

CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotinia sclerotiorum* (MOFO BRANCO) POR FUNGOS ENDOFÍTICOS DE *Zanthoxylum caribaeum*

Guedes, Mariana Amaral ¹

Fruet, Thomas Kehrwald ²

RESUMO

O mofo branco é uma doença cujo fitopatógeno é o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, este ataca diversas culturas importantes economicamente como o feijão, algodão e a soja, em seu desenvolvimento forma estruturas de resistência chamadas de escleródios que permanecem no solo com os resíduos da cultura e ficam viáveis por até onze anos. Esse estudo teve como objetivo investigar se os fungos endofíticos isolados de *Zanthoxylum caribaeum* apresentam alguma ação fungicida e/ou fungistática sobre o patógeno *S. sclerotiorum*. Foram isolados 35 espécies fúngicas, destes selecionados 8 para os testes de antagonismo, o qual dois fungos isolados obtiveram um índice de antagonismo superior ao fungicida comercial utilizado como controle positivo, que foi 47,2%, sendo que o fungo 1 inibiu 92,9% e o fungo 7 inibiu 61,1% frente ao fitopatógeno *S. sclerotiorum*. Desta forma o presente trabalho conclui que existem fungos endofíticos que se mostraram promissores no controle biológico do mofo branco nos testes *in vitro*.

PALAVRAS-CHAVE: Fitopatógeno, Isolados, Interações, Índice de antagonismo.

BIOLOGICAL CONTROL OF *Sclerotinia sclerotiorum* (WHITE MOF) BY ENDOPHYTIC FUNGUS OF *Zanthoxylum caribaeum*

ABSTRACT

White mold is a disease whose phytopathogen is the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*, it attacks several economically important cultivations such as beans, cotton and soy, in its form of development forms resistance structures called sclerotia that remain in the soil with the cultivation residues and are viable for up to eleven years. This study aimed to investigate if the endophytic fungus isolated from *Zanthoxylum caribaeum* present any fungicidal and / or fungistatic action on the pathogen *S. sclerotiorum*. 35 fungal species were isolated, of these selected 8 for antagonism tests, which two isolated fungi obtained an antagonism index higher than the commercial fungicide used as a positive control, which was 47.2%, being that fungus 1 inhibited 92.9 % and the fungus 7 inhibited 61.1% compared to the phytopathogen *S. sclerotiorum*. this way, the present work concludes that there are endophytic fungus that have shown promise in the biological control of white mold *in vitro* tests.

KEYWORDS: Phytopathogen, Isolates, Interactions, Antagonism index.

1. Acadêmica da graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG. maguedes@minha.fag.edu.br.

2. Orientador, Doutorando em Biologia Animal Comparada, UEM. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. thomas@fag.edu.br.

INTRODUÇÃO

O mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), também denominado como podridão branca ou podridão-de-esclerotínia, possui essas nomenclaturas em função dos sintomas externos causados na planta: aparecimento de lesões molhadas e de aspecto mole nos órgãos contaminados e micélios brancos de aparência cotonosa que envolvem porções dos tecidos (LEITE, 2005). Segundo Bolton e outros (2006), esse fungo tem se destacado como uma das mais graves doenças que afetam a soja.

O *S. sclerotiorum* pertence à família *Sclerotiniaceae*, na ordem *Helotiales* e no filo *Ascomycota*. O patógeno conserva-se no solo por meio de escleródios, que são estruturas de resistência, podendo infectar plantas de importância econômica como soja, feijão, algodão e girassol (Bolton *et al.*, 2006). A germinação carpogênica de escleródios dão resultado à apotécios, a maior fonte de inóculo do fungo em razão de gerar uma grande quantidade de ascósporos que quando ejetados, são facilmente conduzidos pelo vento e podem atacar plantas contaminando os tecidos aéreos do vegetal em um raio de 50 a 100 m da fonte (STEADMAN, 1983).

Para que a germinação carpogênica se realize, os escleródios devem estar presentes em luz suficiente e temperatura entre 10°C e 25°C, caso contrário só acontece a germinação miceliogênica, que penetra os tecidos de base da planta, essa germinação tem potencial epidêmico muito mais reduzido (BOLAND e HALL, 1987; HUANG e KOZUB, 1991; PHILLIPS, 1987). O desenvolvimento da doença pode ser retardado ou bloqueado em tempo seco, mas é reiniciado quando as condições de alta umidade regressam (HARIKRISHNAN e DEL RÍO, 2006).

