

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Endófitos radiculares pigmentados associados ao cafeeiro (*Coffea arabica*) na
Zona da Mata Mineira**

Leila Nascimento Pereira da Silva
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

LEILA NASCIMENTO PEREIRA DA SILVA

**Endófitos radiculares pigmentados associados ao cafeeiro (*Coffea arabica*) na
Zona da Mata Mineira**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Olinto Liparini Pereira

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586e
2026

Silva, Leila Nascimento Pereira da, 1996-

Endófitos radiculares pigmentados associados ao cafeeiro (*Coffea arabica*) na Zona da Mata Mineira / Leila Nascimento Pereira da Silva. – Viçosa, MG, 2026.

1 dissertação eletrônica (43 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Olinto Liparini Pereira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Microbiologia, 2026.

Referências bibliográficas: f. 37-43.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.495>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Ascomycota. 2. Café. 3. Relação planta-fungo. I. Pereira, Olinto Liparini, 1975-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Microbiologia. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 579.56

LEILA NASCIMENTO PEREIRA DA SILVA

**Endófitos radiculares pigmentados associados ao cafeeiro (*Coffea arabica*) na
Zona da Mata Mineira**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de junho de 2026.

Assentimento:

Leila Nascimento Pereira da Silva
Autora

Olinto Liparini Pereira
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 31/08/2026 às 22:43:12 e pelo orientador em 01/09/2026 às 14:51:17. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **UC9T.T6OW.ILZ8** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pois sei que Ele está sempre ao meu lado, por me dar forças nos momentos difíceis e por sempre guiar e iluminar os meus caminhos, me dando sabedoria e calma quando necessário.

Agradeço ao grande amor da minha vida Yann Gustav, por ser meu porto seguro e sempre acreditar em mim!

Aos meus filhos, Álvaro e Antônio, por serem meu motivo de viver e dedicar a ser uma pessoa melhor todos os dias!

Aos meus pais, Ernandes Pereira da Silva e Creusa Nogueira Nascimento da Silva, por todo apoio e incentivo a estudar. Obrigada pelo apoio!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola pela oportunidade de conhecimento e amadurecimento. Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – CBP&D/Café pelo apoio financeiro.

Ao professor Olinto Liparini Pereira, pela orientação e oportunidade de fazer parte de sua equipe. Obrigada pela confiança e parceria!

À Jaqueline Aparecida de Oliveira por toda ajuda para a realização desse trabalho, você foi imprescindível. Eu serei eternamente grata a você!

À equipe do Laboratório de Micologia pelo companheirismo e apoio nesse período. Foi um grande prazer fazer parte desse grupo.

À técnica Bianca por todo trabalho para manter o laboratório sempre organizado.

À Letícia, secretária do Programa de Pós- Graduação em Microbiologia Agrícola, por todo auxílio com questões burocráticas e pessoais, sempre disposta a ouvir e solucionar.

À minha irmã Laila, por sempre estar disposta a ouvir e me apoiar!

Ao meu irmão Izaque, por sempre ser um exemplo de força e perseverança!

Ao meu irmão Rafael, por ser sinônimo de amor e alegria para minha vida!

A todos que se fizeram presentes nessa caminhada e que contribuíram de algum modo com o desenvolvimento, tanto profissional quanto pessoal. Muito obrigada!

RESUMO

SILVA, Leila Nascimento Pereira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2026. **Endófitos radiculares pigmentados associados ao cafeeiro (*Coffea arabica*) na Zona da Mata Mineira.** Orientador: Olinto Liparini Pereira.

O café é uma cultura de grande importância econômica para o Brasil, que é um grande produtor e maior exportador mundial dessa commodity. Estratégias voltadas para melhorias no sistema de produção dessa cultura são sempre buscadas. Microrganismos benéficos, podem ser aplicados nos sistemas produtivos desta cultura devido aos benefícios que trazem para o hospedeiro, a exemplo de fungos endofíticos que podem auxiliar a planta a superar estresses bióticos e abióticos. O primeiro passo para pesquisas que visam a aplicação desses fungos benéficos é acessar essa comunidade e identificá-la. Dentre a comunidade dos fungos endofíticos associados a culturas de interesse econômico estão os endófitos radiculares pigmentados, nunca estudados no cafeeiro. Assim, o objetivo desse trabalho foi acessar e identificar a comunidade de endófitos radiculares pigmentados associados às raízes do cafeeiro em uma região de Mata Atlântica da Zona da Mata mineira. Raízes de plantas jovens de café foram coletadas e submetidas à técnica de isolamento de cultivo de diluição até a extinção. As placas foram incubadas por 30 dias a 25 °C no escuro com a repicagem diária dos isolados. Foram obtidos 59 isolados, dos quais 26 foram selecionados como endófitos radiculares pigmentados, através da aparência da colônia e observação de estruturas ao microscópio. Posteriormente, 6 isolados foram selecionados para serem estudados nesta dissertação, sendo propostas as duas novas espécies *Polyschema endophytica* e *Menisporopsis* sp. Os outros isolados foram PEC 11, PEC 15, PEC 19.1 e PEC 24.4. As duas novas espécies apresentadas nesse trabalho perfazem os primeiros relatos de endófitos em seus respectivos gêneros, além de serem os primeiros relatos de endófitos radiculares pigmentados encontradas na cultura do café. Este trabalho demonstra o vasto campo de pesquisa sobre a microbiota associada às raízes das plantas de café, abrindo margem para a descoberta de novas espécies com potencial para se tornarem bioinsumos.

Palavras-chave: café ; *Menisporopsis* ; *Polyschema* ; Taxonomia

ABSTRACT

SILVA, Leila Nascimento Pereira da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2026. **Dark septate endophytes associated with coffee plants (*Coffea arabica*) in the Zona da Mata region of Minas Gerais.** Adviser: Olinto Liparini Pereira.

Coffee is a crop of great economic importance to Brazil, which is a major producer and the world's largest exporter of this commodity. Strategies to improve the production system for this crop are continually sought. Beneficial microorganisms can be applied to this crop's production systems because they benefit the host, such as endophytic fungi that can help the plant overcome biotic and abiotic stresses. The first step in research aimed at applying these beneficial fungi is to access and identify this community. Among the community of endophytic fungi associated with economically important crops are Dark Septate Endophytes (DSE), which have not been studied in coffee plants. Thus, the objective of this work was to identify and assess the community of DSE fungi associated with coffee roots in the Atlantic Forest region of the Zona da Mata in Minas Gerais. Roots of young coffee plants were collected and subjected to the dilution culture isolation technique until extinction. The plates were incubated for 30 days at 25°C in the dark with daily subculturing of the isolates. Fifty-nine isolates were obtained, of which 26 were selected as DSE based on colony appearance and microscopic observation of structures. Subsequently, 6 isolates were selected for study in this dissertation, describing the two new species *Polyschema endophytica* and *Menisporopsis* sp. The other isolates were PEC 11, PEC 15, PEC 19.1, and PEC 24.4. The two new species presented in this work represent the first reports of endophytes in their respective genera and the first reports of DSE in coffee cultivation. This work demonstrates the vast field of research on the microbiota associated with coffee plant roots, paving the way for the discovery of new species with potential as bioinputs.

Keywords: coffee ; *Menisporopsis* ; *Polyschema* ; Taxonomy

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	7
2	REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1	A cultura do café.....	9
2.2	Estudo de fungos benéficos para aplicações biotecnológicas associados as plantas	9
2.3	Endófitos radiculares pigmentados.....	11
2.4	Benefícios da associação dos endófitos radiculares pigmentados com seus hospedeiros	12
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
3.1	Material vegetal e isolamento.....	14
3.2	Estudo morfológico	14
3.3	Extração de DNA, amplificação e sequenciamento	15
3.4	Análises filogenéticas	15
3.5	Armazenamento.....	16
4	RESULTADOS	17
4.1	Isolados de endófitos radiculares pigmentados	17
4.2	Taxonomia	17
4.3	Demais endófitos radiculares pigmentado obtidos.....	25
5	DISCUSSÃO	34
6	CONCLUSÃO.....	36
	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

As plantas possuem microrganismos associados que podem desempenhar diferentes papéis, como ser patogênicos, promover a proteção da planta contra pragas e doenças e ainda serem promotores de crescimento vegetal (Mendes *et al.*, 2013). Esses microrganismos podem influenciar as plantas atuando tanto na rizosfera, na superfície da planta, quanto de forma endofítica (Gomes *et al.*, 2024). Microrganismos endofíticos são capazes de colonizar o tecido vegetal e não causar sintomas aparentes de doença (Wilson, 1995), sendo importantes na modulação das comunidades biológicas associadas às plantas, como a comunidade dos demais microrganismos, nematoides e artrópodes (Mantzoukas e Eliopoulos, 2020). Dentre os fungos endofíticos há o grande grupo de endófitos radiculares pigmentados (ERP), que ainda foram pouco explorados e podem representar um caminho promissor para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos (Oliveira e Pereira, 2025).

Endófitos radiculares pigmentados são um grupo de fungos pertencentes ao filo Ascomycota que se desenvolvem no interior dos tecidos radiculares (Jumpponen e Trappe, 1998). Atualmente os fungos endofíticos se dividem em quatro classes, como foi proposto por Rodriguez *et al.* (2009), e os endófitos radiculares pigmentados perfazem a classe 4 dessa classificação, também conhecidos pelo termo em inglês *dark septate endophytes* (DSE). Esses fungos, por definição, são restritos às raízes das plantas, caracterizados pela presença de hifas septadas de coloração escura, geralmente melanizadas, e pela produção comum de microescleródios (Rodriguez, 2009). Eles apresentam capacidade de resistir a condições de estresse, abiótico e biótico e têm sido visados para estudos de aplicações ambientais e agrícolas.

A comunidade de endófitos radiculares pigmentados ainda é pouco explorada, mas apresenta enorme potencial para aplicação. Os estudos taxonômicos são importantes, tanto para o conhecimento dessa comunidade inexplorada quanto para guiar estudos de aplicação em campo, que ainda são escassos, mas têm aumentado e requerem identificação a nível de espécie.

Os endófitos radiculares pigmentados já foram estudados em diversas culturas como tomate, pimentão, repolho, macaúba, banana, plantas ornamentais, gramíneas, dentre outras (Liu *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2022; Zou *et al.*, 2023; Akhir *et al.*, 2024; Crous *et al.*, 2024; Oliveira *et al.*, 2024a; Santana *et al.*, 2025, Sathiyadash *et al.*, 2010; Deotare *et al.*, 2019). No entanto, nenhum estudo focado em endófitos radiculares pigmentados foi realizado no cafeeiro, representando uma lacuna de pesquisa. O café é uma cultura de grande importância econômica

para o Brasil, que é considerado o maior produtor e exportador da cultura (FAO, 2021). A área cultivada com café é de 2 milhões de hectares (CONAB, 2024), o que representa aproximadamente 3% da área agrícola total do Brasil ocupada por uma única cultura.

