



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

FUNGOS ENDOFÍTICOS DE PLÂNTULAS DE *VRIESEA MINARUM* L. B. SMITH,
UMA ESPÉCIE AMEAÇADA DE EXTINÇÃO E ENDÊMICA DOS CAMPOS
RUPESTRES: POTENCIAIS PRODUTORES DE FATORES PROMOTORES DE
CRESCIMENTO DE PLANTAS.

MARINA ANGÉLICA DAMASCENO

BELO HORIZONTE

2017

MARINA ANGÉLICA DAMASCENO

FUNGOS ENDOFÍTICOS DE PLÂNTULAS DE *VRIESEA MINARUM* L. B. SMITH,
UMA ESPÉCIE AMEAÇADA DE EXTINÇÃO E ENDÊMICA DOS CAMPOS
RUPESTRES: POTENCIAIS PRODUTORES DE FATORES PROMOTORES DE
CRESCIMENTO DE PLANTAS.

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Federal de
Educação Tecnológica de Minas Gerais
como requisito parcial a aprovação da
disciplina TCC II.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Andréa Rodrigues Marques Guimarães

Co-orientadora: Ma. Alessandra Abrão Resende

BELO HORIZONTE

2017

Damasceno, Marina Angélica.

Fungos endofíticos de plântulas de *Vriesea minarum* L. B. Smith, uma espécie ameaçada de extinção e endêmica dos campos rupestres: potenciais produtores de fatores promotores de crescimento de plantas/ Marina Angélica Damasceno. - Registro: 2017.

37 f.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Andréa Rodrigues Marques Guimarães

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 2017.

1. Campos Rupestres. 2. Fungos endofíticos. 3. *Vriesea minarum*. 4. PCP. I. Damasceno, Marina Angélica. II. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais. III. Fungos endofíticos de plântulas de *Vriesea minarum* L. B. Smith, uma espécie ameaçada de extinção e endêmica dos campos rupestres: potenciais produtores de fatores promotores de crescimento de plantas / Marina Angélica Damasceno.



Serviço Público Federal – Ministério da Educação
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL E
SANITÁRIA**

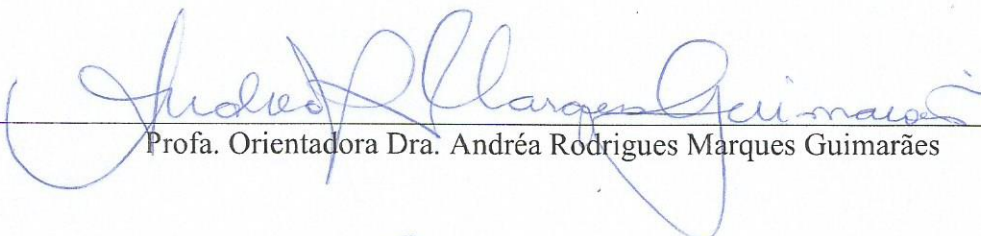
**ATA DE DEFESA FINAL
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II**

Aos seis dias do mês de Dezembro de 2017, no *campus* I do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, reuniram-se os professores Andréa Rodrigues Marques Guimarães, Alessandra Abrão Resende, Mariana de Lourdes Almeida Vieira e Raquel de Castro Salomão Chagas, para participarem da banca de avaliação do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “*Fungos endofíticos de plântulas de Vriesea minarum L. B. Smith, uma espécie ameaçada de extinção e endêmica dos campos rupestres: potenciais produtores de fatores promotores de crescimento de plantas*” de autoria da aluna Marina Angélica Damasceno, do curso de Engenharia de Ambiental e Sanitária. Uma vez avaliado, o trabalho foi declarado:


- Aprovado.
 Reprovado.

Belo Horizonte, 06 de Dezembro de 2017.

Banca Examinadora:



Profa. Orientadora Dra. Andréa Rodrigues Marques Guimarães



Co-orientadora Ma. Alessandra Abrão Resende



Profa. Dra. Mariana de Lourdes Almeida Vieira



Profa. Dra. Raquel de Castro Salomão Chagas

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Pai, por toda proteção, por todas as oportunidades a mim concedidas e por ser meu alicerce e meu socorro bem presente.

Aos meus amados pais, Vera e Simão, por todo amor, carinho, apoio, paciência, bons exemplos e por eles serem meu maior estímulo para a conquista dos meus sonhos.

Ao meu namorado Diogo, pela paciência, compreensão e apoio.

Aos meus familiares, aos meus amigos, em especial a minhas amigas do coração Jaqueline, Jéssica e Stéfanie, e aos meus pastores, por todo apoio, carinho, palavras de incentivo e orações.

A minha amiga e companheira de jornada no CEFET, Jomara, por toda força, torcida, amizade, incentivo e cumplicidade.

As minhas orientadoras, professora Andréa Rodrigues Marques Guimarães e Alessandra Abrão Resende, pela paciência, apoio, confiança, carinho, auxílio e aprendizados a mim distribuídos.

A professora Mariana de Lourdes Almeida Vieira e a minha colega de curso Lorrane Stephane Oliveira Alves pela germinação das plântulas, isolamento e classificação dos fungos endofíticos.

Ao Laboratório de Microbiologia Aplicada da UFMG, pelo uso de suas instalações, a professora Vera Lúcia dos Santos e aos colegas de laboratório, por todo auxílio e contribuição para a realização dos experimentos laboratoriais.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia Ambiental do CEFET, pelo uso das instalações e equipamentos dos laboratórios.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite e pelas contribuições de suma importância para o aperfeiçoamento deste trabalho.

RESUMO

MARINA ANGÉLICA DAMASCENO, *Fungos endofíticos de plântulas de *Vriesea minarum* L. B. Smith, uma espécie ameaçada de extinção e endêmica dos campos rupestres: potenciais produtores de fatores promotores de crescimento de plantas*. 2017. 37f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) – Departamento de Ciência e Tecnologia Ambiental, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

Vriesea minarum é uma bromélia de tanque, rupícola e endêmica, se distribuindo restritamente na região do Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais, onde estão contidos os campos rupestres. A espécie é listada atualmente como ameaçada devido ao seu endemismo e a degradação do seu habitat, pelas atividades antropogênicas. Apresenta uma comunidade expressiva de microrganismos no seu tanque, sendo os fungos leveduriformes já identificados. Muitos microrganismos são promotores de crescimento de plantas (PCPs), pois produzem compostos que facilitam a absorção de certos nutrientes, estimulam o crescimento da planta e diminui ou previne as plantas de doenças, sendo os fungos filamentosos potenciais PCPs. O trabalho teve como objetivo caracterizar a comunidade de fungos filamentosos endofíticos de plântulas da bromélia *Vriesea minarum* quanto à produção de auxinas e capacidade de solubilizar fósforo inorgânico *in vitro*. Foram testados 43 isolados, caracterizados em 12 macromorfotipos diferentes. A quantificação do ácido indol-3-acético (AIA) foi realizada utilizando o reagente de Salkoviski e a detecção da solubilização de fósforo inorgânico por meio da produção de halo translúcido em meio Pikovskaya. Setenta e quatro por cento dos isolados fúngicos mostraram potencial para produzir AIA, variando entre 1,1 a 34,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e somente quatro isolados foram capazes de solubilizar fósforo inorgânico. Apenas um isolado compartilhou ambas habilidades, de solubilizar fósforo e produzir AIA. Estudos adicionais serão necessários para identificação das espécies, por métodos moleculares. A produção de AIA e solubilização de fósforo insolúvel pelos fungos endofíticos de *Vriesea minarum* podem ser de grande importância para a espécie na fase de desenvolvimento pós-seminal, podendo atuar também, como bio-inoculantes, durante o desenvolvimento e crescimento até a maturidade em condições de cativeiro em jardins botânicos. Esta estratégia é de grande importância para a conservação da espécie, colaborando para possíveis planos de manejo e cultivo nos campos rupestres. Soma-se ainda, suas aplicações biotecnológicas no campo da agronomia.

Palavras-Chave: Campos rupestres, *Vriesea minarum*, fungos endofíticos, PCP.

ABSTRACT

MARINA ANGÉLICA DAMASCENO, *Fungal endophytes from *Vriesea minarum* L. B. Smith seedlings, an endangered species and endemic of campos rupestres of Range Mountain Espinhaço: potential plant growth-promoting*. 2017 37p. Monograph (Graduate) - Department of Environmental Science and Technology, Federal Center of Technological Education of Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

Vriesea minarum is a tank bromeliad, rupicum and endemic, being distributed strictly in the region of the Iron Quadrangle of Minas Gerais, where the rocky fields are contained. The species is currently listed as threatened due to its endemism and the degradation of its habitat by anthropogenic activities. It presents an expressive community of microorganisms in its tank, with yeast fungi already identified. Many microorganisms are plant growth promoters (PGPs) because they produce compounds that facilitate the absorption of certain nutrients, stimulate plant growth, and decrease or prevent disease plants, with filamentous fungi being potential PGPs. The objective of this work was to characterize the community of endophytic filamentous fungi of bromeliad *Vriesea minarum* in relation to the production of auxins and the ability to solubilize inorganic phosphorus in vitro. Forty three isolates, characterized in 12 different macromorphotypes, were tested. The quantification of indole-3-acetic acid (IAA) was performed using the Salkoviski reagent and the detection of inorganic phosphorus solubilization by means of the production of translucent halo in Pikovskaya medium. Seventy-four percent of the fungal isolates showed potential to produce IAA, ranging from 1.1 to 34.9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and only four isolates were able to solubilize inorganic phosphorus. Only one isolate shared both abilities, solubilizing phosphorus and producing IAA. Additional studies will be needed to identify species by molecular methods. The production of IAA and solubilization of phosphorus insoluble by the endophytic fungi of *Vriesea minarum* may be of great importance for the species in the post-seminal development stage, and may also act as bioinoculants during development and growth to maturity under conditions of captivity in botanical gardens. This strategy is of great importance for the conservation of the species, collaborating for possible plans of management and cultivation in the rock fields. Its biotechnological applications in the field of agronomy are also added.

