



Atividade antifúngica de extratos de fungos endofíticos do Noni no controle da queima foliar do maracujazeiro

Antifungal activity of endophytic fungi extracts from Noni in the control of leaf burning of passion fruit tree

Actividad antifúngica de extractos de hongos endófitos del Noni en el control del tizón de la hoja del maracuyá

DOI: 10.55905/revconv.17n.10-254

Originals received: 09/13/2024

Acceptance for publication: 10/04/2024

Luana Cardoso de Oliveira

Doutora em Química

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Belém - Pará, Brasil

E-mail: luanaoliveira.qi@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-3204-8194>

Alessandra Keiko Nakasone

Doutora em Agronomia

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Belém - Pará, Brasil

E-mail: alessandra.nakasone@embrapa.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6021-185X>

Anderson Nonato do Rosario Marinho

Doutor em Genética

Instituição: Instituto Evandro Chagas

Endereço: Belém - Pará, Brasil

E-mail: andersonufpa@yahoo.com.br

Patrícia Santana Barbosa Marinho

Doutora em Química

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Belém - Pará, Brasil

E-mail: pat@ufpa.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9368-8574>



Andrey Moacir do Rosario Marinho

Doutor em Química

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Belém - Pará, Brasil

E-mail: andrey@ufpa.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-8981-0995>

RESUMO

As principais doenças do maracujazeiro são causadas por microorganismos. O fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn é um fungo fitopatogênico e na cultura do maracujá, este fungo é responsável pela queima foliar, causando sérios prejuízos ao seu cultivo. O presente trabalho teve como objetivo buscar extratos bioativos de fungos endofíticos de noni (*Morinda citrifolia*) contra *Rhizoctonia solani* Kuhn. Foram isolados 82 fungos endofíticos das folhas, frutos, caule e raiz de *M. citrifolia* e separados em 11 grupos, onde de um fungo de cada grupo foi obtido seu extrato. No ensaio in vitro os extratos demonstraram boa atividade antifúngica. Os extratos mais ativos NF12, NF17, NR7 e NFrS2 foram analisados por HPLC o que evidenciou a presença de compostos das classes das azafilonas, terpenos, tricotecenos e compostos fenólicos como constituintes químicos majoritários nos extratos. Os dados demonstram que extratos de fungos endofíticos podem representar uma nova abordagem para os problemas relacionados ao combate as doenças do maracujazeiro.

Palavras-chave: fungos endofíticos, *Morinda citrifolia*, *Rhizoctonia solani*, constituintes químicos, noni.

ABSTRACT

The main passion fruit diseases are caused by microorganisms. The fungus *Rhizoctonia solani* Kuhn is a phytopathogenic fungus and in the passion fruit culture, this fungus is responsible for leaf burning, causing serious damage to its cultivation. The present work aimed to search for bioactive extracts of endophytic fungi of noni (*Morinda citrifolia*) against *Rhizoctonia solani* Kuhn. Eighty-two endophytic fungi were isolated from leaves, fruits, stems and roots of *M. citrifolia* and separated into 11 groups, where an extract of one fungus from each group was obtained. In the in vitro assay the extracts showed good antifungal activity. The most active extracts NF12, NF17, NR7 and NFrS2 were analyzed by HPLC which showed the presence of compounds from the classes of azafilones, terpenes, trichothecenes and phenolic compounds as major chemical constituents in the extracts. The data demonstrate that extracts of endophytic fungi can represent a new approach to problems related to combating passion fruit diseases.

Keywords: endophytic fungi, *Morinda citrifolia*, *Rhizoctonia solani*, noni.

RESUMEN

Las principales enfermedades del maracuyá son causadas por microorganismos. El hongo *Rhizoctonia solani* Kuhn es un hongo fitopatógeno y en el cultivo del maracuyá, este hongo es responsable de la quemadura de las hojas, causando graves daños a su cultivo. El objetivo de este estudio fue buscar extractos bioactivos de hongos endófitos del noni (*Morinda citrifolia*) contra *Rhizoctonia solani* Kuhn. Se aislaron 82 hongos endófitos de las hojas, el fruto, el tallo y la raíz de *M. citrifolia* y se separaron en 11 grupos, en los que se obtuvo un extracto de un hongo de cada grupo. En la prueba in vitro, los extractos mostraron una buena actividad antifúngica. Los



extractos más activos NF12, NF17, NR7 y NFrS2 se analizaron mediante HPLC, que mostró la presencia de compuestos de la clase de las azafilonas, terpenos, tricotecenos y compuestos fenólicos como principales constituyentes químicos en los extractos. Los datos muestran que los extractos de hongos endófitos pueden representar un nuevo enfoque para los problemas relacionados con la lucha contra las enfermedades de la fruta de la pasión.