Diversos trabalhos têm se dedicado a isolar e identificar endófitos radiculares pigmentados associados à diferentes plantas, o que abre margem para estudos na cultura do café. Acessar essa comunidade em culturas de grande relevância agrícola é importante tanto para descrevê-la quanto para o desenvolvimento de novos produtos biológicos a base de endófitos radiculares pigmentados que ajudem a superar os desafios dos cultivos enfrentados no campo (Oliveira e Pereira, 2025).

Neste trabalho, o objetivo foi acessar pela primeira vez a comunidade de endófitos radiculares pigmentados das raízes do cafeeiro e descrever novos taxa associados. Esse grupo fúngico ainda foi pouco explorado, tanto em termos taxonômicos quanto em relação à sua ecologia, havendo muitas lacunas para serem preenchidas, o que torna relevante a realização de pesquisas voltadas para descrições taxonômicas, diversidade e compreensão de suas associações com as plantas de café.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do café

O café (*Coffea* spp.) é uma cultura amplamente produzida no Brasil, que possui uma área total aproximada de mais 2 milhões de hectares ocupada (CONAB, 2024). O país foi classificado como o maior produtor e exportador de café. Em 2021, o Brasil produziu 2.993.780 toneladas do grão (FAO, 2021). Os principais estados produtores são Minas Gerais e Espírito Santo, que produzem acima de 10 milhões de sacas por ano (CONAB, 2018).

O cafeeiro é uma planta considerada perene e possui bienalidade, apresentando uma sucessão de fases vegetativas e reprodutivas em seu ciclo fenológico (Camargo e Camargo, 2001). Por isso, o manejo adequado da planta se torna ainda mais importante, considerando que a mesma planta permanecerá no campo por vários anos e que as condições enfrentadas em um ano afetarão diretamente sua produtividade no ano seguinte.

As pesquisas voltadas para melhorar o desenvolvimento dessa planta, se tornam ainda mais importantes com a grande demanda mundial pelo consumo de café (ICO, 2025) junto com a demanda por produtos de qualidade, boa procedência e oriundos de produções ambientalmente responsáveis (Ott *et al.*, 1991; Willians e Hammit., 2002). Paralelo a isso, as mudanças climáticas e o aumento das temperaturas globais têm gerado grande insegurança à produção agrícola de forma geral. Existem evidências demonstrando que o aumento das temperaturas e a alteração dos padrões das chuvas já afetam a produtividade, qualidade, incidência de pragas e de doenças no café (Watts, 2016). Essa problemática, realça a importância do estudo de tecnologias mais sustentáveis para auxiliar as plantas a lidar com os mais diversos desafios enfrentados em campo.

2.2 Estudo de fungos benéficos para aplicações biotecnológicas associados as plantas

Em ecossistemas naturais a grande maioria das plantas formam associações simbióticas mutualísticas com fungos micorrízicos e/ou fungos endofíticos (Petrini, 1986), sendo que os endófitos radiculares pigmentados frequentemente coexistem com fungos micorrízicos (Girlanda *et al.*, 2002). Um estudo comparativo sobre a colonização de fungos micorrízicos e de endófitos radiculares pigmentados em diversos ecossistemas, sugere que os endófitos radiculares pigmentados podem ser tão abundantes quanto os fungos micorrízicos, do ponto de

vista da proporção de plantas hospedeiras colonizadas em comunidades vegetais ou pela extensão da colonização em sistemas radiculares amostrados (Mandyam e Jumpponen, 2005).

Esses microrganismos em associação podem trazer muitos benefícios para as plantas, seja através de mecanismos para promoção do crescimento vegetal quanto para controle biológico (Narkhede *et al.*, 2026; Lacava *et al.*, 2022). Como parte do processo de formação de mudas de cafeeiro, fungos micorrízicos, por exemplo, podem ser inoculados a fim de garantir benefícios à planta, através de uma melhor adaptação em campo, além de proporcionar maior área de exploração de água e nutrientes das raízes no solo (Siqueira *et al.*, 1995). A comunidade fúngica que interage com as raízes das plantas de café é muito diversa, incluindo os fungos micorrízicos, endofíticos e toda a comunidade rizosférica (Gomes *et al.*, 2024). Muitas pesquisas também têm sido desenvolvidas com fungos endofíticos e têm evidenciado o potencial de aplicação desse grupo fúngico no cultivo de plantas, no entanto, seu uso no campo ainda é limitado a poucas espécies fúngicas.

As espécies de fungos micorrízicos que se mostraram eficientes em promover o crescimento de *Coffea arabica* são *Gigaspora margarita* e *Glomus etunicatu* (Filho e Nogueira, 2007). Diversos gêneros de fungos endofíticos também são encontrados associados ao cafeeiro no Brasil, dentre eles *Trichoderma*, *Guignardia*, *Phomopsis*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Glomerella*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Schizophyllum*, *Mycosphaerella*, *Cercospora* e *Ophiognomonia* (Sette *et al.*, 2006; Bongiorno *et al.*, 2016). Muitos fungos desses e outros gêneros demonstram efeitos significativos no combate a pragas e doenças, resistência à seca e metais pesados, além da promoção de crescimento vegetal (Brundrett, 2006).

Os microorganismos endofíticos, de forma geral, podem desencadear um fenômeno conhecido como resistência sistêmica induzida (RSI) (Vallad e Goodman, 2004), a resposta é parecida com a reação imune da planta contra fitopatógenos, mas evidências sugerem que, por meio de adaptação mutualística, esses microrganismos podem burlar a defesa da planta e se estabelecer no tecido vegetal sem causar grandes danos (Beris e Vassilakos, 2020).

Alguns fungos são amplamente utilizados na agricultura para biocontrole na cultura do café, como *Trichoderma* spp que tem sido pesquisado para controlar diversas doenças do cafeeiro, como a murcha (Mulaw *et al.*, 2013; Mulato *et al.*, 2022) e infecção por nematóides (Fan *et al.*, 2020; Baazeemet *et al.*, 2021; Xin *et al.*, 2023; Afridi *et al.*, 2024). *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* são eficientes no controle de insetos- praga (Posada *et al.*, 2007; De La Rosa *et al.*, 2000; Franzin *et al.*, 2022).

2.3 Endófitos radiculares pigmentados

Os endófitos radiculares pigmentados (ERP) foram inicialmente classificados no grupo dos endófitos não-clavicipitáceos, ou seja, que não se associavam às gramíneas. Mas, foram incluídos na classe 4 de fungos endofíticos proposta por Rodriguez *et al.* (2009). Essa classificação teve como base, principalmente, o histórico dos relatos desses fungos e suas características ecológicas.

Por definição, endófitos radiculares pigmentados se desenvolvem no interior dos tecidos das raízes das plantas, possuem hifas septadas e melanizadas e apresentam colônias escuras, além de comumente formarem microescleródios quando em associação com as plantas (Rodriguez, 2009; Oliveira e Pereira, 2025). Esse grupo de fungos pertence ao filo Ascomycota e é considerado polifilético, com representantes em diversas classes, famílias e ordens.

Os endófitos radiculares pigmentados têm demonstrado capacidade de auxiliar as plantas na tolerância de diversos estresses abióticos, como altas concentrações de metais pesados, seca, salinidade, entre outros (Shen *et al.*, 2020, Li *et al.*, 2022, Guo *et al.*, 2022, Mateu *et al.*, 2020). Além disso, também podem atuar como promotores de crescimento de vegetal e como agentes de controle biológico (Hou *et al.*, 2021, Wang *et al.*, 2024, Li *et al.*, 2022, Guo *et al.*, 2022).

Trabalhos já realizaram o isolamento de endófitos radiculares pigmentados em plantas que se desenvolvem em regiões áridas (Knapp *et al.*, 2012), em locais com alto concentração de metais pesados (Liu *et al.*, 2020) e em solos de baixa fertilidade do Cerrado brasileiro (Oliveira *et al.*, 2024). No entanto, apesar dos estudos com esse grupo de fungos comumente relatarem sua presença em ambientes que causam estresse às plantas (Read e Haselwandter, 1981), ambientes considerados menos estressantes, como florestas tropicais, também começaram a ser explorados para estudo de espécies ainda não catalogadas de endófitos radiculares pigmentados (Bonfim *et al.* 2016; Oliveira *et al.*, 2024a).

Trabalhos no Brasil têm sido conduzidos visando o acessar e conhecer melhor essa comunidade de fungos. A exemplo da descrição de duas espécies de *Pseudophialophora* isoladas das raízes da Macaúba (*Acrocomia aculeata*), de *Cyphellophora denticulata* isolada de raízes de bananeira (Santana *et al.*, 2025) e a descrição de duas novas espécies de *Cladophialophora* associadas às raízes da orquídea *Cattleya locatellii* (Silva *et al.*, 2026).

2.4 Benefícios da associação dos endófitos radiculares pigmentados com seus hospedeiros

Também há relatos dos benefícios gerados por essa associação de endófitos radiculares pigmentados com as plantas, como no trabalho desenvolvido por Feng *et al* (2025) demonstrando a promoção de crescimento vegetal através do melhor desenvolvimento radicular de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) pelo fungo endofítico radicular pigmentado do gênero *Acrocalymma*. Gaber *et al.* (2023) também demonstrou *Periconia macrospinoso*, *Cadophora* sp. e *Leptodontidium* sp. aumentando a biomassa vegetal de plantas de tomate em condições de estresse salino.

O potencial dos endófitos radiculares pigmentados também foi testado em outras culturas de interesse econômico, como no milho (*Zea mays*) que demonstrou maior tolerância a se desenvolver em solos contaminados por metais pesados quando inoculado com *Exophiala pisciphila* (Shen *et al.*, 2020). Plantas de cevada (*Hordeum vulgare*) apresentaram melhoria no teor de clorofila, peso da raiz, comprimento da planta e peso fresco e peso seco das plantas como um todo quando associado a *Alteraria* sp. e *Bipolaris zeicola*, mesmo com a presença de cádmio no solo (Shadmani *et al.*, 2021). Plantas de mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) em associação com *Cladosporium cladosporioides* e um fungo micorrizico ericoide apresentou melhoria na fisiologia foliar, diminuindo perdas oxidativas de pigmentos em condições de seca, demonstrando melhor resultado com esses fungos atuando em conjunto (Guo *et al.*, 2022).

Na China diversos trabalhos foram realizados demonstrando os benefícios dos endófitos radiculares pigmentados em plantas de importância para o país. *Astragalus mongholicus* obteve aumento da biomassa vegetal sob estresse salino quando associado a *Macrophomina pseudophaseolina*, *Paraphoma radicina* e *Trichoderma* sp., sendo que *Trichoderma* aumentou a colonização dos endófitos radiculares pigmentados nas raízes (Li *et al.*, 2022). A planta de *Astrágalo membranaceus* também obteve aumento do peso das raízes, mesmo sob estresse hídrico e por cádmio quando associado a *Neocamarosporium phragmitis* e *Alternaria Tellustris* (Wang *et al.*, 2024). *Ammopiptanthus mongolicus* teve alterações fisiológicas e morfológicas das folhas causada pela limitação hídrica, mas que diminuíram com a inoculação de *Gaeumannomyces hyphopodioides* (Lu *et al.*, 2025). *Isatis idigotica* obteve aumento de biomassa da parte aérea sob estresse hídrico quando associado à *Acrocalymma aquatica* e *Alternaria alstroemeriae* (Li *et al.*, 2023). Em *Artemisia ordosica* a associação com *Alternaria chlamydosporigena*, *Paraphoma chysanthemicola* e *Bipolaris sorokinia* gerou o aumento da

biomassa vegetal mesmo sob estresse salino, além da presença dos endófitos radiculares pigmentados ter alterado o conteúdo de nutrientes e a microbiota do solo, contribuindo para a melhor adaptação da planta às altas concentrações de NaCl (Hou *et al.*, 2021).