As plantas apresentam uma proteção natural contra os fitopatógenos, que está associada ao seu metabolismo, o qual pode ser dividido em primário e secundário, sendo este último diferenciado basicamente por não apresentar reações e produtos comuns à maioria das plantas. A respiração é, por exemplo, um elemento do metabolismo primário, comum e indispensável a todas as plantas, havendo também a clorofila, aminoácidos, proteínas, lipídios, nucleotídeos vitaminas carboidratos dentre outros. Já os metabólitos secundários apresentam algumas características especiais como o fato de não serem vitais para as plantas, serem compostos com uma individualidade química que diferencia uma espécie de outra, qualitativa e quantitativamente, podem estar relacionados com os processos de defesa e comunicação das plantas, além de serem produzidos em pequenas quantidades (MARTINS *et al.*, 2000).

Embora vários metabólitos primários também sejam de interesse farmacêutico, alimentar, agrônômica, dentre outros, o elevado número e a grande variedade dos metabólitos secundários vegetais despertaram o interesse de pesquisadores de vários campos da ciência, como moléculas promissoras úteis ao homem. Segundo Lorenzi e Matos (2002), a planta medicinal, quando bem escolhida e utilizada corretamente, só difere do medicamento industrializado, apenas por sua embalagem e adicionais como os aromatizantes, corantes e conservantes que acompanham o princípio ativo no medicamento.

Os metabólicos com atividade também podem ser produzidos pelos microrganismos que habitam os tecidos internos das plantas durante parte de seu ciclo de vida, sem demonstrar sintomas visíveis, sendo denominados endofíticos. Estes organismos fornecem à planta hospedeira aumento de resistência à herbivoria, a patógenos e a outros estresses abióticos, e ainda aprimoraram sua capacidade competitiva, em compensação, os endófitos podem adquirir proteção e nutrientes do hospedeiro (PETRINI *et al.*, 1992; SAIKKONEN *et al.*, 1998; STROBEL e DAISY, 2003; SELOSSE *et al.*, 2004).

Os fungos endofíticos são pouco estudados, estima-se que exista 1,5 milhões de espécies, dos quais somente 5% estão expostos na literatura (HAWKSWORTH, 1991). Os endófitos de plantas medicinais têm uma alta capacidade para a obtenção de produtos naturais com atividade antibacteriana, antifúngica, anticâncer e imunossupressora, entre outras, sendo assim, apresentam um grande potencial para pesquisa em medicina, agricultura e indústria (FERRARA, 2006).

Seu estudo é imprescindível para a produção agrícola e redução dos danos antrópicos ao meio ambiente (VILA-AIUB *et al.*, 2003) designação de deficiências nutricionais de plantas (OTERO *et al.*, 2002), e colaboração como fonte de variedade para os outros fungos (GAMBOA e BAYAN, 2001). Dessa maneira, análises com fungos endofíticos são de vasta importância científica, por sua aplicação em estudos seguintes e como investigações de substâncias precursoras de novos fármacos (BAYMAN *et al.*, 1998).

Dentro desta perspectiva o objetivo dessa pesquisa é isolar e avaliar o potencial antifúngico dos fungos endofíticos presentes nas folhas da planta *Zanthoxylum caribaeum* frente ao fitopatógeno *S. sclerotiorum* (mofo branco).

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

Foram coletadas folhas de *Z. caribaeum* no Parque Ecológico Municipal Paulo Gorski, localizado na avenida Rocha Pombo, no Município de Cascavel, oeste do Paraná. O parque se encontra nas coordenadas 24°57'51,61''S e 53°26'14,80''O, com uma altitude de 703 metros (HIJMANS et al., 2005). A coleta foi realizada nas primeiras horas da manhã e selecionou-se as folhas que se apresentavam mais sadias e com o mínimo de marcações possíveis.

Uma exsicata da planta foi incorporada no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNOP) para identificação botânica e registro do voucher no ano de 2015, e por similaridade botânica a mesma foi armazenada pelo número UNOP 1849 e identificada como *Z. caribaeum*.