Palabras clave: hongos endófitos, *Morinda citrifolia*, *Rhizoctonia solani*, constituyentes químicos, noni.

1 INTRODUÇÃO

O maracujá amarelo, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, também conhecido como maracujá azedo é a espécie de maracujá mais cultivada no Brasil com produção de 684.993 t no ano de 2021 (IBGE 2021). No entanto, várias doenças e pragas são os principais fatores que ameaçam a expansão e a produtividade do maracujá azedo no Brasil (Junqueira et al., 2011).

Rhizoctonia solani Kuhn é um fungo fitopatogênico habitante de solo que ocorre em várias espécies de plantas em todo o mundo (Sneh et al., 1996). Na cultura do maracujá, este fungo é responsável pela queima foliar, causando sérios prejuízos ao seu cultivo. A doença causa intensa desfolha nas plantas mais afetadas e os danos são agravados no período chuvoso (Poltronieri et al., 2001).

Fungos endofíticos têm sido estudados em relação a sua capacidade de atuarem como agentes inibidores de micro-organismos fitopatogênicos (Lazzaretti & Bettiol, 1997; Grigoletti Junior et al., 2000). Por exemplo, isocoumarinas do fungo endofítico *Trichoderma* sp. apresentaram atividade antifúngica contra *Colletotrichum musae* (Berk. and M. A. Curtis) Arx and *Rhizoctonia solani* Kühn (Li et al 2016).

Antraquinonas isoladas do fungo endofítico de mangue *Phoma* sp apresentaram atividade antifúngica in vitro contra *Colletotrichum musae* (Berk. & M. A. Curtis) Arx., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc., *Fusarium graminearum* Schw., *Penicillium italicum* Wehme, *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder et H. N. Hansen e *Rhizoctonia solani* Kuhn (Huang et al 2017).

Assim, o objetivo deste trabalho foi buscar extratos de fungos endofíticos de *M. citrifolia* que possam ser utilizados na obtenção de agroquímicos naturais como controle alternativo da queima foliar do maracujazeiro.



2 METODOLOGIA

2.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL E ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Folhas, frutos, caule e raiz de *M. citrifolia* (IAN 188703) foram coletados no município de Belém - PA, BRA, sob as coordenadas geográficas S 01° 26' 14.2" e W 48° 26' 42.5". Para isolamento dos fungos endofíticos foi usada a metodologia de Pinheiro et al (2016). Após a purificação das cepas as mesmas foram armazenadas no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental.

2.2 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS SELECIONADOS

O DNA dos fungos foi extraído pelo método de Gibbs & Mackenzie (1997), com modificações, amplificadas pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com a utilização dos iniciadores ITS4- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC e ITS5- GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G. Após a obtenção do DNA as amostras amplificadas foram sequenciadas no analisador genético ABI Prism-3130 (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA) utilizando o kit ABI PRISM™ Big Dye Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems, USA) e os mesmos primers da PCR. Os dados resultantes do sequenciamento foram submetidos a análises pelos programas BioEdit v 7.2.5 (1997-2001 Tom Hall), para avaliação das mutações. Após a análise dos pontos polimórficos, as sequências passaram a compor um dataset com amostras previamente descritas no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) para a construção da árvore das relações filogenéticas pelo modelo Neighbor Joining (Saitou & Nei, 1987), com bootstrap de 2.000 pseudoréplicas (Felsenstein, 1985) utilizando o programa MEGA V.6.0 (Tamura et al., 2013).