Keywords: Campos rupestres, *Vriesea minarum*, endofitic fungi, PGP.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. OBJETIVO GERAL.....	11
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
4.1. CADEIA DO ESPINHAÇO.....	12
4.2. CAMPOS RUPESTRES.....	12
4.3. FAMÍLIA BROMELIACEAE.....	13
4.3.1. A espécie <i>Vriesea minarum</i>	15
4.4. MICRORGANISMOS ENDOFÍTICOS.....	16
4.4.1. Transmissão dos endofíticos a plantas.....	17
4.4.2. Interação com os hospedeiros / funções dos endofíticos.....	18
4.4.3. Produção do fito-hormônio ácido indol-3-acético e disponibilização de fósforo.....	20
5. METODOLOGIA.....	21
5.1. Germinação da planta e isolamento dos fungos.....	21
5.2. Análises Químicas.....	24
5.3. Análises Estatísticas.....	25
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

Vriesea minarum é uma bromélia de tanque e rupícola (Versieux 2011), listada atualmente como ameaçada, devido às significativas perdas que suas populações vêm sofrendo (Lavor et al. 2014). A espécie é endêmica do Brasil, se distribuindo restritamente na região do Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais (Lavor et al. 2013; 2014), onde estão contidos os campos rupestres. A região é caracterizada pela ocorrência de afloramentos rochosos e campos arenosos com solos pouco profundos (Alves et al. 2014), ácidos, pobres em nutrientes e excessivamente drenados (Benites et al. 2007) com alta diversidade litológica, incluindo o minério de ferro (Carvalho Filho et al. 2015). A vegetação dos campos rupestres exibe altos níveis de riqueza e endemismo de espécies (Conceição & Pirani 2016; Fernandes 2016), porém, as atividades antropogênicas como mineração, desenvolvimento imobiliário, turismo, entre outros, refletem uma séria ameaça para essa biota (Silveira et al. 2016; Fernandes 2016). Uma notável importância ecológica de *V. minarum* nos campos rupestres pode ser considerada, pois é fonte de néctar para a fauna de pássaros (Versieux & Machado 2012), bem como, recebe visitas de formigas e, provavelmente, de morcegos (Lavor et al. 2017), além de oferecer recursos alimentares para diversos nichos ecológicos.

As bromélias com tanque (ou fitotelma) podem absorver água e nutrientes por tricomas nas folhas (Leroy et al. 2016). A água em contato com as folhas é absorvida pelas células periféricas do tricoma e distribuída nos tecidos internos da planta apresentando, de modo funcional, a mesma função das raízes de plantas terrestres (Benzing 2000). Ao manter a água da chuva no fitotelma as bromélias formam microambientes aquáticos naturais que são habitados por diversas espécies, muitas delas endêmicas (Lopez et al. 2009). Os tanques conferem grande importância ecofisiológica, pois elementos como nitrogênio (Ambrosini et al. 2007) e fósforo (Giongo et al. 2013) entre outros nutrientes (Gomes et al. 2015) são disponibilizados por microrganismos ou gerados pela decomposição de detritos pela microbiota vivente (Simão et al. 2017; Vanhoutte et al. 2017). Representantes de diversas espécies de microrganismos podem ser encontrados nos tanques de água de bromélias, como bactérias (Carmo et al. 2014) e leveduras (Araújo et al. 2012; Safar et al. 2013; Gomes et al. 2015; Landell et al. 2015). Uma comunidade de leveduras associada à água do tanque da espécie *V. minarum* foi relatada por Gomes et al. (2015). Novas espécies de leveduras como *Kazachstania rupicola* sp. nov. (Safar et al. 2013), *Hannaella pagnoccae* sp. nov. (Landell et al.

2014), *Occultifur brasiliensis*, f.a., sp. nov. (Gomes *et al.* 2015), *Bullera vrieseae* sp. nov. (Landell *et al.* 2015) e *Kockovaella libkindii* sp. nov. (Gomes *et al.* 2016) foram identificadas. Porém, não há relato na literatura de fungos filamentosos.

Os microrganismos endofíticos, que colonizam tecidos vegetais assintomaticamente e vivem em simbiose com hospedeiros ao longo de seu ciclo de vida (Rodriguez *et al.* 2009), podem produzir metabólitos secundários bioativos e enzimas (Kusari *et al.* 2012; Khan *et al.* 2016). Estes microrganismos podem fornecer aos vegetais mecanismos de defesa contra pragas, patógenos e às condições ambientais adversas (Cosoveanu *et al.* 2016). Muitos microrganismos promotores de crescimento de plantas (PCP) produzem fito-hormônios que aumentam o crescimento da raiz e da área superficial (Richardson *et al.* 2009). Os PCP são capazes ainda, de estimular o crescimento das plantas sintetizando vários compostos particulares para as plantas, facilitando a absorção de certos nutrientes do solo e diminuindo a incidência ou prevenindo a incidência de doenças nas plantas (Hayat *et al.* 2010). Fungos endofíticos habitam a maioria das plantas terrestres sem causar sintomas perceptíveis de doença (Hammerschmidt *et al.* 2014; Wiewióra *et al.* 2015; Jia *et al.* 2016). Pelo fato destes serem potenciais produtores de novos compostos biologicamente ativos (Chapla *et al.* 2013; Ola *et al.* 2014; Zheng *et al.* 2017), é crescente o interesse de cientistas no dos fungos endofíticos. As substâncias derivadas de fungos endofíticos pertencem a diversas classes químicas. Ocasionalmente, produzem o fito-hormônio ácido indol-3-acético (AIA) (Ludwig-Müller 2015), uma auxina natural comum, que nas plantas desempenha um papel importante na divisão celular, alongamento, desenvolvimento do fruto e senescência (Duca *et al.* 2014). Nos últimos anos têm sido relatadas que várias classes de fungos endofíticos produzem AIA (Khan *et al.* 2012; Waqas *et al.* 2012, 2014; Kumla *et al.* 2014; Chada *et al.* 2015; Syamsia *et al.* 2015; Khan *et al.* 2017).

A ocorrência de fungos, em diferentes táxons e habitats de plantas, ainda não foi examinada. Atualmente não se tem conhecimento de estudos sobre fungos filamentosos endofíticos associados a folhas de plântulas da bromélia *V. minarum*, apenas se sabe da relação de fungos (micorrizas) associados a raízes (Rabatin *et al.* 1993; Lugo *et al.* 2009; Lugo *et al.* 2015) e folhas (Giongo *et al.* 2013) de outras espécies de bromélias. Pelo fato dos campos rupestres caracterizam-se pela baixa concentração de nutrientes no solo e a espécie *V. minarum* depender de condições ambientais favoráveis para sua sobrevivência, a hipótese postulada neste estudo é a de que fungos endofíticos associados à espécie produzem metabólitos secundários capazes de promover o

crescimento de planta. Para testar tal hipótese, foi examinada a capacidade de produção de AIA e solubilização de fósforo inorgânico pelos fungos endofíticos isolados das folhas de plântulas da bromélia.

2. OBJETIVO GERAL

Caracterizar o potencial da comunidade de fungos endofíticos de plântulas da bromélia *Vriesea minarum* localizada na Serra da Piedade como produtores de substâncias promotoras de crescimento da planta.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a capacidade de fungos endofíticos isolados de plântulas de *V. minarum* de produzir AIA (ácido indol-3-acético) e solubilizar fósforo inorgânico.
- Avaliar a diversidade dos fungos endofíticos isolados de plântulas de *V. minarum*.
- Discutir a possível importância ecológica das substâncias promotoras de crescimento para a conservação da espécie estudada e seu potencial biotecnológico.

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1. CADEIA DO ESPINHAÇO

A Cadeia do Espinhaço é considerada a única cordilheira do Brasil com cerca de 1500 km que se estende entre os estados de Minas Gerais e Bahia (ICMBIO 2016). Apresenta altitudes acima de 1000 m acima do nível do mar, chegando a 2002 m no Pico do Itambé, localizado a cerca de 30 km ao sudeste de Diamantina. Em Minas Gerais a Serra do Espinhaço estende-se aproximadamente 550 km, em direção aproximadamente N-S. Este conjunto de dobramentos geológicos data de mais de 2,5 bilhões de anos (ICMBIO 2016). O complexo da Cadeia do Espinhaço possui como uma das suas características mais proeminentes a presença de afloramentos de quartzito marcas deixadas por movimentos neotectônicos (Pereira *et al.* 2015).

O complexo está localizado entre o domínio do Cerrado e da Mata Atlântica, ambos considerados hotspots de biodiversidade (Echternacht *et al.* 2011; Bünger *et al.* 2014; ICMBIO 2016). Além da sua beleza exuberante e paisagens naturais, alta biodiversidade e a presença de vegetação frágil, com baixa resiliência – chamados campos rupestres, conferiu a região o título de Reserva da Biosfera pela UNESCO em 2005 (Pereira *et al.* 2015; Almada *et al.* 2016; ICMBIO 2016). Adicionado ao significado biológico o fato de que essa cadeia é de vital importância para muitos rios, incluindo o rio São Francisco, o rio Doce e o rio Jequitinhonha (Gontijo 2008; Pereira *et al.* 2015), que representam a maior rede de drenagem de Minas Gerais.

O Espinhaço é o habitat de um grande número de espécies endêmicas. Na região acontece mais da metade das espécies de animais e plantas no estado de Minas Gerais (ICMBIO 2016). A superfície da área – mais de três milhões de hectares – e sua importância geomorfológica, histórica e biológica justificam a adoção de medidas urgentes para a conservação de todo o complexo (Pereira *et al.* 2015). Existem ecossistemas muito frágeis encontrados ali e de baixa resistência abrigando grande parte da flora ameaçada de extinção em Minas Gerais, como os campos rupestres (Fernandes *et al.* 2014).

4.2. CAMPOS RUPESTRES

No geral, os campos rupestres encontram-se nas montanhas de rochas pré-cambrianas, sendo associados principalmente com afloramentos de quartzito, arenito e minério de ferro (Alves *et al.* 2014). Estas áreas são distribuídas principalmente ao

longo do Espinhaço, mas também se encontram em áreas remotas deste tipo de vegetação nas montanhas no centro do Brasil ou nas montanhas de São João del Rei, Tiradentes e Itutinga, em Minas Gerais, os três últimos considerados como pertencentes às montanhas da Serra da Mantiqueira, mas com afinidades geológicas e florísticas relacionadas aos campos rupestres do Espinhaço (Vasconcelos 2011). Este tipo vegetacional encontra-se descontínuo, geralmente limitado aos cumes das montanhas e é reconhecido mundialmente como um centro de diversidade de plantas e de endemismo (Jacobi & Carmo 2008; Fernandes *et al.* 2014).

