

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

**diversidade de fungos endofíticos de cupuaçuzeiro (*theobroma grandiflorum*
(willd. ex spreng.) schum) e potencial para biocontrole de *moniliophthora*
*perniciosa***

VICTÓRIA RAQUEL BRAGA DE ALMEIDA

MANAUS-AM
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

VICTÓRIA RAQUEL BRAGA DE ALMEIDA

DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE CUPUAÇUZEIRO (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum) E POTENCIAL PARA BIOCONTROLE DE *Moniliophthora perniciosa*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia Tropical.

Orientadora: Profa. Jânia Lília da Silva Bentes Lima
Coorientadora: Profa. Ana Francisca Tibúrcia A. F. e Ferreira

MANAUS-AM
2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

- A447d Almeida, Victoria Raquel Braga de
Diversidade de fungos endofíticos de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (willd. ex spreng.) schum) e potencial para biocontrole de *Moniliophthora perniciosa* / Victoria Raquel Braga de Almeida. - 2025.
61 f. : il., p&b. ; 31 cm.
- Orientador(a): Jânia Lília da Silva Bentes Lima.
Orientador(a): Victoria Raquel Braga dos Santos.
Coorientador(a): Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e Ferreira.
Coorientador(a): Victoria Raquel Braga dos Santos.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Manaus, 2025.
1. Cupuaçu. 2. Vassoura-de-bruxa. 3. Antagonismo. 4. Filogenia.
I. Lima, Jânia Lília da Silva Bentes. II. Santos, Victoria Raquel Braga dos. III. Ferreira, Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e. IV. Santos, Victoria Raquel Braga dos. V. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical. VI. Título
-

VICTORIA RAQUEL BRAGA DE ALMEIDA

DIVERSIDADE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE CUPUAÇUZEIRO (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum) E POTENCIAL PARA BIOCONTROLE DE *Moniliophthora perniciosa*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia Tropical, área de concentração Produção Vegetal.

Aprovada em 03 de novembro de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 JANIA LILIA DA SILVA BENTES LIMA
Data: 10/11/2025 11:54:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Jânia Lília da Silva Bentes Lima – Presidente
Universidade Federal do Amazonas

Documento assinado digitalmente
 RONERES DENIZ BARBOSA
Data: 06/11/2025 12:42:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Roneres Deniz Barborsa – Membro Titular
Instituto Federal do Acre

Documento assinado digitalmente
 MARIA GERALDA DE SOUZA
Data: 08/11/2025 15:04:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Maria Geralda de Souza – Membro Titular
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força, paciência e direção em cada etapa desta caminhada, sem ele, nada disso seria possível.

Ao meu esposo Lucas Nascimento de Almeida, por seu amor, cuidado, paciência, companheirismo e apoio constante e por sempre acreditar em mim.

A minha família, por todo amor, incentivo e compreensão, especialmente nos momentos de maior desafio.

A minha Orientadora, Professora Dr^a. Jânia Lília da Silva Bentes, por toda dedicação, paciência e confiança depositada em mim, por acreditar no meu potencial mesmo diante das dificuldades.

A minha coorientadora, Professora Dr^a. Ana Francisca Tibúrcia Amorim F. e Ferreira, pelas orientações, sugestões e pela disponibilidade em contribuir com este estudo.

A minha amiga, Eneida Alice Corrêa, pela amizade sincera, pela bondade e por sempre está disposta a ajudar. Sua amizade tornou essa caminhada mais leve e mais significativa.

Aos colegas de laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, pela convivência, pelas trocas de conhecimento e pela colaboração durante as etapas da pesquisa.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia Tropical, pela oportunidade de formação e pelo suporte institucional.

Agradeço também à FAPEAM e à CAPES, pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa, fundamentais para a execução deste trabalho.

Por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero muito obrigada!