Primeiramente, as folhas foram lavadas com água corrente e sabão líquido, a fim de retirar o máximo de impurezas, em seguida foram levadas à câmara de fluxo para serem submersas em soluções apropriadas, onde se inicia o processo de desinfestação superficial do material pelo método de Pereira e outros (1993) e Araújo (2001), com modificações. Primeiramente, as folhas foram imersas em álcool a 70 % por 1 minuto, em seguida em hipoclorito de sódio a 2,5% por 3 a 4 minutos.

Após o hipoclorito de sódio, as amostras são submersas novamente na solução de álcool 70 % por 1 minuto e consequentemente enxaguadas por 3 vezes em água destilada estéril por 4 minutos cada uma, sendo a última plaqueada uma alíquota de 100 µL para o controle da desinfestação usada no isolamento.

Para cada folha foram retirados 5 pequenos fragmentos com 0,5 cm de tamanho, onde essas foram isoladas em placa de Petri contendo meios de cultura Ágar Batata Dextrose (BDA) e Ágar Sabouraud juntamente com o antibiótico oxitetraciclina a 2,5 µg/mL para a eliminação de bactérias e isolar somente fungos.

Os fungos que obtiveram crescimento foram isolados e armazenados. A montagem do experimento foi realizada no laboratório de Microbiologia do Bloco 1 do Centro Universitário Assis Gurgacz nos meses de fevereiro a julho de 2018.

Durante o período de fevereiro a março de 2020, os fungos endofíticos e o fitopatógeno *S. sclerotiorum* receberam ativação com o crescimento em placa contendo o meio ágar batata dextrose (BDA) por sete dias a temperatura de 28°C em estufa bacteriológica.

Para o teste de antagonismo *in vitro* foi utilizado a metodologia descrita por Campanile e colaboradores (2007), pela técnica de cultura pareada em placas com modificações. O experimento foi padronizado quanto tamanho do micélio do endofítico e do fitopatógeno de

cinco milímetros de diâmetro para a montagem das placas de antagonismo sendo que a distância entre os isolados foi mantida em quatro centímetros.

O controle do fitopatógeno foi montado em meio BDA com 1 disco de micélio do isolado e em triplicata. O controle do fitopatógeno com o fungicida comercial (Benlate 50mg.mL⁻¹) foi realizado com um disco de micélio do isolado e um disco com o fungicida, em triplicata. A avaliação do antagonismo entre endofítico e o fitopatógeno foi avaliada com um disco de micélio de cada isolado e realizado em quintuplicata.

Todas as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28°C por 7 dias para posterior análise. A análise das interações endófito-fitopatógeno foi baseada na escala de Badalyan e outros (2002) citada na Tabela 1.

Para as medições de inibição foi utilizado o programa ImageJ® (2018) e o cálculo do Índice de Antagonismo (IMT) foi realizado de acordo com a fórmula: $AI = (RM - rm) / RM \times 100$, onde: RM = média dos raios nas outras três direções e rm = raio da colônia em direção ao antagonismo.

Tabela 1 – Descrição dos tipos de interações da avaliação do antagonismo entre fitopatógeno e endofítico.

Tipo	Descrição do tipo de interação
A	Bloqueio de crescimento com contato micelial.
B	Bloqueio à distância.
C	Crescimento do endofítico sobre o fitopatógeno, dividido em:
Ca ₁	Crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatógeno depois de bloqueio inicial com contato micelial.
Ca ₂	Crescimento completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de bloqueio inicial com contato micelial.
Cb ₁	Crescimento parcial do endofítico sobre o fitopatógeno depois de bloqueio inicial à distância.
Cb ₂	Crescimento completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de bloqueio inicial à distância.
D	Crescimento do fitopatógeno sobre o endofítico.

Autor: Badalyan e colaboradores (2002).

Os dados foram expressos com o IMT realizados a partir da média, o teste estatístico realizado foi ANOVA one-way com nível de significância adotado de $p < 0,05$ e os valores comparados com o controle pelo teste de múltipla comparação de Dunnett's, a 5% de significância, utilizando o programa GraphPad Prism, versão 4.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, USA)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isolados e purificados 35 fungos endofíticos, do qual selecionou-se oito isolados com base na visualização das diferenças de cor das hifas vegetativas e esporulação das hifas reprodutivas, para os testes de antagonismo em placa com o fitopatógeno *S. sclerotiorum*.

