



## Avaliação da atividade antagonista *in vitro* de fungos endofíticos associados ao camu-camu (*Myrciaria dubia*)

Vanessa Carolina de Sena CORREIA<sup>[1,\*]</sup>; Rita de Kássia de Oliveira PEREIRA<sup>[2]</sup>; Nathália Oliveira LIMA<sup>[2]</sup>; Maildo Barbosa COELHO<sup>[2]</sup>; Waldesse Piragé de Oliveira JÚNIOR<sup>[3]</sup> e Raphael Sanzio PIMENTA<sup>[4]</sup>

<sup>[1]</sup> Doutoranda em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação da Rede Bionorte e Universidade Federal do Tocantins, Campus de Palmas.

<sup>[2]</sup> Graduandos do curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Palmas.

<sup>[3]</sup> Docente do curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Palmas.

<sup>[4]</sup> Docente do curso de Medicina da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Palmas, Av. NS 15, 109 Norte - Plano Diretor Norte - Palmas - TO, 77001-090, Brasil.

### INFORMAÇÕES

**Recebido em:** 07/09/2015

**Aceito em:** 27/11/2015

**Publicado em:** 23/12/2015

### Document Object Identifier

10.18067/jbfs.v2i4.74

### Termos de indexação:

Cultura pareada,

Fitopatógenos,

Difusíveis,

Voláteis,

*Myrciaria dubia*.

\*Autor para correspondência

[vcsbio@gmail.com](mailto:vcsbio@gmail.com)

### RESUMO

Fungos endofíticos são aqueles que habitam o interior dos tecidos de seus hospedeiros, desempenhando variadas e estreitas relações ecológicas sem demonstrar sintomas visíveis. Estima-se que a maioria das espécies vegetais possuam micro-organismos endofíticos ainda não classificados e com propriedades pouco conhecidas, mas potencialmente aptos para alguma aplicação biotecnológica. O camu-camu (*Myrciaria dubia*) apresenta grande potencial econômico, pelas características nutricionais do seu fruto, como a alta produção de vitamina C. Foram isolados e cultivados 307 fungos endofíticos associados às folhas e caules de *M. dubia*, a fim de verificar a atividade antagonista, quanto à produção de substâncias difusíveis e voláteis contra os seguintes fitopatógenos: *Monilinia fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Aspergillus parasiticus*. Verificou-se que 22 isolados inibiram o crescimento de pelo menos um dos fitopatógenos alvos, apresentando potencial de inibição (PI) entre 25,62% a 93,84%, sendo que cinco endofíticos se destacaram, com percentual de inibição acima de 50%, através da produção de substâncias difusíveis e voláteis. As interações competitivas foram analisadas segundo a escala de Badalyan, e observou-se maior frequência entre os fungos, da interação do tipo A ("deadlock" com contato micelial). Conclui-se que fungos endofíticos isolados de folhas e caules de *Myrciaria dubia*, possuem potencial biotecnológico promissor no biocontrole dos fitopatógenos (*A. parasiticus*, *M. fructicola* e *C. gloeosporioides*).

## Evaluation of antagonistic activity *in vitro* of endophytic fungi associated with camu-camu (*Myrciaria dubia*)

**ABSTRACT-** Endophytic fungi are those that inhabit the inner tissue of their hosts, playing varied and narrow ecological relations without showing visible symptoms. It is estimated that the majority of plant species have not yet been sorted endophytic microorganisms and little-known properties, but some potentially suitable for biotechnological applications. Camu-camu (*Myrciaria dubia*) has great economic potential, the nutritional characteristics of the fruit, such as high production of vitamin C. Were isolated and cultured 307 endophytic fungi associated with the leaves and stems of *M. dubia* in order to verify the antagonistic activity, for the production of diffusible and volatile substances against the following pathogens: *M. fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Aspergillus parasiticus*. It was found that 22 isolates inhibited the growth of at least one target plant pathogens, showing inhibition potential (IP) from 25.62% to 93.84%, five endophytic stood with inhibition percentage above 50%, by producing diffusible and volatile substances. The competitive interactions were analyzed according to Badalyan scale, and there was a higher frequency among the fungi, the interaction type A ("deadlock" with mycelial contact). It is concluded that endophytic fungi isolated from leaves and stems of *M. dubia*, have promising biotechnological potential in biocontrol of plant pathogens (*A. parasiticus*, *M. fructicola* and *C. gloeosporioides*).