*“Deus nunca disse que a jornada seria fácil,
mas prometeu que a chegada valeria a pena.”*

Max Lucado

RESUMO

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) é uma planta frutífera nativa da região amazônica, de grande importância econômica para produtores locais. No entanto, sua produção é afetada por pragas e doenças, com destaque para a vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, considerada a principal doença da cultura. Nesse contexto, fungos endofíticos surgem como alternativa promissora para o controle biológico, pois colonizam tecidos vegetais sem causar danos aparentes e podem atuar contra fitopatógenos por mecanismos como indução de resistência, micoparasitismo e antibiose. Este trabalho teve como objetivo estudar a diversidade de fungos endofíticos associados a plantas de cupuaçuzeiro e avaliar seu potencial como agentes de biocontrole de *M. perniciosa*. Foram coletadas dez amostras foliares de plantas sadias e doentes em áreas produtoras dos municípios de Manaus, Presidente Figueiredo e Itacoatiara, Amazonas. O isolamento foi realizado em meio BDA, e os isolados foram agrupados em morfotipos com base em características morfológicas. Foram obtidos 347 isolados distribuídos em 13 gêneros do filo Ascomycota, com predominância das classes Sordariomycetes, Dothideomycetes e Eurotiomycetes. Os gêneros mais frequentes foram *Diaporthe* (134 isolados), *Colletotrichum* (86) e *Lasiodiplodia* (50). A análise de diversidade indicou maior riqueza em plantas sadias de Itacoatiara ($q_0 = 10,0$) e maior diversidade de Shannon em Presidente Figueiredo ($q_1 = 5,8$). No ensaio de antagonismo in vitro, alguns isolados apresentaram alta inibição do crescimento micelial do patógeno, destacando-se *Lasiodiplodia* sp. (93,3%), *Diaporthe* sp. (91,1%) e *Colletotrichum* sp. (90,2%). Esses resultados indicam potencial promissor desses fungos para o biocontrole de *M. perniciosa*.

Palavras- chave: Cupuaçu; Vassoura-de-bruxa; Antagonismo.

ABSTRACT

Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) is a fruit tree native to the Amazon region and has great economic importance for local producers. However, its production is affected by pests and diseases, especially witches' broom disease, caused by the fungus *Moniliophthora perniciosa*, which is considered the most important disease affecting this crop. In this context, endophytic fungi have emerged as a promising alternative for biological control, as they colonize plant tissues without causing apparent damage and may act against phytopathogens through mechanisms such as induced resistance, mycoparasitism, and antibiosis. This study aimed to investigate the diversity of endophytic fungi associated with cupuaçu plants and to evaluate their potential as biological control agents against *M. perniciosa*. Ten foliar samples from healthy and diseased plants were collected in production areas located in the municipalities of Manaus, Presidente Figueiredo, and Itacoatiara, Amazonas State, Brazil. Fungal isolation was performed on PDA medium, and isolates were grouped into morphotypes based on morphological characteristics. A total of 347 isolates were obtained, distributed into 13 genera belonging to the phylum Ascomycota, with predominance of the classes Sordariomycetes, Dothideomycetes, and Eurotiomycetes. The most frequent genera were *Diaporthe* (134 isolates), *Colletotrichum* (86), and *Lasiodiplodia* (50). Diversity analysis indicated higher richness in healthy plants from Itacoatiara ($q_0 = 10.0$) and higher Shannon diversity in Presidente Figueiredo ($q_1 = 5.8$). In the in vitro antagonism assay, some isolates showed high inhibition of mycelial growth of the pathogen, particularly *Lasiodiplodia* sp. (93.3%), *Diaporthe* sp. (91.1%), and *Colletotrichum* sp. (90.2%). These results indicate the promising potential of endophytic fungi associated with cupuaçu plants for the biological control of *M. perniciosa*.

