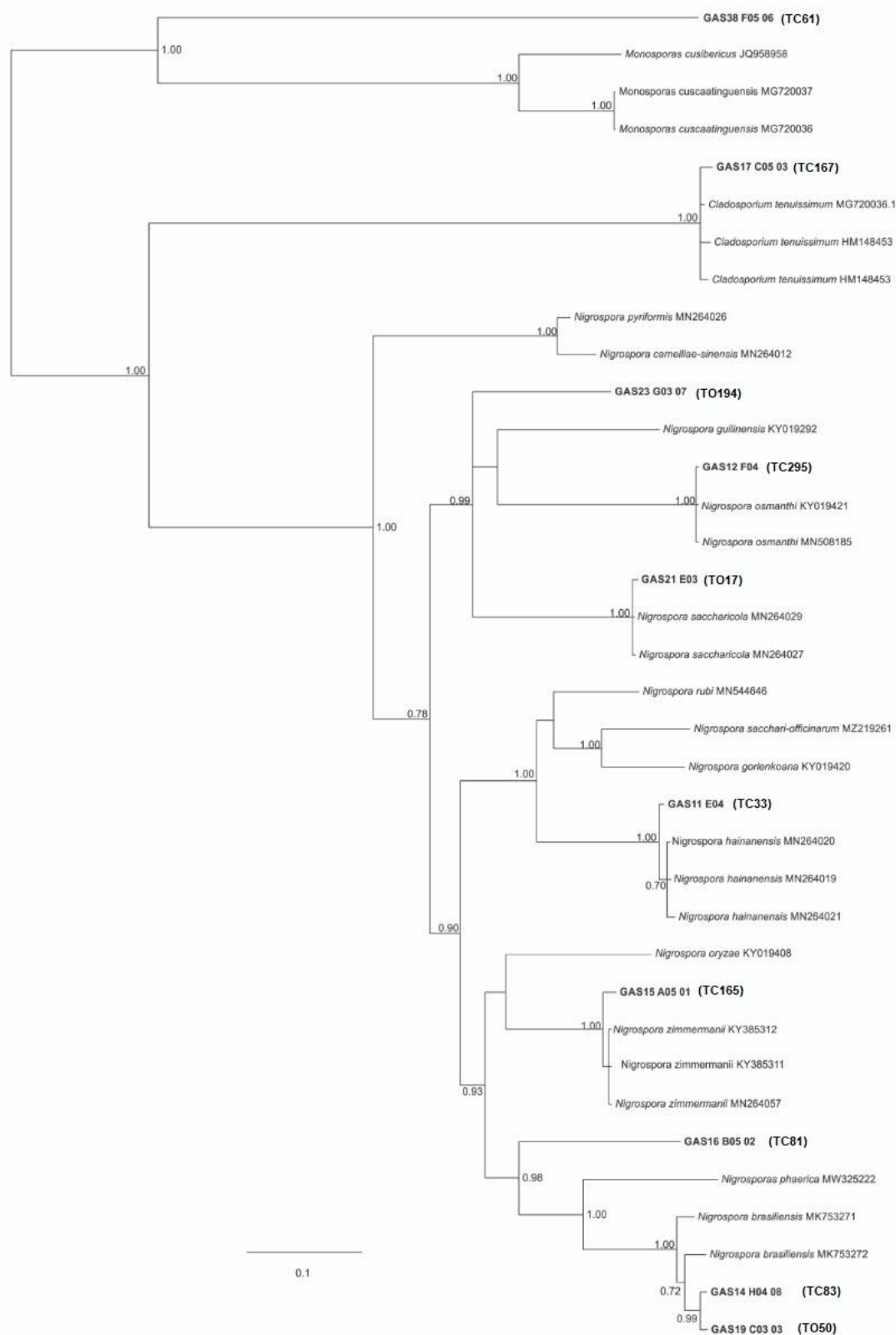
Igualmente, foi construída uma árvore usando análise Bayesiana (BI) a partir de sequências do gene β -tubulina (Figura 7). As sequências dos isolados TO2, TC219, TC6/TO70, TO155, TO40 e TO159 agruparam-se em *Aspergillus*, sendo respectivamente representados por *Aspergillus chevalieri*, *Aspergillus tubingensis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus stellifer* e *Aspergillus sydowii*. *Cladosporium oxysporum* foi representado na árvore pelo isolado TO5. O isolado TO74 foi morfológicamente identificado como *Diaporthe* sp. 2, no entanto filogeneticamente agrupou-se dentro do clado sordariomycetes não sendo possível a identificação a nível específico. *Penicillium citrinum* teve apenas um isolado representado na árvore o TO195. O isolado TO87 agrupou com *Xylaria cubensis*. No gênero *Diaporthe* as sequências dos isolados do presente estudo agruparam-se com *Diaporthe masirevicii* (TO57), *Diaporthe* sp. 1 (TO237), *Diaporthe* sp. 3 (TO123) e *Diaporthe passiflorae* (TC8).

Figura 8- Árvore filogenética construída usando a região β -tubulina do rDNA, mostrando o posicionamento das sequências dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomateiro. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho.



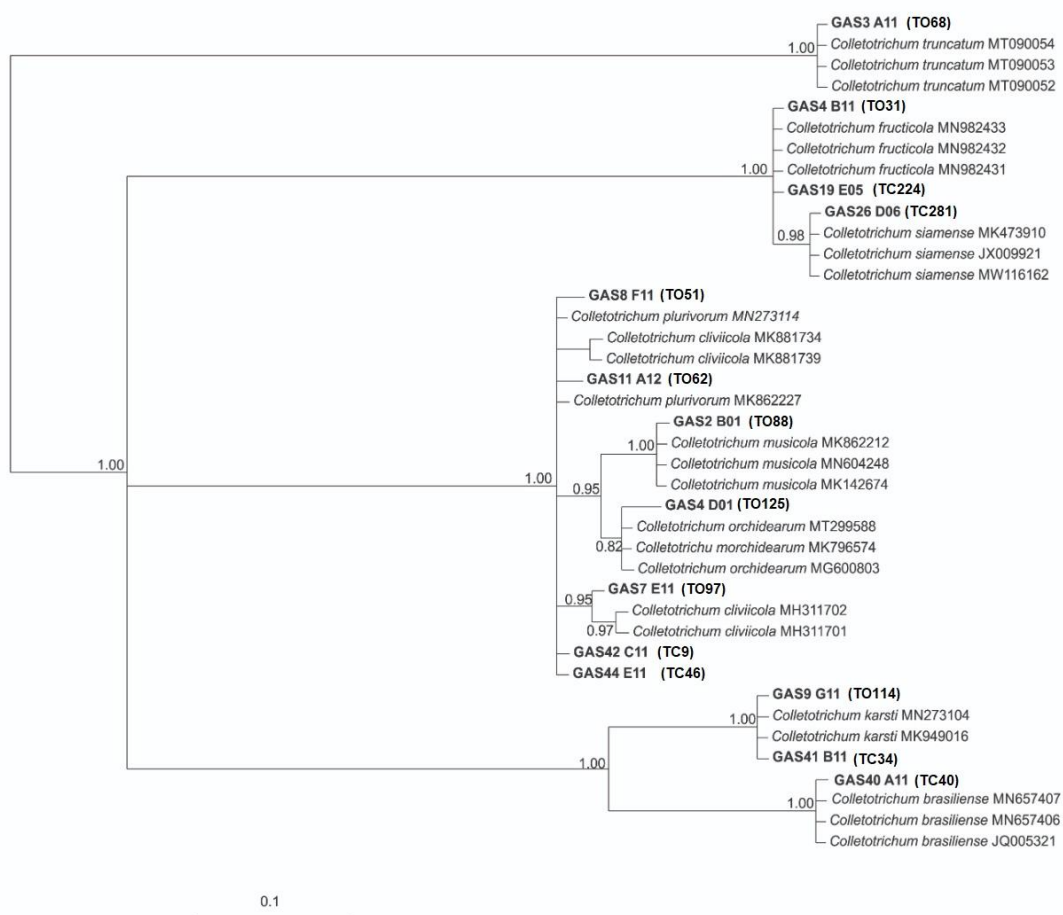
Uma árvore filogenética a partir de sequências do gene TEF-1 α também foi construída (Figura 8). O isolado TC61 foi agrupado como *Monosporas* sp. *Cladosporium tenuissimum* foi representado na árvore filogenética como o isolado TC167. O isolado TO194 filogeneticamente dentro do gênero *Nigrospora* não se agrupou com outras espécies, sendo considerada uma nova espécie para ciência. Os isolados TC295, TO17, TC33, TC165, TC81, TC83 e TO50, agruparam como *Nigrospora osmanthi*, *N. saccharicola*, *N. hainanensis*, *N. zimmermanii*, *Nigrospora* sp. 5 e *Nigrospora brasiliensis*, respectivamente.