**Index terms:** Paired culture, Plant pathogens, Diffusible, Volatile, *Myrciaria dubia*.



**Copyright:** © 2015 JBFS all rights. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Financiamento:** Os autores reportam que houve suporte e auxílio financeiro pela Coordenação de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) e BIONORTE, através da aprovação do projeto de número 550912/2010-0, junto ao Edital MCT/CNPq/FNDCT/CT-AMAZÔNIA/BIONORTE N° 66/2009.

**Conflito de interesse:** Os autores declaram que não há conflito de interesse.

### Como referir esse documento (ABNT):

CORREIA, V.C.S.; PEREIRA, R.K.O.; LIMA, N.O.; COELHO, M.B.; OLIVEIRA JÚNIOR, W.P.; PIMENTA, R.S. Avaliação da atividade antagonista *in vitro* de fungos endofíticos associados a camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Journal of Bioenergy and Food Science*, Macapá, v.2, n.4, p.201-207, out./dez., 2015. <http://dx.doi.org/10.18067/jbfs.v2i4.74>

## INTRODUÇÃO

Os fungos endofíticos são organismos conhecidos por passar parte ou todo o ciclo de vida colonizando os tecidos vivos de uma planta hospedeira sem, entretanto, causar sintomas aparentes de doenças ou efeitos negativos [1, 2].

Nos últimos anos, pesquisas sobre as interações ecológicas entre micro-organismos e seus hospedeiros revelou a existência de diversos efeitos positivos para o desenvolvimento das plantas, tais como a promoção do crescimento vegetal, o aumento da resistência a condições de estresses abióticos, a utilização de endofíticos como vetores de genes de resistência e controle biológico de pragas e doenças [3, 4]. Aproximadamente 80% dos fungos endofíticos produzem compostos biologicamente ativos, como antibióticos, fungicidas e herbicidas [2].

O controle biológico de fitopatógenos tem se apresentado como uma forma promissora e viável, por meio do uso de micro-organismos como agentes protetores de plantas cultivadas [5, 6, 7]. Desde o início da domesticação das plantas pelos humanos, há 10.000 anos, fitopatógenos têm causado perdas nos campos cultivados e redução do valor estético e do tempo de armazenamento da colheita [8].

O combate a doenças é altamente dependente de agrotóxicos, que são de modo geral, eficazes para controle de pragas, mas apresentam, por vezes, consequências indesejáveis. Os agrotóxicos são apontados como substâncias altamente tóxicas, que se acumulam no organismo humano e são capazes de causar câncer e mutações genéticas em descendentes [9, 10].

Um programa de controle biológico deve ser baseado na seleção de micro-organismos antagonísticos, que pode ser realizada *in vitro* ou *in vivo*. Os testes *in vitro* apresentam a vantagem de permitir o conhecimento dos mecanismos de ação envolvidos (ex: antibiose e hiperparasitismo) e facilitar a observação das interações entre o antagonista e o fitopatógeno [6, 11].

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antagonística *in vitro* de isolados fúngicos de *Myrciaria dubia* (Myrtaceae), um arbusto encontrado nas margens de rios e lagos da Amazônia, com grande potencial econômico e nutricional. Para realização dos ensaios de antagonismos, todos os fungos endofíticos isolados foram testados quanto à produção de substâncias difusíveis e voláteis contra os seguintes fitopatógenos: *Aspergillus parasiticus* (IMI 242695), *Monilinia fructicola* (MFA3635) e *Colletotrichum gloeosporioides* (CG-INCOOPER 02), contribuindo para o conhecimento da

diversidade desse grupo de organismos e de seu potencial para usos biotecnológicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### a) Isolamento de endófitos

As amostras de *M. dubia* foram coletadas em agosto de 2013, as margens do rio Javaé, no entorno do Parque Estadual do Cantão (Centro de Pesquisa Canguçu – UFT, 09°32'S, 50°01'W), região localizada no município de Pium - Tocantins. Aleatoriamente, foram amostrados trinta e um indivíduos e coletados três frações de caule e três folhas aparentemente saudáveis de cada indivíduo. As amostras foram georeferenciadas por GPS, confeccionadas exsiccatas, identificadas e registradas (n° de registro 10.592) pelo Herbário da Universidade Federal do Tocantins, campus de Porto Nacional.