Keywords: Cupuaçu; Witch's broom; Antagonism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de vida de <i>Moniliophthora perniciosa</i> em <i>Theobroma grandiflorum</i> . Adaptado de (Teixeira et al., 2015).	15
Figura 2: Árvore filogenética máximoverossimilhança baseada no sequenciamento da região ITS do rDNA de fungos endofíticos pertencentes ao filo Ascomycota, isolados de <i>Theobroma grandiflorum</i>	26
Figura 3: Composição taxonômica de fungos endofíticos obtidos de <i>Theobroma grandiflorum</i> , obtidos de plantas doentes (vassoura-de-bruxa).	28
Figura 4: Curvas de rarefação (linhas contínuas) e extrapolação (linhas tracejadas) da diversidade de fungos endofíticos isolados de <i>Theobroma grandiflorum</i> em diferentes municípios do Amazonas.	31
Figura 5: Teste de inibição de crescimento micelial de <i>Moniliophthora perniciosa</i> por fungos endofíticos do gênero <i>Colletotrichum</i> sp.	32
Figura 6: Teste de inibição de crescimento micelial de <i>Moniliophthora perniciosa</i> por fungos endofíticos do gênero <i>Diaporthe</i> sp.	33
Figura 7: Teste de inibição de crescimento micelial de <i>Moniliophthora perniciosa</i> por fungos endofíticos do gênero <i>Lasiodiplodia</i> sp.	33
Figura 8: Teste de inibição de crescimento micelial de <i>Moniliophthora perniciosa</i> por fungos endofíticos dos gêneros: (A) <i>Daldinia</i> sp., (B) Fungo da família Xilaryales, não identificado, C) <i>Nigrospora</i> sp.	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. <i>Theobroma grandiflorum</i> (Willd. ex Spreng.) K.Schum	13
2.2. Vassoura-de-Bruxa	14
2.3. Fungos Endofíticos.....	16
2.4. Efeito dos fungos endofíticos sobre as plantas	17
2.5. Efeito de fungos endofíticos sobre fitopatógenos.....	18
3. OBJETIVOS	20
3.1. Geral.....	20
3.2. Objetivos específicos	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1. Coleta de material e isolamento de fungos endofíticos	20
4.2. Identificação molecular dos isolados endofíticos e de <i>Moniliophthora perniciosa</i>	21
4.2.1. Extração do DNA.....	21
4.2.2. PCR e sequenciamento.....	22
4.2.3. Análises filogenéticas	23
4.3. Análises de diversidade e composição taxonômica	23
4.4. Avaliação do potencial de biocontrole de <i>Moniliophthora perniciosa</i> por fungos endofíticos <i>in vitro</i>	24
5. RESULTADOS	25
5.1. Isolamento e identificação dos isolados	25
5.2. Análise da composição taxonômica e diversidade	27
5.3 Avaliação do potencial de biocontrole <i>in vitro</i> de <i>Moniliophthora perniciosa</i> por fungos endofíticos	32
6. DISCUSSÃO	39
6.1 Análises Filogenéticas e Distribuição Taxonômica.....	39
7. Avaliação do potencial de biocontrole de <i>Moniliophthora perniciosa</i> por fungos endofíticos <i>in vitro</i>	42
8. CONCLUSÃO.....	45
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXO.....	58

1. INTRODUÇÃO

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.) é uma árvore frutífera originária da floresta Amazônica, pertencente à Família Malvaceae (Da Silva *et al.*, 2024), a espécie foi domesticada pelas populações nativas (Clement, 1999). Atualmente se destaca pelo seu potencial econômico no mercado nacional, devido a sua polpa e sementes que são amplamente utilizadas nas indústrias alimentícia e de cosméticos (Curimbaba *et al.*, 2020)

No Estado do Amazonas, o cultivo de cupuaçu apresenta produção significativa mesmo diante das limitações fitossanitárias. Segundo o Relatório 03, -Produção Vegetal (4º Trimestre 2024) do Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estados do Amazonas (IDAM), a produção total de cupuaçu alcançou 1.553,54 toneladas, evidenciando sua importância socioeconômica para os agricultores familiares da região.