Figura 9- Árvore filogenética construída usando a região TEF-1 do rDNA, mostrando o posicionamento das sequências dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomateiro. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho.



A figura 9 representa uma árvore filogenética obtida a partir de sequências do gene GAPDH de isolados de *Colletotrichum*. O isolado TO68 agrupou com alto valor de suporte com *Colletotrichum truncatum*. Os isolados TO31 e TC224 foram agrupados com *Colletotrichum fructicola*, o isolado TC281 foi inserido no grupo da espécie *Colletotrichum siamense*. Além disso, os isolados TO62, TO88, TO125, TO97, TC9, TC46, TO114/TC34 e TC40 foram representados na árvore como *Colletotrichum plurivorum*, *Colletotrichum musicola*, *Colletotrichum orchidearum*, *Colletotrichum cliviicola*, *Colletotrichum* sp. 3, *Colletotrichum* sp. 2, *Colletotrichum karsti* e *Colletotrichum brasiliense*, respectivamente.

Figura 10- Árvore filogenética construída a partir do gene GAPDH, mostrando o posicionamento das sequências dos isolados fúngicos obtidos em folhas de tomateiro. Valores de suporte são de análises de inferência bayesiana. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho.



5 DISCUSSÃO

Estudou-se a comunidade de fungos endofíticos em folhas sadias de tomateiro cereja, variedade carolina, cultivados em diferentes sistemas de manejo (orgânico e convencional). No presente estudo encontramos um número de isolados fúngicos (415 isolados) semelhante a outros estudos. Silva (2016) relatou 476 espécimes de fungos endofíticos em folhas de *Sorghum bicolor*. Em um estudo realizado por Freire et al. (2016) 400 espécimes de fungos endofíticos foram encontradas em plantas do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. Souza et al. (2004), relataram 571 isolados de fungos endofíticos em plantas tóxicas da Amazônia.

A composição da comunidade de fungos endofíticos no vegetal sofre influência de diversos fatores. No presente estudo os resultados mostram que os diferentes sistemas de cultivos (orgânico e convencional) podem influenciar a comunidade endofítica. Apesar dos dois tipos de cultivos (orgânico e convencional) apresentarem um número de isolados (215 e 200, respectivamente) e uma riqueza (34 e 28, respectivamente) apenas 14 espécies foram compartilhadas entre os diferentes sistemas de cultivo. Tanto o sistema de cultivo orgânico como o convencional possuíram muitas espécies de fungos endofíticos exclusivas. Em um estudo sobre berinjela (*Solanum melongena* L.), foi possível observar que diferentes práticas de manejo podem influenciar na composição da comunidade de fungos endofíticos (RAPOSO, 2021). VARANDA et al. (2016) relataram que os fungos endofíticos em videira podem ser influenciados tanto pela cultivar como pelo modo de manejo da planta. A comunidade de fungos endofíticos varia de acordo com fatores externos, como as condições climáticas, e fatores internos como a fisiologia do vegetal. O presente estudo é o pioneiro em se tratando de fungos endofíticos em folhas de tomateiro cereja, além disso foi possível registrar uma espécie nova para ciência (*Nigrospora* sp.2).

Oliveira et al. (2014) relataram que *Coffea arabica* abriga uma considerável diversidade de fungos endofíticos tanto no sistema de cultivo orgânico como no convencional, no entanto o mesmo estudo relatou um número maior de isolados associados ao cultivo convencional (176) e um menor número associado ao cultivo orgânico (160). Xia et al. (2019) em um

estudo sobre comunidade de fungos endofíticos em milho, tomate, melão e pimenta, relataram que o número de isolados de fungos endofíticos associado com todas as quatro espécies de plantas foi maior no sistema de cultivo orgânico (550 isolados) do que no sistema convencional (190). Nos estudos citados acima, foi possível constatar que tanto o sistema orgânico como o convencional possuíram espécies exclusivas para cada sistema.

Das 76 espécies encontradas, 39 foram consideradas raras por apresentarem apenas um ou dois isolados. Outros estudos também evidenciam um número consideravelmente alto para espécies raras (SANTAMARIA et al., 2018; SILVA, 2020). De acordo com os resultados obtidos, o tomateiro cereja abriga alta riqueza de espécies endofíticas. Nascimento (2014) relatou em um estudo feito em folhas de aceroleira alta riqueza de endófitos. Por outro lado, Oliveira et al. (2014) constataram que as comunidades de fungos endofíticos apresentaram pouca riqueza de espécies, em um estudo comparando a comunidade endofítica do cafeeiro em sistema de cultivo orgânico e convencional.

O índice de Shannon-Wiener (H') revelou que tanto o sistema de cultivo convencional quanto o orgânico apresentam alta diversidade de fungos endofíticos, quando comparado com outros estudos. Oliveira et al. (2014) estudando a comunidade de fungos endofíticos em *Coffea arábica* observaram um índice de diversidade de fungos endofíticos semelhante em ambos os sistemas de manejo (convencional e orgânico). Enquanto Radić et al. (2014) relataram que o sistema de cultivo orgânico apresentou maior diversidade de fungos em vinhedos do sul da Croácia.

No presente estudo, a maioria dos táxons encontrados foram representados pelo filo Ascomycota. Estudos mostram que é comum as espécies endofíticas serem predominantemente do filo Ascomycota (REN et al., 2019; SILVA, 2020; SANTOS, 2021). Levando em consideração as ordens, as mais frequentemente associadas aos dois tipos de sistema de cultivo foram Trichosphaeriales, Pleosporales e Glomerellales. Consequentemente, *Nigrospora*, *Stemphylium* e *Colletotrichum* foram os gêneros mais frequentes.

O gênero *Nigrospora* é comumente relatado como endófito de diversos vegetais. Espécies de *Nigrospora* já foram encontradas como endófitos em folhas de *Guarea macrophylla* e *Paubrasilia echinata*, no estado da Bahia (DOS SANTOS, 2021). *Nigrospora* também foi relatada como fungo endofítico em culturas de soja (*Glycine max* L. Merrill) em sistema de cultivo orgânico e convencional, no Paraná (DA COSTA STUART, 2018). Além disso, *Nigrospora* também foi relatada em folhas de tomate, milho, melancia, e pimenta cultivadas em sistemas de manejo orgânico e convencional (XIA et al. 2019). Por outro lado, um estudo feito em semente de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) relatou o gênero *Nigrospora* como fitopatógeno (MENEGAES, 2021). Dos 25 gêneros encontrados neste estudo, *Nigrospora* foi o mais representativo, com espécies relatadas nos dois sistemas de cultivo (orgânico e convencional).