2.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DOS FUNGOS SELECIONADOS

Colônias com 21 dias de crescimento em meio BDA dos fungos selecionados foram extraídas de acordo com método de extração de metabólitos em microescala, descrito por Smedsgaard (1997), com algumas adaptações: de cada colônia foram retirados 50 fragmentos de



8 mm de diâmetro e transferidos para frascos de Erlenmeyer de 100 mL junto a 50 mL do solvente de extração acetato de etila/diclorometano/metanol (3:2:1). As amostras foram submetidas à extração em modo estático por 3 dias, após este período as soluções foram filtradas e os extratos brutos secos foram obtidos a partir da evaporação do solvente em capela de exaustão. Foram realizadas 3 repetições para cada fungo

2.4 ENSAIO ANTIFÚNGICO IN VITRO SOBRE RHIZOCTONIA SOLANI

O fungo *R. solani*, proveniente do município de Tomé-Açu, PA-BRA, foi cultivado em meio de cultura Batata, Dextrose, Ágar (BDA) por 7 dias a 28°C. Os extratos na concentração de 1.000µg/mL foram incorporados ao meio de cultura BDA fundente, chegando-se à concentração de 10µg/mL. Após a solidificação do meio de cultura contendo os extratos, foi depositado um disco de 8mm de diâmetro do micélio do fungo no centro de cada placa de Petri. Como testemunha foi utilizada o meio de cultura sem adição de extrato. As placas foram incubadas a 28°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições. A determinação do crescimento micelial foi realizada, diariamente, até que o fungo na testemunha atingiu uma das extremidades da placa. Com os valores obtidos foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), utilizando a seguinte equação: $IVCM = \sum(D-Da)/N$, onde D = diâmetro médio atual da colônia, Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior e N = número de dias após a inoculação (Oliveira, 1991). Foi realizada a análise de variância e comparação das médias pelo teste de Scott & Knott (1974) a 5% de probabilidade.

2.5 PERFIL QUÍMICO POR HPLC-DAD DOS EXTRATOS

Para a análise por HPLC os extratos foram preparados na concentração de 1 mg/mL, sendo solubilizados em metanol. Foi utilizado um Cromatógrafo Líquido Modelo Waters e2695 Alliance acoplado a um Detector de Arranjo de Diodos Modelo Waters 2998. O sistema utilizado na análise por CLAE-DAD foi coluna analítica Sunfire tipo octadecil silano (C-18) 5 µm e eluição em gradiente com água/acetoneitrila (90:10→0:100) por 50 min, retornando a condição inicial após 10 min (Tabela 1), com fluxo de 0,5 mL/min e volume de injeção de 20 µL. Foi realizada uma varredura na faixa de 210 a 600 nm do espectro de UV-Vis. A temperatura da



coluna foi mantida a 40°C. Os dados cromatográficos foram analisados utilizando-se o programa Empower.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS DE MORINDA CITRIFOLIA

Foram isolados 82 fungos de *M. citrifolia* e separados em 11 grupos de acordo com as características morfológicas apresentadas (Tabelas 1). Um indivíduo de cada grupo foi identificado por sequenciamento da região ITS com os *primers* ITS4 e ITS5, posteriormente foi construída a árvore das relações filogenéticas, utilizando *Oomycetes* sp. como *outgroup*, permitindo a identificação dos espécimes analisados (Figura 2). Após identificação foram obtidos os extratos das biomassas (Tabela 2) e realizado ensaios antifúngico e antibacteriano com os extratos. Não foi possível a identificação das amostras NFrS2 e NR7.

Tabela 1. Fungos endofíticos de *Morinda citrifolia* e códigos de acordo com a parte da planta

Parte da planta	Código	Nº de isolados fúngicos
Folha	NF	17
Fruto (casca)	NFrCs	28
Fruto (polpa)	NFrP	4
Fruto (semente)	NFrS	10
Raiz	NR	9
Caule	NC	14

Fonte: Autores (2024)

Tabela 2. Identificação dos fungos endofíticos de *Morinda citrifolia*.

Isolado	Espécie	Massa de extrato obtida
NF12	<i>Mycoleptodiscus indicus</i>	12,0 mg
NF17	<i>Guignardia mangiferae</i>	17,2 mg
NC4	<i>Macrophoma theicola</i>	6,0 mg
NC5	<i>Macrophoma theicola</i>	15,8 mg
NC10	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	17,0 mg
NFrCs4	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	6,0 mg
NFrCs8	<i>Macrophoma theicola</i>	7,4 mg
NFrCs14	<i>Pseudofusicoccum</i> sp	3,0 mg
NFrCs16	<i>Fusarium proliferatum</i>	5,7 mg

Fonte: Autores (2024)