O material vegetal foi submetido ao processo de desinfecção superficial para a eliminação de micro-organismos epifíticos, por meio de lavagens seriadas em etanol a 70% (v/v) (1 min), hipoclorito de sódio 2 % (3 min) e H<sub>2</sub>O mQ estéril (2 min). Logo após, nove fragmentos (1,0 x 1,0 cm) foram retirados assepticamente de cada amostra de folha e caule, e transferidos para placas de Petri contendo Batata Dextrose-Ágar (BDA, pH 6,8) suplementado com 100 µg/mL de cloranfenicol para inibir o crescimento de bactérias contaminantes. Foram preparadas seis placas de cada espécime, com três fragmentos cada uma (três placas de folhas e três com caule) e incubadas em BOD a 25 ± 3°C.

### b) Atividade antagonística *in vitro*

Para verificação da produção de substâncias difusíveis, um disco de ágar de 6 mm de diâmetro contendo micélio de cada fungo endofítico foi disposto em um lado de uma placa de Petri com meio de cultura BDA e incubados por três dias. Em seguida, um disco similar de cada fitopatógeno (*A. parasiticus*, *M. fructicola* e *C. gloeosporioides*) foi inoculado no outro lado da placa, a 4 cm de distância, segundo Campanile et al. (2007). Após quatorze dias de incubação a 26°C±2°C, o raio do micélio fúngico do fitopatógenos foi medido e comparado com o controle.

O teste de produção de substâncias voláteis foi realizado com placas de Petri contendo meio BDA, foram posicionadas umas sobre as outras, sendo colocado na parte inferior um disco de ágar de 6 mm do endofítico, e depois de 3 dias, na superior um disco do fitopatógeno. As placas foram vedadas com parafilme e incubadas a 25°C, por quatorze dias.

Os ensaios foram realizados em triplicata. Como controle foi inserido um fragmento na mesma posição do teste contendo somente o fitopatógeno. As interações competitivas entre os endófitos e o patógeno foram analisadas segundo a escala de Badalyan et al. [12] de acordo com os três tipos de interação possíveis: A, B e C, sendo C dividida em quatro sub-categorias (CA1, CA2, CB1 e CB2), onde: A = “deadlock” com contato micelial; B = “deadlock” a distância; C = crescimento do endofítico sobre o fitopatógeno sem “deadlock” inicial; CA1 e CA2 = crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial; CB1 e CB2 = crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial a distância.

Para determinar a porcentagem de inibição do crescimento do patógeno (PI%), mediu-se o diâmetro das colônias, e calculou-se de acordo com Edginton et al. [13], utilizando a fórmula:

$$PI\% = (Dc - Dt / Dc) \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde: Dc - diâmetro médio da colônia do patógeno das placas testemunhas (sem antagonista). Dt - diâmetro médio da colônia do patógenos frente ao antagonista (isolado endofítico).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os 307 endofíticos isolados de *M. dubia*, verificaram-se que, 22 indivíduos fúngicos inibiram o crescimento de pelo menos um dos

fitopatógenos alvos, apresentando porcentual de inibição (PI%) entre 25,62% a 93,84%, sendo que cinco endofíticos se destacaram, com porcentual de inibição acima de 50% (tabela 1), produzindo substâncias difusíveis e/ou voláteis no processo antagonônico.

Conforme a **Tabela 1**, *M. fructicola* e *C. gloeosporioides* apresentaram a maior frequência de inibidores em relação ao processo difusível e volátil. *M. fructicola* é o responsável pela podridão parda, a qual constitui a doença mais importante das rosáceas de caroço, como o pêssego, representando também significativas perdas para a economia mundial [14]. No controle desse patógeno, já foram selecionados como antagonistas *Penicillium frequentans* Westling, *Epicoccum nigrum* Link, *Trichothecium roseum* (Pers:Fr.) Link, *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud, *E. purpurascens* Ehrenberg, e *Gliocladium roseum* Bainier [15].