De acordo com Llorente et al. (2006) espécies do gênero *Stemphylium* são causadoras da doença estenfiliose, que é responsável por elevados prejuízos em grandes áreas de pomares pela Europa. A estenfiliose (mancha de estenfilio) é uma doença do tomateiro, que ocorre em todas as regiões onde se cultiva o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), e pode prejudicar a planta em qualquer estágio de vida (BIZARRO, 2012). Apesar de ser um fungo relatado como patógeno de plantas, o gênero *Stemphylium* já foi isolado como endofítico de uma variedade de plantas incluindo folhas sadias de *Vitis labrusca* L. cv. isabel, no vale do Siriji, em caule de *Mentha pulegium* e em *Holcus lanatus* (gramínea) (LIMA, 2010; TEITEN et al., 2013; SÁNCHEZ MÁRQUEZ, 2009). Neste trabalho, *Stemphylium lycopersici* foi relatada como a espécie mais frequente, e consequentemente um dos gêneros mais representativo, além disso, espécies de *Stemphylium* foram encontradas nos dois sistemas de cultivo.

O gênero *Colletotrichum* é considerado patógeno de diversas plantas. No entanto, apesar de causar grandes perdas na agricultura, *Colletotrichum* é um gênero comumente encontrado como endofítico. Mélo (2019) isolou espécies de *Colletotrichum* em folhas de *Guapira nitida* e *Nectandra* sp., no sul da Bahia. Santos (2020) relatou *Colletotrichum* como o gênero mais representativo em folhas de *Cariniana legalis*, *Guarea macrophylla* e

Paubrasilia echinata. Em outro estudo, Araújo (2001) mostrou que *Colletotrichum* foi o gênero mais frequente em folhas de *Citrus rootstocks*.

Silva (2020) mencionou que *Alternaria* foi um dos gêneros, de fungos endofíticos, mais dominante em folhas de cucurbitáceas em Pernambuco. Basílio (2021) também confirmou, em seu estudo feito com videiras de Alentejo, que o gênero *Alternaria* era o mais frequente, corroborando com o estudo realizado por Silva (2020). O gênero *alternaria* também foi citado como fungo endofítico, isolado de folíolos e ramos *Poincianella pyramidalis* de área de Caatinga (OLIVEIRA, 2019). *Alternaria* também foi isolado como endofítico em caule de tomate de cultivo natural no Japão (DASTOGEER, 2020). Por outro lado, *Alternaria* foi citado como fitopatógeno em folhas de mamoeiro em fazendas localizadas no estado do Rio Grande do Norte (BRITO, 2019), além disso, Halawa (2019) citou *Alternaria* como um agente causal de doenças em *Conocarpus erectus*.

Annulohypoxyton foi um gênero isolado como endófito de *Citrullus lanatus* (SILVA, 2020), *Guapira nitida* (MELO, 2019) e *Paubrasilia echinata* (SANTOS, 2021). Em todos os trabalhos citados acima, o número de isolados foi baixo comparado com outros gêneros.

Aspergillus é um gênero comumente encontrado, sendo citado em diversos vegetais de importância econômica como *Sorghum bicolor*, *Phaseolus vulgaris* (Feijão), *Oryza sativa* (Poaceae), *Lycopersicon Esculentum* (tomate), *Theobroma cacao* (cacau), cana-de-açúcar e morango (SILVA (2016); PARSA et al. (2016); POTSHANGBAM et al. (2017); XIA et al. (2019); HANADA et al. (2010); ROMÃO-DUMARESQ et al. (2016); AMATUZZI, (2017).

O gênero *Biscogniauxia*, foi citado como fungo endofítico de Cactos (*Opuntia humifusa*) (SILVA-HUGHES et al. 2015). Rogers (2000) relatou que diversas espécies do gênero *Biscogniauxia* são patógenos latentes, ou seja, invadem o hospedeiro e permanecem quiescentes até que o estresse permita que o patógeno colonize rapidamente o hospedeiro.

Cladosporium é considerado um gênero cosmopolita, algumas de suas espécies são patógenas de vários vegetais e humanos (OGÓREK, 2012). Porém, *Cladosporium* é amplamente citado como endofítico, tanto neste estudo

como em folhas de soja (*Glycine max* L. Merrill), melancia (*Citrullus lanatus*), abóbora (*Cucurbita moschata*) e berinjela (*Solanum melongena* L.) (DA COSTA STUART et al., 2018; SILVA, 2020; RAPOSO, 2021).

O gênero *Clonostachys* é comumente citado em trabalhos relacionado a controle biológico, a espécie encontrada no nosso trabalho *Clonostachys rosea* é bastante utilizada no controle de vários patógenos em diversos hospedeiros (SARAIVA et al., 2014). Castro avaliou o uso de *Clonostachys* sp. como promotor de crescimento na cultura da soja (CASTRO, 2020). Além disso, Hanada et al. (2010) isolou espécimes de *Clonostachys* em *Theobroma cacao*, como endofítico.

Corynespora, neste estudo, foi um dos gêneros encontrados nos dois sistemas de manejo (orgânico e convencional), representado pela espécie *Corynespora cassiicola*, que é comumente citada na literatura como um patógeno (TERAMOTO, 2013; SCHLUB, 2007). De acordo com Déon (2012), *Corynespora cassiicola* está presente em seringueiras no Brasil de forma endofítica.

Curvularia foi isolado como endófito de *Ocotea corymbosa*, milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor*), *Cucurbita moschata*, *Citrullus lanatus* e *Cucumis melo* (TELES, 2005; FERREIRA, 2010; ZIDA et al., 2014; OLIVEIRA, 2018; SILVA, 2020). Uma espécie do gênero *curvularia* também já foi relatada causando requeima em plantações de tomate no Egito (ABDELFATAH, 2021).

Fungos endofíticos do gênero *Daldinia* geralmente são citados na literatura como um excelente inibidor da ação fúngica, reforçando que ainda existe muito para ser estudado em relação aos fungos endofíticos (KHRUENGSAI et al. 2021; PANDEY, 2014; LIARZI et al., 2016).

Kalmusia foi relatado na literatura como endófito de duas variedades de uvas (Sweet Scarlet e Flame) (WIJEKOON & QUILL, 2021) e foi relatado também em tecidos de *Hevea brasiliensis*, uma planta nativa da floresta amazônica brasileira (ARAÚJO et al., 2020). Entretanto, ABED-ASHTIANI et al. (2019) relataram *Kalmusia* como patógeno, causando sintomas e doenças no tronco de Grapevine (*Vitis vinifera* L.), levando a um declínio na produção de uvas no irã.

Penicillium foi isolado como endofítico de tecido saudável da casca de *Azadirachta indica* (KUMARI, 2021), sendo também relatado como endofítico em soja (*Glycine max.* L), onde foi capaz de inibir todos os fitopatógenos deste vegetal (SPELTRI, 2021). Micotoxinas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, antioxidantes enzimas, anticancerígenos e antibióticos são citados na literatura como metabolitos secundários produzidos por fungos do gênero *Penicillium* (FRISVAD et al., 2004). Além disso, *Penicillium* foi relatado como fitopatógeno em sementes de Cuia, Jenipapo e Juçara, representando a metade dos isolados em semente de Cuia (DO ROSÁRIO, 2022).

Periconia foi relatado como endofítico em raízes de *Sorghum bicolor* e em folhas saudáveis de *Manihot esculenta* Crantz e *Mentha piperita* (OLIVEIRA, 2018; HERRMANN, 2019; RAMÍREZ-CAMEJO, 2022). Além disso, *Periconia* foi isolado, como endófito, de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. *Big Beef*) em plantações com manejo orgânico e convencional (XIA, 2019). Entretanto, a espécie *Periconia byssoides*, a mesma encontrada nesse estudo, foi citada como fitopatógeno em folhas de *Cassia fistula*, causando mancha foliar (OLIVEIRA, 2020).

Phomopsis sp. e *Diaporthe* sp. foram mais dominantes em folhas e ramos de *Stryphnodendron adstringens*, popularmente chamado de barbatimão e *Solanum lycocarpum*, comumente chamada de lobeira, ambas são utilizadas no âmbito medicinal (TORRES, 2022). De acordo com LAHLALI e HIJRI (2010), *Phomopsis* sp. apresentou antagonismo inibindo o crescimento do fungo fitopatogênico *Rhizoctonia solani* por competição por nutrientes e espaço, em folhas de batata. O gênero *Diaporthe* (anamorfo: *Phomopsis*) está distribuído mundialmente e possui uma grande variedade de hospedeiros. As espécies deste gênero podem ser fitopatógenas, saprófitas ou simbiontes endofíticos (UECKER 1988; UDAYANGA et al. 2011; GOMES et al. 2013).