Os oito isolados, ao serem avaliados de acordo com a escala de Badalyan e colaboradores (2002), verificou-se a presença de três tipos de interações entre o fitopatógeno e os fungos endofíticos, essas são: A: Bloqueio de crescimento com contato micelial, B: Bloqueio à distância e Ca₂: Crescimento completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de bloqueio inicial com contato micelial (Tabela 2).

Tabela 2 –Tipos de interação encontradas no teste de antagonismo em placa entre o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* e os fungos endofíticos isolados de *Zanthoxylum caribaeum*.

FUNGOS	METODOLOGIA	TIPO DE INTERAÇÃO
1	FITOPATÓGENO + F.1	A
3	FITOPATÓGENO + F.3	A
4	FITOPATÓGENO + F.4	A
5	FITOPATÓGENO + F.5	B
7	FITOPATÓGENO + F.7	Ca ₂
8	FITOPATÓGENO + F.8	A
9	FITOPATÓGENO + F.9	B
10	FITOPATÓGENO + F.10	A

Legenda: F.: fungo, A: Bloqueio de crescimento com contato micelial. B: Bloqueio à distância. Ca₂: Crescimento completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de bloqueio inicial com contato micelial.

Ao avaliar o IMT, verificou-se que o fungicida comercial utilizado como controle positivo frente ao fitopatógeno *S. sclerotiorum* foi de 47,2%, e valores superiores, para o mesmo índice, foram encontrados nos fungos endofíticos 1 e 7, sendo 92,9% e 61,1% respectivamente (Tabela 3).

Os valores do IMT mensurados do antagonismo entre o fitopatógeno e os fungos endofíticos apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) para os fungos 1, 3, 4, 5, 7, 8 e 9. O fungo 10 não apresentou diferença significativa em relação ao controle positivo realizado com o fungicida (Figura 1).

Tabela 3 – Valores das áreas de crescimento e índice de antagonismo encontradas nos testes realizadas em placa entre o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* e os fungos endofíticos isolados de *Zanthoxylum caribaeum*.

FUNGOS	METODOLOGIA	ÁREAS (mm ²)					MÉDIA	I.A. %
		1	2	3	4	5		
FITOP.	FITOP. sozinho	52.315	59.416	59.315			57.015	
FITOP.	FITOP. + fungicida	30.996	25.070	34.291			30.119	47,2
1	FITOP. + F.1	6.163	4.986	1.258	4.800	3.085	4.058	92,9*
3	FITOP. + F.3	39.346	x	39.010	39.204	x	39.187	31,3*
4	FITOP. + F.4	49.235	48.149	x	45.920	47.939	47.811	16,1*
5	FITOP. + F.5	49.651	50.902	51.401	48.354	x	50.077	12,2*
7	FITOP. + F.7	x	23.182	24.967	20.985	19.670	22.201	61,1*
8	FITOP. + F.8	x	51.715	50.603	51.105	49.721	50.786	10,9*
9	FITOP. + F.9	56.518	58.414	56.621	51.886	x	55.860	2,0*
10	FITOP. + F.10	35.552	34.860	x	x	32.260	34.224	40,0

Legenda: FITOP.: Fitopatógeno, F.: fungo, I.A.: índice de antagonismo, 1 a 5: repetições em placa de Petri, *: médias que apresentam diferença significativa baseada no controle positivo com $p < 0,05$ nos testes de ANOVA one-way e pós teste de Dunnett's.

Figueiredo (2005) utilizou espécies do gênero *Trichoderma* e uma espécie de *Ulocladium atrum*, para o controle biológico de *S. sclerotiorum* do feijoeiro. Relatou-se que três isolados testados revelaram ação satisfatória sobre o *S. sclerotiorum*, pois esses cresceram e cobriram completamente a colônia de *S. sclerotiorum* e a superfície do meio, o que coincide com os resultados visuais encontrados pelo fungo endofítico 7 desse presente trabalho, aonde o mesmo apresentou crescimento completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de bloqueio inicial com contato micelial (Figura 1-E).