De maneira geral os campos rupestres do Espinhaço localizam-se nas zonas de transição entre o Cerrado, a Caatinga e Mata Atlântica (Vasconcelos 2011; Alves *et al.* 2014), muitas vezes, intercalados com matas ciliares, e eventualmente pontos de ilhas de capão (Rapini 2008). Um conjunto de comunidades herbáceo-arbustivas são os principais representantes devido à variação do relevo, microclima, profundidade do solo e natureza do substrato, dando uma característica de mosaico a estes tipos de vegetação (Benites *et al.* 2007).

A região é caracterizada pela ocorrência de afloramentos rochosos e campos arenosos com solos pouco profundos (Alves *et al.* 2014), ácidos, pobres em nutrientes e excessivamente drenados (Benites *et al.* 2007) com alta diversidade litológica, incluindo o minério de ferro (Carvalho Filho *et al.* 2015). A grande quantidade de espécies únicas dos campos rupestres concede a flora condição de insubstituível. Suas espécies micro endêmicas são por diversas vezes representadas apenas por pequenas populações (Rapini 2008). Um grande número delas está sob ameaça de extinção, destacando sua importância para a preservação da biodiversidade e as pesquisas científicas (Benites *et al.* 2007). A mineração a céu aberto, as atividades relacionadas e a expansão urbana representam um caso extremo de degradação do campo rupestre (Silveira *et al.* 2016), que, além de distribuição limitada conta com poucas áreas de conservação, sendo o Parque Serra do Rola Moça, o mais proeminente (Jacobi & Carmo 2008). Dessa forma, ações de conservação são urgentemente necessárias para proteger esse ecossistema endêmico, bem como os serviços associados a ele (Silveira *et al.* 2016).

4.3. FAMÍLIA BROMELIACEAE

A principal área endêmica de Bromeliaceae dentro de MG é a Cadeia do Espinhaço. Essa cadeia é considerada uma das áreas de maior riqueza de Bromeliaceae

na América do Sul (Lavor *et al.* 2014; Versieux 2011). Santos e Wanderley (2012) referem 224 espécies de Bromeliaceae para a Cadeia do Espinhaço. Considera-se o Quadrilátero Ferrífero um dos centros mais importantes de riqueza de espécies de bromélias, um hotspot para Bromeliaceae, com um grande número de espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (Rolim 2013; Lavor *et al.* 2014).

A família totaliza atualmente 3.248 espécies em 58 gêneros, classificados em oito subfamílias (Rolim 2013), um elevado número de espécies de bromélias ocorrem em uma grande variedade de tipos de vegetação (Versieux & Wendt 2007). Em Minas Gerais, a representatividade ocorre por 27 gêneros, 265 espécies e 18 táxons distribuídos por diversos biomas. Noventa e oito espécies, (37% do total), são endêmicas de Minas Gerais. O estado é reconhecido como um centro de diversificação para esta subfamília (Pereira *et al.* 2011).

Várias espécies de bromélias foram adicionadas à lista de plantas ameaçadas de extinção no Brasil (CNC FLORA). Populações menores, seu isolamento, e os fatores de perturbação do habitat são associados com aumento do risco de extinção de espécies. Como resultado da fragmentação do habitat, há diminuição de áreas ecológicas na variação genética, além da redução da capacidade das espécies de se adaptar a alterações ambientais (Domingues *et al.* 2011).

A família Bromeliaceae apresenta grande diversificação referente a estruturas morfológicas e fisiológicas para se adaptar aos mais diversos habitats (de florestas úmidas a desertos) onde podem crescer como epífitas, rupículas ou terrestres (Monteiro *et al.* 2011; Rolim 2013). Diante da grande importância ecológica desempenhada pelas bromélias, destaca-se que muitos organismos vivem ou dependem da água que pode se acumular entre suas folhas, direta ou indiretamente. As bromélias com tanque (ou fitotelma) podem absorver água e nutrientes por tricomas nas folhas (Leroy *et al.* 2016). Elementos como nitrogênio (Ambrosini *et al.* 2007) e fósforo (Giongo *et al.* 2013) entre outros nutrientes (Gomes *et al.* 2015) são disponibilizados por microrganismos ou gerados pela decomposição de detritos pela microbiota vivente (Simão *et al.* 2017; Vanhoutte *et al.* 2017). Eles também podem incentivar o estabelecimento de outras espécies sensíveis, durante a colonização de ambientes extremos. Dessa forma, a conservação das bromélias tem uma repercussão secundária muito positiva na defesa de vários outros organismos nos ambientes de afloramentos rochosos, a água retida nos tanques formados por suas folhas, em várias espécies de bromélias, é imensamente

importante para a manutenção de boas condições ambientais a outros organismos (Rolim 2013).

4.3.1. A espécie *Vriesea minarum*

O gênero *Vriesea* é o mais rico em espécies no Brasil, apresentando endemismo marcante em áreas montanhosas. Em Minas Gerais (MG), o gênero *Vriesea* ganha notoriedade por apresentar o maior número de espécies (Versieux 2011). Uma importante área para a diversificação das espécies *Vriesea* é a Serra do Espinhaço. Ao longo desta região montanhosa, o gênero possui o benefício de crescer no interior de florestais ao longo dos vales como epífita ou terrestre, ou também em habitats abertos e expostos como os afloramentos rochosos (Versieux & Machado 2012).

Vriesea minarum é uma espécie endêmica do Brasil e ocorre exclusivamente no estado de Minas Gerais. Sua distribuição é restrita ao Quadrilátero Ferrífero, e ocorre em formações campestres sobre canga. Suas populações são isoladas e mais fragmentadas no topo de montanhas (Versieux 2011; Lavor *et al.* 2013; Lavor *et al.* 2014). Ocorre em 12 municípios diferentes ao redor de Belo Horizonte, mas encontra-se sempre restrita aos afloramentos rochosos de minério de ferro, acima de 1.000 m de altitude (Versieux 2011; Rolim 2013). O declínio na sua área de ocupação e qualidade de habitat foi causado devido as crescentes atividades de mineração e crescimento urbano (Lavor *et al.* 2013). Atualmente encontra-se listada como ameaçada (categoria EN da IUCN) pelos critérios adotados pelo Centro Nacional de Conservação da Flora, devido às significativas perdas que suas populações vêm sofrendo (CNC FLORA 2013; Rolim 2013).

Versieux (2011) concluiu que *V. minarum* não conta com nenhum programa para sua preservação. Das 12 populações amostradas em seu estudo, somente três encontra-se em área de preservação (duas no Parque Estadual da Serra do Rola-Moça e uma no Santuário de Nossa Senhora da Piedade); quatro estão em áreas de mineração, com lavras já abertas e as demais, encontram-se em áreas onde o fogo é também um fator de risco.

A espécie *V. minarum* possui um tanque (fitotelma). Essa estrutura constitui um microambiente habitado por comunidades de diferentes organismos, incluindo espécies endêmicas (Lopez *et al.* 2009). A biota aquática que habita tanques de bromélias consiste em micro e macroinvertebrados e microrganismos como bactérias (Carmo *et*

al. 2014), e leveduras (Araújo *et al.* 2012; Safar *et al.* 2013; Gomes *et al.* 2015; Landell *et al.* 2015). Tal microfauna possui grande eficiência em diversos aspectos fundamentais ao desenvolvimento vegetal (Ambrosini *et al.* 2007). Esses organismos podem colaborar para o aumento da disponibilidade de nutrientes e promover o crescimento da planta, pois além dos nutrientes, oferecem à planta outros elementos primordiais, tais como fito-hormônios e enzimas extracelulares (Giongo *et al.* 2013; Carmo *et al.* 2014). A espécie também possui grande importância ecológica, pois pode ser considerada como fonte de néctar para a fauna de pássaros (Versieux & Machado 2012), além de receber visitas de formigas e, provavelmente de morcegos (Lavor *et al.* 2017)

4.4. MICRORGANISMOS ENDOFÍTICOS

Microrganismos endofíticos, são aqueles que se encontram no interior dos tecidos vegetais, de forma assintomática, durante todo ou parte do seu ciclo de vida sem causar prejuízos à planta hospedeira (Wilson 1995; Schulz & Boyle 2005; Hodgson *et al.* 2014). Estes microrganismos fornecem aos vegetais mecanismos de defesa contra pragas, patógenos e condições ambientais adversas (Cosoveanu *et al.* 2016; Yuan *et al.* 2017). Consistem principalmente de fungos e bactérias que, habitam de modo geral suas partes aéreas, como folhas, caules, frutos e flores, sem causar aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros (Samaga & Rai 2015; Soares *et al.* 2016; Pietro-Souza *et al.* 2017).

Os endofíticos vivem em simbiose com hospedeiros ao longo de seu ciclo de vida. A planta fornece proteção e nutrientes, enquanto que em troca o endofítico produz metabólitos secundários bioativos e enzimas (Khan *et al.* 2016). Eles podem exercer diversas atividades benéficas e importantes no metabolismo e fisiologia da planta hospedeira, tais como fixação de nitrogênio atmosférico (Ambrosini *et al.* 2007), solubilização de fosfatos (Chadha *et al.* 2015; Shi *et al.* 2016; Dolatabad *et al.* 2017), sintetização de hormônios de crescimento de plantas (Waqas *et al.* 2012; Khan *et al.* 2016; Khan *et al.* 2017) e antagonização de patógenos bacterianos (Yuan *et al.* 2017).

Estudos recentes de Baraban *et al.* (2013) indicam que microrganismos que residem dentro de plantas tropicais apresentam diversidade filogenética promissora e bioatividade. Alguns autores sugerem que estes fungos são capazes de determinar associações similares aos fungos micorrízicos, atuando como promotores do

crescimento vegetal (Vaz 2012), particularmente por contribuir com a absorção de nutrientes como o fósforo (Giongo *et al.* 2013) e nitrogênio (Ambrosini *et al.* 2007).