Espécies do gênero *Rhodotorula*, pertencente ao filo Basidiomycota, foram isolados como endofíticos de *Triticum aestivum* L. (trigo) e *Hyptis suaveolens* (LARRAN et al., 2007; BARBOSA et al., 2015). Outros estudos relatam espécies *Rhodotorula* em folhas de *Malus doméstica* (maçã), *Coffea arábica* (café), acerola, pitanga, umbu e *Citrullus lanatus* (melancia) (CAMATTI-

SARTORI et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2014; TRINDADE et al., 2019; SILVA, 2020), vegetais de grande importância econômica.

Espécies de *Sarocladium* foram citadas como endófitas em folhas, bainhas e em sementes de *Brachiaria* (LIU, 2017; TEASDALE, 2018). Em um estudo feito por Tian et al. (2022), foi relatado que *Sarocladium terricola* possui uma atividade antagônica contra *Meloidogyne incognita*, em raízes de tomateiro.

A classe Sordariomycetes é cosmopolita, relatada como patógeno e endófito de plantas e responsáveis pela ciclagem de material em decomposição (ZHANG et al., 2006). Maharachchikumbura et al. (2016) estimaram que havia 1.331 gêneros em 105 famílias, 32 ordens, e seis subclasses em Sordariomycetes. Neste estudo, apenas um isolado (TC39) foi identificado como membro de Sordariomycetes, não sendo possível sua identificação em nível de espécie.

O gênero *Phyllosticta* foi relatado como fungo endofítico em folhas de cafeeiro em sistemas de manejo orgânico e convencional no nordeste do Brasil (OLIVEIRA, 2014). Além disso, *Phyllosticta* foi relatado em caules e folhas de *Styrax sumatrana* (ELFIATI et al. 2021).

Fusarium foi isolado de folhas de morango coletadas em fazendas com cultivo orgânico e convencional, no Paraná (AMATUZZI, 2017). Além disso, *Fusarium* foi isolado de tecidos da parte aérea, raiz e sementes do tomate (*Solanum lycopersicum* var. *Big Beef*) em plantações do sistema orgânico e convencional (XIA, 2019). Os fungos do gênero *Fusarium* estão entre os principais fitopatógenos conhecidos, ocasionando doenças que provocam perdas consideráveis na colheita de cereais, cultivo de hortaliças e frutas (PARDO, 2022).

O gênero *Xylaria* é considerado um dos mais comumente encontrados como endofíticos de regiões tropicais, porém não é facilmente identificado em nível de espécie pela dificuldade de esporulação em meio de cultura (DAVIS et al., 2003). Espécies do gênero *Xylaria* foram utilizadas no biocontrole de doenças do tomateiro, além disso, também podem promover o crescimento do vegetal (BROOKS, 2022).

Pithomyces foi isolado como endófito de *Vitis vinifera*, *Styrax sumatrana* (PANCHER, 2012; ELFIATI et al. 2021). *Pithomyces* foi isolado pela primeira vez em alburno, cultiváveis de variedades de azeitona da Apúlia. O gênero *Pithomyces* também é constantemente relatado como agente de biocontrole de doenças fúngicas em diversos vegetais (HANANI, 2021).

Stagonosporopsis cucurbitacearum foi isolado como endófito de *Glycyrrhiza glabra* L. (Alcaçuz), uma importante planta medicinal utilizada tradicionalmente ao longo dos séculos (ARORA, 2019). Além do mais, Haga et al. (2013) relataram que a espécie *Stagonosporopsis cucurbitacearum* foi responsável por desenvolver quatro tipos de alcaloides de piridina, que mostraram atividade antifúngica contra *Candida albicans*. Enquanto Yu et al. (2017), isolaram dois novos compostos alcaloides de *Stagonosporopsis oculihominis*, portanto, fungos do gênero *Stagonosporopsis* possuem alto potencial para o desenvolvimento de metabolitos secundários. *Stagonosporopsis cucurbitacearum* foi uma das espécies mais frequente neste trabalho, sendo exclusiva do sistema de cultivo orgânico.

Silva (2016) relatou espécies de *Cladosporium*, *Colletotrichum* e *Fusarium* como endofíticos em sorgo, espécies desses gêneros geralmente são citadas como fitopatogênicos, porém, não foi relatado qualquer sintoma de doenças nas plantas desse estudo. Diversas espécies encontradas nesse estudo já foram citadas na literatura como fitopatógenos, com isso podemos destacar que o estudo revelou a ocorrência desses fungos vivendo de uma forma latente, ou seja, sem causar danos as folhas.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que o tomateiro cereja, variedade carolina, cultivado em sistema orgânico e convencional, abriga uma alta diversidade de fungos endofíticos, além disso os diferentes sistemas de cultivo podem influenciar diretamente a composição das comunidades desses fungos. O uso de agroquímicos pode reduzir a abundância e riqueza da comunidade de fungos endofíticos em folhas de tomate cereja.

A ocorrência de uma nova espécie descrita para ciência sugere que é possível que a cultura do tomate abrigue outras novas ocorrências de fungos endofíticos.

Os dados obtidos no presente estudo podem servir de subsídio para futuros trabalhos biotecnológicos que podem ser aplicados na agricultura, principalmente no controle biológico de pragas.

REFERÊNCIAS

- ABDELFAH, H.A.S. et al. *Curvularia lunata* as new causal pathogen of tomato early blight disease in Egypt. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 3, p. 3001-3006, 2021.
- ABED-ASHTIANI, F.; NARMANI, A.; ARZANLOU, M. Analysis of *Kalmusia variispora* associated with grapevine decline in Iran. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154, n. 3, p. 787-799, 2019.
- ALCAZAR-ESQUINAS, J. T. Genetic resources of tomatoes and wild relatives. **International Board of Plant Genetic Resources**, Rome, Italy, 1981.
- ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Sistemas de produção em campo aberto e em ambiente protegido. Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia. **Editora UFLA**, Lavras, 400p, 2004.
- ALY, A. H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. **Applied microbiology and biotechnology**, Berlin, v. 90, n. 6, p. 1829–1845, 2011.
- AMATUZZI, R. F. et al. Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller)(Lepidoptera: Crambidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, p. 429-435, 2017.
- ANDRADE, E. M. G. et al. Adubação orgânomineral em hortaliças folhosas, frutos e raízes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 07-11, 2012.
- ARAÚJO, K.S. et al. Diversity and distribution of endophytic fungi in different tissues of *Hevea brasiliensis* native to the Brazilian Amazon Forest. **Mycological Progress**, v. 19, n. 10, p. 1057-1068, 2020.
- ARAÚJO, W. L. Micro-organismos endofíticos no controle biológico: In:Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. **7º Anais - Bento Gonçalves, Embrapa Uva e Vinho**, p.1-6. 2001.
- ARAÚJO, W.L. et al. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 229–236, 2001.
- ARNOLD, A. E. et al. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse?. **Ecology Letters**, v.3, n.4, p.267-274, 2000.

ARORA, P. et al. Community structure, spatial distribution, diversity and functional characterization of culturable endophytic fungi associated with *Glycyrrhiza glabra* L. **Fungal biology**, v. 123, n. 5, p. 373-383, 2019.

ASSIS, I. P. et al. FUNGOS EM FRUTAS in natura E EM PRODUTOS INDUSTRIALIZADOS À BASE DE FRUTAS. **Agrotópica**, v. 31, p. 231-238, 2019.

AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. **Fungi: multifaceted microbes**, v. 1, p. 189-207. 2007.

AZEVEDO, J.A. Endophytic Fungi from Brazilian Tropical Hosts and Their Biotechnological Applications. **Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security**, p. 17-22, 2014.