Dentro do mesmo contexto Lopes e colaboradores (2017) realizaram um experimento in vitro entre fungos endofíticos obtidos do capim citronela contra os fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Curvalaria lunata* e *Bipolaris oryzae* verificando que por compostos voláteis, esses isolados atravessaram a divisória da placa de Petri e colonizaram o micélio do patógeno *Curvalaria lunata*, e o caracterizou por apresentar uma ação parasitária sobre o patógeno. Assim, verifica-se que os resultados encontrados pelos autores também corroboram com os dados do fungo 7 isolados de *Z. caribaeum*, pois este apresentou interação do tipo Ca₂ também ultrapassando a divisória da placa, inferindo que este isolado pode ser promissor se apresentar também ação parasitária sobre o patógeno.

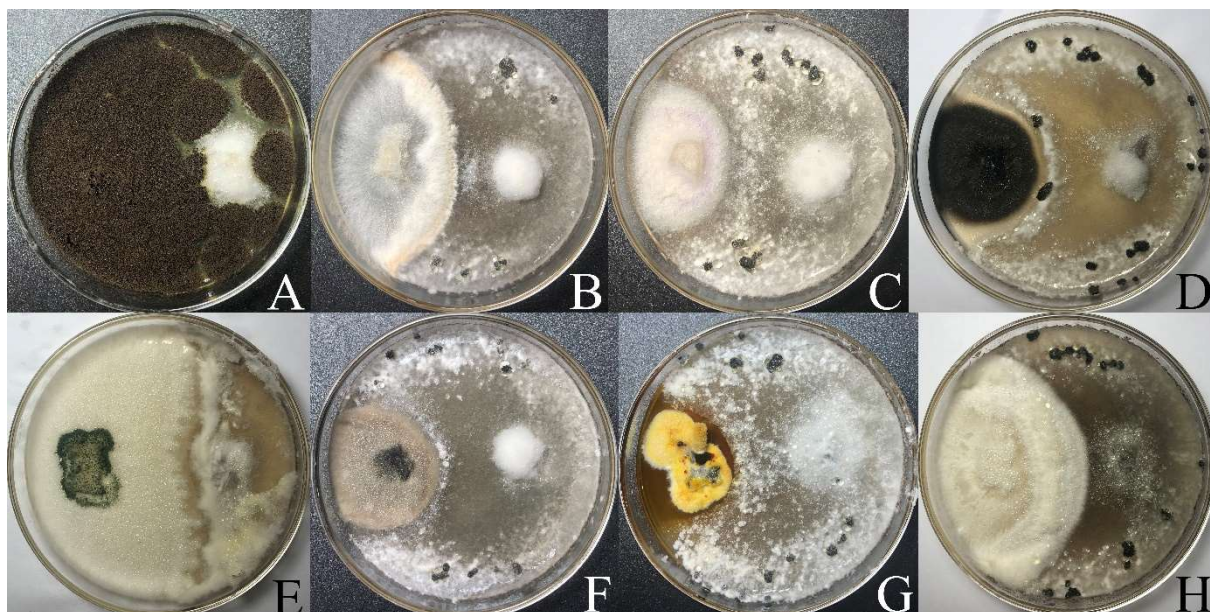


Figura 1: A: Fitopatógono e fungo endofítico 1, interação do tipo A. B: Fitopatógono e fungo endofítico 3, interação do tipo A. C: Fitopatógono e fungo endofítico 4, interação do tipo A. D: Fitopatógono e fungo endofítico 5, interação do tipo B. E: Fitopatógono e fungo endofítico 7, interação do tipo Ca₂. F: Fitopatógono e fungo endofítico 8, interação do tipo A. G: Fitopatógono e fungo endofítico 9, interação do tipo B. H: Fitopatógono e fungo endofítico 10, interação do tipo A.

Almeida e outros (2011) isolaram fungos endofíticos provenientes de folhas de girassol (*Helianthus annuus* L.) e colocaram em antagonismo ao fitopatógono *S. sclerotiorum* pela mesma metodologia do presente trabalho, onde um endofítico demonstrou um índice de antagonismo de 36,86% e outro de 22,43%. Esses resultados indicaram, segundo o autor, que fungos endofíticos isolados de folhas de *Helianthus annuus* L. se apresentaram com potencial no controle do mesmo fitopatógono do presente trabalho.