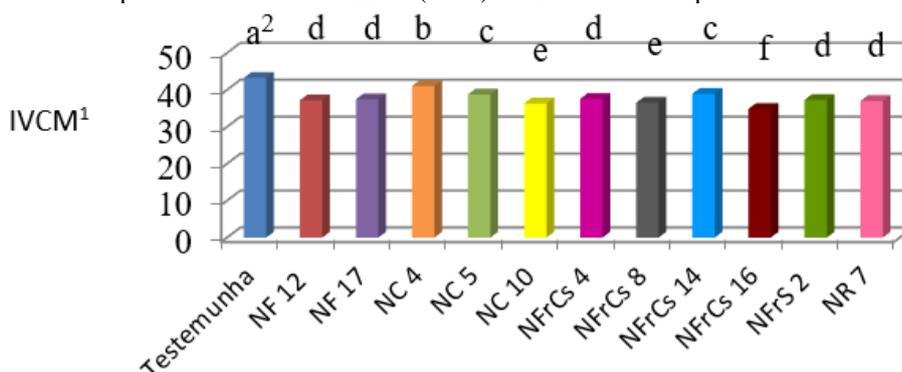


A triagem de fungos endofíticos de noni levou a obtenção de 82 fungos, onde 55% foram isolados das cascas e folhas. Os isolados foram agrupados em 11 grupos do qual a identificação mostrou a diversidade de espécies fúngicas na planta de noni.

3.2 ENSAIO ANTIFÚNGICO IN VITRO SOBRE RHIZOCTONIA SOLANI.

No ensaio antifúngico *in vitro*, todos os extratos inibiram significativamente o crescimento micelial de *R. solani* (Figura 1). No entanto, os extratos apresentaram baixas reduções do crescimento fúngico. O melhor resultado foi obtido com o extrato NFrCs 16 que reduziu em apenas 19,51%.

Figura 1. Efeito dos extratos de fungos endofíticos de *Morinda citrifolia* sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*. ¹IVCM – Índice de velocidade de crescimento micelial. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade. CV: 2,92%.

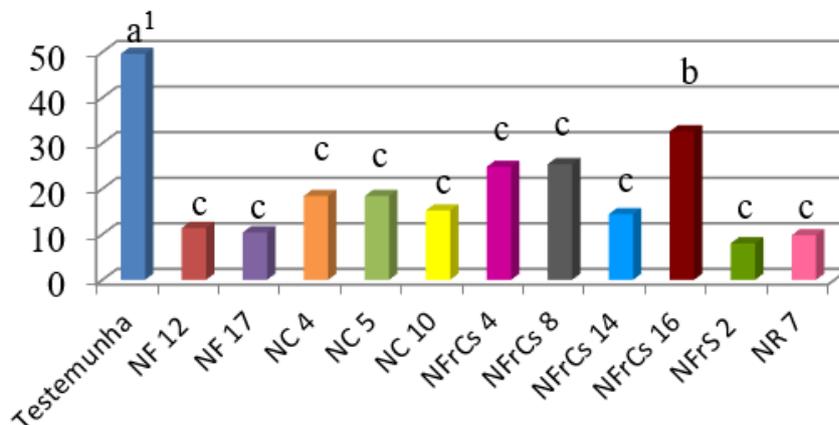


Fonte: Autores (2024)

Após o término das avaliações, as placas continuaram incubadas a 28°C para o crescimento dos escleródios de *R. solani*. Após 21 dias do início do experimento foi avaliada a atividade antifúngica a partir do crescimento dos escleródios. Todos os extratos inibiram significativamente o crescimento de escleródios de *R. solani* (Figura 2), assim como no ensaio de avaliação do crescimento micelial.



Figura 2. Efeito dos extratos de fungos endofíticos de *Morinda citrifolia* sobre o crescimento de escleródios de *Rhizoctonia solani*. ¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade. CV: 51,49%.



Fonte: Autores (2024)

No ensaio antifúngico contra *R. solani* os extratos apresentaram reduções na ordem de 19,5% do crescimento fúngico. Santos (2014) estudou os efeitos do extrato acetato de etila de 15 fungos endofíticos de *Phaseolus vulgaris* L. sobre o crescimento micelial de *R. solani* e verificou inibições entre 13,3 - 31,1%, o que estão em conformidade com os resultados obtidos por nós.