AZEVEDO, J.L. et al. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, p. 40-65. 2007.

BARBOSA, E. et al. Isolamento, identificação e avaliação das atividades enzimática e antibacteriana de micro-organismos endofíticos de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 22, 2015.

BARCHI, L. et al. A chromosome-anchored eggplant genome sequence reveals key events in Solanaceae evolution. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-13. 2019.

BASÍLIO, A. A. DE C. **Avaliação das comunidades de fungos endofíticos em duas castas de videiras do Alentejo com diferentes suscetibilidades a doenças do lenho**. 2021. 85f. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia Agrônômica) Universidade de Évora, Évora, 2021.

BATEMAN, D. F., & BASHAM, H. G. (1976). Degradation of plant cell walls and membranes by microbial enzymes. **Physiological plant pathology**, p. 316-355. 2001.

BEJINHA, V. C. C. **A cultura do tomate para indústria**. 2006. 28f. Relatório de projeto (Graduação de Engenharia de Sistemas Agrícolas e Ambientais) – Instituto Politécnico de Beja, Beja, 2006.

BELTRÃO, B. A. et al. **Diagnóstico do município de Lagoa de Itaenga**. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea estado de Pernambuco. 2005.

BENSCH, K. et al. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology**, 72, 1e401. 2012.

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

BIZARRO, P. M. D. B. **Estenfiliose na couve coração-de-boi**. 2012. 56f. (Tese de doutorado em Engenharia Agrônômica, Ramo Hortofruticultura e Viticultura) Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal. 2012.

BLODGETT, J.T. et al. Soil amendments and watering influence the incidence of endophytic fungi in *Amaranthus hybridus* in South Africa. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p. 311-318. 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica. Disponível em: <[L10831 \(planalto.gov.br\)](http://L10831.planalto.gov.br)>. Acesso em: 18 de novembro de 2021.

BREM, D. & LEUCHTMANN, A. Intraspecific competition of endophyte infected vs uninfected plants of two woodland grass species. **Oikos**, Buenos Aires, v. 96, n. 2, p. 281-290, 2002.

BRITO, A. L. de C. et al. **Estudo genômico e proteômico do fitopatógeno *Alternaria alternata* na cultura do mamão**. 2019. 59f. Dissertação (Pós-graduação em ambiente tecnologia e sociedade) UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO, Mossoró – RN, 2019.

BROOKS, S. et al. *Xylaria feejeensis*, SRNE2BP a Fungal Endophyte with Biocontrol Properties to Control Early Blight and Fusarium Wilt Disease in Tomato and Plant Growth Promotion Activity. **Current Microbiology**, v. 79, n. 4, p. 1-15, 2022.

BUAINAIN, A.M. & BATALHA, M.O. **Cadeia Produtiva de Produtos Orgânicos**. Série Agronegócios. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Secretaria de Política Agrícola – SPA. Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura – IICA, p. 109. 2007.

CAMATTI-SARTORI, V. et al. Endophytic yeasts and filamentous fungi associated with southern Brazilian apple (*Malus domestica*) orchards subjected to conventional, integrated or organic cultivation. **Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms**, v. 45, n. 5, p. 397-402, 2005.

CANÇADO, J. et al. Aspectos econômicos da produção e comercialização do tomate de mesa. **Informe Agropecuario**, Belo Horizonte, v. 24, n. 219, p. 7 – 18, 2003.

CARROLL, G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. **Ecology**, v. 69, p. 2–9. 1988.

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

CASTRO, J. G. de. ***Clonostachys* sp. Como promotor de crescimento vegetal em Soja**. 2020. 33f. Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de Conclusão de Curso), Universidade Federal do Tocantins, 2020.

CHAPLA, V.M., BIASETTO, C.R., ARAUJO, A.R. Endophytic Fungi: An Unexplored and Sustainable Source of New and Bioactive Natural Products. **Revista Virtual Química**, v.5, n.3, p.421-437, 2013.

- COSTA, M.B.B. et al. Agroecology development in Brazil between 1970 and 2015. **Agroecology and Sustainable Food Systems**, v.41, p.276-295. 2017.
- DA COSTA STUART, A. K.; STUART, R. M.; PIMENTEL, I. C.. Effect of agrochemicals on endophytic fungi community associated with crops of organic and conventional soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Agriculture and Natural Resources**, v.52, n.4, p.388-392, 2018.
- DA SILVA, A. F. et al. **Diversidade e bioprospecção de fungos endofíticos associados aos cactos *Melocactus ernestii* e *Opuntia humifusa* presentes em ecossistemas do Brasil e dos Estados Unidos**. (Tese de doutorado em microbiologia) Universidade Federal de Minas Gerais. p.146. 2014.
- DAM, B. V. et al. A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização. **Agrodok**, v.17. p.104 .2006.
- DAVIS, E. C. et al. Endophytic Xylaria (Xylariaceae) among liverworts and angiosperms: phylogenetics, distribution, and symbiosis. **American Journal of Botany**, v. 90. p.1661-1667, 2003.
- DE BARY, A. **Morphologie und physiologie der pilze, flechten und myxomyceten**, Engelmann, v.2, 1866.
- DÉON, M. et al. First characterization of endophytic *Corynespora cassiicola* isolates with variant cassiicolin genes recovered from rubber trees in Brazil. **Fungal diversity**, v. 54, n. 1, p. 87-99, 2012.
- DIAS, D. M. et al. Resistance of processing tomato genotypes to leafminer (*Tuta absoluta*) **Horticultura Brasileira**, v.37, p.40-46, 2019.
- DIAS, V.V. et al. O mercado de alimentos orgânicos: um panorama quantitativo e qualitativo das publicações internacionais. **Ambiente & Sociedade**, v. 18, p. 155-174, 2015.
- DO ROSÁRIO, W. C. et al. Fisiologia, sanidade e controle de fitopatógenos em sementes florestais da Reserva Extrativista Quilombo do Frechal em Mirinzal-MA. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 2, p. 959-978, 2022.
- DONG, C. et al. Epiphytic and endophytic fungal communities of tomato plants. **Horticultural Plant Journal**, v. 7, n. 1, p. 38-48, 2021.
- ELFIATI, D.; SUSILOWATI, A.; HIDAYAT, A. Isolation of endophytic fungi from *Styrax sumatrana* tree from Humbang Hasundutan, North Sumatra. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, p. 042045. 2021.
- ELLIS, M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. **Kew: Commonwealth Mycological Institute**, p.608,1971.
- FAO - Food and Agriculture Organization. The State of Food and Agriculture, 2014**. Disponível em: <[The State of Food and Agriculture \(SOFA\) 2014 \(fao.org\)](https://www.fao.org/publications/default.asp?info_no=1090001)>. Acesso em: 22 de dezembro de 2021.
- FERNANDES E.G. et al. Diversity of endophytic fungi in *Glycine max*. **Microbiological Research**.181:84–92. 2015.

FERREIRA, L. S. **Caracterização de isolados de *Curvularia* spp. Endofíticos de milho (*Zea mays* L.) por parâmetros morfológicos e moleculares.** Dissertação (Pós-graduação em Genética) Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 119f. 2010.

FERREIRA, S. M. R. **Característica da qualidade do tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivado nos sistemas convencional e orgânico comercializado na região metropolitana de Curitiba.** (Tese Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

FIRÁKOVÁ, S. et al. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. **Biologia**, vol. 62, n. 3, 2007.

FREIRE, M. das G. M. et al. Bioprospecção da flora fúngica endofítica da Reserva de Jurubatiba. **Biológicas & Saúde**, v. 6, n. 21, 2016.

FRISVAD, J. C. et al. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. **Studies Mycology**, Moscow, v. 49, p. 201-41, 2004.

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.

GOMES R.R; GLIENKE C.; VIDEIRA S.I.R.; LOMBARD L.; GROENEWALD J.Z.; CROUS P.W. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. **Persoonia**, v.31, p.1–41. 2013.