Os fungos endofíticos são conhecidos por habitar a maioria das plantas terrestres sem causar sintomas perceptíveis de doença ao hospedeiro (Bacon & White 2000 *apud* Hammerschmidt *et al.* 2014; Rodriguez *et al.* 2009; Jia *et al.* 2016). Tais organismos apresentam grande diversidade biológica (Jia *et al.* 2016). A relação simbiótica entre o fungo endofítico e a planta hospedeira fundamenta-se em uma interação equilibrada, que pode converter-se à patogênese se o equilíbrio for interrompido, por exemplo, quando a planta hospedeira fica estressada ou senescente (Rodriguez *et al.* 2009). Alguns estudos relatam diferentes gêneros de fungos endofíticos como *Diaporthe* (Gomes *et al.* 2013), *Phomopsis* (Yang *et al.* 2015), *Bezerromyces* e *Xiliomyces* (Bezerra *et al.* 2017), *Pestalotiopsis* e *Aspergillus* (Chen *et al.* 2014) e *Colletotrichum* (Gonzaga *et al.* 2014).

É crescente o interesse de cientistas no estudo destes fungos por estes serem potenciais produtores de novos compostos biologicamente ativos (Chapla *et al.* 2013; Ola *et al.* 2014; Zheng *et al.* 2017), numa extensa diversidade de áreas como por exemplo medicina (Yu *et al.* 2014; Xiang *et al.* 2016) agricultura e indústria (Kavanagh 2011; Börschig *et al.* 2013; Li *et al.* 2016). Esses produtos naturais originados pelos fungos endofíticos podem ser mais efetivos e menos tóxicos, contribuindo dessa forma, para menores impactos ambientais.

4.4.1. Transmissão dos endofíticos a plantas

A transmissão de endofíticos pode ocorrer de forma vertical ou horizontal. Na transmissão vertical o fungo é sistematicamente difundido por meio das sementes para os descendentes da planta hospedeira (Panaccione *et al.* 2014) neste caso, o endofítico pode se instalar em uma planta por toda sua vida (Chapla *et al.* 2013). De acordo com Truyens *et al.* (2015) há grande interesse nos endofíticos de sementes, visto que estes são transmitidos de geração para geração. Tal transmissão vertical favorece o mutualismo, visto que esses microrganismos dependem inteiramente de seu hospedeiro para sobrevivência e reprodução. Geralmente na transmissão horizontal, os fungos endofíticos são transmitidos por esporos aéreos (Aly *et al.* 2011).

Segundo Hallmann & Berg (2006) *apud* Glassner *et al.* (2015) a maioria dos endofíticos, especialmente colonizadores de raízes e caules, parecem originar da

rizosfera e colonizar órgãos de plantas como parte de seu ciclo de vida e podem se mover de forma sistemática dentro da planta, enquanto outros estão restritos às plantas nas partes abaixo do solo.

A colonização de uma planta por um endofítico é influenciada pelo método de inoculação, pelas espécies de endofíticos fúngicos e pelas próprias espécies de plantas hospedeiras (Muvea *et al.* 2014). O modo com que o fungo infecta uma espécie vegetal pode alterar o tipo de interação endofítico-hospedeiro. Dessa forma, na transmissão vertical há prevalência do mutualismo, enquanto que na transmissão horizontal (não-sistêmica) essa interação tende a ser oposta (Chapla *et al.* 2013).

4.4.2. Interação com os hospedeiros / funções dos endofíticos

Controle Biológico

Os fungos endofíticos podem desempenhar um papel importante na melhoria da saúde das plantas hospedeiras. Os endofíticos que sintetizam metabólitos bioativos foram reconhecidos com um enorme potencial como agentes de controle biológico para suprimir as pragas das plantas, como *Alternaria alternata* (Kaur *et al.* 2015), *Lasiodiplodia pseudotheobromae* (Xiang *et al.* 2016), *Rhexocercosporidium* sp. (Yao *et al.* 2017), *Beauveria bassiana* e *Purpureocillium lilacinum* (Lopez *et al.* 2014) *Colletotrichum gloeosporioides* (Mejía *et al.* 2008) por meio de interações que envolvem trocas metabólicas entre o hospedeiro e o endofítico (Schulz *et al.* 2002).

Yuan *et al.* (2017) cita diversos trabalhos que avaliaram a atividade inibidora de patógenos de plantas por fungos endofíticos, presumindo o potencial de biocontrole destes. Porém, segundo Börschig *et al.* (2013) a maioria dos estudos sobre os efeitos dos endofíticos em herbívoros e predadores tem sido realizada em condições laboratoriais, os estudos de campo possuem menor frequência. Devido a fatores como desenvolvimento de resistência a inseticidas e as questões ambientais envolvidas ao uso destes, a necessidade de desenvolver novas estratégias para o controle de pragas de insetos agrícolas tem aumentado (Lopez *et al.* 2014). Porém, embora o uso de endofíticos para o controle biológico seja muito promissor, há diversos desafios a serem superados, devido à diversidade (Liarzi *et al.* 2016). Segundo Yao *et al.* (2017) a frequência de colonização (CF), a diversidade de espécie se a constituição das espécies de comunidades de fungos endofíticos são acometidas pela estação, tipo de tecido, localização geográfica e idade do tecido e hospedeiro.

Promoção de crescimento

Os fungos promotores de crescimento de planta (FPCP) normalmente atuam de três formas distintas: sintetizando compostos particulares para as plantas, facilitando a absorção de certos nutrientes do solo, ou prevenindo as plantas de doenças (Hayat *et al.* 2010). Muitos FPCP produzem fito-hormônios que aumentam o crescimento da raiz elevando o volume de solo explorado e, dessa forma, melhoram a nutrição vegetal.

Eles fornecem uma ampla variedade de metabólitos secundários bioativos com estrutura única, incluindo alcalóides, benzopiranos, chinones, flavonóides, ácidos fenólicos, quinonas, esteróides, terpenoides, tetralonas, xantonas entre outros (Tan & Zou 2001 *apud* Vasundhara *et al.* 2016), que podem ajudar as plantas hospedeiras a resistirem a vários estresses, beneficiam o crescimento das plantas e melhoram a produção de metabólitos de plantas hospedeiras (Park *et al.* 2015).

Tais metabólitos secundários bioativos, podem ser explorados e aplicados como importantes recursos na medicina (Jia *et al.* 2016). Embora, cada espécie de planta seja conhecida por abrigar muitos fungos endofíticos, apenas uma fração muito menor deles é capaz de produzir metabólitos importantes e essa fração também tem sido relatada como pertencente a diferentes táxons e não se limita a um grupo taxonômico específico (Vasundhara *et al.* 2016).

Muitos segmentos de endofíticos secretam metabólitos especializados e glicoproteínas complexas que podem contribuir para a sobrevivência de fungos em ambientes hostis, como solos áridos, melhorando a capacidade de um endofítico de competir com outros microrganismos por nutrientes e espaço dentro dos tecidos da planta (Mahmoud *et al.* 2016). Além disso, os metabólitos produzidos também podem ajudar na remoção de poluentes do solo, aumentando a capacidade de fito-remediação das plantas hospedeiras (Bilal *et al.* 2017), e na promoção do crescimento da planta (Suwannarach *et al.* 2015).

Tais fito-hormônios atuam como mensageiros para conter o crescimento e o desenvolvimento das plantas e para articular as respostas das plantas às alterações ambientais. Eles agem como precursor para controlar o crescimento e a evolução das plantas e para modular as respostas das plantas às alterações ambientais (Khan *et al.* 2015).

4.4.3. Produção do fito-hormônio ácido indol-3-acético e disponibilização de fósforo

Auxinas são fito-hormônios que estimulam o crescimento. O ácido indol-3-acético (AIA) é a auxina natural mais comum e mais importante (Duca *et al.* 2014). Tal fito-hormônio desempenha um papel crucial na coordenação do crescimento e desenvolvimento das plantas e foi estabelecido como indispensável em várias interações planta-microrganismos (Spaepen & Vanderleyden 2011). O AIA também está envolvido em mecanismos de defesa. Os fungos podem usar AIA e compostos relacionados para interagir com plantas, levando à promoção do crescimento das plantas e modificação do mecanismo de defesa desta (Fu *et al.* 2015).

A produção de AIA por fungos tem sido reportada (Khan *et al.* 2012, Waqas *et al.* 2012, Kumla *et al.* 2014, Waqas *et al.* 2014, Chada *et al.* 2015, Syamsia *et al.* 2015, Khan *et al.* 2017), evidenciando a capacidade de fungos em sintetizar AIA, podendo proporcionar o desenvolvimento radicular (Waqas *et al.* 2012; Syamsia *et al.* 2015). O AIA atua também na formação de pelos radiculares, que aumentam a absorção de nutrientes pela planta, melhorando, por conseguinte o crescimento da planta (Oliveira *et al.* 2012).

O fósforo (P) é um elemento de grande abundância na natureza, porém, nos solos ou nos tanques de bromélias, este elemento pode encontrar-se indisponível para as plantas, pois apresenta-se predominantemente complexado com cátions, moléculas orgânicas ou precipitado. Uma grande proporção está presente em formas insolúveis e, portanto, não está disponível para a nutrição das plantas (Rodríguez e Fraga 1999; Rodríguez *et al.* 2006). O P inorgânico ocorre no solo, principalmente em complexos minerais insolúveis, alguns deles aparecendo após a aplicação de fertilizantes químicos (Rodríguez *et al.* 2006).

Certos microrganismos possuem a capacidade de disponibilizar o fósforo em sua forma livre, capaz de ser absorvida e aproveitada pelos outros organismos, exercendo uma função importante na ciclagem deste elemento (Berg 2009). Os microrganismos que possuem tal capacidade, têm sido apontados como significativos promotores de crescimento de planta. Pesquisas recentes constataram a capacidade de solubilização de fosfatos por fungos associados a plantas de espécies tais como *Penicillium oxalicum* e *Aspergillus niger* (Li *et al.* 2016), *Piriformospora indica* (Ngwene *et al.* 2015), *Byssochlamys nivea* (Dolatabad *et al.* 2017). Estes microrganismos podem desempenhar

um papel importante no fornecimento do P às plantas de forma mais ecológica e sustentável (Gyaneshwar *et al.* 2002), pois melhoram a produtividade da mesma sem a utilização de agentes químicos sintéticos.

Diante do exposto, o estudo do papel dos fungos endofíticos associados a *Vriesea minarum* é significativo para obter informações dos possíveis usos desta interação para a conservação da espécie. Desta forma, por meio deste estudo será possível caracterizar a comunidade de fungos endofíticos com potencial de produção de substâncias promotoras de crescimento. Visto que *V. minarum* sofre grande ameaça de extinção, tais conhecimentos podem colaborar com planos para sua preservação.