Em literatura, são comuns registros de fungos com atividade antagonista. Rubini et al. [16] isolaram fungos endofíticos de plantas de cacau (*Theobroma cacao* L.), identificando alguns endófitos potencialmente antagonistas, destacando-se *Gliocladium catenulatum*, que reduziu em 70% a incidência da vassoura da bruxa *in vivo* em plântulas de cacau. Orlandelli et al. [17] utilizando o endófito *Lasiodiplodia theobromae* proveniente da planta medicinal *Piper hispidum*, demonstrou índice de antagonismo de 54% contra *Colletotrichum* sp.

**Tabela 1.** Fungos endofíticos que apresentaram potencial de inibição maior que 50% em relação a um dos três fitopatógenos (**Ap:** *A.parasiticus*, **Cg:** *C. gloeosporioides* e **Mf:** *M. fructicola*)

Fungo	Ap (PI%)		Cg (PI%)		Mf (PI%)	
	Difusíveis	Voláteis	Difusíveis	Voláteis	Difusíveis	Voláteis
5322	89,65	92,32	90,85	93,84	32,69	92,95
5338	0,00	0,00	29,68	71,34	41,71	0,00
5450	54,88	88,75	89,78	93,38	60,23	78,51
5475	21,52	0,00	26,28	0,00	56,01	23,93
5506	54,06	0,00	33,27	0,00	55,20	15,73
5579	0,00	0,00	19,36	12,07	52,93	0,00
5594	0,00	0,00	27,64	0,00	56,80	17,60

Martins et al. [18] (2007) analisaram o potencial antagonico de 20 isolados de *Trichoderma* spp. contra o fungo *C. gloeosporioides*. Todos foram classificados como altamente antagonistas pelo teste de pareamento e reduziram o crescimento do patógeno devido à produção de substâncias antagonicas difusíveis. O fungo *C. gloeosporioides*, é o agente etiológico da antracnose, doença que acomete órgãos externos de diversas espécies vegetais, entre elas o camu-camu [19], maracujazeiro, goiabeira, mangueira, mamoeiro e cajueiro [20].

Em relação ao controle biológico do *Aspergillus parasiticus*, há poucos registros em literatura de fungos endofíticos como antagonista a esse fitopatógeno. Entretanto, vêm sendo desenvolvidas técnicas de uso de linhagens antagonistas: *Aspergillus* não produtoras de aflotoxinas; bactérias; actinobactérias e leveduras [21].

Ramos et al. [22] (2010) avaliou o potencial antagonico de leveduras em co-cultivo com fungos filamentosos. Isolados das espécies *Debaryomyces hansenii* (UFLACF 889 e UFLACF 847) e *Pichia anomala* (UFLACF 710 e UFLACF 951) foram inoculados ( $10^3$  a  $10^6$  células mL<sup>-1</sup>) com três espécies de fungos filamentosos, *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus* e *Penicillium roqueforti* ( $10^3$  a  $10^6$  esporos mL<sup>-1</sup>). *A. parasiticus* foi o fungo mais resistente à inibição pelas leveduras, o crescimento micelial não foi inibido pela presença da levedura em co-cultivo.

As interações competitivas foram analisadas, e observou-se com maior frequência a interação entre os fungos do tipo A “deadlock” com contato micelial (**Tabela 2**).

**Tabela 2.** Classificação das interações endofíticas, segundo Badalyan et al. (2002)

Fungos	Ap	Cg	Mf
5322	B	B	A
5338	0	A	CA1
5450	A	CB2	A
5475	A	A	A
5506	A	A	A
5579	0	A	A
5594	0	A	A

**Ap:** *A. parasiticus*, **Cg:** *C. gloeosporioides* e **Mf:** *M. fructicola*.

As interações indicam que ocorrem diferentes modos de ação dos endofíticos sobre o fitopatógeno, o que pode indicar um potencial para produção de metabólitos ou competição direta pelo espaço e

nutrientes, conforme ocorre dentro da planta hospedeira (WENZEL et al., 2012).