Observa-se que o trabalho supracitado corrobora com os dados encontrados nesta pesquisa o qual os fungos endofíticos isolados de *Z. caribaeum*, obtiveram índice de antagonismo superior que os fungos endofíticos de *Helianthus annuus*, sendo eles: fungo 1 com 92,9% e fungo 7 com 61,1% (Tabela 3), inferindo elevado potencial sobre o patógeno nos testes in vitro.

Ferreira e colaboradores (2018) utilizaram endófitos do gênero *Diaporthe* sp. isolados de *Pachystachys lutea* e testaram o antagonismo ao *S. sclerotiorum* pela mesma metodologia da presente pesquisa. Nesse estudo os autores observaram que 87,5% dos fungos endofíticos inibiram o crescimento do fitopatógono mediante o bloqueio micelial com contato e, 12,5% bloquearam à distância. Três fungos endofíticos apresentaram o IMT significativo e superior aos valores do controle (50,2%), sendo eles 59,1 %, 59,5 % e 56,5%. Com isso, verifica-se que no presente estudo foi encontrado para o mesmo controle positivo um IMT de 47,2%, e os fungos endofíticos 1 e 7 além de também apresentaram o IMT superior ao controle (92,9% e

61,7% respectivamente), ambos apresentam valores também significativos (Figura 2) e superiores ao encontrado Ferreira e seus colaboradores.

Os fungos filamentosos endofíticos são capazes de sintetizar uma ampla gama de metabólitos quimicamente diferentes, contudo, embora estes microrganismos sejam fontes promissoras de bioativos, a pesquisa em condições de laboratório pode ser dificultada, uma vez que alguns genes fúngicos permanecem silenciosos e não são expressos in vitro (MARMANN et al 2014).

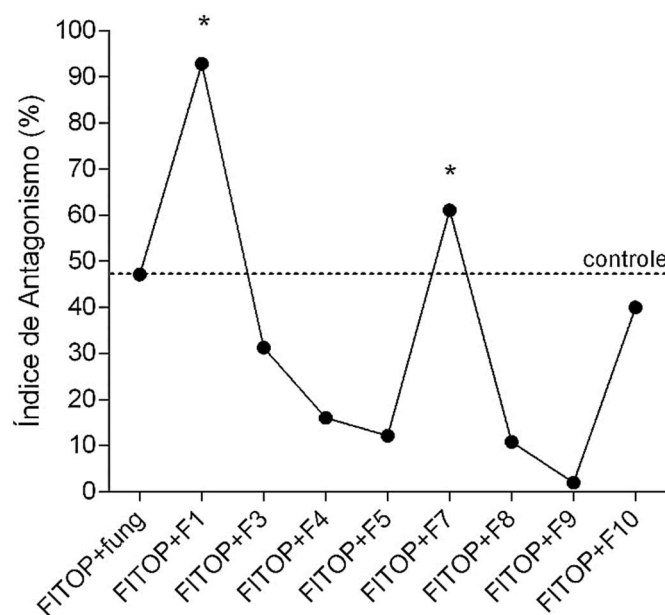


Figura 2- Índice de antagonismo encontradas nos testes realizadas em placa entre o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* e os fungos endofíticos isolados de *Z. caribaeum*. FITOP. + fung - Fitopatógeno + fungicida; FITOP. + F.3 - Fitopatógeno + fungo 3; FITOP. + F.4 - Fitopatógeno + fungo 4; FITOP. + F.5 - Fitopatógeno + fungo 5; FITOP. + F.7 - Fitopatógeno + fungo 7; FITOP. + F.8 - Fitopatógeno + fungo 8; FITOP. + F.9 - Fitopatógeno + fungo 9; FITOP. + F.10 - Fitopatógeno + fungo 10; *- valores superiores e com diferença significativa em relação ao FITOP. + fung. ANOVA one -way com $p < 0,05$.