5. METODOLOGIA

5.1. Germinação da planta e Isolamento dos fungos

A germinação e cultivo das sementes de *Vriesea minarum* (Fig. 1A, B), bem como o isolamento dos fungos endofíticos das plântulas (Fig. 1C), foram realizados em um estudo anterior conforme Alves (2015).

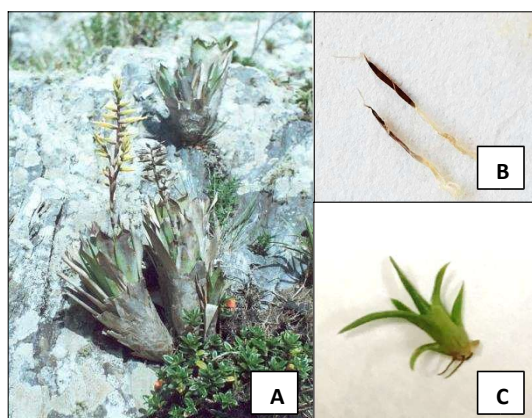


Figura 1. Aspecto geral dos indivíduos floridos de *Vriesea minarum* (A), suas sementes (B) e plântula (C).

No estudo, frutos de 10 indivíduos de *Vriesea minarum* em período de dispersão (Maio-Junho) foram coletados. Um lote de 100 sementes, distribuído em quatro placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada, foi incubado à temperatura constante de 25 ± 1 °C com fotoperíodo de 12h de luz. As sementes germinadas foram cultivadas durante três meses nas mesmas condições que foram submetidas à germinação. Para o isolamento dos fungos endofíticos, plântulas com quatro folhas de aproximadamente oito milímetros de tamanho foram usadas.

As plântulas foram submetidas a esterilização superficial através de imersão sucessiva em etanol 70% (1 min) e 2% de hipoclorito de sódio (3 min), seguido de lavagem com água destilada (2 min). Na sequência foram colocadas em placas de Petri contendo agar batata dextrosado (BDA) suplementadas com cloranfenicol a uma concentração de 100 µg.mL⁻¹ e incubados a 28 °C. A partir do quinto dia de incubação, pequenos fragmentos de ágar com hifas dos fungos recém-desenvolvidas foram transferidos para placas contendo meio BDA.

No estudo, também foi realizado o isolamento e preservação de fungos endofíticos associados a plântulas, bem como o agrupamento dos isolados obtidos em morfotipos de acordo com suas características macromorfológicas (Tab. 1). Os isolados fúngicos foram preservados pelo Método Castellani (1967).

Tabela 1. Número de isolados fúngicos (abundância) obtidos por morfotipo. A riqueza (S) de espécie foi determinada pelo número de linhagens isoladas das plântulas da *Vriesea minarum*.

Morfotipo *	Características	Número de Isolados
1	Fungo filamentosos rosado, aspecto cotonoso e reverso amarelo	11
2	Fungo filamentosos rosado, aspecto cotonoso e reverso avermelhado	9
3	Fungo filamentosos alaranjado, aspecto cotonoso e reverso alaranjado	7
4	Fungo filamentosos branco com centro esverdeado, aspecto cotonoso e reverso rosado	4
5	Fungo filamentosos alaranjado, aspecto cotonoso e reverso alaranjado	5
6	Fungo filamentosos cinza com bordas brancas, aspecto cotonoso e reverso esverdeado	10
7	Fungo filamentosos branco, aspecto cotonoso e reverso rosado	13
8	Fungo filamentosos verde, aspecto liso e reverso branco	10
9	Fungo filamentosos verde com bordas brancas, aspecto granuloso e reverso verde	10
10	Fungo filamentosos verde com bordas brancas, aspecto granuloso e reverso branco e laranja nas bordas	2
11	Fungo filamentosos branco, aspecto cotonoso e reverso avermelhado	1
12	Fungo filamentosos rosado, aspecto cerebriforme e reverso preto	1
13	Fungo filamentosos branco, aspecto liso e	1

reverso verde		
14	Fungo filamentosso branco, aspecto granuloso e reverso branco	9
	S = 14	Abundância = 93

* Fonte: Alves (2015).

5.2. Análises Químicas

Para as análises descritas abaixo foram usados como inóculos fragmentos de doze linhagens de fungo diferentes, num total de 43 isolados fúngicos (no mínimo dois e máximo sete por morfotipo) preservados pelo Método Castellani (1967) reativados em meio Ágar Batata Dextrosado (BDA) incubadas a 28°C por quatro dias.

Dosagem de AIA

Para a avaliação do potencial de produção do ácido indol-3-acético (AIA), três discos de micélio fúngico crescidos em meio BDA foram inoculados em frascos de vidro contendo 20 mL de caldo Czapek [30g.L⁻¹ de Sacarose; 3g.L⁻¹ de Nitrato de Sódio (NaNO₃); 1g.L⁻¹ de Fosfato de Potássio (K₂HPO₄ 3H₂O); 0,5g.L⁻¹ de Sulfato de Magnésio (MgSO₄ 7H₂O); 0,5g.L⁻¹ de Cloreto de Potássio (KCl) e 0,01g.L⁻¹ de Sulfato Ferroso (FeSO₄ 7H₂O)] (Khan *et al.* 2017) acrescido com 1 g.L⁻¹ de L-triptofano e incubados sob agitação de 150 rpm na ausência de luz a 25°C. Após cinco dias, retirou-se uma alíquota de 1 mL de cultura, que foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos a 4°C. Na sequência, 100 µL de sobrenadante foram transferidos para microplaca dom 96 poços, onde foram acrescidos 100 µL da solução reagente de Salkoviski (2% de solução FeCl₃ 0,5 M e 98% de solução de ácido perclórico a 35%) (Gordon & Weber 1951; Nenwani *et al.* 2010). A placa foi mantida no escuro e a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a absorbância foi determinada a 530 nm em um leitor de microplacas Varioskan Flash (Thermo Scientific). Como controle foi utilizado o meio de cultura sem inóculo. Uma curva-padrão de AIA foi construída com as leituras da absorbância das soluções de AIA comercial em concentrações de 0 a 100 de AIA µg.mL⁻¹. O ensaio foi realizado em triplicata.

Avaliação do potencial de solubilização de fosfato inorgânico

Para a avaliação do potencial de solubilização de fósforo inorgânico, discos de micélio das culturas crescidos em meio BDA foram cortados e inoculados em meio Pikovskaya modificado (Pikovskaya 1948; Nenwani *et al.* 2010) [10g.L⁻¹ de glicose; 0,5g.L⁻¹ de (NH₄)₂SO₄; 0,2g.L⁻¹ de NaCl; 0,2g.L⁻¹ de KCl; 0,1g.L⁻¹ de MgSO₄ 7H₂O; 0,001g.L⁻¹ de FeSO₄; 5,0g.L⁻¹ de Ca₃PO₄ e 15,0g.L⁻¹ de Ágar] por sete dias a 28°C. Considerou-se resultado positivo para aqueles isolados que apresentaram halos transparentes ao redor dos discos.

5.3. Análises Estatísticas

A riqueza (S) de fungos foi dada pelo número total de linhagens isoladas e avaliada pelo índice de Margalefn (Magurran 2004). O número de fungos isolados das plântulas foi calculado de cada morfotipo foi usado para calcular o índice de diversidade de Shannon-Weaver (H') de acordo com a equação $H' = -\sum(\pi)(\ln\pi)$, onde π é a abundância relativa de cada morfotipo, calculada pela proporção dos isolados de um morfotipo (n_i) pelo número total dos isolados (N) na comunidade ($\pi = n_i/N$). A equitabilidade da abundância de fungos na comunidade foi calculada usando o índice de uniformidade de Shannon (J) (Magurran 2004), dividindo H' por Hmax ($H_{max} = \ln S$). Os cálculos dos índices foram efetuados com programa PAST, versão 1,90.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dentre os 93 isolados fúngicos que foram obtidos das plântulas de *V. minarum*, 14 morfotipos diferentes foram agrupados por Alves (2015). O índice de diversidade de fungos endofíticos das plântulas foi 2,42 e de equitabilidade igual a 0,91. Pietro-Souza *et al.* (2017) encontraram resultados variados de diversidade de fungos endofíticos nas raízes das plantas conforme a contaminação do solo, onde valores próximos aos do presente estudo foram observados em áreas não contaminadas por mercúrio para as plantas *Polygonum acuminatum* e *Aeschynomene fluminensis* ($H' = 2,47$ e $2,77$ respectivamente). Soares *et al.* (2016) observaram para as raízes de *Phragmites australis* maior diversidade em local de baixa salinidade ($H' = 2,64$) em comparação com local alta de salinidade ($H' = 2,29$), valores que, segundo os autores, expressam grande abundância de fungos endofíticos. Samaga & Rai (2015) verificaram valores

superiores de diversidade de fungos endofíticos nas folhas de *Nothapodytes foetida*, *Hypericum mysorense* e *Hypericum japonicum* ($H' = 3,320$; $3,305$ e $3,215$ respectivamente). Tais estudos sugerem que fatores como as partes da planta, o seu habitat e o tipo de solo na qual está inserida, podem afetar a diversidade dos fungos endofíticos. Algumas pesquisas demonstraram que a salinidade e o manejo do solo (Varanda *et al.* 2016), o clima (Giauque & Hawkes 2016) e o hospedeiro (Unterseher *et al.* 2013) influenciam na distribuição destes microrganismos.

O AIA é produzido por microrganismos através de vias dependentes de L-triptofano ou independentes (Khan *et al.* 2017). No estudo atual, foi analisada a produção de AIA pelos isolados fúngicos em meio suplementado com L-triptofano. A maioria dos isolados fúngicos mostrou potencial para produzir AIA (Tab. 2). Das 12 linhagens testadas, apenas três não produziram AIA (9, 12 e 14). Observou-se que a produção do fito-hormônio variou entre 1,1 a 34,9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo que um isolado do morfotipo 6 produziu a menor concentração e um do morfotipo 4 a maior concentração. Diversos estudos observaram valores de AIA dentro desta faixa de produção na dependência da L-triptofano (Waqas *et al.* 2012; Chadha *et al.* 2015; Shi *et al.* 2016). No estudo de Nenwani *et al.* (2010) também obtiveram produção aproximada de AIA ($11,45 \mu\text{g.mL}^{-1}$) por isolados fúngicos de solo rizosférico. Na avaliação de 17 isolados de fungos endofíticos das folhas de *Boswellia sacra*, Khan *et al.* (2016) detectaram que apenas uma cepa produziu AIA independente de L-triptofano, já na dependência de L-triptofano, quase todas as cepas de fungos mostraram potencial para produzir AIA.