Observou-se uma predominância de interação do tipo A (86%) em que os dois fungos apresentam contato micelial e o endofítico pode estar impedindo por contato direto e competição por nutrientes o crescimento do patógeno; seguida da interação CA1 (4,5%) em que após o primeiro contato, o endofítico pode crescer sobre o patógeno, provavelmente reduzindo sua possibilidade de absorção dos nutrientes do meio; interação B (4,5%) em que o endofítico estaria produzindo e liberando no meio algum metabólito que impede o crescimento do fitopatógeno, e interação CB2 (4%), na qual após a inibição do crescimento do fitopatógeno, o endofítico cresce totalmente sobre o patógeno.

Esses resultados corroboram com os dados encontrados por Wenzel et al. [23] (2012) que verificaram as interações entre diferentes fungos isolados de (*Glycine max* (L.) Merrill) apresentando índice de 64% de interação do tipo A. Woods et al. (2005) analisaram os fungos isolados de (*Picea sitchensis* (Bong.) Carrière), e obtiveram 89% de interações entre os endofíticos e fitopatógeno do tipo A.

Entre os antagonistas testados, os indivíduos fúngicos 5322 e 5450 foram considerados promissores por apresentarem as maiores porcentagens de inibição, em relação à produção de substâncias difusíveis (**Figura 1**) e voláteis (**Figura 2**). O endofítico 5450 inibiu a esporulação do *A. parasiticus*, sendo visualizada na maioria das placas uma coloração laranja no fitopatógeno ao invés de verde e por competição bloqueou o crescimento de *M. fructicola* e principalmente do *C. gloeosporioides*, ocupando toda a placa.

Segundo Vey et al. [24], a inibição pode ser explicada pelo fato do antagonista apresentar um crescimento rápido sobre o patógeno, provavelmente devido a um tipo de estímulo do próprio hospedeiro, sendo uma característica vantajosa para o antagonista na disputa da colonização da área, vencendo o patógeno na competição, por espaço ou por nutrientes.

Compostos orgânicos voláteis antimicrobianos são produtos do metabolismo e se apresentam como gases ou possuem alta pressão de vapor, e são em condições normais liberados pelas células [25]. Esses compostos possuem baixa massa molecular e podem pertencer a diversas classes químicas tais como alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres, lactonas, terpenos e compostos de enxofre [26]. Pimenta et al. [27] isolaram substâncias voláteis (2-propenenitrile, 2-propyn-1-ol, 3-methyl-1-butanol, acetic acid e ethyl acetate) produzidas por linhagens endofíticas de *Phaeosphaeria*

*nodorum* isolado a partir de folhas de ameixas (*Prunus domestica*).

**Figura 1.** Teste de cultura pareada através da produção de substâncias difusíveis (14 dias): Endófito 5450 na parte superior da placa. Setas indicam os fitopatógenos na parte inferior da placa (A) *A.parasiticus*, (B) *M. fructicola* e (C) *C. gloeosporioides*. Controle de 14 dias: (D) *A.parasiticus*, (E) *M. fructicola*, (F) *C. gloeosporioides*.