Mesmo assim, estudos recentes in vitro revelaram que uma ampla variedade de fitofármacos importantes é oriunda da interação entre plantas e microrganismos, e assim sendo, os endófitos vegetais (principalmente os fungos) representam fontes promissoras de novos compostos bioativos (HARDOIM et al 2015; NICOLETTI e FIORENTINO, 2015).

Os endófitos são imensamente úteis na agricultura e na indústria farmacêutica onde podem ser empregados como transmissores para introdução de genes de interesse nas plantas (FAHEY, 1988; MURRAY et al., 1992), como agentes inibitórios de patógenos e pragas (VOLKSCH et al., 1992) como matrizes de metabólitos primários (STAMFORD et al., 1998)

e secundários como o taxol, poderoso anticancerígeno produzido por um fungo endofítico (WANG et al., 2000).

Dentre eles podemos citar Bing e Lewis (1993) verificaram que *Rhabdocline parkery*, um fungo endofítico isolado de pinheiros, ocasiona mortalidade das larvas do inseto-praga que habitam o interior das galhas, o *Beauveria bassiana*, um endófito do milho, que o protege contra o ataque de insetos predadores. Já o endófito *Acremonium coenophialum*, analisado por White e Cole (1985), possui efeitos inibitórios em relação a vários patógenos, Volksch e colaboradores (1992), encontraram nos tomateiros o fungo endofítico *Acremonium kilense* o qual apresentam proteção contra patógenos, como *Fusarium oxysporum* e *Clavibacter michiganense*.

CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se com os resultados obtidos nesse trabalho que os isolados endofíticos da *Z. caribaeum*, apresentam um potencial promissor para o controle do fitopatógeno *S. sclerotiorum*, sendo necessários mais estudos com esses fungos para obtenção da classificação e *screening* dos compostos produzidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, T. T.; ORLANDELLI, R. C.; FELBER, A. C.; AZEVEDO, J. L. PAMPHILE, J. A. **Antagonismo e interações competitivas entre fungos endofíticos de girassol (*Helianthus annuus* L.) e o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum***. Disponível em: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/tiago_tognolli_almeida_1.pdf. Acesso em: 30 abr. 2020, 2011.
- ARAÚJO, W. Variability and interaction between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**. v.47, p.229-236, 2001.
- BADALYAN, S. M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, G. Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathol. Mediterr.** v. 41, p. 200-225, 2002.
- BAYMAN, P.; ANGULO-SANDOVAL, P.; BÁEZ-ORTIZ, Z.; LODGE, D. J. Distribution and dispersal of *Xylaria* endophytes in two tree species in Puerto Rico. **Mycology Research**. v.102, n.8, p.944-948, 1998.
- BING, L. A.; LEWIS, L. C. Occurrence of the entomopathogen *Beauveria bassiana* (Balsanto) Vuillemin in different tillage regimes and in *Zea mays* L. and virulence towards *Ostrinia nubilalis* (Hubner). **Agriculture Ecosystems and Environment**. v.45, p.147-156, 1993.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Epidemiology of white mold of White bean in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**. v.9, n.1, p.218-224, 1987.
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**. v.7, n.1, p.1-16, 2006.
- CAMPANILE, G.; RUSCELLI, A.; LUISI, N.; Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in planta test. **Eur. J. of Plant Pathol.** v.117, p.237-246, 2007.
- FAHEY, J. W. Endophytic Bacteria for the Delivery of Agrochemicals to Plants. In: Cutler, H. O. (Ed.) *Biologically Active Natural Products. Potential Use in Agriculture*. **American Chemical Society Symposium Ser.** p.120-128, 1988.
- FERRARA, M. A. Fungos Endofíticos: Potencial para a Produção de Substâncias Bioativas. **Fitos**. v.2, n.1, p.73-79, 2006.
- FERREIRA, A. P.; MATEUS, N. J.; OLIVEIRA, J. A. S.; PAMPHILE, J. A. **Prospecção biotecnológica de endófitos do gênero *Diaporthe* sp. associados à *Pachystachys lutea* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum***. Disponível em: <http://www.eaic.uem.br/eaic2018/anais/artigos/2499.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2020, 2018.
- FIGUEIRÊDO, G. S. **Controle biológico de isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. e *Ulocladium atrum* e patogenicidade ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**

52f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

GAMBOA, M. A.; BAYAN, P. Communities of endophytic fungi in leaves of a tropical timber (*Guarea guidonia*: meliaceae). **Biotropica**. v.33, n.2, p.352-360, 2001.