Outro trabalho demonstrou que *Phragmites australis* inoculado com os endófitos radiculares pigmentados *Phialocephala* sp. e *Trematosphaeria hydrela*, tiveram um aumento na sobrevivência de suas mudas sob estresse salino (Mateu *et al.*, 2020). Além disso, em testes *in vitro* diversos endófitos radiculares pigmentados demonstram a capacidade de se desenvolver sob estresses abióticos, como *Neocamarosporium phragmitis* e *Alternaria alstroemerie* que demonstraram tolerância a seca e ao estresse por cádmio (Wang *et al.*, 2024), *Poaceascoma helicoides*, *Alternaria doliconidium* e *Acrocalymma vagum* também apresentaram capacidade de aumento de biomassa mesmo com o aumento dos níveis de cádmio (Minghiu *et al.*, 2024). E ainda, Gaber *et al.* (2020) demonstram que a tolerância ao estresse salino não é dependente do acúmulo de melanina pelos endófitos radiculares pigmentados *Periconia macropinosa*, *Cadophora* sp. e *Leptodontidium* sp.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e isolamento

Raízes oriundas de quatro plantas de café crescendo na Mata do Paraíso da Universidade Federal de Viçosa/ Viçosa - MG (lat. 20°45' S long. 42°55' W) foram coletadas em outubro de 2024 e transportadas para o Laboratório de Micologia e Etiologia de Doenças Fúngicas de Plantas para processamento. As raízes perfizeram uma amostra composta de 10 gramas, foram inicialmente lavadas em água corrente e posteriormente submetidas a desinfestação. O material foi desinfestado superficialmente em álcool 70% + tween 80% por 1 min, hipoclorito de sódio a 2% por 4 min, em seguida foram realizadas duas lavagens em solução salina a 0,85%, por 4 e 5 minutos, respectivamente. As raízes foram trituradas em 300 ml de solução salina (NaCl 0,9%) em liquidificador comercial por 1 min a 600 wats e filtradas em conjunto de peneiras para obtenção de fragmentos com tamanhos entre 212 e 106 micrômetros. Os fragmentos foram transferidos para tubo Falcon e centrifugados em solução salina a 2200G por 5 minutos e ressuspensos em 20 ml de CMC (0,1%) para obtenção das diluições 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 e 1:126. Aliquotas de 150 µl de cada diluição foram plaqueadas em meio de cultura sólido YMC (10 g/L de extrato de malte, 2 g/L de extrato de levedura, 13 g/L de ágar) suplementado com estreptomicina (50 mg/L) e cloridrato de tetraciclina (50 mg/L), cada diluição foi inoculada em 6 placas, separadamente, e incubadas a 25°C no escuro. Uma alíquota de 150 µl de solução salina correspondente a última lavagem das raízes foi plaqueada no mesmo meio de cultura YMC suplementado com antibióticos para atestar a eficácia do procedimento de desinfestação superficial. As placas foram incubadas por 4 semanas e repicagens foram realizadas diariamente ao observar crescimento fúngico. Os fungos repicados foram transferidos para placas contendo Batata Dextrose Ágar (BDA), após a remoção total da colônia na placa de isolamento.

3.2 Estudo morfológico

Os endófitos radiculares pigmentados obtidos foram inicialmente agrupados de acordo com a semelhança das colônias. Um representante de cada grupo foi selecionado para estudos morfológicos. Os isolados foram cultivados em meios de cultura BDA para visualização inicial das estruturas. As lâminas foram preparadas com uma gota de lactoglicerol e cobertas com uma lamínula.

Endófitos radiculares pigmentados que representavam novas taxa foram cultivados em meios de cultura específicos, de acordo com seu grupo taxonômico, para caracterização das colônias e visualização das microestruturas. Pelo menos 30 medidas de cada estrutura informativa (conidióforos, células conidiogênicas, conídios) foram realizadas através do software Olympus cellSens Dimension v. 1.9. Os registros fotográficos foram feitos em microscópio Olympus BX53 equipado com uma câmera digital Olympus Q-Color5™. A técnica de microcultura também foi utilizada para registrar as estruturas morfológicas dos isolados.

3.3 Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

Os isolados selecionados para os estudos morfológicos no item 2 foram submetidos a extração de DNA total. Os fungos foram cultivados em BDA a 25°C por 7 dias. Posteriormente, estimou-se a coleta de 40 mg de micélio que foram transferidos para microtubos de 2 ml com 600 µL de Nuclei Lysis Solution do kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega), 100 mg de polivinilpirrolidona (PVP; Sigma-Aldrich) e quatro esferas de aço. As amostras foram maceradas em L-Beater 6 (Loccus Biotecnologia) por 60s a 4.000 rpm e submetidas a extração de DNA de acordo com Pinho *et al.* (2013).

Para os fungos em que não foi possível a identificação a nível de gênero através de caracteres morfológicos, as regiões espaçadoras transcritas internas 1 e 2, a região interveniente do rDNA 5.8S (ITS) e a região nuclear do rDNA 28S (LSU) foram amplificadas utilizando o par de primers ITS5 e LR6. Cada reação de PCR foi preparada usando 18 µL de Platinum® PCR SuperMix, 0,4 µL de cada primer sintetizado pela Invitrogen (Carlsbad, EUA) e 1,2 µL de DNA genômico. Para as reações, as amostras foram submetidas a desnaturação inicial 94 °C/2 minutos e 35 ciclos de desnaturação 94 °C/30 s, anelamento 48 °C/30 s e extensão de 72 °C/90 s. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% com GelRed™ (Biotium Inc., Hayward, CA, U.S.A.), em tampão TAE (1×) e visualizados em Transluminador L-Pix. Os produtos amplificados foram purificados e sequenciados pela MacroGen Inc., Coreia do Sul.

3.4 Análises filogenéticas

A qualidade das sequências obtidas foi verificada através do software FinchTV. e as sequências dos novos isolados endófitos radiculares pigmentados foram depositadas no GenBank. A comparação das sequências obtidas no presente trabalho foi realizada no banco de dados GenBank pela ferramenta BLAST. Sequências de culturas tipo e de isolados de referência obtidas no GenBank foram incluídas nas análises filogenéticas para identificação dos isolados. As sequências foram alinhadas usando MUSCLE (Edgar, 2004) no MEGA X e exportadas no formato FASTA.

Foram realizadas análises de Inferência Bayesiana (BI) para os conjuntos de dados de cada isolado, através da ferramenta MrBayes v.3.2.7a (Ronquist *et al.*, 2012) implementada no portal CIPRES Science Gateway (Miller; Pfeiffer; Schwartz, 2011). Os modelos de substituição evolutiva foram selecionados de acordo com o Akaike Information Criterion (AIC).

A análise de BI foi realizada pelo método de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC), e duas análises independentes foram realizadas simultaneamente. Foram executadas quatro cadeias de MCMC em cada análise, sendo geradas árvores aleatórias até 10.000.000 de gerações, com amostragem a cada 1.000 gerações. Um total de 20.002 árvores foram amostradas, e as primeiras 2.500 árvores (25%) de cada análise foram descartadas. As árvores consenso foram visualizadas no software Fig.Tree (Rambaut, 2018). As topologias das árvores resultantes foram editadas em programas gráficos.

3.5 Armazenamento

Os fungos obtidos foram armazenados em microtubos de 2 ml contendo glicerol 10%, microtubos de 2 ml contendo água destilada estéril e em frascos de penicilina hermeticamente fechados contendo sílica gel estéril (Castellani, 1939; Mota *et al.*, 2003). Todos os fungos adquiridos nesse trabalho foram armazenados e disponibilizados na coleção de culturas do Laboratório de Micologia e Etilogia de Doenças Fúngicas de Plantas do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Além disso, os dois novos taxa também foram disponibilizados na Coleção Octávio Almeida Drummond (COAD).

4 RESULTADOS

4.1 Isolados de endófitos radiculares pigmentados

Foram obtidos 59 isolados de endófitos radiculares pigmentados, que perfizeram 26 grupos de fungos morfológicamente distintos. Dentre os 26 isolados representantes de cada grupo, dois foram inicialmente identificados como possíveis novas taxa e descritos neste trabalho. Outros endófitos radiculares pigmentados, como representantes dos gêneros *Acrocalymma* e *Cladophialophora*, também foram identificados a nível de gênero com base nas estruturas morfológicas e no Blast.

4.2 Taxonomia

Classificação: *Polyschema*, *Latoruaceae*, *Pleosporales*, *Dothideomycetes*.

Polyschema endophytica J.A. Oliveira, L.N.P. Silva & O.L. Pereira. Figura 1.

MB 857952

Etimologia: O epíteto refere-se ao habitat endofítico associado às raízes da planta do café.

Fungo endofítico radicular pigmentado isolado em meio de cultura a partir de raízes saudáveis desinfestadas superficialmente de uma planta de café. *Micélio* superficial, composto por hifas ramificadas, septadas, hialinas a marrom-escuras, predominantemente marrom-escuras, de paredes finas a verruculosas, 2–3 µm de largura. *Conidióforos* hialinos, septados, não ramificado, até 45 µm de altura, 3–5 µm de largura, macronematoso ou micronematoso. *Células conidiogênicas* monoblásticas, hemisféricas, subesféricas ou cilíndricas., 6–8.5 × 2–7 µm. *Conídios* solitários, asseptados, globosos, subglobosos a elipsoidais, de parede lisa, marrom-escuros, às vezes formados diretamente nas hifas ou nas células apicais do conidióforo. Clamidósporos não observados.

Características culturais: Colônias em batata-cenoura ágar (BCA) planas com borda ondulada, micélio aéreo abundante, cotonoso, de cor cinza no centro a amarelo na borda, e reverso com coloração marrom-terra no centro e amarelo na borda (Rayner 1970), atingindo 26 mm de diâmetro após 2 semanas a 25 °C no escuro. Colônias em batata dextrose ágar (BDA) elevadas com borda ondulada, micélio aéreo abundante, cotonoso, coloração sépia no centro com superfície periférica bege, reverso de cor marrom-terra no centro com coloração mel na periferia, atingindo 27 mm de diâmetro após 2 semanas a 25 °C no escuro. Colônias em ágar

extrato de malte (MEA) planas com borda inteira, micélio aéreo abundante, coloração cinza na superfície, reverso cinza, atingindo 37 mm de diâmetro após 2 semanas a 25 °C no escuro. Colônias em ágar aveia (OA) planas com borda inteira, micélio aéreo abundante, coloração preta no centro com superfície verde, reverso bege, atingindo 38 mm de diâmetro após 2 semanas a 25 °C no escuro.