Entre as doenças que afetam essa cultura, a vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa*, é a principal doença do cupuaçuzeiro (Falcão *et al.*, 2022). O patógeno infecta tecidos meristemáticos em desenvolvimento ativo, como brotos, folhas jovens, almofadas florais e frutos (Ferraz *et al.*, 2019). Após a infecção, ocorre a fase biotrófica, caracterizada por hiperplasia e hipertrofia dos tecidos, resultando na formação das chamadas “Vassouras verdes” (Ferraz *et al.*, 2021). Essa fase pode durar cerca de 30 dias e é seguida pela fase necrotrófica, quando o patógeno causa necrose dos tecidos infectados (Santos *et al.*, 2020).

Os basidiocarpos, estruturas reprodutivas do fungo, formam-se sobre o tecido morto, liberando milhões de basidiósporos sob condições favoráveis de umidade e temperatura entre 20-25°C (Delgado-Ospina *et al.*, 2021), o que contribui para rápida disseminação da doença em campo.

O manejo de *M. perniciosa* é realizado com práticas culturais como as podas fitossanitárias que removem os tecidos infectados das plantas (Alves *et al.*, 2009); com o uso de clones resistentes; BRS Careca, BRS Fartura, BRS Duquesa, BRS Curinga e BRS Golias, todas desenvolvidas pela Embrapa Amazônia Oriental, que apresentam resistência a *M. perniciosa* (Alves *et al.*, 2020);

Além disso, o controle biológico tem sido explorado com o uso de fungos antagonistas, como *Trichoderma stromaticum*, componentes de produto comercial Tricovarb, registrado para controle da vassoura-de-bruxa em cacau (Agrofit, 2024).

Contudo, até o momento não há produtos registrados no Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA) para controle da doença em cupuaçuzeiro, o que reforça a necessidade de novas alternativas para o manejo sustentável.

Dentre os microrganismos com potencial de biocontrole de fitopatógenos, destacam-se os fungos endofíticos que colonizam os tecidos vegetais sem causar danos aparentes ao hospedeiro (Alan *et al.*, 2021). Esses organismos têm despertado grande interesse por estimularem o crescimento das plantas e atuarem como agentes de biocontrole e indutores de resistência a estresses bióticos e abióticos nas plantas (Bogas *et al.*, 2022, Wen *et al.*, 2022).

Em espécies do gênero *Theobroma*, estudos têm demonstrado que fungos endofíticos isolados de cupuaçuzeiro, apresentam potencial para inibir *M. pernicios* *in vitro*, reforçando seu papel promissor como agentes de biocontrole.

A compreensão da diversidade de fungos endofíticos associados ao *T. grandiflorum* é fundamental, uma vez que a variação taxonômica e funcional dessas comunidades influencia diretamente as interações entre hospedeiro e microrganismos, bem como o potencial metabólico e ecológico desses fungos (Banhos *et al.*, 2014). A diversidade endofítica é um fator determinante na estabilidade e na resiliência do microbioma vegetal, contribuindo para o equilíbrio ecológico e para a proteção das plantas contra patógenos e estresses ambientais (Arnold *et al.*, 2003; Hardoim *et al.*, 2015; Christian *et al.*, 2017).

espécies tropicais demonstram que comunidades endofíticas altamente diversas apresentam maior capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais e de oferecer benefícios ao hospedeiro, como indução de resistência e promoção de crescimento vegetal (Porras *et al.*, 2011) Essa diversidade está relacionada a fatores como a identidade do hospedeiro, a parte da planta colonizada (folhas, caules, frutos ou raízes), além de condições edáficas e microclimáticas (Sing *et al.*, 2017; Trivedi *et al.*, 2020; Schonrogue *et al.*, 2021).