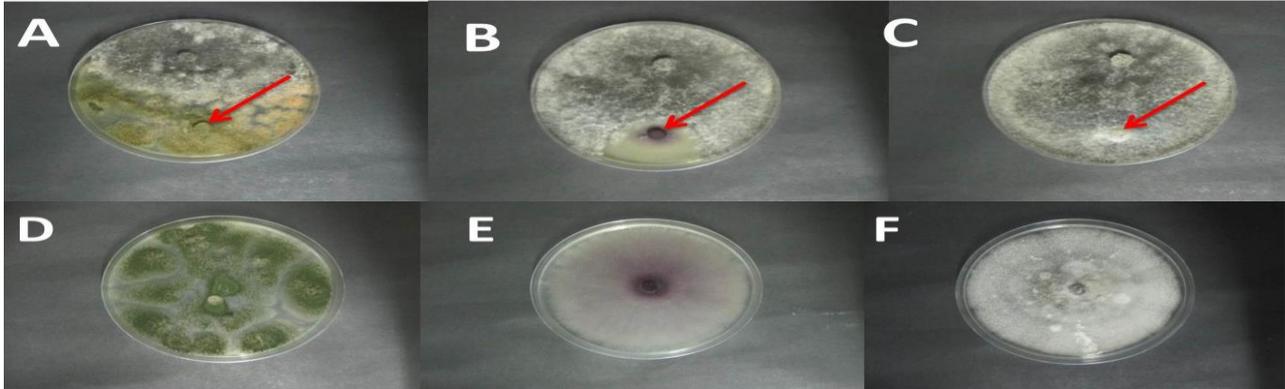


Figura 2. Teste de cultura pareada através da produção de substâncias voláteis (14 dias): Endófito 5450 cresceu na placa inferior (A, B e C) e dominou todo o espaço nas placas superiores (B e C). Setas e círculos indicam os fitopatógenos na placa superior: (A) *A.parasiticus*, (B) *M. fructicola*, (C) *C. gloeosporioides*.



A maioria dos estudos relacionados à atividade antimicrobiana de compostos voláteis sobre micro-organismos fitopatogênicos é voltada para *Muscodor albus* [28], *Trichoderma* spp [29] e *Bacillus* spp.[30].

A inibição dos fitopatógenos por processos difusíveis é gerada por compostos de baixo peso molecular [31]. Muitas espécies de *Trichoderma* produzem metabólitos antimicrobianos, como ácido harziânico, tricolin e peptaibols [32]. Xiao-Yan et al. [33] observou a produção de trichokomis por isolados de *T. koningii* SMF2, composto responsável pela redução do crescimento de vários fitopatógenos.

Os mecanismos pelos quais fungos podem reduzir o crescimento e desenvolvimentos de fitopatógenos fúngicos são: parasitismo, produção de compostos antibióticos, produção de enzimas extracelulares, interferência nos fatores de patogenicidade, indução de resistência na planta hospedeira e competição por nutrientes e nichos de colonização. É provável que diferentes mecanismos atuem em sinergia durante a interação antagonista [8]. Este fato evidencia o quão são importantes os estudos sobre a relação ecológica de fungos

endofíticos com a planta hospedeira, para se obter maior conhecimento do potencial metabólico desses micro-organismos.

Kupper et al. [34] relata que diversas vezes a eficácia dos antagonistas *in vitro* ou em casa de vegetação pode ser insuficiente para estabelecer o limiar de população exigida para um biocontrole no campo, mas pode servir como indicativo da viabilidade no controle de fitopatógenos sob condições naturais de infecção.

Os resultados apresentados nesse trabalho reforçam a importância de se pesquisar o potencial biotecnológico de endófitos isolados de diferentes plantas, uma vez que foram obtidas porcentagens maiores que 90% de antagonismo de endófitos contra diferentes fitopatógenos, indicando que estes apresentam atividade antagonística e que devem ser investigados *in vivo* para verificar sua possível utilização no biocontrole.

## CONCLUSÃO

Fungos endofíticos isolados de folhas e caules de *M. dubia*, apresentaram potencial biotecnológico no controle dos fitopatógenos

(*A.parasiticus*, *M. fruticola* e *C. gloeosporioides*). A identificação molecular e a composição química das substâncias irão especificar a metodologia de uso biotecnológico destes microrganismos.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, Bionorte, CNPq e UFT pelo apoio financeiro e suporte institucional.

## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

1. Condução e avaliação do experimento:

Vanessa Carolina de Sena Correia

Rita de Kássia de Oliveira Pereira

Nathália Oliveira Lima

Maildo Barbosa Coelho

2. Planejamento, orientação e revisão final do artigo:

Dr. Raphael Sanzio Pimenta

Dr. Waldesse Piragé de Oliveira Júnior

## REFERÊNCIAS

- [1]. STONE, J. K.; BACON, C. W.; WHITE, J. F. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: BACON, C.W. & WHITE, J.F. (Eds.). **Microbial Endophytes**. New York: Marcel Dekker, p. 3-30.
- [2]. SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. **Mycological Research**, Cambridge, v. 109, n. 06, p. 661-686, 2005. DOI:10.1017/S095375620500273X
- [3]. SUTO, M.; TAKEBAYASHI, M.; SAITO, K.; TANAKA, M.; YOKOTA, A.; TOMITA, F. Endophytes as producers of xylanase. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 93, n. 01, p. 88-90, 2002. DOI:10.1016/S1389-1723(02)80059-7
- [4]. STROBEL, G. A. Endophytes as sources of bioactive products. **Microbes and Infection**, v. 05, n. 06, p. 535-544, 2003. doi: 10.1016/S1286-4579(03)00073-X
- [5]. KUNOH, H. Endophytic actinomycetes: attractive biocontrol agents. **Journal of General Plant Pathology**, v. 68, p. 249-252. 2002. DOI:10.1007/978-3-642-20332-9\_10
- [6]. LOUZADA, G. A.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; JÚNIOR, M. L.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota neotropica**, v. 9, n. 03, 145-149, 2009.
- [7]. POLLI, A.; NEVES, A. F.; GALO, F. R.; GAZARINI J.; RHODEN, S. A.; PAMPHILE J. A. Aspectos da interação dos micro-organismos endofíticos com plantas hospedeiras e sua aplicação no controle biológico de pragas na agricultura. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 02, p.82-89, 2012.
- [8]. PUNJA, Z. K.; UTKHEDE, R. S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **Trends in Biotechnology**, v. 21, n. 09, p. 400-407, 2003. DOI:10.1016/S0167-7799(03)00193-8
- [9]. LIMA, L. H. C.; DE MARCO, J. L.; FELIX, C. R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. In: **Controle Biológico**, v. 2, 2000, p. 263-304.
- [10]. PIMENTA, R. S.; SILVA, F. L.; SILVA, J. F.; MORAIS, P. B.; BRAGA, D. T.; ROSA, C. A.; CORRÊA Jr, A. Biological control of *Penicillium italicum*, *P. digitatum* and *P. expansum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis schoenii* on oranges. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 01, 85-90, 2008. doi: 10.1590/S1517-838220080001000020
- [11]. LIU, L. N.; ZHANG, J. Z.; XU, T. Histopathological studies of sclerotia of *Rhizoctonia solani* parasitized by the EGFP transformant of *Trichoderma virens*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 09, p. 745-750, 2009. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02737.x
- [12]. BADALYAN, S. M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N. G. Antagonistic activity of *Xylotrophic mushrooms* against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathol Mediterr**, v. 41, n. 03, p. 200-225, 2002. doi: 10.14601/Phytopathol\_Mediterr-1668
- [13]. EDGINTON, L. V.; KNEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, Saint Paul, v.62, n.07, p.42-44, 1971. DOI:10.1094/Phyto-61-42
- [14]. MOREIRA, L. M.; MAY-DE MIO, L. L. Controle da podridão parda do pessegueiro com fungicidas e fosfitos avaliados em pré e pós-colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 02, p. 405-411, 2009. DOI:10.1590/S1413-70542009000200007
- [15]. MOREIRA, L. M.; MAY-DE MIO, L. L. Efeito de fungos antagonistas e produtos químicos no controle da podridão parda em pomares de pessegueiro. **Floresta**, v. 36, n. 02, p. 287-293, 2006. DOI:10.1590/S0100-54052008000300016
- [16]. RUBINI, M. R.; SILVA-RIBEIRO, R. T.; POMELLA, A. W. V.; MAKI, C. S.; ARAÚJO, W. L.; SANTOS, D. R.; AZEVEDO, J. L. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosa*, causal agent of Witches' Broom Disease. **International Journal of Biological Sciences**, Bethesda, v.01, n.01, p.24-33, 2005. DOI:10.7150/ijbs.1.24
- [17]. ORLANDELLI, R. C.; DE ALMEIDA, T. T.; ALBERTO, R. N.; POLONIO, J. C.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. Antifungal and proteolytic activities of endophytic fungi isolated from *Piper hispidum* Sw. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.46, n.02, p.359-366, 2015. DOI: 10.1590/S1517-838246220131042