Material examinado: **Brasil**, Minas Gerais, Viçosa, 20°41'20"S, 42°49'36"W, isolado de raízes saudáveis de cafeeiro, out. 2024, *O.L. Pereira & J.A. Oliveira* (VIC 49616, cultura COAD 3972; ITS e LSU sequências GenBank PV206769 e PV206770).

Notas: *Polyschema* foi introduzida por Upadhyay (1966) e incluída em Latoruaceae por Crous *et al.* (2015a). *Polyschema* consistia em 21 espécies já descritas a partir de solos, sedimentos, materiais vegetais em decomposição e amostras clínicas humanas. (Castañeda-Ruiz *et al.* 2000, Crous *et al.* 2015b). Até onde sabemos, este é o primeiro relato de uma espécie pertencente a *Polyschema* como endofítica radicular. *Polyschema endophytica* é filogeneticamente próxima a *Polyschema terricola*, a espécie-tipo do gênero. Em comparação com *P. terricola*, *P. endophytica* apresenta 95,34% de identidade e 23 polimorfismos, incluindo *gaps* na região ITS, e 98,63% de identidade com LSU e 12 polimorfismos, incluindo *gaps*. Além disso, as duas espécies são morfologicamente distintas. *Polyschema endophytica* produz ameroconídios solitários, de parede lisa, globosos, subglobosos a elipsoidais, com conidióforos micronematosos e macronematosos. Em contraste, *P. terricola* produz conídios subglobosos a piriformes ou claviformes, com 1 a 4 septos, paredes verrucosas e conidióforos micronematosos (Castañeda-Ruiz *et al.*, 2000; Seifert *et al.*, 2011). Uma característica distintiva de *P. endophytica* são seus ameroconídios, que nunca foram relatados anteriormente para *Polyschema*.

Com base em uma busca abrangente no banco de dados de nucleotídeos do GenBank/NCBI, os resultados mais próximos usando a sequência ITS evidenciaram uma maior similaridade com *Dothideomycetes* sp. isolado de sementes de *Cecropia longipes* no Panamá [PS2959, GenBank MW529343.1; Identities = 557/583 (96%), nove *gaps* (1%)], *Polyschema terricola* isolado do solo no Brasil [CBS 301.65, GenBank MH858576.1; Identities = 471/494 (95%), 11 *gaps* (2%)], e um isolado fúngico de sementes de *Ficus insipida* [PS3050, GenBank KY776225.1; Identities = 582/611 (95 %), nove *gaps* (1%)]. Os resultados mais próximos usando a sequência LSU são de um isolado de *Polyschema terricola* do solo no Brasil [CBS 301.65, GenBank MH858576.1; Identities = 866/878 (99 %), três *gaps* (0 %)], *Polyschema larviformis* de sedimentos no USA [ILLS00171087, GenBank MH472659.1;

Identities = 970/991 (98 %), cinco *gaps* (0 %)], e *Pseudoasteromassaria fagi* do Japão [HHUF 30471, GenBank NG_059805.1; Identities = 930/966 (96 %), 10 *gaps* (1 %)].

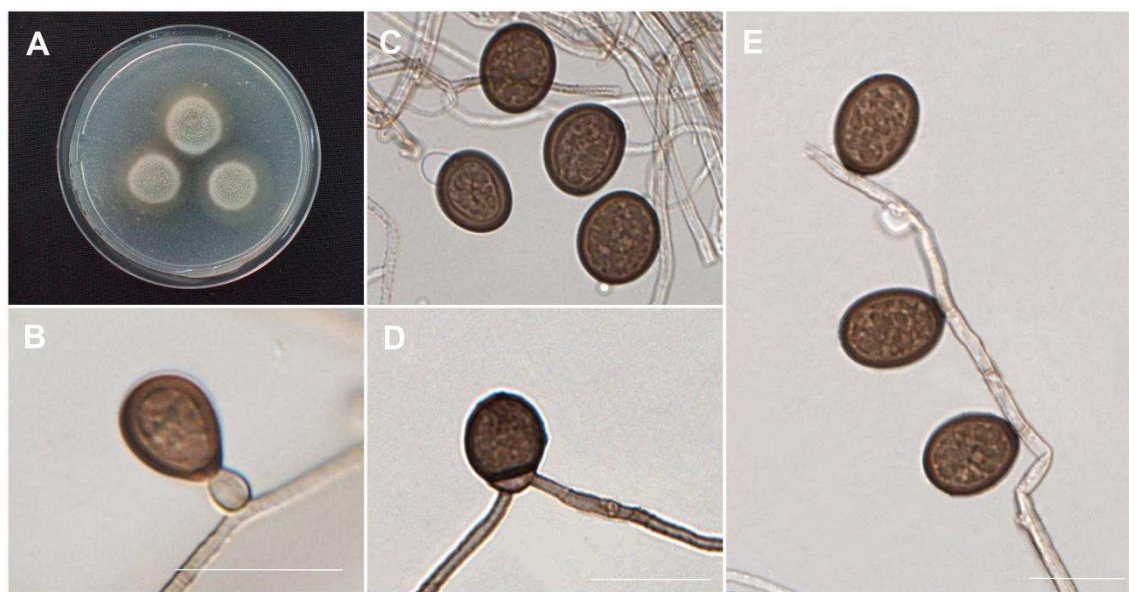


Figura 1. Colônias crescendo em PCA (a); Conídios e conidióforos reduzidos a células conidiogênicas (b e d), conídios (c), conídios formados diretamente nas hifas (d). Barras de escala = 20 μ m.

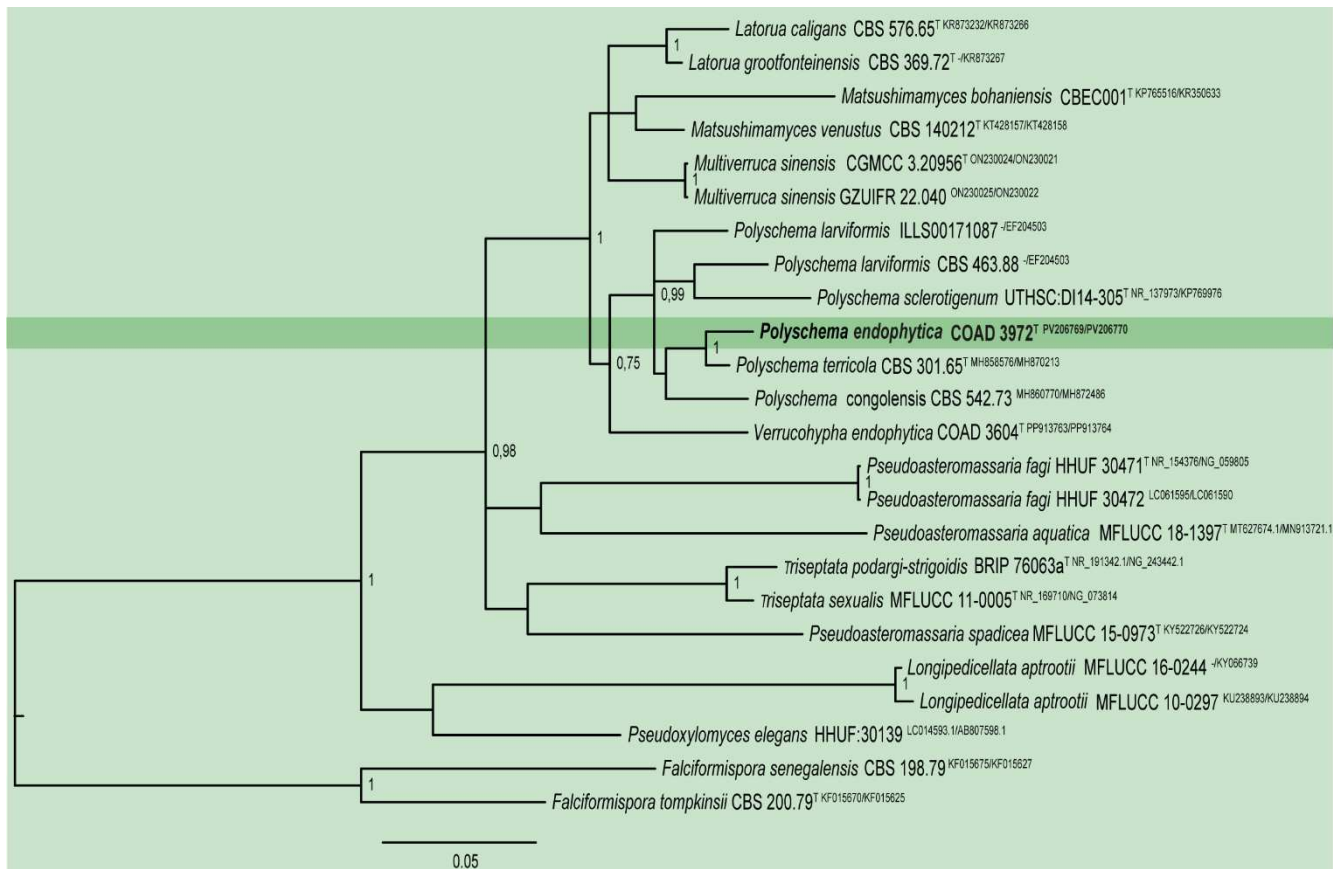


Figura 2 Árvore de inferência Bayesiana obtida por análises filogenéticas de sequências ITS e LSU conduzidas no MrBayes v. 3.2.7a no XSEDE, no portal científico CIPRES. Valores de probabilidade posterior Bayesiana > 0,70 são indicados nos nós. Isolados ex-tipo são indicadas com um sobrescrito 'T'. A nova espécie é mostrada em negrito e com realce da cor. *Falciformispora tompkinsii* (CBS 200.79) e *Falciformispora senegalensis* (CBS 198.79) foram usadas como grupos externos.

Classificação: *Menisporopsis*, *Chaetosphaeriaceae*, *Chaetosphaeriales*, *Sordariomycetes*.

***Menisporopsis* sp. COAD 4144** L.N.P. Silva, J.A. Oliveira & O.L. Pereira. Figura 3.

Fungo endofítico radicular pigmentado isolado em meio de cultura, oriundo de raízes saudáveis de plantas de café. *Micélio* aéreo moderado, composto de hifas hialinas a marrom-escuras, 1–3 µm de largura. *Conidióforos* ramificados ou não, as vezes ramificados dicotomicamente 2.5–3 × 8–26 µm. *Células conidiogênicas* fialídicas, pigmentadas, se formando terminalmente nas hifas ou através de ramificações ao longo do micélio, 2–3 × 15–21 µm. *Conídios* hialinos, 1-2 septos, falcados a falciformes, 2.5–3 × 8–22 µm. Formação de Clamidósporos.