No teste de inibição do crescimento dos escleródios de *R. solani* todos os extratos apresentaram boa atividade. O escleródio é uma massa compacta de hifas, cuja camada externa normalmente é altamente melanizada. Esta camada melanizada confere proteção à dessecação e raios solares, proporcionando ao escleródio a capacidade de permanecer viável por vários anos no solo e voltar a germinar formando micélio ou estruturas reprodutivas quando as condições ambientais forem favoráveis ao seu desenvolvimento (Zambolim et al., 2012). Mas diferente da avaliação do crescimento mecelial onde as reduções foram baixas, na avaliação do crescimento de escleródios as reduções foram acima de 34,28%. Os melhores resultados foram obtidos com os extratos NF12, NF17, NFrS2 e NR7 com reduções entre 77 a 84%. Muitos fungos do gênero *Trichoderma* são usados no combate a doenças de plantas causadas por fungos (Harman, 2006). Kunieda-Alonso et al. (2005) estudaram o efeito da sobrevivência de micélio e escleródios de *R. solani* tratados com *Trichoderma* spp. em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. e verificaram redução significativa e contínua na viabilidade de escleródios. Entre os fungos isolados no presente trabalho o fungo NC10 foi identificado como sendo do gênero *Trichoderma* e apresentou inibição de 69,36% do crescimento de escleróides de *R. solani* o que está de acordo com os dados previamente citados, porém a melhor inibição foi registrada para o fungo NF17



(*Guignardia mangiferae*) com 79,03% de inibição e não há relatos dessa atividade para fungos do gênero *Guignardia*. Ainda no presente trabalho foi avaliado o potencial inibitório dos extratos orgânicos das biomassas dos fungos estudados, sendo, portanto, outra forma de abordagem do problema, que abre novas possibilidades de solução do problema causada pela *R. solani* não só através do manejo de fungos antagonista, mas sim pela aplicação de um produto agrícola amigável ao meio ambiente, como os extratos obtidos por nós.

3.3 PERFIL QUÍMICO POR HPLC-DAD DOS EXTRATOS

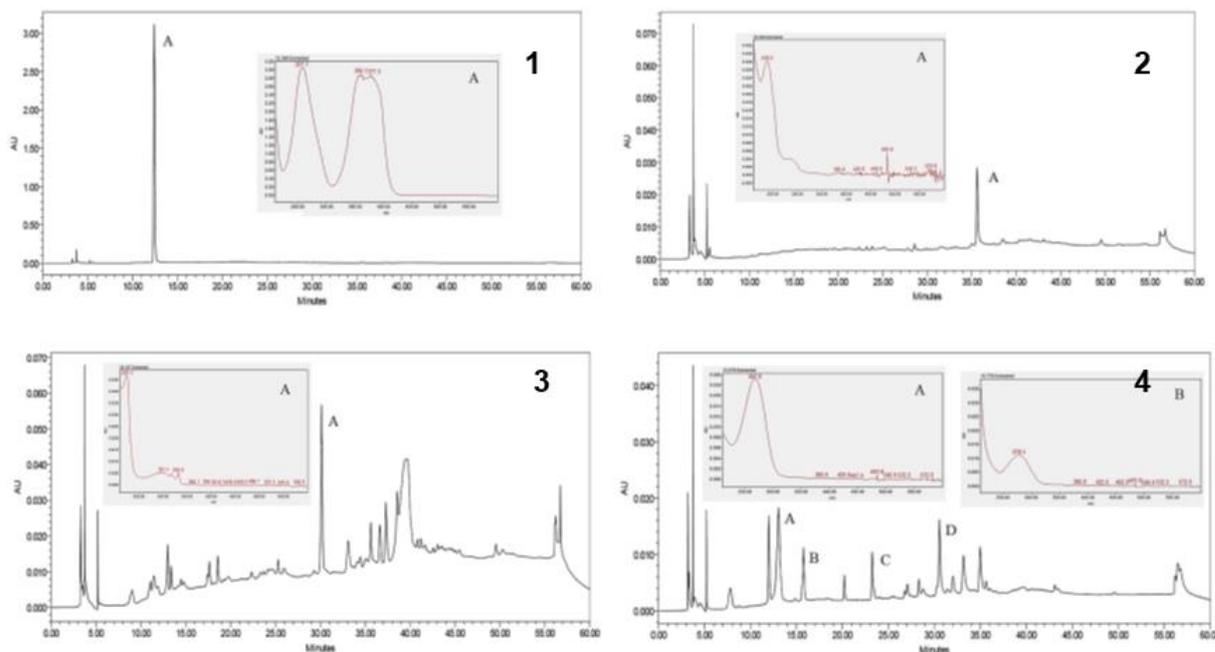
Na análise por HPLC-DAD para os extratos mais ativos (NF12, NF17, NR7 e NFrS2) foi observada a variedade de metabólitos produzidos pelos fungos endofíticos de *M. citrifolia*, evidenciada pela presença de bandas cromatográficas com diferentes tempos de retenção.