GONZAGA, L.L. et al. Endophytic fungi from the genus *Colletotrichum* are abundant in the *Phaseolus vulgaris* and have high genetic diversity. **Journal of Applied Microbiology**, v.118, p.485–496, 2014.

GUILHERME, D. O. et al. Análise sensorial e físico-química de frutos tomate cereja orgânico. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 1, p. 181-186, 2014.

HAGA, A. et al. Pyridone alkaloids from a marine-derived fungus, *Stagonosporopsis cucurbitacearum*, and their activities against azole-resistant *Candida albicans*. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 4, p. 750-754, 2013.

HALAWA A.E.; Zedan A.F.; Al-Sherbini A-S.A. Management of Soil-borne Fungal Diseases of *Conocarpus erectus* Transplants using Silver Nanoparticles. **Sciences**, 9: 686–699. 2019.

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, p.901-910. 2010.

HANANI, A. et al. Community Analysis of Culturable Sapwood Endophytes from Apulian Olive Varieties with Different Susceptibility to *Xylella fastidiosa*. **Agronomy**, v. 12, n. 1, p. 9, 2021.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 105 million species estimate revisited. **Mycological Research**, 105: 1422-1431. 2001.

HAWKSWORTH, D.L., LÜECKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology Spectrum**, v.5, p.1-17, 2017.

HERRMANN, L. W. et al. Diversity of fungal endophytes in leaves of *Mentha piperita* and *Mentha canadensis*. **International Journal of Botany Studies**, v. 4, n. 1, p. 44-49, 2019.

HORMAZABAL, E.; PIONTELLI, E. Endophytic fungi from Chilean native gymnosperms: antimicrobial activity against human and phytopathogenic fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 813-819, 2009.

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

IMPULLITTI, A. E. & MALVICK, D. K. Fungal endophyte diversity in soybean. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 5, p. 1500-1506, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Sustentabilidade de ponta a ponta. **Revistas retratos**. p.6. 2019.

JENKINS, J. A. The origin of the cultivated tomato. **Economic Botany**, v. 2, n. 4, p. 379-392, 1948.

JIA, M. et al. Friendly Relationship between Endophytic Fungi and Medicinal Plants. **Journal Frontier's in Microbiology**. v.7, p. 907, 2016.

KHAN, A. R. et al. Culturable endophytic fungal diversity in the cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their role in enhancing phytoremediation. **Environmental and Experimental Botany**, 135:126-135. 2017.

KHRUENGSAI, S. et al. Antifungal properties of volatile organic compounds produced by *Daldinia eschscholtzii* MFLUCC 19-0493 isolated from *Barleria prionitis* leaves against *Colletotrichum acutatum* and its post-harvest infections on strawberry fruits. **PeerJ**, v. 9, p. e11242, 2021.

KOBI, H. B. et al. Organic and conventional strawberries: nutritional quality, antioxidant characteristics and pesticide residues. **Fruits**, Paris, v.73, n. 1, p.39-47, 2018.

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, p.648–657. 2007.

KUMARI, P. et al. Isolation and purification of bioactive metabolites from an endophytic fungus *Penicillium citrinum* of *Azadirachta indica*. **South African Journal of Botany**, v. 139, p. 449-457, 2021.

LAHLALI, R.; HIJRI, M. Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. **FEMS microbiology letters**, v. 311, n. 2, p. 152-159, 2010.

LARRAN, S. et al. The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.). **World Journal Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 565-572, 2007.

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, n. 1, p. 56–69, 2013.

- LENUCCI M.S. et al. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, v.54, p.2606-2613. 2006.
- LIARZI O. et al. Use of the Endophytic fungus *Daldinia cf. concentrica* and its volatiles as bio-control agents. **PLoS ONE**. v.11, p.e0168242. 2016.
- LIMA, P.A.L. et al. Perfil do consumidor de produtos orgânicos na cidade de São Joaquim da Barra São Paulo. **Nucleus**, v.8, p.67-80. 2011.
- LIMA, T.F.E. **Micobiota endofítica de *Vitis labrusca* L. cv. isabel no vale do siriji, Pernambuco, Brasil**. Dissertação (Pós-graduação em Biologia de Fungos) Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil, 2010.
- LIU, X. B.; GUO, Z. K.; HUANG, G. X. *Sarocladium brachiariae* sp. nov., an endophytic fungus isolated from *Brachiaria brizantha*. **Mycosphere**, v.8, n.7, p.827-834, 2017.
- LLORENTE, I., & MONTESINOS, E. Brown spot of pear: an emerging disease of economic importance in Europe. **Plant Disease**, v.90, p.1368-1375. 2006.
- LÓPEZ, S.M.Y., PASTORINO, G.N. & BALATTI, P.A. Perfil dos compostos orgânicos voláteis sintetizados e liberados por endófitos do tomateiro (*Solanum lycopersici* L.) e seu papel antagônico. **Arch Microbiol**. 203:1383–1397. 2021.
- LUCINI, T. et al. Repellent effects of various cherry tomato accessions on the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*Koch (Acari: Tetranychidae). **Genetics and Molecular Research**, v.15, n.1, 2016.
- LUTTIKHOLT, L.W.M. Principles of organic agriculture as formulated by the International Federation of Organic Agriculture Movements. **NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences**, v. 54, n. 4, p. 347-360, 2007.
- LUZ, J.M.Q., SHINZATO, A.V., DA SILVA, M.A.D. Comparação dos sistemas de produção de tomate convencional e orgânico em cultivo protegido. **Bioscience Journal**, v.23, p.7-15. 2007.
- MAGALHÃES, W.C.S. et al. Diversidade de fungos endofíticos em candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) **MacLeish**. v. 14, n. 3, p. 267-273, 2008.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S.S. et al. Families of sordariomycetes. **Fungal diversity**, v.79, p.1-317. 2016.
- MÁRQUEZ, L. M. et al. A virus in a fungus in a plant: Three-way symbiosis required for thermal tolerance. **Science**, v. 315, p. 513-517, 2007.
- MASSIMO, N. C. et al. Fungal endophytes in aboveground tissues of desert plants: infrequent in culture, but highly diverse and distinctive symbionts. **Microbial Ecology**, v. 70, n. 1, p. 61-76, 2015.
- MÉLO, 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.

MENEGAES, J. F. et al. Os extratos vegetais aquosos para o tratamento de sementes de cártamo: tratamento de sementes alternativos. **Revista Acta Ambiental Catarinense**, v.18, p.87-96. 2021.

MESQUITA, M. **Avaliação do valor agrônômico de variedades de tomate para indústria**. (Trabalho de Conclusão de Curso) Instituto superior de agronomia, Lisboa, 2001.

MICHELIN, M. **Estudo da glucoamilase e da α amilase produzidas pelo fungo *Paecilomyces variotii*: purificação, caracterização bioquímica e relações filogenéticas**. (Tese de doutorado em Ciências) Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

MOHAMMAD GOLAM DASTOGEER, K. et al. Host specificity of endophytic fungi from stem tissue of nature farming tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) in Japan. **Agronomy**, 10:1019. 2020.

MOOZ, E.D. & SILVA, M.V. Cenário mundial e nacional da produção de alimentos orgânicos. **Journal Brazilian Society Food Nutritional**, v.39, p.99-112. 2014.

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

OGÓREK, R. et al. Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. **Mikologia lekarska**, v. 19, n. 2, p. 80-85, 2012.

OLIVEIRA, R. J. V. et al. *Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil. **Nova Hedwigia**, p.185-192. 2016.

OLIVEIRA, R. J. V. Micobiota endofítica em raízes de *Sorghum bicolor* (L.) Moench em Pernambuco, Brasil. (Tese Doutorado em Biologia de Fungos) Universidade Federal de Pernambuco. 780 2018.

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, p.523-530. 2014.

OLIVEIRA, T. G. L. de. **Diversidade de fungos endofíticos de folíolos e ramos da catingueira [*Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz] de área de caatinga**. Dissertação (Pós-graduação em Biologia de Fungos) Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil, 2019.