Características culturais: Colônias em batata dextrose ágar (BDA) planas com borda ondulada, micélio aéreo moderado, cotonoso, com coloração cinza médio no centro e bordas cinza escuro, atingindo 47 mm de diâmetro após 2 semanas a 25 °C no escuro. Colonias em CMA borda ondulada, micélio aéreo fraco a moderado, com coloração central em cinza escuro, alternando entre cinza claro a cinza escuro até as bordas (Kornerup e Wanscher, 1961).

Material examinado: **Brasil**, Minas Gerais, Viçosa, 20°41'20"S, 42°49'36"W, isolado de raízes saudáveis de cafeeiro, out. 2024, *O.L. Pereira & J.A. Oliveira*.

Notas: *Menisporopsis* foi relatado em 1952, por S. Hughes, sendo descrito a partir da espécie tipo *M. theobromae*. Esse gênero apresenta, de forma geral, estilo de vida saprófito, sendo encontrado em materiais em decomposição e madeira submersa (Tsui *et al.* 1999; Seifert *et al.* 2011). Atualmente, com a adição desta nova espécie proposta, o número de espécies dentro do gênero aumenta para 18. *Menisporopsis* sp. COAD 4144. apresenta conídios falcados a falciformes como os observados em *M. theobromae*, *M. biformis* e *M. dinemasporioides*, indicando ser uma característica compartilhada entre algumas espécies. Já nas análises filogenéticas, *Menisporopsis* sp. COAD 4144 forma uma linhagem distinta dos demais representantes de *Menisporopsis*. A ausência de setas e sinêmios é uma das características morfológicas distintas de *Menisporopsis* sp. COAD 4144 compartilhada apenas com *M. novae-zelandiae*. As características morfológicas de *Menisporopsis* sp. COAD 4144 e demais espécies do gênero podem ser melhor compreendidas e comparadas na Tabela 1.

Tabela 1. Espécies de *Menisporopsis* e suas respectivas características morfológicas.

ESPÉCIES	APÊNDICE CONÍDIO	CONIDIOMATA	CONIDIO		APÊNDICE CONIDIÓFORO	
	(μm)	(μm)	FORMATO	TAMANHO (μm)	NÚMERO	TAMANHO (μm)
<i>Menisporopsis</i> sp. COAD 4144	–	–	falciformes	8–22 $\times$ 2.5–3	–	–
<i>M. anisospora</i>	200–425 $\times$ 10–12	300–550 $\times$ 60–80	Alantoide a irregular, truncado na base	17.0–30.0 $\times$ 2.0–6.0	1 em cada extremidade; 1–3 lateral	Apical: 4.0–11.0; basal: 3.0–10.0
<i>M. aquatica</i>	170–324 $\times$ 4.8–7.6	106 $\times$ 1.7–3.5	Semilunar ou fusiforme	14.9–19.9 $\times$ 2.4–3.3	1–2 basal; 1 apical	6–12
<i>M. biformis</i>	190–227 $\times$ 3–4.5	25–28 $\times$ 2.5–3	Cilíndrico, falciforme, curvo	microconidio 7–8 $\times$ 1; macroconio 22–24 $\times$ 3–3.5	1	4.5–6.5
<i>M. breviseta</i>	95–190 $\times$ 2.7–5.4	182 $\times$ 2.5–4.6	Cilíndrico ou fusiforme	14.2–24.3 $\times$ 2.4–3.6	1–2 em cada extremidade	4–9
<i>M. dinemasporioides</i>	40–50	220–285 $\times$ 4–5.5	Falciforme, fusiforme, curvado	19–22 $\times$ 3.5–4.2	1	5–8
<i>M. dushanensis</i>	207–455 $\times$ 5–10.5	147 $\times$ 2.5–6	Cilíndrico ou fusiforme	14.0–21 $\times$ 3–4	1–2 em cada extremidade	3–11
<i>M. hydei</i>	152–278 $\times$ 3–6.5	59–92 $\times$ 2.5–5	fusiforme, curvado	17–23 $\times$ 2.5–4.5	–	–
<i>M. kobensis</i>	195–275 $\times$ 6.0–7.5	–	Alantoide a <i>lunate</i>	16.0–32.0 $\times$ 3.0–5.0	1 em cada extremidade	6.0–10.0
<i>M. macrospora</i>	300 $\times$ 5–8	20–25 $\times$ 2.5–3.5	Alantoide	17.5–21 $\times$ 3–3.5	2 em cada extremidade	

<i>M. multisetulata</i>	300–500 × 6–10	180–220 × 22–40	Alantoide	12.0–19.0 × 2.5–4.0		7.0–10.0
<i>M. novae-zelandiae</i>	–	–	Cilíndricos ou ovóides cilíndricos	14-23 x 2.8-4.3	–	–
<i>M. pandanicola</i>	344–375 × 7–10.5	85–100 × 14.5–23	Cilíndrico, semilunar	8–29 × 0.5–2	(1–)2 em cada extremidade	4–12
<i>M. pirosynskii</i>	132–450 × 3–14	35–250 × 12–60	Cilíndrico a semilunar	12.0–20.5 × 2.0–4.5	1–3 basal; 2 apical	2.0–12.0
<i>M. pleiosetosa</i>	100–300 × 3–4	≤ 250 × 30–40	Elipsoidal, truncado na base	12.0–18.0 × 4.0–5.0	2–4 basal; 1 apical	≤ 6.0
<i>M. profusa</i>	150–425 × 4.5–9.0	60–225 × 12.5–18	Cilíndrico, alantoide a semilunar	7.0–15.0 × 1.2–2.5	1 em cada extremidade	3.0–6.0
<i>M. theobromae</i>	105–460 × 4.5–7.5	55–170 × 12–35	Falcado a semilunar	11.0–20.0 × 1.5–4.0	1 em cada extremidade	5.0–10.0
<i>M. trisetulosa</i>	250–460 × 5.5–7.5	–	Alantóide	12.0–20.0 × 2.0	2 basal; 1 apical	10.0

Com base em uma busca abrangente no banco de dados de nucleotídeos do GenBank/NCBI, os resultados mais próximos usando a sequência **ITS** evidenciaram uma maior similaridade com *Chaetosphaeriaceae* sp. isolado de *Piper* sp. no Brasil [UFMGCB 15601, GenBank MT362977.1; Identities = 334/334(100%), nenhum *gaps* (0%)], *Pyrigemmula aurantiaca* isolado como fungo endofítico da raiz de *Cinchona calisaya* na Indonésia [CBS 301.65, GenBank LC040889.1; Identities = 434/438(99%), 1 *gaps* (0%)], e um isolado fúngico de *Ammophila breviligulata* no EUA [S211P, GenBank KU839263.1; Identities = 542/611(89%), 17 *gaps* (2%)].

Os resultados mais próximos usando a sequência **LSU** são de um isolado de *Menisporopsis theobromae* de folhas mortas na Venezuela [MUCL 41079, GenBank MW984562.1; Identities = 1005/1021(98%) 3 *gaps* (0%)], *Menisporopsis theobromae* de folhas em decomposição na Venezuela [MUCL 40984, GenBank MW984563.1; Identities = 1004/1021(98%), 3 *gaps* (0%)], e *Menisporopsis pirozynskii* de folhas em decomposição na República do Congo [MUCL 47217, GenBank MW984561.1; Identities = 1003/1021(98%), 3 *gaps* (0%)].



Figura 3. Colônia crescendo em BDA (a); Colônia crescendo em CMA (b); conidióforo e célula conidiogênica (c), célula conidiogênica liberando um conídio (d), conídios (e), hifas (f), clamidósporos em cadeia (g). Barras de escala = 10 µm.

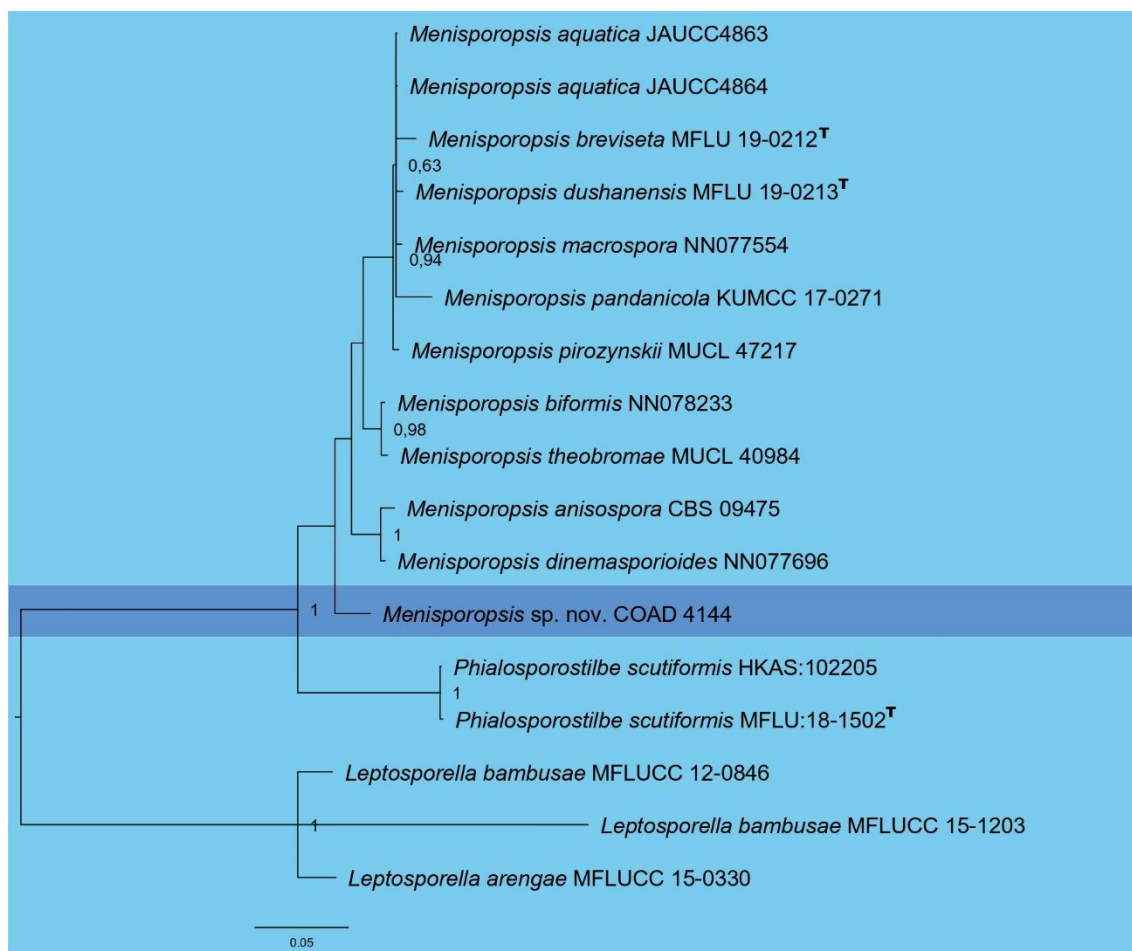


Figura 4 Árvore de inferência Bayesiana obtida por análises filogenéticas de sequências ITS e LSU conduzidas no MrBayes v. 3.2.7a no XSEDE, no portal científico CIPRES. Valores de probabilidade posterior Bayesiana $> 0,70$ são indicados nos nós. Isolados ex-type são indicadas com um sobrescrito 'T'. A nova espécie é mostrada em negrito e realce de cor. *Leptospora arengae* (MFLU 12-0846 e MFLU 15-1203) e *Leptospora bambusae* (MFLU 15-0330) foram usadas como grupos externos.