Tabela 2. Produção de AIA e solubilização de fósforo inorgânico observado nos isolados de fungos endofíticos isolados de *Vriesea minarum*.

Características	Isolados de fungos endofíticos	
AIA	Produz	32
	Não produz	11
	Total	43
	Produtivos	74%
Fósforo	Solubilizadores	4
	Não solubilizadores	39
	Total	43
	Solubilizadores	9%

A solubilização de fósforo inorgânico foi observada (Fig. 2) somente por 4 isolados fúngicos (Tab. 2) das linhagens 1, 7, 9 e 14. Resultados parecidos foram observados em estudos realizados com isolados de fungos endofíticos de raízes, caules e folhas (Chadha *et al.* 2015; Shi *et al.* 2016; Dolatabad *et al.* 2017). Muitos microrganismos solubilizantes de fósforo (MSP) também são capazes de promover o crescimento da planta pela secreção de AIA (Zaidi *et al.* 2009; Kavanagh 2011; Li *et al.* 2016). Nas condições de teste, a capacidade solubilizar fósforo e produzir de AIA foi observada somente por um isolado fúngico do morfotipo 7. Resultado semelhante foi obtido por Yadav *et al.* (2016) nas quais isolaram 18 fungos endofíticos de diferentes partes de *Ocimum sanctum* e *Aloe vera*. Nutrientes como nitrogênio (N) e fósforo (P) são indispensáveis para o crescimento das plantas, e particularmente o P, que se apresenta em quantidades insignificantes em vários tipos de solos, é extremamente limitante para o desenvolvimento destas plantas (Benites *et al.* 2007). Os MSP podem solubilizar e mineralizar o P a partir de conjuntos inorgânicos do solo total e podem ser utilizados como inoculantes para aumentar a disponibilidade de P para as plantas (Kavanagh 2011; Li *et al.* 2016).

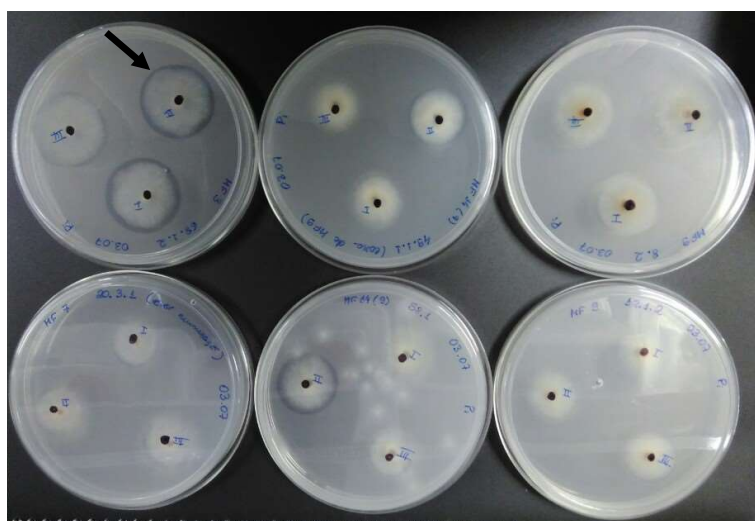


Figura 2. Detalhes do teste de solubilização de fósforo pela formação de halos translúcidos (seta) ao redor das colônias dos isolados fúngicos das folhas das plântulas da bromélia *Vriesea minarum*.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A capacidade de produção de ácido indol-3-acético foi detectada em 74% dos isolados fúngicos, com valores considerados significativamente altos. Já em relação à solubilização de fósforo inorgânico, poucos isolados tiveram capacidade para tal, apresentado por apenas 9%. A capacidade de solubilizar fósforo e produzir AIA foi observada somente para um isolado fúngico do morfotipo 7, nas condições de teste. Estudos adicionais, utilizando técnicas moleculares para identificação das espécies principalmente destes isolados, são necessários.

A produção de AIA e solubilização de fósforo insolúvel pelos fungos endofíticos isolados podem ser de grande importância indireta para a espécie *Vriesea minarum*. Isto porque a produção de AIA pelo microrganismo pode ser mais um incremento hormonal que estimulará um crescimento mais rápido da plântula, considerando que outros fitohormônios, em conjunto, podem atuar nesta e em outras fases de desenvolvimento da bromélia; e a solubilização de fósforo insolúvel pelo fungo, pode disponibilizar fósforo para as plântulas que, possivelmente, terão dificuldades de absorção deste nutriente no ambiente como o campo rupestre, onde o solo é infértil.

Tais mecanismos podem ter uma importância ecológica para o estabelecimento da espécie no seu meio ambiente, como também, pode ser usado como critério para selecionar potenciais bio-inoculantes que poderão auxiliar na conservação da espécie. Neste caso, os fungos potenciais podem ter aplicações biotecnológicas no ramo da agronomia, produção de alimentos, e cultivo de bromélias diferentes espécies ou mesmo a própria *V. minarum* em viveiros. O uso de bio-inoculantes é mais sustentável, barato e menos ofensivo ao meio ambiente, quando comparado aos métodos tradicionais de manejo do solo. Estudos adicionais são necessários para compreender os benefícios desta interação e obter informações de seus possíveis usos para a conservação da espécie, colaborando para possíveis planos de manejo e cultivo da *V. minarum* no seu próprio habitat nos campos rupestres.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves RJV, Silva NG, Oliveira JA, Medeiros D. 2014. Circumscribing campo rupestre – megadiverse Brazilian rocky montane savanas. *Brazilian Journal of Biology* 74: 355-362.
- Alves LSO. Fungos endofíticos associados a plântulas de *Vriesea minarum* (Bromeliaceae): diversidade e atividade antimicrobiana. 2015. 28 f. Relatório de Iniciação Científica (Graduação) – Departamento de Química, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- Almada ED, Anaya FC, Monteiro FT. 2016. The people of the mountains: the biocultural heritage of the Espinhaço Range in Minas Gerais state, Brazil. In: Fernandes G. (eds) *Ecology And Conservation Of Mountaintop Grasslands In Brazil*, Springer. p. 479-499, 2016.
- Aly AH, Debbab A, Proksch P. 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Appl Microbiol Biotechnol* 90:1829–1845.
- Ambrosini A, Giongo A, Beneduzi A, Cobalchini N, Friedrich L, Passaglia LMP. 2007. Bactérias promotoras de crescimento vegetal em *Vriesea gigantea* Gaudchi. (Bromeliaceae). *Revista Brasileira de Biociências* 5: 1169-1170.
- Araújo FV, Rosa CA, Freitas LFD, *et al.* 2012. *Kazachstania bromeliacearum* sp. nov., a yeast species from water tanks of bromeliads. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62: 1002–1006.
- Baraban EG, Morin JB, Phillips GM, Phillips AJ, Strobel SA, Handelsman J. 2013. Xyolide, a bioactive nonenolide from an Amazonian endophytic fungus, *Xylariafeejeensis*. *Tetrahedron Letters* 54: 4058-4060.
- Benites VM, Schaefer CEGR, Simas FNB, Santos HG. 2007. Soils associated with rock outcrops in the Brazilian mountain ranges Mantiqueira and Espinhaço. *Revista Brasil. Bot.* 30: 569-577.
- Bensaci OA, Daoud H, Lombarkia N, Rowabah K. Formulation of the endophytic fungus *Cladosporium oxysporum* Berk. & M.A. 2015. Curtis, isolated from *Euphorbia bupleuroides* subsp. luteola, as a new biocontrol tool against the black beanaphid (*Aphis fabae* Scop.). *Journal of Plant Protection Research* 55: 80-87.
- Benzing DH. 2000. *Bromeliaceae: profile of an adaptative radiation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Berg G. 2009. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84: 11-18.
- Bezerra JDP, Oliveira RJV, Paiva LM, *et al.* 2017. Bezerromycetales and Wiesneriomycetales ord. nov. (class Dothideomycetes), with two novel genera to accommodate endophytic fungi from Brazilian cactus 16: 297-309.

- Bilal S, Khan AL, Shahzad R, Asaf S, Kang SM, Lee IJ. 2017. Endophytic *Paecilomyces formosus* LHL10 augments *Glycine max* L. Adaptation to Ni-contamination through affecting endogenous phytohormones and oxidative stress. *Frontiers in Plant Science* 8: 1-26.
- Börschig C, Klein A, Krauss J. 2013. Effects of grassland management, endophytic fungi and predators on aphid abundance in two distinct regions. *Journal of Plant Ecology* 7: 490-498.
- Bünger MO, Stehmann JR, Oliveira-Filho AT. 2014. Myrtaceae em toda a Cordilheira do Espinhaço do Brasil central: relações florísticas e controles geoclimáticos. 28: 109-119.
- Carmo FL, Santos HF, Peixoto RS, Rosado AS, Araujo FV. 2014. Tank bromeliad water: Similar or distinct environments for research of bacterial bioactives? *Brazilian Journal of Microbiology* 45:185-192.
- Chada N, Prasad R, Varma A. 2015. Plant promoting activities of fungal endophytes associated with tomato roots from central Himalaya, India and their interaction with *Piriformospora indica*. *Int J Pharm Bio Sci.* 6: 333 – 343.
- Chen L, Zhang QY, Jia M, *et al.* 2014. Endophytic fungi with antitumor activities: Their occurrence and anticancer compounds. *Critical reviews in microbiology*, 1-20.
- Conceição AA, Pirani JR. Succession on the rocky outcrop vegetation: a rupestrian grassland scheme. In: G.W. Fernandes (ed.), *Ecology and Conservation of Mountaintop Grasslands in Brazil*, Springer International Publishing. p. 181-206, 2016.
- Carvalho Filho A, Inda AV, Fink JR, Curi N. 2015. Iron oxides in soils of different lithological origins in Ferriferous Quadrilateral (Minas Gerais, Brazil). *Applied Clay Science* 118: 1-7.
- Castellani A. 1967. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi in distilled water. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 42: 181-184.
- Chapla VM, Biasetto CR, Araujo AR. 2013. Endophytic fungi: an unexplored and sustainable source of new and bioactive natural products. *Revista Virtual de Química* 5: 421-437.
- Chadha N, Prasad R, Varma A. 2015. Plant promoting activities of fungal endophytes associated with tomato roots from central Himalaya, India and their interaction with *Piriformospora indica*. *Int J Pharm Bio Sci* 6: 333 – 343.
- CNC Flora. *Vriesea minarum* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Vriesea minarum](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Vriesea_minarum)>. Acesso em 12 outubro 2016.