O extrato do fungo NF12 (Figura 3.1) foi analisado em trabalho anterior e tem perfil para compostos da classe das azfilonas (De Oliveira et al 2019). O cromatograma do extrato NF17 (Figura 3.2) apresentou uma banda de média intensidade com t_R de 35,6 min que possui $\lambda_{m\acute{a}x}$ de aproximadamente 238,0 nm, o que sugere a presença de diterpenos (Nielsen & Smedsgaard, 2003). Trabalhos tem demonstrado que compostos das classes das azafilonas e diterpenos tem apresentado atividades antimicrobianas e antifúngicas o que pode ajudar a explicar a atividade apresentada pelos extratos de NF12 e NF17 (De Oliveira et al 2019; Saha et al 2022).

O extrato NFrS 2 (Figura 3.3), apresentou uma banda de alta intensidade com t_R de 30,1 min de $\lambda_{m\acute{a}x}$ de 225,3 nm, que sugere a presença de compostos da classe dos tricotecenos (Nielsen & Smedsgaard, 2003). O cromatograma do extrato NR7 (Figura 3.4) apresentou 4 bandas de baixa a média intensidade, uma com t_R de 13,0 min de $\lambda_{m\acute{a}x}$ de cromóforos de 267,8 nm, outra com t_R de 15,8 min de $\lambda_{m\acute{a}x}$ de 278,5 nm, e t_R de 30,6 min de $\lambda_{m\acute{a}x}$ de 279,7 nm, que sugerem a presença de compostos da classe das dicetopiperazinas (Wei *et al.*, 2014), e ainda uma banda de t_R de 23,2 min de $\lambda_{m\acute{a}x}$ de 272,6 e 344,0 nm, sugerindo a presença de compostos fenólicos (Devi *et al.*, 2012).



Figura 3. Cromatograma obtido por CLAE-DAD para o extratos: 1) NF 12, $\lambda = 254$ nm, A - Banda com tR de 12,4 min apresenta espectro no UV com $\lambda_{\text{máx}}$ de 257,1 e 377,3 nm. 2) NF 17, $\lambda = 240$ nm, A - Banda com tR de 35,6 min apresenta espectro no UV com $\lambda_{\text{máx}}$ de 238,2 nm. 3) NFrS 2, $\lambda = 225$ nm, A - Banda com tR de 30,1 min apresenta espectro no UV com $\lambda_{\text{máx}}$ de 225,3 nm. 4) NR 7, $\lambda = 275$ nm, A - Banda com tR de 13,0 min apresenta espectro no UV com $\lambda_{\text{máx}}$ de 267,8 nm; B - Banda com tR de 15,8 min apresenta espectro no UV com $\lambda_{\text{máx}}$ de 278,51 nm



Fonte: Autores (2024)

4 CONCLUSÃO

Os tratamentos com os extratos das biomassas dos fungos endofíticos de *M. citrifolia* foram eficientes no controle dos escleródios de *R. solani*. Quatro extratos mostraram atividades boas e a análise por HPLC sugeriu os compostos responsáveis pela atividade como sendo das classes das azofilonas, diterpenos, tricotecenos e compostos fenólicos. Assim, o uso de extratos de fungos endofíticos pode representar uma nova abordagem para os problemas relacionados ao combate as doenças do maracujazeiro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, PROPESP-UFGA e FAPESPA pelo apoio financeiro.



REFERÊNCIAS

DE OLIVEIRA, L. C.; ISHIDA, A. K. N.; DA SILVA, C. T. B.; CARVALHO, J. M.; FEITOSA, A. O.; MARINHO, P. S. B.; MARINHO, A. M. R. Antibacterial Activity of Austdiol Isolated from *Mycoleptodiscus indicus* Against *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. **Revista Virtual de Química**, v.11, n.3, p. 596-604, 2019.