4.3 Demais endófitos radiculares pigmentado obtidos

Além de *Polyschema endophytica* e *Menisporopsis* sp. COAD 4144. descritas neste trabalho, outros endófitos radiculares pigmentados obtidos foram armazenados na coleção de culturas do Laboratório de Micologia e Etiologia de Doenças Fúngicas de Plantas do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, enquanto outros 4 isolados foram submetidos à extração de DNA e ao sequenciamento das regiões gênicas parciais ITS e LSU. A partir dos resultados deste sequenciamento, foi realizada uma busca através da ferramenta Blast do NCBI para verificar a qual grupo taxonômico estes isolados pertencem. Os

resultados das buscas estão descritos a seguir e demonstram que os isolados PEC 11 (Tabela 2) e PEC 15 (Tabela 3) podem se tratar de possíveis novas espécies de endófitos radiculares pigmentados. Enquanto os outros dois endófitos radiculares pigmentados estudados correspondem a prováveis espécies pertencentes aos gêneros *Acrocalymma* (Tabela 4) e *Cladophialophora* (Tabela 5).

Tabela 2. Porcentagem de identidade entre as sequências correspondentes ao isolado PEC 11 e sequências disponíveis no GenBank.

REGIÃO ITS					
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL TIPO					
ORDEM	FAMÍLIA	GÊNERO E ESPÉCIE	COBERTURA CONSULTA	DE PERCENTUAL DE IDENTIDADE	DE CÓDIGO ITS
<i>Coniochaetales</i>	<i>Coniochaetaceae</i>	<i>Coniochaeta gigantospora</i>	39%	98.17%	NR_121521.2
<i>Xylariales</i>	<i>Iodosphaeriaceae</i>	<i>Iodosphaeria honghensis</i>	24%	98.15%	MK737501.1
<i>Diaporthales</i>	<i>Melanconidaceae</i>	<i>Melanconis betulae</i>	24%	98.14%	NR_154190.1
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL NÃO TIPO					
<i>Diaporthales</i>	<i>Melanconiellaceae</i>	<i>Melanconiella</i> sp.	58%	88.78%	PQ580273.1
<i>Diaporthales</i>	<i>Melanconiellaceae</i>	<i>Melanconiella</i> sp.	58%	88.59%	PQ531015.1
<i>Sordariomycetes</i>	<i>Sordariomycetidae</i>	<i>Papulosa</i> sp.	90%	82.52%	MH141240.1
REGIÃO LSU					
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL TIPO					
ORDEM	FAMÍLIA	GÊNERO E ESPÉCIE	COBERTURA CONSULTA	DE PERCENTUAL DE IDENTIDADE	DE CÓDIGO LSU
<i>Lulworthiales</i>	<i>Lulworthiaceae</i>	<i>Paralulworthia posidoniae</i>	95%	92.41%	MN649253.1
<i>Diaporthomycetidae</i>	<i>Barbatosphaeriaceae</i>	<i>Barbatosphaeria lignicola</i>	98%	91.78%	MK849791.1

<i>Diaporthomycetidae</i>	<i>Barbatosphaeriaceae</i>	<i>Barbatosphaeria lignicola</i>	98%	91.78%	NG_068291.1
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL NÃO TIPO					
<i>Lulworthiales</i>	<i>Lulworthiaceae</i>	<i>Zalerion xylestrix</i>	100%	93.48%	EU848592.1
<i>Lulworthiales</i>	<i>Lulworthiaceae</i>	<i>Halophilomyces hongkongensis</i>	100%	93.19%	PP347859.1
<i>Lulworthiales</i>	<i>incertae sedis</i>	<i>Moleospora maritima</i>	94%	93.18%	GU252137.1

Tabela 3. Porcentagem de identidade entre as sequências correspondentes ao isolado PEC 15 e sequências disponíveis no GenBank.

REGIÃO ITS					
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL TIPO					
ORDEM	FAMÍLIA	GÊNERO E ESPÉCIE	COBERTURA CONSULTA	DE PERCENTUAL DE IDENTIDADE	DE CÓDIGO ITS
<i>Tubeufiales</i>	<i>Tubeufiaceae</i>	<i>Helicoma hongkongense</i>	35%	93.64%	NR_160365.1
<i>Thelebolales</i>	<i>Thelebolaceae</i>	<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i>	61%	86.27%	NR_164292.1
<i>Helotiales</i>	<i>Pezizellaceae</i>	<i>Chalara hyalocuspica</i>	58%	86.08%	NR_137568.1
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL NÃO TIPO					
		<i>Dothideomycetes</i> sp.	70%	99.57%	OR658642.1
		<i>Dothideomycetes</i> sp.	76%	88.45%	OR658703.1
		<i>Teratosphaeria</i> sp.	76%	88.26%	KU747824.1
REGIÃO LSU					
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL TIPO					
ORDEM	FAMÍLIA	GÊNERO E ESPÉCIE	COBERTURA CONSULTA	DE PERCENTUAL DE IDENTIDADE	DE CÓDIGO LSU
<i>Asterinales</i>	<i>Cylindrohyalosporaceae</i>	<i>Cylindrohyalospora fici</i>	80%	96.70%	MW063243.1
<i>Dothideales</i>	<i>incertae sedis</i>	<i>Karschia cezannei</i>	94%	90.17%	NG_060323.1
<i>Dothideomycetes</i>	<i>incertae sedis</i>	<i>Cryomyces montanus</i>	100%	88.71%	NG_073589.1

SEQUÊNCIAS DO MATERIAL NÃO TIPO

<i>Asterinales</i>	<i>Cylindrohyalosporaceae</i>	<i>Cylindrohyalospora fici</i>	80%	96.70%	MW063243.1
<i>Asterotexiales</i>	<i>incertae sedis</i>	<i>Asterotexiaceae</i> sp.	95%	95.14%	MG844162.1
<i>Patellariales</i>	<i>Patellariaceae</i>	<i>Banhegyia cf. setispora</i>	100%	95.13%	KY654708.1

Tabela 4. Porcentagem de identidade entre as sequências correspondentes ao isolado PEC 19.1 e sequências disponíveis no GenBank.

REGIÃO ITS					
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL TIPO					
ORDEM	FAMÍLIA	GÊNERO E ESPÉCIE	COBERTURA CONSULTA	DE PERCENTUAL DE IDENTIDADE	DE CÓDIGO ITS
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma ampeli</i>	76%	94.83%	NR_174829.1
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma fici</i>	75%	94.55%	NR_137953.1
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma chuxiongense</i>	71%	93.84%	NR_185729.1
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL NÃO TIPO					
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma vagum</i>	78%	99.61%	OP630513.1
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma vagum</i>	78%	99.61%	OP630541.1
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma vagum</i>	78%	99.61%	JN859316.1
REGIÃO LSU					
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL TIPO					
ORDEM	FAMÍLIA	GÊNERO E ESPÉCIE	COBERTURA CONSULTA	DE PERCENTUAL DE IDENTIDADE	DE CÓDIGO LSU
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma bipolare</i>	100%	98.55%	NG_075326.1
<i>Pleosporales</i>	<i>Trematosphaeriaceae</i>	<i>Medicopsis romeroi</i>	100%	95.98%	NG_057800.1
<i>Pleosporales</i>	<i>Pyrenochaetopsidaceae</i>	<i>Pyrenochaetopsis decipiens</i>	100%	95.97%	NG_064140.1

SEQUÊNCIAS DO MATERIAL NÃO TIPO				
<i>Jahnulales</i>	<i>Aliquandostipitaceae</i>	<i>Jahnula aquatica</i>	94%	99.18%
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma medicaginis</i>	100%	99.13%
<i>Pleosporales</i>	<i>Acrocalymmaceae</i>	<i>Acrocalymma medicaginis</i>	100%	99.13%

Tabela 5. Porcentagem de identidade entre as sequências correspondentes ao isolado PEC 24.4 e sequências disponíveis no GenBank.

REGIÃO ITS					
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL TIPO					
ORDEM	FAMÍLIA	GÊNERO E ESPÉCIE	COBERTURA CONSULTA	DE PERCENTUAL DE IDENTIDADE	DE CÓDIGO ITS
<i>Chaetothyriales</i>	<i>Herpotrichiellaceae</i>	<i>Capronia rubiginosa</i>	80%	96,53%	MH809171.1
<i>Chaetothyriales</i>	<i>Herpotrichiellaceae</i>	<i>Capronia rubiginosa</i>	80%	96,53%	NR_165891.1
<i>Chaetothyriales</i>	<i>Herpotrichiellaceae</i>	<i>Cladophialophora nyingchiensis</i>	86%	96,36%	NR_172398.1
SEQUÊNCIAS DO MATERIAL NÃO TIPO					
<i>Chaetothyriales</i>	<i>Herpotrichiellaceae</i>	<i>Cladophialophora</i> sp.	100%	99.85%	AB986421.1
<i>Chaetothyriales</i>	<i>Herpotrichiellaceae</i>	<i>Cladophialophora</i> sp.	84%	99.83%	MT131341.1
<i>Chaetothyriales</i>	<i>Herpotrichiellaceae</i>	<i>Cladophialophora chaetospira</i>	100%	99.71%	PX586942.1

5 DISCUSSÃO

Diversos fungos interagem com as plantas de café, desde fungos fitopatogênicos até fungos benéficos para as plantas (Lu *et al.*, 2022). Muitos estudos de isolamento de fungos associados ao café já foram realizados, a exemplo do trabalho realizado por Lu *et al.* (2022), no qual foram identificadas 648 espécies, dessas, 138 endófitas. Além disso, trabalhos já demonstraram que gêneros de fungos endofíticos como *Xylaria*, *Colletotrichum*, *Guignardia*, *Fusarium* e *Penicillium*, já foram identificados em *Coffea arabica* (Santamaría e Bayman, 2005; Bongiorno *et al.*, 2016). Já os endófitos radiculares pigmentados, que colonizam as raízes de diversas plantas, ainda não haviam sido descritos no café até o desenvolvimento do presente trabalho. O estudo desses fungos associados ao cafeeiro é muito importante para preencher essas lacunas e buscar isolados que tenham a capacidade de resistir a estresses bióticos e abióticos (Mandyam e Jumpponen, 2005).

Cinquenta e nove isolados de endófitos radiculares pigmentados foram acessados neste trabalho incluindo duas novas espécies que foram propostas, pertencendo a dois gêneros distintos. Até o presente momento, os fungos do gênero *Polyschema* haviam sido encontrados em solos, sedimentos, materiais vegetais em decomposição e amostras clínicas humanas. Esse relato é o primeiro em que um fungo do gênero *Polyschema* é encontrado como endófito radicular. Além disso, essa espécie é a primeira de endófito radicular pigmentado descrita dentro desse gênero. Já os fungos do gênero *Menisporopsis* apresentam, de forma geral, estilo de vida saprófito, sendo encontrados em materiais em decomposição e madeira submersa (Tsui *et al.* 1999; Seifert *et al.* 2011). É, também, o primeiro relato de um endófito radicular pigmentado nesse gênero.