OLIVEIRA, V. A. De. **Primeiro relato de *Gonatophragmium mori* em *Handroanthus serratifolia* e *Periconia byssoides* em *Cassia fistula***. (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade Federal de Uberlândia. Monte Carmelo. Recife. 21f. 2020.

OLMO-RUIZ, M. D. & ARNOLD, A. E. Interannual variation and host affiliations of endophytic fungi associated with ferns at La Selva, Costa Rica. **Mycologia**, v. 106, n. 1, p. 8-21, 2014.

OULHEN, N.; SCHULZ, B. J.; CARRIER, T. J. English translation of Heinrich Anton de Bary's 1878 speech, 'Die Erscheinung der Symbiose' ('De la symbiose'). **Symbiosis**, v. 69, n. 3, p. 131-139, 2016.

PANCHER, M. et al. Fungal endophytic communities in grapevines (*Vitis vinifera* L.) respond to crop management. **Applied and environmental microbiology**, v.78, p.4308-4317. 2012.

PANDEY, A. & BANERJEE, D. *Daldinia bambusicola* Ch4/11 an endophytic fungus producing volatile organic compounds having antimicrobial and oil chemical potential. **Journal of Advances in Microbiology**, v.1, p.330–337. 2014.

PARADZA, V. M. et al. Endophytic colonisation of *Solanum lycopersicum* and *Phaseolus vulgaris* by fungal endophytes promotes seedlings growth and hampers the reproductive traits, development, and survival of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*. **Frontiers in Plant Science**, 12: 771534. 2021.

PARDO, S. N. F. et al. Avaliação do potencial biotecnológico de fungos endofíticos. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 33120-33140, 2022.

PARSA, S. et al. Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Fungal biology**, v. 120, n. 5, p. 783-790, 2016.

PEIXOTO NETO, P.A.S.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Microrganismos endofíticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, p. 62-77, 2002.

PEREIRA, J. O., AZEVEDO, J.L., PETRINI, O. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: a first report. **Mycologia**, v.85, p.362-364. 1993.

PETRINI, O. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews JH, Hirano SS (eds) Microbial ecology of leaves. **Springer**, New York, p.179–197. 1991.

PINHO, L. et al. Nutritional properties of cherry tomatoes harvested at different times and grown in an organic cropping. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 205-211. 2011.

PIRES, F. et al. Levantamento bibliográfico sobre a comunidade de fungos endofíticos associados a *sanionia uncinata* (hedw.) LOESKE. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 11, 2020.

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.

QADRI M. et al. Diversity, molecular phylogeny, and bioactive potential of fungal endophytes associated with the Himalayan blue pine (*Pinus wallichiana*). **Microbial Ecology**. V.67, p.877–887. 2014.

RADIĆ, T. et al. Occurrence of root endophytic fungi in organic versus conventional vineyards on the Croatian coast. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 192, p. 115-121, 2014.

RAMÍREZ-CAMEJO, L. A. Diversity of culturable endophytic fungi vary through time in *Manihot esculenta* Crantz. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2022.

RAPOSO, D.V.G.D.L. 2021. **Fungos endofíticos em folhas de berinjela (*solanum melongena* L.) Cultivada utilizando sistema de manejo orgânico e convencional em Pernambuco, Brasil.** (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 45f. 2019.

REDECKER, D.; KODNER, R.; GRAHAM, L.E. Glomalean fungi from the Ordovician. **Science**, v.289, p.1920–1921. 2000.

REDMAN R. S., DUNIGAN D. D., RODRIGUEZ R. J. Fungal symbiosis from to mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader?. **New Phytologist**, v.151, n. 6, p.705-716, 2001.

REHNER, S. **Primers for elongation factor 1- α (EF1- α).** 2001.

REIS FILGUEIRA, F.A. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças, **Editora UFV**, Viçosa, p.421, 2013.

REN F, D.W., SUN H., YAN D.H. Endophytic Mycobiota of Jingbai Pear Trees in North China. **Forests**, v.10, p.260, 2019.

RICK, C. M. The tomato. **Scientific American**, v.239, p.76-87. 1978.

RICK, C.M. The role of natural hybridization in the derivation of cultivated tomatoes of western South America. **Economic Botany**, v.12, n.4, p.346-367, 1958.

ROCHA, M. Q. **Crescimento, fenologia e rendimento do tomateiro cereja em cultivo hidropônico.** Dissertação (Pós-graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 129f. 2009.

RODRIGUES, R. L. **Fungos endofíticos associados à *Vellozia compacta* Mart. ex Schult. F. (Velloziaceae) presente em afloramentos rochosos nos estados de Minas Gerais e Tocantins.** 2013. Dissertação (Pós-graduação em Ecologia de Biomas Tropicais) Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 70f., 2013.

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

RODRIGUEZ, R. J.; WHITE, J. F.; W, ARNOLD, A.E.; REDMAN, R. S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**, v.182, n. 2, p. 314- 330, 2009.

ROGERS, Jack D. Thoughts and musings on tropical Xylariaceae. **Mycological Research**, v. 104, n. 12, p. 1412-1420, 2000.

ROMÃO-DUMARESQ, A. S. et al. Diversity of cultivated fungi associated with conventional and transgenic sugarcane and the interaction between endophytic *Trichoderma virens* and the host plant. **PloS one**, v.11, n.7, p.e0158974, 2016.

ROSA, L. H. et al. Endophytic fungi of tropical forests: a promising source of bioactive prototype molecules for the treatment of neglected diseases. **Drug development-a case study based insight into modern strategies**, v.18, 2011.

- ROSENBLUETH, M. & MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **Molecular plant-microbe interactions**, v.19, n.8, p.827-37, 2006.
- RUSTAMOVA, N., BOZOROV, K., EFFERTH, T. et al. Novel secondary metabolites from endophytic fungi: synthesis and biological properties. **Phytochem Rev.** 19:425–448. 2020.
- SAIKIA, B., BHATTACHARYYA, A., & BORA, P. Spatio-temporal distribution of endophytes in tomato (*Solanum lycopersicum*) crop. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. 92: 775-8. 2022.
- SAIKKONEN, K. et al. Evolution of endophyte-plant symbioses. **Trends in Plant Science**, v.9, n.6, p.275-280, 2004.
- SAIKKONEN, K. et al. Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. **Annual review of Ecology and Systematics**, p.319-343, 1998.
- SÁNCHEZ MÁRQUEZ, M. S. et al. Estudio de la micobiota endofítica asociada a las gramíneas: *Dactylis glomerata*, *Holcus lanatus*, *Ammophila arenaria* y *Elymus farctus* (Tese de doutorado em Ciências Biológicas) Universidade de Salamanca. 199f. 2009.
- SANTAMARÍA, J.; BAYMAN, P. Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*). **Microbial Ecology**, v.50, p.1-8, 2005.
- SANTAMARIA, O. et al. Fungal endophytes associated with *Ornithopus compressus* growing under semiarid conditions. **Plant Ecology & Diversity**, v. 11, n. 5-6, p. 581-595, 2018.
- SANTOS, D. V. DOS. **Micobiota endofítica foliar em árvores de sombra de um plantio de cacau (Cabruca) no sul da Bahia**. Dissertação (Pós-graduação em Biologia de fungos) Universidade Federal de Pernambuco. 2021.
- SANTOS, J. S. et al. Análise parasitológica em alfaces cultivadas em diferentes sistemas de produção. **Semina: Ciências Agrárias**, v.38, n.2, p.801-808, 2017.
- SANTOS, L.F.O.D. et al. **Triagem de fungos endofíticos de *Moringa oleífera* produtores de asparaginase e amilase**. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal de Mato Grosso. 2020.
- SANTOS, T.T. et al. High genetic variability in endophytic fungi from the genus *Diaporthe* isolated from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v.120, n.2, p.388-401, 2016.
- SARAIVA, R.M. et al. Uso e perspectiva de *Clonostachys rosea* como agente de biocontrole. **Revista de Ciencias Agrícolas**, v. 31, n. 1, p. 78-91, 2014.
- SCHLUB, R.L. et al. An overview of target spot of tomato caused by *Corynespora cassiicola*. In: **II International Symposium on Tomato Diseases 808**. p. 25-28. 2007.
- SCHMIDT, R.O. et al. Biomassa e atividade microbiana do solo em sistemas de produção olerícola orgânica e convencional. **Ciência Rural**, v.43, n.2, p.270-276, 2013.