- CNC Flora. Lista vermelha. Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: <<http://www.cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha>>. Acesso em 01 de novembro de 2017.
- Cosoveanu Andreea, Martin ET, Mariño CG, Cabrera R. 2016. Endophytic fungi isolated from *Musa acuminata* ‘Dwarf Cavendish’ and their activity against phytopathogenic fungi. *Journal of Agriculture Biotechnology* 1: 35-43.
- Dolatabad HK, Javan-Nikkhah M, Shier WT. 2017. Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera*. *Mycological Progress* 16: 777-790.
- Domingues R, Machado MA, Forzza RC, Melo TD, Wohles-Viana S, Viccini LF. 2011. Genetic variability of an endangered Bromeliaceae species (*Pitcairnia albiflos*) from the Brazilian Atlantic rainforest. *Genetics and Molecular Research* 10: 2482-2491.
- Duca D, Lorv J, Patten CL, Rose D, Glick BR. 2014. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek* 106: 85-125.
- Echternacht L, Trovóia M, Oliveira CT, Pirani JR. 2011. Areas of endemism in the Espinhaço Range in Minas Gerais, Brazil. *Flora – Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206: 782-791.
- Fernandes GW, Barbosa NPU, Negreiros D, Paglia AP. 2014. Challenges for the conservation of vanishing megadiverse rupestrian grasslands. *Natureza e conservação*. 12: 162-165.
- Fernandes GW. The Megadiverse rupestrian grassland. In: G.W. Fernandes (ed.), *Ecology and Conservation of Mountaintop Grasslands in Brazil*, Springer International Publishing. p. 3-14, 2016.
- Freitas GHS, Chaves AV, Costa LM, Santos FR, Rodrigues M. 2012. A new species of *Cinclodes* from the Espinhaço Range, southeastern Brazil: insights into the biogeographical history of the South American high lands. *The International Journal Of Avian Science* 154: 738-755.
- Fu SF, Wei JY, Chen HW, Liu YY, Lu HY, Chou JY. 2015. Indole-3-acetic acid: a widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. *Plant Signaling & Behavior* 10: 1-9.
- Giauque H, Hawkes CV. 2016. Historical and current climate drive spatial and temporal patterns in fungal endophyte diversity. *Fungal Ecology* 20: 108-114.
- Giongo A, Beneduzi A, Gano KA, VArgas LK, Utz LRP, Passaglia LMP. 2013. Characterization of plant growth-promoting bacteria inhabiting *Vriesea gigantean* Gaud. and *Tillandsia aeranthos* (Loiseleur) L.B. Smith (Bromeliaceae). *Biota Neotropica* 13: 1-6.

- Glassner H, Zchori-Fein E, Compant S, *et al.* 2015. Characterization of endophytic bacteria from cucurbit fruits with potential benefits to agriculture in melons (*Cucumis melo* L.). *Fems Microbiology Ecology* 91: 1-39.
- Gomes RR, Glienke C, Videira SIR, Lombard L, Groenewald JZ, Crous PW. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia – Molecular phylogeny and evolution of fungi*, 31: 1-41.
- Gomes FCO, Safar SVB, Marques AR, *et al.* 2015. The diversity and extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from water tanks of *Vriesea minarum*, an endangered bromeliad species in Brazil, and the description of *Occultifur brasiliensis* f.a., sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek* 107: 597-611.
- Gomes FCO, Safar SVB, Santos ARO, Lachance MA, Rosa CA. 2016. *Kockovaella libkindii* sp. nov., a yeast species isolated from water tanks of bromeliad. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66: 5066-5069.
- Gontijo BM. 2008. Uma geografia para a Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade* 4: 7–15.
- Gonzaga LL, Costa LEO, Santos TT, Araújo EF, Queiroz MV. 2014. Endophytic fungi from the genus *Colletotrichum* are abundant in the *Phaseolus vulgaris* and have high genetic diversity. *Journal of applied microbiology*, 118: 485-496.
- Gordon SA, Weber RP. 1951. Colorimetric estimation of indole acetic acid. *Plant Physiol.* 26: 192–195.
- Gyaneshwar P, Nareshkumar G, Parekh LJ, Poole PS. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* 245: 83–93.
- Hammerschmidt L, Debbab A, Ngoc TD, *et al.* 2014. Polyketides from the mangrove-derived endophytic fungus *Acremonium strictum*. *Tetrahedron Letters* 55: 3463–3468.
- Hayat R, Ali S, Amara U, Khalid R, Ahmed I. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiol* 60: 579–598.
- Hodgson S, Cates C, Hodgson J, Morley NJ, Sutton BC, Gange AC. 2014. Vertical transmission of fungal endophytes is widespread in forbs. *Ecology and Evolution* 4: 1199-1208.
- ICMBIO. Plano de ação nacional para a conservação dos répteis e anfíbios ameaçados de extinção na serra do espinhaço. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-herpetofauna- espinhaco/sumario-espinhaco.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2016.
- Jacobi CM, Carmo FF. 2008. Diversidade dos campos rupestres ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, MG. *Megadiversidade* 4: 25-33.

- Jia M, Xin HL, Zheng CJ, *et al.* 2016. A Friendly Relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in Microbiology* 7: 1-14.
- Kaur HP, Singh B, Thakur A, Kaur A, Kaur S. 2015. Studies on immunomodulatory effect of endophytic fungus *Alternaria alternata* on *Spodoptera litura*. *Journal of Asia-pacific Entomology*, 18: 67-75.
- Kavanagh K. Fungal fermentation systems and products. In: K. Kavanagh (ed.), *Fungi: biology and applications*, John Wiley & Sons, Inc, 2011.
- Khan AL, Hamayun M, Kang Sang-Mo, *et al.* 2012. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiology* 12: 1-14.
- Khan AR, Ullah I, Waqas M, *et al.* 2015. Plant growth-promoting potential of endophytic fungi isolated from *Solanum nigrum* leaves. *World journal of microbiology and biotechnology*, 31: 1461-1466.
- Khan AL, Al-Harrasi A, Al-Rawahi A, *et al.* 2016. Endophytic fungi from frankincense tree improves host growth and produces extracellular enzymes and indole acetic acid. *Plos One* 11: 1-19.
- Khan AR, Ullah I, Waqas M, *et al.* 2017. Host plant growth promotion and cadmium detoxification in *Solanum nigrum*, mediated by endophytic fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 136: 180-188.
- Kumla J, Suwannarach N, Bussaban B, Matsui K, Lumyong S. 2014. Indole-3-acetic acid production, solubilization of insoluble metal minerals and metal tolerance of some sclerodermatoid fungi collected from northern Thailand. *Ann Microbiol* 64: 707–720.
- Kusari S, Hertweck C, Spiteller M. 2012. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chem Biol* 19: 792–798.
- Kusari S, Pandey SP, Spiteller M. 2013. Untapped mutualistic paradigms linking host plant and endophytic fungal production of similar bioactive secondary metabolites. *Phytochemistry* 91: 81–87.
- Landell MF, Brandão LR, Barbosa AC, *et al.* 2014. *Hannaella pagnoccae* sp. nov., a tremellaceous yeast species isolated from plants and soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64: 1970–1977.
- Landell MF, Brandão LR, Silvana VB. Safar, *et al.* 2015. *Bulleravrieseae* sp. nov., a tremellaceous yeast species isolated from bromeliads. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65: 2466-2471.

- Lavor P, Van den Berg C, Versieux LM. 2013. Transferability of 10 nuclear microsatellite primers to *Vriesea minarum* (Bromeliaceae), a narrowly endemic and threatened species from Brazil. *Brazilian Journal of Botany* 36:165-168.
- Lavor, P.; Van den Berg C, Jacobi CM, Carmo FF, Versieuz LM. 2014. Population genetics of the endemic and endangered *Vriesea minarum* (Bromeliaceae) in the Iron Quadrangle, Espinhaço Range, Brazil. *American of Journal Botany*. 101: 1167-1175.
- Lavor P, Jacobi CM, Carmo FF, Versieux LM. 2017. Notes on the floral biology, seed morphology and post-seminal development of *Vriesea minarum* L. B. Sm., an endangered Bromeliaceae of Southeastern Brazil. *J. Bromeliad Soc.* 66: 87-101.
- Leroy C, Carrias JF, Céréghino R, Corbara Bruno. 2016. The contribution of microorganisms and metazoans to mineral nutrition in bromeliads. *Journal of Plant Ecology* 9: 241-255.
- Li Z, Bai T, Dai L, *et al.* 2016. A study of organic acid production in contrasts between two phosphate solubilizing fungi: *Penicillium oxalicum* and *Aspergillus niger*. *Scientific Reports* 6: 1-8.
- Liarzi O, Bar E, Lewinsohn E, Ezra D. 2016. Use of the endophytic fungus *Daldinia cf. concentrica* and its volatiles as bio-control agents. *Plos One* 11: e0168242.
- Lopez LCS, Alves RRN, Rios RI. 2009. Micro environmental factors and the endemism of bromeliad aquatic fauna. *Hydrobiologia* 625: 151–156.
- Lopez DC, Salzman KZ, Ek-Ramos MJ, Sword GA. 2014. The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (Formerly *Paecilomyces lilacinus*) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions. *Plos One* 9: e103891.
- Ludwig-Müller J. 2015. Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production? *Biotechnology Letters* 37: 1325-1334.
- Lugo MA, Molina MG, Crespo EM. 2009. Arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes in bromeliads from South American arid environment. *Symbiosis* 47: 17-21.
- Lugo MA, Reinhart KO, Menoyo E, Crespo EM, Urcelay C. 2015. Plant functional traits and phylogenetic relatedness explain variation in associations with root fungal endophytes in an extreme arid environment. *Mycorrhiza* 25: 85-95.
- Mahmoud FM, Yekkour A, Boudffeur S, Krimi Z. 2016. Root endophytic fungi from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) grove of Algerian Sahara and screening of their growth promotion activities. *Advances In Environmental Biology* 11: 18-26.
- Mejía LC, Rojas EI, Maynard Z, *et al.* 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control* 46: 4-14.