Os resultados do Blast apresentados para os demais isolados endófitos radiculares pigmentados neste trabalho também fornecem evidências de outros novos taxa de endófitos radiculares pigmentados. Nas pesquisas realizadas por similaridade de sequências, foi evidenciada baixa porcentagem de identidade para os isolados PEC 11 e PEC 15, indicando serem novidades taxonômicas. Estas espécies não puderam ser presumidas através da análise das sequências de DNA pelo BLAST, sendo necessário realizar as análises filogenéticas com bancos de dados mais amplos, a fim de posicioná-las corretamente dentro de seu grupo taxonômico.

Na busca por similaridade das sequências correspondentes aos isolados PEC 19.1 e PEC 24.4, foi possível verificar, inicialmente, o provável gênero destes dois endófitos radiculares

pigmentados. O isolado PEC 24.4 possivelmente pertence ao gênero *Cladophialophora* (*Herpotrichiellaceae*, *Chaetothyriales*). Este gênero produz conidióforos simples, que formam conídios elipsoidais a fusiformes em cadeias (Ho *et al.*, 1999; Badali *et al.*, 2008), como também foi observado no isolado PEC 24.4.

Já o isolado PEC 19.1 é uma provável espécie pertencente ao gênero *Acrocalymma* (*Acrocalymmaceae*, *Pleosporales*). Fungos deste gênero possuem principalmente conidióforos reduzidos a células conidiogênicas e conídios hialinos que se tornam pigmentados em culturas mais velhas, sendo cilíndricos a fusiformes. Além disso, as formas assexuadas de *Acrocalymma* são comumente formadas em estruturas fechadas e encontradas principalmente em madeiras submersas (Calabon *et al.*, 2023). No presente trabalho, o isolado PEC 19.1 foi encontrado colonizando endofiticamente o sistema radicular de plantas de café e, apesar de sucessivas tentativas, não se obteve sucesso na indução de sua esporulação.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho marca o ponto de partida para estudos com endófitos radiculares pigmentados associados ao cafeeiro. A conclusão das descrições taxonômicas de todos os isolados listados nesse trabalho é, portanto, muito importante, seja para fornecer a identificação completa de fungos que têm potencial para compor bioinsumos (Bettiol, 2021), como também para construir conhecimento acerca dessa comunidade endofítica inexplorada.

Esta dissertação pode ser uma das bases para futuros estudos sobre as capacidades desses fungos em promover o crescimento de plantas de café e de auxiliá-la a superar diversos estresses bióticos e abióticos enfrentados no campo, uma vez que, além dos resultados apresentados, uma coleção de culturas de endófitos radiculares pigmentados associados ao cafeeiro foi preparada com os fungos obtidos no presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- BAAZEEM, A.; ALMANEA, A.; MANIKANDAN, P.; ALORABI, M.; VIJAYARAGHAVAN, P.; ABDEL HADI, A. (2021). In vitro antibacterial, antifungal, nematocidal and growth promoting activities of *Trichoderma hamatum* FB10 and its secondary metabolites. *J. Fungi*, 7:331. <http://doi.org/10.3390/jof7050331>
- BADALI, H., C.; GUEIDAN, M. J.; NAJAFZADEH, A.; BONIFAZ, A. H. G. (2008). Gerrits van den Ende, and G.S. de Hoog. Biodiversity of the genus *Cladophialophora*. *Stud. Mycol.* 61:175–191.
- BEHIE, S. W.; JONES, S. J.; BIDOCHKA, M. J. (2015). Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. *Fungal Ecology*, 13, 112-119. <http://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.08.001>
- BERG G. (2009). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health : perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl Microbiol Biotechnol.* 84, 11-18.
- BERIS, D.; VASSILAKO, N. Chapter 2 - Plant beneficial microbes: do they have a role as antiviral agents in agriculture? Editor(s): Vivek Sharma, Richa Salwan, Laith Khalil Tawfeeq Al-Ani. *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. Academic Press, 19-33, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818469-1.00002-X>
- BONFIM, J. A.; VASCONCELLOS, R. L. F.; BALDESIN, L. F.; SIEBER, T. N.; CARDOSO, E. J. B. N. (2016). Dark septate endophytic fungi of native plants along an altitudinal gradient in the Brazilian Atlantic forest, *Fungal Ecology*, 20, 202-210. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.01.008>
- BONGIORNO, VA, Rhoden, SA, Garcia, A. *et al.* (2016). Diversidade genética de fungos endofíticos de *Coffea arabica* cv. IAPAR-59 em cultivos orgânicos. *Ann Microbiol* 66, 855–865. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1168-0>
- BRUNDRETT, M. C. (n.d.). Understanding the Roles of Multifunctional Mycorrhizal and Endophytic Fungi. *Microbial Root Endophytes*, 281-298. https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_16
- CAMARGO, A. P.; CAMARGO, M. B. P. (2001) Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. *Bragantia*. Campinas, 60 (1), 65-68.
- CARNEIRO, R. M.; COFCEWICZ, E. T. (2008). Taxonomy of Coffee-Parasitic Root-Knot Nematodes, *Meloidogyne* spp.. In: Souza, R.M. (eds) *Plant-Parasitic Nematodes of Coffee*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8720-2_6
- CASTELLANI, A. (1939). Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 42, 1, 225-225.

CONAB (2024). Acompanhamento da Safra Brasileira: Café. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/cafe>.

DARRIBA, D. *et al.* (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*, 9, 8, 772-772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>

DE LA ROSA, W.; ALATORRE, R.; BARRERA, J. F.; TORIELLO, C. (2000). Efeito de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) sobre a broca-do-café (Coleoptera: Scolytidae) em condições de campo, *Journal of Economic Entomology*, 93, 5, 1409–1414. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.5.1409>

DUONG, B.; MARRACCINI, P.; ETIENNE, H.; VILLAIN, L.; HOANG, G. T.; KHONG, G. N.; DUPONNOIS, R. (2022). Potencial da cepa endofítica de *Bacillus cereus sensu lato* CCBLR15 do café para o controle do nematoide fitoparasita *Radopholus duriophilus*. *Biocontrol Science and Technology*, 32 (8), 971–988. <https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2070600>

EDGAR, R. C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32, 5, 1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>

FAN, H.; YAO, M.; WANG, H.; ZHAO, D.; ZHU, X.; WANG, Y.; *et al.* (2020). Isolation and effect of *Trichoderma citrinoviride* Sneh1910 for the biological control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *BMC Microbiol.* 20, 299. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01984-4>

FENG, X., Jin, Y., Zhong, Z., Zheng, Y. e Wu, H. (2025). Efeitos de promoção do crescimento do fungo endófito escuro septado *Acrocalymma* no tomate (*Solanum lycopersicum*). *Jornal de Fungos* , 11 (7), 510. <https://doi.org/10.3390/jof11070510>

FORGHANI, F. e Hajihassani, A. (2020). Recent Advances in the Development of Environmentally Benign Treatments to Control Root-Knot Nematodes. *Front. Plant Sci.* 11, 1125. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01125>

FRANZIN, M. L.; MOREIRA, C. C.; DA SILVA, L. N. P.; MARTINS, E. F.; FADINI, M. A. M.; PALLINI, A.; ELLIOT, S. L.; VENZON, M. (2022). *Metarhizium* Associated with Coffee Seedling Roots: Positive Effects on Plant Growth and Protection against *Leucoptera coffeella*. *Agriculture*, 12, 2030. <https://doi.org/10.3390/agriculture12122030>

GABER, D. A.; BERTHELOT, C.; BLAUDEZ, D.; KOVÁCS, G. M.; FRANKEN, P. (2023). Impact of dark septate endophytes on salt stress alleviation of tomato plants. *Front. Microbiol.*, 14, 1124879, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1124879>

GABER, D. A.; BERTHELOT, C.; CAMEHL, I.; KOVÁCS, G. M.; BLAUDEZ, D.; FRANKEN, P. (2020). Salt stress tolerance of dark septate endophytes is independent of melanin accumulation. *Front. Microbiol.*, 11, 562931. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020>

GOMES, W. S.; PEREIRA, L. L.; LUZ, J. M. R.; DA SILVA, M. C. S.; VELOSO, T. G. R.; PARTELLI, F. L. (2024). Exploring the microbiome of coffee plants: Implications for coffee

quality and production, Food Research International, 179, 113972, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.113972>

GUO, X.; WAN, Y.; HU, J.; WANG, D. (2022). Dual inoculations of dark septate endophytic and ericoid mycorrhizal fungi improved the drought resistance of blueberry seedlings (2022). <https://doi.org/10.2139/ssrn.4231099>

HOU, L.; LI, X.; HE, X.; ZUO, Y.; ZHANG, D.; ZHAO, L. (2021). Effect of dark septate endophytes on plant performance of *Artemisia ordosica* and associated soil microbial functional group abundance under salt stress. Appl. Soil Ecol., 165, 103998. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-107827/v1>

HO, M. H. M., R. F. Castañeda-Ruiz, F. M. Dugan; S. C. Jong. (1999). Cladosporium and Cladophialophora in culture: Descriptions and an expanded key. Mycotaxon 72:115–157.

HUGHES, S. J.; W. B. Kendrick (1968). "New Zealand Fungi: 12. Menispora, Codinaea, Menisporopsis." *New Zealand Journal of Botany* 6, 3, 323-375.

International Coffee Organization (2022) *Coffee market report*. Available at: <https://www.ico.org/Market-Report-22-23-e.asp>. Acesso em: 15 de agosto de 2024.

IPPC SECRETARIAT (2021). Scientific review of the impact of climate change on plant pests - A Global Challenge to Prevent and Mitigate Plant Pest Risks in Agriculture, Forestry and Ecosystems; FAO: Rome, Italy. ISBN 9789251344354. Disponível em: <http://www.fao.org/3/cb4769en/online/cb4769en.html>. Acesso em: 26 de setembro de 2024.

JUMPPONEN, A. and Trappe, J. M. (1998) Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. New Phytol 140: 295–310. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00265.x>

KANAPP, D. G.; PINTYE, A.; KOVÁCS, G. M. (2012). The Dark Side Is Not Fastidious – Dark Septate Endophytic Fungi of Native and Invasive Plants of Semiarid Sandy Areas. Plos ecosystems.