Assim, o estudo da diversidade endofítica em *T. grandiflorum* é essencial não apenas para compreender as relações ecológicas da microbiota amazônica, mas também para identificar isolados promissores com potencial de uso em estratégias sustentáveis de manejo fitossanitário, especialmente no controle biológico de *M. pernicios* (Hanada *et al.*, 2010; Rubini *et al.*, 2005)

Diante da importância da cultura do cupuaçu para a bioeconomia regional, e o impacto que a vassoura-de-bruxa representa para esta cultura, este trabalho teve

como objetivo estudar a diversidade de fungos endofíticos associados ao cupuaçuzeiro e avaliar o potencial desses microrganismos na inibição de *M. perniciosus* *in vitro*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) é uma árvore frutífera Amazônica, da família Malvaceae, distribuída espontaneamente no Norte do Brasil (Ducke, 1953). O fruto é conhecido por seu sabor exótico, com aroma ácido e intenso (Costa *et al.*, 2022), e possui potencial econômico, sendo amplamente utilizada nas indústrias de alimentos e de cosméticos (Mota *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2020).

Theobroma grandiflorum é uma espécie perene, diploide ($2n=20$) (Kuhn *et al.*, 2010), em condições naturais pode apresentar altura média de 15 a 25 m e tronco reto com 25 a 30 cm de diâmetro (Souza *et al.*, 2017). No cultivo doméstico, as plantas podem atingir até 8 m de altura e copa com diâmetro de até 7 m, tendo formato variável em função do manejo (Souza *et al.*, 2017; de Souza., 2024). O sistema radicular apresenta raiz pivotante e, nos primeiros 20-25 cm de profundidade do solo, desenvolve uma grande quantidade de raízes laterais ou secundárias (Souza *et al.*, 2017).

Os frutos apresentam coloração cor marrom, com cerca de 12–25 cm de comprimento e variam de 1 a 2 kg de peso médio, as sementes são recobertas por uma espessa polpa mucilaginosa, de cor marfim (Pereira *et al.*, 2018), sendo o principal produto da cultura. A farinha derivada da casca do cupuaçu apresenta um excelente valor nutricional, sendo rica em carboidratos e fibras, e pode ser utilizada em diversas preparações para alimentação humana e animal (Silva *et al.*, 2022). É possível substituir parcial ou totalmente a farinha de trigo pela farinha da casca do cupuaçu no preparo de pães, cookies e outras massas (Curimbaba *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2022). As sementes também podem ser utilizadas para produzir o cupulate, uma alternativa ao chocolate tradicional (Souza *et al.*, 2020; Colli *et al.*, 2023).

A comercialização dos frutos ocorre em feiras livres e mercados, e a polpa congelada é destinada para agroindústrias de doces, iogurtes, supermercados, restaurantes, entre outros (Souza *et al.*, 2020).

Conforme os dados do Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas (IDAM) de 2023, o cultivo de cupuaçu no Estado

do Amazonas contou com 4.090 agricultores familiares e gerou aproximadamente uma safra de 4.845,75 de frutos. Em 2024, o cultivo de cupuaçu manteve o mesmo número de agricultores familiares, com produção estimada em 2.880,43 mil frutos colhidos e 2.762,73 mil frutos comercializados, alcançando uma produção total de 4.845,75 mil frutos no quatro trimestre.

2.2. Vassoura-de-Bruxa

A vassoura-de-bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, é considerada a principal doença do cupuaçuzeiro, e tem gerado perdas significativas de produtividade em plantações comerciais, consorciadas ou individuais de cupuaçu (Aime *et al.*, 2005; Ferraz *et al.*, 2022).

No Brasil a vassoura-de-bruxa está presente nos estados do Acre, Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Mato grosso, Minas gerais, Pará e Rondônia (Souza Filho *et al.*, 2021), bem como em países como Bolívia, Colômbia, República Dominicana, Equador, Guiana Francesa, Granada, Panamá (Sul do Canal do Panamá), Peru, Santa Lúcia, São Vicente, Suriname, Trinidad e Tobago e Venezuela (Souza Filho 2021).