HARDOIM, P. R. et al. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. **Microbiol Mol Biol Ver.** v.79, p.293–320, 2015.

HARIKRISHNAN, R.; DEL RÍO, L. E. Influence of temperature, relative humidity, ascospore concentration, and length of drying of colonized dry bean flowers on white mold development. **Plant Disease**. v.90, p.946-950, 2006.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycology Research**. v.95, n.6, p.641-655, 1991.

HIJMANS, R. J.; CAMERON, S. E.; PARRA, J. L.; JONES, P. G.; JARVIS, A. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. **International Journal of Climatology**. v.25, p.1965-1978, 2005.

HUANG, H. C.; KOZUB, G. C. Temperature requirements for carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates of diferente geographic origin. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**. v.13, n.4, p.279-286, 1991.

LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18672/1/comtec76.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2019, 2005.

LOPES, J. C.; JUNIOR, A. F. C.; NEVES, A. C. C.; CHAPLA, V. M. BATISTELLA, C. A. R. Fungos endofíticos isolados do capim citronela e seleção de antagonistas a fitopatógenos. **Biota Amazônia, Open Journal System**. v.7, n.3, p.84-88, 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Medicinais**. Viçosa: UFV, 2000.

MARMANN, A. et al. Co-cultivation - A powerful emerging tool for enhancing the chemical diversity of microorganisms. **Mar Drugs**. v.12, p.1043–1065, 2014.

MURRAY, F. R.; LATCH, G. C. M.; SCOTT, D. B. Surrogate transformation of perennial ryegrass, *Lolium perenne*, using genetically modified *Acremonium* endophyte. **Molecular General Genetics**. v.233, p.1-9, 1992.

NICOLETTI, R.; FIORENTINO, A. Plant bioactive metabolites and drugs produced by endophytic fungi of Spermatophyta. **Agriculture**. v.5, p.918–970, 2015.

OTERO, J. T.; ACKERMAN, J. D.; BAYMAN, P. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia-like* fungi from tropical orchids. **American Journal of Botany**. v.89, n.11, p.1852-1858, 2002.

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

PETRINI, O.; SIEBER, T. N.; TOTI, L.; VIRET, O. Ecology, metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. **Natural Toxins**. v.1, p.185-196, 1992.

PHILLIPS, A. J. L. Carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica**. v.19, n.2, p.279-283, 1987.

SAIKKONEN, K.; FAETH, S. H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T. J. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v.29, p.319-345, 1998.

SELOSSE, M. A.; BAUDOUIN, E.; VANDENKOORNHUYSE, P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. **Comptes Rendus Biologies**. v.327, n.7, p.639- 648, 2004.

STAMFORD, T. L. M.; ARAÚJO, J. M.; STAMFORD, N. P. Atividade enzimática de microrganismos isolados do Jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v.18, n.4, p.382-385, 1998.

STEADMAN, J. R. White mold – a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**. v.67, n.4, p.346-350, 1983.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v.67, n.4, p.491-502, 2003.

VILA-AIUB, M. M.; MARTINEZ-GHERSA, M. A.; GHERSA, C. M. Evolution of herbicide resistance in weeds: vertically transmitted fungal endophytes as genetic entities. **Evolutionary Ecology**. v.17, n.5, p.441-456, 2003.

VOLKSCH, B.; ULLRICH, M.; FRITSCH, W. Identification and population dynamics of bacteria in leaf spots of soybean. **Microbial Ecology**. v.24, p.305-311, 1992.

WANG, J.; LI, G.; LU, H.; ZHENG, Z.; HUANG, Y.; SU, W. Taxol from *Tubercularia* sp. strain TF5, an endophytic fungus of *Taxus mairei*. **FEMS-Microbiology Letters**. v.193, p.249-253, 2000.

WHITE, J. F.; COLE, G. T. Endophyte-host associations in forage grasses: I. Distribution of fungal endophytes um some species of *Lolium* and *Festuca*. **Mycologia**. v.77, p.323-327, 1985.