LACAVA, P. T.; BOGAS, A. C.; CRUZ, F. P. N. (2022) Plant Growth Promotion and Biocontrol by Endophytic and Rhizospheric Microorganisms From the Tropics: A Review and Perspectives. Front. Sustain. Food Syst. 6:796113. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.796113>

LEIA, D. J.; HASELWANDTER, K. (1981) OBSERVATIONS ON THE MYCORRHIZAL STATUS OF SOME ALPINE PLANT COMMUNITIES. New Phytol 88: 341–352. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1981.tb01729.x>

LI, M.; REN, Y.; HE, C.; YAO, J.; WEI, M.; HE, X. (2022). Complementary effects of dark septate endophytes and *Trichoderma* strains on growth and active ingredient accumulation of *Astragalus mongholicus* under drought stress. J. Fungi, 8 (9), 920. <https://doi.org/10.3390/jof8090920>

LI, W.; YAO, J.; HE, C.; REN, Y.; ZHAO, L.; HE, X. (2023). The synergy of dark septate endophytes and organic residue on *Isatis indigotica* growth and active ingredients accumulation under drought stress. *Ind. Crops Prod.*, 203, 117147. [10.1016/j.indcrop.2023.117147](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117147)

LU, B.; LIN, Y.; HE, C.; LI, X.; ZHANG, W.; HE, X. (2025). Dark septate endophyte enhances *Ammopiptanthus mongolicus* growth during drought stress through the modulation of leaf morphology and physiology characteristics. *Industrial Crops and Products*, 225, 120544. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.120544>

LU, L., Tibpromma, S., Karunarathna, SC, Jayawardena, RS, Lumyong, S., Xu, J., & HYDE, KD (2022). Comprehensive Review of Fungi on Coffee. *Pathogens*, 11 (4), 411. <https://doi.org/10.3390/pathogens11040411>

MANDYAM, K.; JUMPPONEN, A. (2005). Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Stud Mycol.* 53:173–189. <https://doi.org/10.3114/sim.53.1.173>

MANTZOUKAS, S.; ELIOPOULOS, P. A. (2020). Endophytic entomopathogenic fungi: A valuable biological control tool against plant pests. *Appl. Sci.* 10, 360.

MATEU, M. G.; BALDWIN, A. H.; MAUL, J. E.; YARWOOD, S. A. (2020). Dark septate endophytes improve salt tolerance of native and invasive lineages of *Phragmites australis*. *ISME J.*, 14 (8), 1943-1954. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0654-y>

MENDES, R., Garbeva, P., Raaijmakers, J. M. (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms, *FEMS Microbiology Reviews*, 37 (5), 634–663, <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>

Microbiota do solo e qualidade ambiental/editoras Adriana Parada Dias da Silveira; Sueli dos Santos Freitas. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. 312 p.: il. ISBN: 978-85-85564-14-8. Capítulo 3 Micorrizas Arbusculares em Plantas Tropicais: Café, Mandioca e Cana-de-açúcar.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. (2011). The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. In: *Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference: extreme digital discovery.* 1, 8. <https://doi.org/10.1145/2016741.2016785>

Morales-Aranibar L, Yucra FEY, Estrada NMP, Salcedo EP, Morales-Aranibar C, Gutiérrez NL, Aguilar OM, Chura RMM, Contreras WC, Aguilera JG. (2023). Ecological Interaction in the Proliferation of Phytoparasitic Nematodes in Coffee var. Typica. *Agronomy*. 13(6), 1653. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061653>

MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V. Sporulation, radial growth and biomass production of *A. robusta* and *M. thaumasiaum* submitted to different methods of preservation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34, 1, 157-160, 2003.

MULATU, A.; Alemu, T.; Megersa, N.; VETUKURI, R. R. (2021). Optimization of culture conditions and production of bio-fungicides from *Trichoderma* species under solid-state fermentation using mathematical modeling. *Microorganisms* 9, 1675. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081675>

MULATU, A.; MEGERSA, N.; ABENA, T.; KANAGARAJAN, S.; LIU, Q.; TENKEGNA, TA; VETUKURI, R. R. (2022). Biodiversidade do gênero *Trichoderma* na rizosfera de plantas de café (*Coffea arabica*) na Etiópia e seu uso potencial no biocontrole da doença da murcha do café. *Safras*, 2, 120-141. <https://doi.org/10.3390/crops2020010>

MULAW, T. B.; DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, C. P.; ATANASOVA, L. (2013) Novel Endophytic *Trichoderma* spp. Isolated from Healthy *Coffea arabica* Roots are Capable of Controlling Coffee Tracheomycosis. *Diversity*. 5, 750-766. <https://doi.org/10.3390/d5040750>

NAIR, J. R.; SINGH, G. e Sekar, V. (2002). Isolamento e caracterização de uma nova cepa de *Bacillus* da filosfera do café com atividade antifúngica, *Journal of Applied Microbiology*, 93, 5, 772–780, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01756.x>

NARKHEDE, G. W.; KUMAR, G. H.; KUMAR, M. A.; SUPRASANNA, P. (2026). Plant-microbial symbiosis: Molecular insights and applications in sustainable agriculture. *Current Plant Biology*, 45, 2214-6628. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2026.100587>

NISHIJIMA, M.; SAES, M. S. M.; POSTALI, F. A. S. (2012). Análise de concorrência no mercado mundial de café verde. *Revista De Economia E Sociologia Rural*. 50(1), 69-82. <https://doi.org/10.1590/S0103-20032012000100004>

OLIVEIRA, J. A.; Custódio, F. A.; Pereira, O. L. (2024). Cultivable root endophytic fungi associated with *Acrocomia aculeata* and its antagonistic activity against phytopathogenic oomycetes. *Brazilian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01482-z>

OLIVEIRA, J. A.; Custódio, F. A.; Pereira, O. L. (2024a). Macaw palm is a harbor of new non-grass species of dark septate endophytes belonging to the genus *Pseudophialophora* (*Magnaporthaceae*). *Braz. J. Microbiol.* <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01579-5>

OLIVEIRA, J. A.; PEREIRA, O. L. (2025). Opening the black box of an underexplored and megadiverse group: history, taxonomy and functionality of dark septate endophytes (DSE). *Fungal Biology Reviews*. 54, 1749-4613. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2025.100457>

OTT, S. L.; HUANG, C. L.; MISRA, S. K. (1991). Consumers' Perceptions of Risks from Pesticide Residues and Demand for Certification of Residue-Free Produce. In *Economics of Food Safety*; Caswell, J.A., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 175–188. ISBN 9789401170765.

POSADA, F., Aime, M. C.; PETERSON, S. W.; REHNER, S. A.; VEJA, F. E. (2007). Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycological Research*. 111(6), 748-757. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.006>

RAMBAUT, A. FigTree. Version 1.4.4 (2018). Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em: 15 de outubro de 2024.

RENA, A. B., Maestri, M. (1985). Fisiologia do cafeeiro. *Informe Agropecuário*. Belo Horizonte, 11, 26-40.

Rodriguez, R. J., White Jr. J. F., Arnold, A. E., Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*. 182(2), 314-330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>

RONQUIST, F. *et al.* (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, 61, 3, 539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

SAIKKONEN, K.; FAETH, S. H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T. J. (1998). FUNGAL ENDOPHYTES: A Continuum of Interactions with Host Plants. *Annu Rev Ecol Syst* 29: 319–343. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319>

SANTANA, J. S.; CUSTÓDIO, F. A.; DE OLIVEIRA, J. A.; PEREIRA, O. L. (2025). *Cyphellophora denticulata* sp. nov. a new dark septate endophyte from banana roots in Brazil. *Braz J Microbiol* 56, 939–950. <https://doi.org/10.1007/s42770-025-01654-5>

SCHULZ B, Boyle C (2005). The endophytic continuum. *Mycol Res* 109: 661–686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>

SETTE, L. D.; PASSARINI, M. R. Z.; DELARMEINA, C. *et al.* (2006). Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants. *World J Microbiol Biotechnol* 22, 1185–1195. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9160-2>

SHADMANI, L.; JAMALI, S.; FATEMI, A. (2021). Isolation, identification, and characterization of cadmium-tolerant endophytic fungi isolated from barley (*Hordeum vulgare* L.) roots and their role in enhancing phytoremediation. *Braz. J. Microbiol.*, 52, 1097-1106. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00493-4>

SHEN, M.; SCHNEIDER, H.; XU, R.; CAO, G.; ZHANG, H.; LI, T.; ZHAO, Z. (2020). Dark septate endophytes enhances maize cadmium (Cd) tolerance by the remodeled host cell walls and the altered Cd subcellular distribution *Environ. Exp. Bot.*, 172, 104000. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104000>

SHI, W.; WANG, Z.; WANG, Q. *et al.* (2025). Effects of Dark Septate Endophytes on the Growth of Wheat Seedlings Under Different Fertilizer Conditions. *J Plant Growth Regul* 44, 5340–5360. <https://doi.org/10.1007/s00344-025-11764-x>

SILVA, L. C.; BARBOSA, C. K. R.; Franco Jr., K. S. (2020). Avaliação do efeito da inoculação com *Azospirillum* brasilense em mudas de café arábica. *Coffee Science, Lavras*, 15, 1-3. <https://doi.org/10.25186/cs.v15i.1678>

SILVA, L. G.; RAMOS, D. O.; OLIVEIRA, J. A.; NOGUEIRA, P. T. S.; SANTANA, J. S.; PEREIRA, O. L. (2026). Dark Septate Endophytes on the Spotlight: Two New *Cladophialophora* Species Associated with Roots of the Orchid *Cattleya locatellii* (Orchidaceae) in Brazil. *New Zealand Journal of Botany* 64, e70027. <https://doi.org/10.1002/nzb2.70027>

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; COLOZZI-FILHO, A.; DE OLIVEIRA, E. (1995). The influence of nursery substrate and mycorrhiza on growth of transplanted coffee tree

seedlings. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 30, 12. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab1995.v30.4442>

SOOD, M.; KAPOOR, D.; KUMAR, V.; SHETIWIY, MS; RAMAKRISHNAN, M.; LANDI, M.; ARANITI, F.; SHARMA, A. (2020). *Trichoderma*: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants* 9, 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>

STAMATAKIS, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30, 9, 1312-1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>

UAU, S. L.; RUOCCO, M.; VIÑALE, F.; NEGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. (2020). Produtos à base de *Trichoderma* e sua ampla utilização na agricultura. *Abra Mycol. J.* X 8, 71–126.

VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. (2004) Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Sci.*, 44, 1920-1934. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1920>

WANG, D.; XIE, Y.; ZHANG, W.; YAO, L.; HE, C.; HE, X. (2024). Study on the biological characteristics of dark septate endophytes under drought and cadmium stress and their effects on regulating the stress resistance of *Astragalus membranaceus*. *J. Fungi*, 10 (7), 491. <https://doi.org/10.3390/jof10070491>

WATTS, C. A. (2016). *Brewing Storm: The Climate Change Risks to Coffee*. The Climate Institute: Australia, New Zealand. Disponível em: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/nativa/article/view/10973/12684>

WILLIAMS, P. R. D. e Hammitt, J. K. (2001). Riscos concebidos de produtos orgânicos e orgânicos: pesticidas, patógenos e toxinas naturais. *Análise de Risco*, 21, 319-330. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.212114>

WILSON, D. (1995). Endófito—A evolução de um termo e esclarecimento de seu uso e definição. *Oikos*, 73, 274–276.

XIN, Y.; HAILIN, G.; KAIXUAN, Z.; MENGJU, Z.; JINGJUN, R.; JIE, C. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>