Moniliophthoa perniciosa (Stahel) Aime & Phillips-Mora 2005 (Marasmiaceae) foi primeiramente descrito como *Marasmius pernicius* (Stahel., 1915), e posteriormente posicionado para o gênero *Crinipellis* por Singer (1942), com base na morfologia basidiomatal. Em 2006, Aime e Phillips-Mora, reclassificaram o gênero em *Moniliophthora perniciosa*, com base em extensivas análises filogenéticas de cinco regiões gênica nucleares (28S rDNA, 18S rDNA, ITS, RPB1, e EF1-alpha) (Aime *et al.*, 2005).

De acordo com sua adaptação a diferentes hospedeiras, *Moniliophthora perniciosa* tem sido classificada em distintos biótipos. O biótipo C compreende isolados que infectam plantas da família Malvaceae, incluindo *Theobroma grandiflorum*, *Theobroma cacao* e *Herrania* spp. O biótipo S é associado a espécies da família Solanaceae, enquanto o biótipo B infecta *Bixa orellana* (Bixaceae). Já o biótipo L está relacionado a hospedeiras da família Bignoniaceae (*Liana* spp.), e o biótipo H é específico para membros da família Malpighiaceae (Lisboa *et al.*, 2020). O fungo tem parasitismo hemibiotróficos, a fase biotrófica, coloniza os tecidos meristemáticos da planta de forma intercelular, por meio de um micélio monocariótico, e sem sintomas aparentes (Sena *et al.*, 2014), causando alterações fisiológicas e morfológicas que

ocorrem na planta, como a perda de dominância apical e brotações anormais, resultando no surgimento das vassouras verdes (Falcão *et al.*, 2022) (Figura 1).

A infecção ocorre nas regiões meristemáticas, como gemas axilares e apicais, causando hipertrofia, com brotações vegetativas deformadas e entrenós curtos as quais, após um mês, secam, interferindo significativamente na área fotossintética da planta (Alves *et al.*, 2009). Nas almofadas florais, o fungo induz agrupamentos de flores com tamanhos anormais, que secam precocemente, porém ficam aderidas à planta. Frutos pequenos podem aparecer na extremidade dos pedúnculos, que ficam alongados e quebradiços.

Em frutos jovens, ocorre a formação anormal, endurecimento, parada de crescimento e mumificação, que não chegam à maturidade e ficam aderidos à planta por longo tempo. Quando a infecção dos frutos é tardia, próximo da abscisão, a maturação pode ser completada, porém a polpa e as sementes ficam comprometidas (Alves *et al.*, 2009). A disseminação dos basidiósporos é realizada pelo vento e água da chuva até os sítios de infecção (Venturieri, 1993). O período de incubação varia de três a quatro semanas em cupuaçu, e de quatro a seis semanas em cacauero (Venturieri, 1993).