SEIFERT, K. et al. The genera of Hyphomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. **Utrecht: The Netherlands**, 2011.

SILVA, I.P. da. Fungos endofíticos: fonte alternativa a metabólitos secundários de plantas. **Enciclopédia biosfera**, v.10, n.18, p.3888, 2014.

SILVA, M.S. **Fungos endofíticos: fontes promissoras de novas substâncias com atividades antioxidante e antiviral**. (Monografia especialização em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, p.61, 2009.

SILVA, R.M.F.D. **Diversidade de fungos endofíticos em cucurbitáceas de interesse econômico em Pernambuco, Brasil**. (Tese Doutorado em Biologia de Fungos) Universidade Federal de Pernambuco, 79f, 2020.

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

SILVA, T. M. S., CAMARA, C. A., & DE FÁTIMA AGRA, M. Flavonoid Aglycones in Species of Solanum. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 32: 201-210. 2022.

SILVA, Rejane MF et al. Effect of climate and phenological stage on fungal endophytes community in *Sorghum bicolor* leaves. **Mycological Progress**, v. 22, n. 3, p. 19, 2023.

SILVA-HUGHES, A.F. et al. Diversity and antifungal activity of the endophytic fungi associated with the native medicinal cactus *Opuntia humifusa* (Cactaceae) from the United States. **Microbiological research**, v.175, p.67-77, 2015.

SIQUEIRA, V.M. de. **Fungos endofíticos de folhas e caule de *Lippia sidoides* Cham. E avaliação da atividade antimicrobiana**. Dissertação (Pós-graduação em Biologia de Fungos) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

Solanum lycopersicum: Tomateiro | SiBBr. Disponível em: https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/361634?lang=pt_BR. Acessado em: 10 de novembro de 2021.

SOUZA JUNIOR, C. A. et al. **Microbiota endofítica em folhas de banana prata (*Musa* sp.) e a bananicultura no estado de Roraima**. (Tese de doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia). Universidade do Estado do Amazonas. Manaus. 2018.

SOUZA, A.Q.L. de et al. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. **Acta amazônica**, v.34, p.185-195, 2004.

SOUZA, A.S. et al. Spray-dried tomato powder: reconstitution properties and colour. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, p.807-814. 2008.

SOUZA, J.L., RESENDE P.L. Manual de horticultura orgânica. **Viçosa: Aprenda Fácil**, p.843. 2006.

SPELTRI, N. F. B. Revelando o potencial de biocontrole de fitopatógenos da soja (*Glycine max.* L) por seus endofíticos. (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade estadual paulista. Rio Claro. 55f. 2021.

STONE, J.K., POLISHOOK, J.D., & WHITE, J.F. Endophytic fungi. **Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods**. 241, 270. 2004.

STROBEL, G.A & DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.67, p.491-502, 2003.

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

SUCIU, N. A.; FERRARI, F.; TREVISAN, M. Organic and conventional food: Comparison and future research. **Trends in Food Science & Technology**, v.84, p.49-51, 2019.

SUTTON, B. C. The Coelomycetes: fungi imperfect with pycnidia, acervuli and stromata. **Kew: Commonwealth Mycological Institute**, p.96, 1980.

TAN, R. X. & ZOU, W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural Product Reports**, v.18, p.448-459, 2000.

TEASDALE, S.E. et al. Fungal endophyte diversity from tropical forage grass *Brachiaria*. **Plant Ecology & Diversity**, v.11, n.5-6, p. 11-624, 2018.

TEITEN, M.H. et al. Anticancer effect of altersolanol A, a metabolite produced by the endophytic fungus *Stemphylium globuliferum*, mediated by its pro-apoptotic and antiinvasive potential via the inhibition of NF- κ B activity. **Bioorganic & medicinal chemistry**, Oxford, v. 21, n. 13, p. 3850–3858, 2013.

TELES, H. L. et al. Benzopyrans from *Curvularia* sp., an endophytic fungus associated with *Ocotea corymbosa* (Lauraceae). **Phytochemistry**, v. 66, n. 19, p. 2363-2367, 2005.

TEMPLETON M.D.; RIKKERINK E.H.; SOLON S.L.; CROWHURST R.N. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. **Gene**. v.122, p.225–230. 1992.

TERAMOTO, A. et al. Reação de cultivares de soja à *Corynespora cassiicola*. **Tropical Plant Pathology**, v.38, p.68-71, 2013.

TIAN, X. et al. Genome Sequence Resource of *Sarocladium terricola* TR, an Endophytic Fungus as a Potential Biocontrol Agent Against Meloidogyne incognita. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.35, n.6, p.505-508, 2022.

TIWARI, P., & BAE, H. Endophytic fungi: key insights, emerging prospects, and challenges in natural product drug discovery. **Microorganisms**, 10: 360. 2022.

TORRES, F. L. et al. Bioprospecção e potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados a plantas do Cerrado. **Concilium**, v.22, n.2, p.256-272, 2022.

- TRINDADE, R.C. et al. Yeasts associated with fresh and frozen pulps of Brazilian tropical fruits. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 25, n. 2, p. 294-300, 2002.
- UDAYANGA, D. et al. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. **Fungal diversity**, v.50, n.1, p.189-225, 2011.
- UECKER, F. A. A world list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology and biology. **Mycologia memoir**, n.13, 1988.
- VARANDA, C. M. R. et al. Fungal endophytic communities associated to the phyllosphere of grapevine cultivars under different types of management. **Fungal biology**, v.120, n.12, p.1525-1536, 2016.
- VIEIRA, M. L. et al. Diversity and antimicrobial activities of the fungal endophyte community associated with the traditional Brazilian medicinal plant *Solanum cernuum* Vell. (Solanaceae). **Canadian journal of microbiology**, 58:54-66. 2012.
- VIEIRA, W.A.S. et al. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. **Fungal diversity**, v. 67, n. 1, p. 181-202, 2014.
- WANG, J. et al. Taxol from *Tubercularia* sp. strain TF5, an endophytic fungus of *Taxus mairei*. **FEMS-Microbiology Letters** v.193, p.249-253. 2000.
- WEEGE, F. B. K.; NEGRI, S. T. Indicativos para implantação de uma feira orgânica em Camaquã/rs. **Revista Eletrônica de Extensão**, v.15, n.30, p.02-15, 2018.
- WEESE T.L., BOHS L. Three-gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). **Syst Bot.** 32:445–463. 2007.
- 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.
- WIJEKOON, C.; QUILL, Z. Fungal endophyte diversity in table grapes. **Canadian Journal of Microbiology**, v.67, n. 1, p.29-36, 2021.
- XIA, Y. et al. Culturable endophytic fungal communities associated with plants in organic and conventional farming systems and their effects on plant growth. **Scientific reports**, v.9, p.1-10. 2019.
- YADAV, A., KOUR, D., KAUR, T. et al. Endophytic fungal communities and their biotechnological implications for agro-environmental sustainability. **Folia Microbiol.** 67, 203–232. 2022.
- YU, Yang et al. Two new alkaloid metabolites produced by endophytic fungus *Stagonosporopsis oculihominis* isolated from *Dendrobium huoshanense*. **Phytochemistry Letters**, v. 19, p. 266-270, 2017.
- ZANIN, D. S. et al. Selection of processing tomato genotypes resistant to two spotted spider mite. **Horticultura Brasileira**, v.36, p.271-275, 2018.
- ZHANG, N. et al. An overview of the systematics of the Sordariomycetes based on a four-gene phylogeny. **Mycologia**, v.98, n6, p.1076-1087, 2006.

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