- [18]. MARTINS, I.; PEIXOTO, J. R.; MENÊZES, J. E.; MELLO, S. C. M. Avaliação *in vitro* do antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, p.12, 2007.
- [19]. PERAZA-SANCHEZ, S. R.; CHAN-CHE, E. O.; RUIZ-SANCHEZ E. Screening of Yucatecan plant extracts to control *Colletotrichum gloeosporioides* and isolation of a new pimarene from *Acacia pennatula*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 07, p. 2429–2432, 2005. DOI:10.1021/jf040422i
- [20]. SILVA, K. S.; REBOUÇAS, T. N. H.; LEMOS, O. L.; BONFIM, M. P.; BOMFIM, A. A.; ESQUIVEL, G. L.; BARRETO, A. P. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; DIAS, N. O.; TAVERS, G. M. Patogenicidade causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) em diferentes espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 01, p:131-133, 2006. DOI:10.1590/S0100-9452006000100036
- [21]. ZUCCHI, T. D.; DE MELO, I. S. Controle biológico de fungos aflatoxigênicos. In: **BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna-SP: Embrapa, 2009, 1ª ed, p. 69-74.
- [22]. RAMOS, D. M. B.; SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; SCHWAN, R. F. Inibição *in vitro* de fungos toxigênicos por *Pichia* e *Debaryomyces* sp isoladas de frutos de café (*Coffea arabica*). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 03, p. 397–402, 2010. DOI:10.4025/actasciagron.v32i3.3361
- [23]. WENZEL, J. B.; ISOLAMENTO E. Atividade antagonística de fungos endofíticos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 07, n. 03, 2012.
- [24]. VEY, A.; HOAGLAND, R. E.; BUTT, T. M. Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. In: BUTT, T.M.; JACKSON, C.N. **Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential**. CABI International,, 2001. p. 311-46. DOI:10.1079/9780851993560.0311
- [25]. TARKKA, M. T.; PIECHULLA, B. Aromatic weapons: truffles attack plants by the production of volatiles. **New Phytologist**, v. 175, n. 03, p. 383–386, 2007. DOI:10.1111/j.1469-8137.2007.02165.x
- [26]. WHEATLEY, R. E. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 81, n. 01, p. 357-364, 2002. DOI:10.1023/A:1020592802234
- [27]. PIMENTA, R. S.; DA SILVA, J. F. M.; BUYER, J. S.; JANISIEWICZ, W. J. Endophytic fungi from plums (*Prunus domestica*) and their antifungal activity against *Monilinia fructicola*. **Journal of Food Protection**, v. 75, n. 10, p. 1883-1889, 2012. DOI:10.4315/0362-028X.JFP-12-156
- [28]. GRIMME, E.; ZIDACK, N. K.; SIKORA, R. A.; STROBEL, G. A.; JACOBSEN, B. J. Comparison of *Muscodor albus* volatiles with a biorational mixture for control of seedling diseases of sugar beet and root-knot nematode on tomato. **Plant Disease**, v. 91, n. 02, p. 220-225, 2007. doi: 10.1094/PDIS-91-2-0220
- [29]. CORABI-ADELL, C. **Biodiversidade do gênero *Trichoderma* (HYPOCREALES - FUNGI) mediante técnicas moleculares e análise ecofisiográfica**. 220 f. 2004 Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro, 2004.
- [30]. LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 01, 113–121, 2008. DOI:10.1016/j.postharvbio.2007.09.024
- [31]. BENÍTEZ, T.; RICÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C.; Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 04, p. 249-260, 2004.
- [32]. HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 01, p. 4–10, 2003. DOI:10.1094/PDIS.2003.87.1.4
- [33]. XIAO-YAN, S.; QING-TAO, S.; SHU-TAO, X.; XIU-LAN, C.; CAI-YUN, S.; ZHANG ZHONG, Y. Broad-spectrum antimicrobial activity and high stability of *Trichokonins* from *Trichoderma koningii* SMF2 against plant pathogens. **FEMS Microbiology Letters**, v. 260, n. 1, p. 119–125, 2006. DOI:10.1111/j.1574-6968.2006.00316.x
- [34]. KUPPER, K. C.; FERNANDES, N. G.; GOES, A. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.03, p.251-257, 2003. DOI:10.1590/S0100-41582003000300005