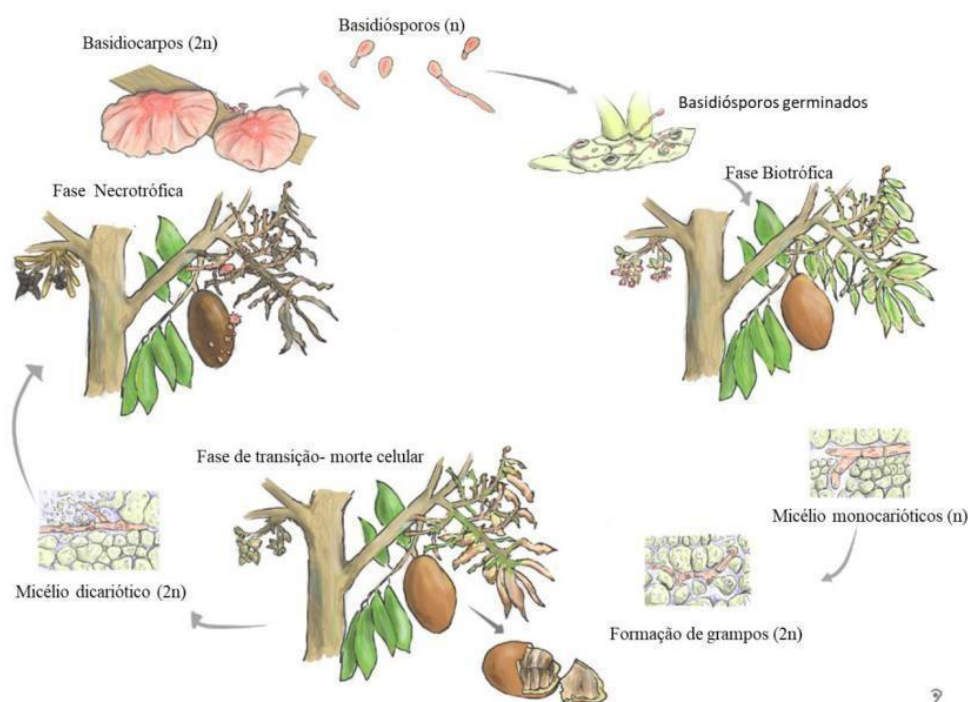


Figura 1: Ciclo de vida de *Moniliophthora perniciosa* em *Theobroma grandiflorum*. Adaptado de (Teixeira *et al.*, 2015).

O manejo da doença é feito com podas fitossanitárias, que tem o objetivo de remover tecidos doentes e reduzir a presença do patógeno na área de plantio. Essa medida é realizada a cada dois meses, removendo as vassouras verdes e secas, além dos frutos mumificados a 1,5 m de altura na planta. Além disso, são removidos da área de plantio os restos de ramos, folhas, pecíolos doentes e frutos mumificados, que servirão de fonte de inóculo para próximas infecções. Após a poda, são aplicados fungicidas a base de cobre no local do corte, para evitar entrada patógenos e reduzir o inóculo inicial (Gasparotto *et al.*, 2001).

Devido a importância social, econômica e ambiental que o cupuaçuzeiro desempenha na região Amazônica, estudos que visem o desenvolvimento desta cultura são de grande interesse para o incremento da cadeia produtiva de forma sustentável.

2.3. Fungos Endofíticos

O termo endofítico está relacionado a microrganismos que habitam tecidos internos de plantas, em algum momento do seu ciclo de vida, incluindo bactérias, fungos, vírus, protozoários ou microalgas, estabelecendo uma relação simbiótica e mutualística, sem causar alterações morfológicas ou sintomas visíveis em suas hospedeiras (Wen *et al.*, 2022). Estes fungos e as plantas terrestres interagem há aproximadamente 400 milhões de anos, e estabelecem uma relação de simbiose, que resulta em efeito benéficos para a planta como, indução de resistência sistêmica contra patógenos e estimulação do crescimento (Farhat *et al.*, 2023).

Os fungos endofíticos têm despertado o interesse de pesquisadores pelos benefícios que podem trazer para plantas cultivadas e pelo potencial para prospecção de moléculas de interesse biotecnológico (Muhammad *et al.*, 2024). Estes são capazes de produzir metabólitos de diferentes classes, como alcaloides, flavonoides, esteroides, compostos fenólicos, e alguns destes com atividade antimicrobiana e aplicação farmacológica (Wen *et al.*, 2022).

Os endofíticos podem ser transmitidos de uma planta para outra, de forma horizontal ou verticalmente. A transmissão horizontal ocorre quando os propágulos vegetativos ou esporos produzidos pelo endofítico se espalham sobre uma população de plantas, pelo ar ou por algum vetor, enquanto a transmissão vertical consiste na

transferência dos fungos para a progênie da planta por meio de sementes (Baron *et al.*, 2022).