DEVI, N. N.; PRABAKARAN, J. J.; WAHAB, F. Phytochemical analysis and enzyme analysis of endophytic fungi from *Centella asiatica*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, p. 1280-1284, 2012.

FELSENSTEIN J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution**, v. 39, p. 783-791, 1985.

GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 63, p. 9-16, 1997.

GRIGOLETTI JUNIOR, A. et al. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v.30, p.155-165, 2000. <http://dx.doi.org/10.5380/ufv.v30i12.2362>

HARMAN, G. H. Overview of mechanisms and uses of *trichoderma* spp. **Phytopathology**, v.96, n.2, p.190 – 194, 2006.

HUANG, S., XU, J., LI, F. et al. Identification and Antifungal Activity of Metabolites from the Mangrove Fungus *Phoma* sp. L28. **Chem Nat Compd**, v.53, p.237–240, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10600-017-1961-z>

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) 2021 - <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/maracuja/br> acessado em 08/08/23

JUNGHANS, T. G. E DE JESUS, O. N. Maracujá do cultivo à comercialização. Embrapa, Brasília-DF, 2017

JUNQUEIRA, K.P. et al. Desempenho agrônômico de maracujazeiros tratados com produtos alternativos e fertilizantes foliares. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, n.1, p.40-47, 2011. doi: 10.1590/S0100-29452011005000019.

KUNIEDA-ALONSO, S. et al. Sobrevivência de Micélio e Escleródios de *Rhizoctonia solani* Tratados com *Trichoderma* spp., em Restos de Cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p. 164 – 168, 2005.

LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola**, v.54, p.89-96, 1997. doi: 10.1590/S0103-90161997000100013.



LI W, XU J, LI F, XU L, LI C. A New Antifungal Isocoumarin from The Endophytic Fungus *Trichoderma* Sp. 09 of *Myoporium bontioides* A. Gray. **Pharmacogn Mag.**, v.12, n.48, p.259-261, 2012. doi: 10.4103/0973-1296.192204

NIELSEN, K. F.; SMEDSGAARD, J. Fungal metabolite screening: database of 474 mycotoxins and fungal metabolites for dereplication by standardised liquid chromatography UV-mass spectrometry methodology. **Journal of Chromatography A**, v. 1002, p. 111-136, 2003.

OLIVEIRA, J.A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). 1991. 111f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Curso de Pós-graduação em Fitossanidade, Escola Superior de Agricultura de Lavras.

PINHEIRO, E. A. A. et al. Annularins I and J: New Metabolites Isolated from Endophytic Fungus *Exserohilum rostratum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, vol. 27, n. 8, p.1432-1436, 2016.

POLTRONIERI, L. S. et al. Doenças do Maracujazeiro no Estado do Pará. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2001. 37p.

SAHA P, RAHMAN FI, HUSSAIN F, RAHMAN SMA AND RAHMAN MM (2022) Antimicrobial Diterpenes: Recent Development From Natural Sources. **Front. Pharmacol.** 12:820312. doi: 10.3389/fphar.2021.820312

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v.4, n.2, p.406-425, 1987.

SANTOS, T.T. **Fungos endofíticos de *Phaseolus vulgaris* exibem atividade antimicrobiana e potencial para controle de fitopatógenos.** 2014. 97f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Curso de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa.

SCOTT, A.; KNOTT, M. A cluster - analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, n.3, p.507-512, 1974. <http://dx.doi.org/10.2307/2529204>
SMEDSGAARD, J. Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures. **Journal of Chromatography A**, v. 760, p. 264-270, 1997.

SNEH, B. et al. *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1996. 578p.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; SUDHIR KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, p. 2725-2729, 2013.



WEI, W.; JIANG, N.; MEI, Y. N.; CHU, Y. L.; GE, H. M.; SONG, Y. C.; NG, S. W.; TAN, R. X. An antibacterial metabolite from *Lasiodiplodia pseudotheobromae* F2. **Phytochemistry**, v. 100, p. 103-109, 2014.

ZAMBOLIM, L. et al. O essencial da fitopatologia: agentes causais. Viçosa: UFV, 2012. 364p.