- Monteiro RF, Forzza RC, Mantovani A. 2011. Leaf structure of *Bromelia* and its significance for the evolution of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 293: 53-64.
- Muvea AM, Meyhöfer R, Sevran S, Poehling HM, Ekesi D, Maniania NK. 2014. Colonization of onions by endophytic fungi and their impacts on the biology of *Thrips tabaci*. *Plos One* 9: e108242.
- Ngwene B, Boukail S, Söllner L, Franken P, Andrade-Linare DR. 2015. Phosphate utilization by the fungal root endophyte *Piriformospora indica*. *Plant And Soil*, 405: 231-241.
- Nenwani V, Doshi P, Saha T, Rajkumar S. 2010. Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. *Journal of Yeast and Fungal Research* 1: 9-14.
- Ola ARB, Debbab A, Aly AH, *et al.* 2014. Absolute configuration and antibiotic activity of neosartorin from the endophytic fungus *Aspergillus fumigatiaffinis*. *Tetrahedron Letters* 55: 1020-1023.
- Oliveira AG, Chagas Junior AF, Santos GR, Miller LO, Chagas LFB. 2012. Potencial de solubilização de fosfato e produção de AIA por *Trichoderma* spp. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 7: 149-155.
- Panaccione DG, Beaulieu WT, Cook D. 2014. Bioactive alkaloids in vertically transmitted fungal endophytes. *Functional Ecology* 28: 299-314.
- Park YH, Chung JY, Ahn DJ, *et al.* 2015. Screening and characterization of endophytic fungi of *Panax ginseng* Meyer for biocontrol activity against ginseng pathogens. *Biological Control* 91: 71-81.
- Pietro-Souza W, Mello IS, Vendruscullo SJ, *et al.* 2017. Endophytic fungal communities of *Polygonum acuminatum* and *Aeschynomene fluminensis* are influenced by soil mercury contamination. *Plos one* 12: 1-24.
- Pereira TAR, Oliveira TS, Silva LC, Azevedo A. 2011. Comparative leaf anatomy of four species of Bromelioideae (Bromeliaceae) occurring in the Atlantic Forest, Brazil. *Botany* 89: 243-253.
- Pereira EO, Gontijo BM, Abreu LGAC. 2015. As ecorregiões da reserva da biosfera da serra do espinhaço: elementos para o fortalecimento da conservação da biodiversidade. *Caderno de Geografia* 25: 18-33.
- Rabatin SC, Stinner BR, Paoletti MG. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, particularly *Glomus tenuis*, in *Venezuelan bromeliad* epiphytes. *Mycorrhiza* 4: 17-20.
- Rapini A, Ribeiro PL, Lambert S, Pirani JR. 2008. A flora dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade* 4: 16-24.

- Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321: 305–339.
- Rodríguez H, Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319–339.
- Rodríguez H, Fraga R, Gonzalez T, Bashan Y. 2006. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria, *Plant and Soil* 287: 15-21.
- Rolim PL. Genética e biologia reprodutiva de *Vriesea minarum* (Bromeliaceae): em busca de estratégias de conservação no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Sistemática e Evolução, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.
- Safar SVB, Gomes FCO, Marques AR, Lachance MA, Rosa CA. 2013. *Kazachstania rupicola* sp. nov., a yeast species isolated from water tanks of a bromeliad in Brazil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 1165-1168.
- Samaga PV, Rai V R. 2015. Diversity and bioactive potential of endophytic fungi from *Nothapodytes foetida*, *Hypericum mysorense* and *Hypericum japonicum* collected from Western Ghats of India. *Annals of Microbiology* 66: 229-244.
- Santos AL, Wanderley MGL. 2012. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: BROMELIACEAE – BROMELIOIDEAE. *Boletim de Botânica* 30: 89-107.
- Schulz B, Boyle C, Draeger S, Römmert A-K, Krohn K. 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research* 106: 996-1004.
- Schulz B, Boyle C. 2005. The endophytic continuum. *Mycology Research* 109: 661–686.
- Shi Y, Xie H, Cao L, *et al.* 2016. Effects of Cd- and Pb-resistant endophytic fungi on growth and phytoextraction of *Brassica napus* in metal-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research* 24: 417-426.
- Simão TLL, Borges AG, Kelsey AG, *et al.* 2017. Characterization of ciliate diversity in bromeliad tank waters from the Brazilian Atlantic Forest. *European Journal of Protistology* 58: 1-7.
- Silveira FAO, Negreiros D, Barbosa NPU, *et al.* 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant and Soil* 403: 129-152.
- Soares MA, Li HY, Kowalski KP, Bergen M, Torres MS, White JF. 2016. Evaluation of the functional roles of fungal endophytes of *Phragmites australis* from high saline and low saline habitats. *Biological Invasions* 18: 2689-2702.

- Suwannarach N, Kumla J, Matsui K, Lumyong S. 2015. Characterization and efficacy of *Muscodor cinnamomi* in promoting plant growth and controlling *Rhizoctonia* root rot in tomatoes. *Biological Control* 90: 25-33.
- Spaepen S, Vanderleyden J. 2011. Auxin and plant–microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3: a001438.
- Specian V, Orlandelli RC, Felber AC, Azevedo JL, Pamphile JA. 2014. Metabólitos secundários de interesse farmacêutico produzidos por fungos endofíticos. *Journal of Health Sciences* 16: 345-351.
- Syamsia, Kuswinanti T, Syam E, Masniawati A. 2015. The potency of endophytic fungal isolates collected from local aromatic rice as Indole Acetic Acid (IAA) producer. *Procedia Food Science* 3: 96-103.
- Truyens S, Weyens N, Cuypers A, Vangronsveld J. 2015. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environmental Microbiology Reports* 7: 40-50.
- Unterseher M, Gazis R, Chaverri P, Guarniz CFG, Tenorio DHZ. 2013. Endophytic fungi from Peruvian highland and lowland habitats form distinctive and host plant-specific assemblages. *Biodiversity and Conservation* 22: 999-1016.
- Vanhoutte B, Schenkels L, Ceusters J, Proft MPD. 2017. Water and nutrient uptake in *Vriesea* cultivars: trichomes vs. roots. *Environmental and Experimental Botany* 136: 21-30.
- Varanda CMR, Oliveira M, Materatski P, Landum M, Clara MIE, Félix MR. 2016. Fungal endophytic communities associated to the phyllosphere of grapevine cultivars under different types of management. *Fungal Biol.* 120: 1525-1536.
- Vasconcelos MF. 2011. O que são campos rupestres e campos de altitude nos topos de montanha do Leste do Brasil? *Revista Brasileira de Botânica* 34: 241-246.
- Vasundhara M, Kumar A, Reddy M, Sudhakara. 2017. Molecular approaches to screen bioactive compounds from endophytic fungi. *Frontiers in Microbiology* 7: 1-17.
- Vaz ABM. Diversidade e aplicações biotecnológicas de fungos endofíticos associados à espécies da subfamília Myrtoideae (Myrtaceae) presentes em ecossistemas do Brasil, Argentina e Espanha. 2012. 115 f. Tese (Doutorado) - Curso de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- Versieux, LM, Wendt T. 2007. Bromeliaceae diversity and conservation in Minas Gerais state, Brazil. *Biodiversity and Conservation* 16: 2989–3009.
- Versieux LM. 2011. Brazilian plants urgently needing conservation: the case of *Vriesea minarum* (Bromeliaceae). *Phytotaxa* 28: 35-49.
- Versieux, LM, Machado TM. 2012. A new ornithophilous yellow-flowered *Vriesea* (Bromeliaceae) from Serra do Caraça, Minas Gerais, Brazil. *Phytotaxa* 71: 36-41.

- Xiang L, Gong S, Yang L, *et al.* 2016. Biocontrol potential of endophytic fungi in medicinal plants from Wuhan Botanical Garden in China. *Biological Control* 94: 47-55.
- Waqas M, Khan AL, Kamran M, *et al.* 2012. Endophytic Fungi Produce Gibberellins and Indoleacetic Acid and Promotes Host-Plant Growth during Stress. *Molecules* 17: 10754-10773.
- Waqas M, Khan AL, Lee In-Jung. 2014. Bioactive chemical constituents produced by endophytes and effects on rice plant growth. *Journal of Plant Interactions* 9: 478–487.
- Wiewióra B, Śurek G, Pańka D. 2015. Is the vertical transmission of *Neotyphodium lolii* in perennial ryegrass the only possible way to the spread of endophytes? *Plos One* 10: e0117231.
- Wilson D. 1995. Endophyte: The evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos* 73: 274-276.
- Yadav R, Singh AV, Kumar M, Yadav S. 2016. Phytochemical analysis and plant growth promoting properties of endophytic fungi isolated from Tulsi and Aloe vera. *Int. J. Agricult. Stat. Sci.* 12: 239-248.
- Yang BO, Wang XM, Ma HY, *et al.* 2015. Fungal endophyte *Phomopsis liquidambari* affects nitrogen transformation processes and related microorganisms in the rice rhizosphere. *Frontiers In Microbiology*, 6: e.
- Yao YQ, Lan F, Qiao YM, Wei JG, Huang RS, Li LB. 2017. Endophytic fungi harbored in the root of *Sophora tonkinensis* Gapnep: diversity and biocontrol potential against phytopathogens. *Microbiologyopen* 6: e00437.
- Yu N, He L, Liu N, Wang Y, Xu H, Liu D. 2014. Antimicrobial action of an endophytic fungi from *Sophor flavescens* and structure identification of its active constituent. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 28: 327-332.
- Yuan Y, Feng H, Wang L, *et al.* 2017. Potential of endophytic fungi isolated from cotton roots for biological control against *Verticillium* wilt disease. *Plos One* 12: e0170557.
- Zaidi A, Khan MS, Ahemad M, Oves M. 2009. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiol. Imm. H.* 56: 263–284.
- Zheng YK, Miao CP, Chen HH, *et al.* 2017. Endophytic fungi harbored in *Panaxnoto ginseng*: diversity and potential as biological control agents against host plant pathogens of root-rot disease. *J Ginseng Res* 41: 353-360.