Os fungos endofíticos podem ser classificados com base em seu padrão reprodutivo e na especificidade em relação ao hospedeiro. Os membros da família Clavicipitaceae, por exemplo, são endófitos específicos de gramíneas, podendo colonizar tanto os tecidos aéreos quanto as raízes de seus hospedeiros. Esses fungos são transmitidos por vias horizontal e vertical (Alam *et al.*, 2021; Barão *et al.*, 2022). Por outro lado, os endófitos que não pertencem à família Clavicipitaceae são mais amplamente distribuídos, ocorrendo em diversos grupos de plantas, incluindo espécies vasculares e não vasculares (Bamisile *et al.*, 2018).

As plantas hospedeiras fornecem aos fungos endofíticos os nutrientes necessários para sobreviver, e os fungos endofíticos retribuem auxiliando no seu crescimento, desenvolvimento e adaptação, por meio do aumento da absorção de nutrientes, modulando o crescimento das plantas e mitigando os estresses bióticos e abióticos por meio da antibiose, ativação da resistência sistêmica induzida e regulação das vias biossintéticas relacionadas ao estresse (Baron *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023; Barros *et al.*, 2023; Segaran *et al.*, 2019).

2.4. Efeito dos fungos endofíticos sobre as plantas

Um estudo da comunidade endofítica associada a plantas de cupuaçu e cacau, realizado por (Hanada *et al.*, 2010), obteve 13 isolados distribuídos em cinco gêneros com potencial de biocontrole da podridão-preta, causada pelo patógeno *Phytophthora palmivora*, o que demonstra a riqueza de possibilidades biotecnológicas associadas a essas comunidades.

Os endofíticos têm sido amplamente utilizados como recursos microbianos promissores e sustentáveis para agricultura, com atividade favorável à promoção do crescimento das plantas, como biofertilizantes ou agentes de biocontrole de doenças sem prejudicar o ambiente (Bingzhu *et al.*, 2020).

O controle biológico é a redução da quantidade de inóculo ou da atividade causadora de doenças de um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não sejam humanos. A definição acima de controle biológico foi proposta por Cook e Baker (1983). Isso pode ser executado por (1) introdução de uma cepa avirulenta ou menos virulenta do patógeno no campo agrícola (2) aplicação de micróbios antagônicos ou produtos microbianos e (3) manobra do sistema de defesa da planta hospedeira contra patógenos (Alabouvette *et al.*, 2006). O conceito de antagonismo

microbiano opera em uma interação direta entre diferentes micróbios, seja impondo parasitismo, seja pela competição pelo nicho, seja pela secreção de certos componentes antimicrobianos.

Fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Steganosporium* e *Phoma*, apresentam tolerância à toxicidade de metais em ambientes poluídos, e podem resgatar plantas dos efeitos negativos do estresse induzido por metais, ativando as vias de biossintéticas de produção de hormônios, responsivos ao estresse e sistemas antioxidantes, para promover o crescimento e a tolerância e reduzir o acúmulo de metais, tornando as plantas mais seguras para o consumo (Bilal *et al.*, 2019).

Em ensaios com plantas de girassol (*Helianthus annuus*) e soja (*Glycine max*), foi observado uma melhoria no crescimento quando inoculadas com uma cepa termotolerante de *Aspergillus niger* (MH577053) sob estresse térmico a 40 °C, sendo uma alternativa para proteger as plantações dos estresses ambientais (Ismail *et al.*, 2020).

Endofíticos isolados de orquídeas (*Anoectochilus roxburghii* e *Ludisia*), *Chaetomium globosum* (J162) e *Colletotrichum gloeosporioides* (J211) promoveram crescimento de forma significativa de plantas de *A. roxburghii*, melhorando o peso fresco total e o peso seco, com pesos secos totais 12,50 e 13,75% maiores que as plantas controle. Estes estudos sugerem que fungos endofíticos são benéficos para as plantas melhorando a qualidade e o rendimento (Ye *et al.*, 2020).

Outras espécies fúngicas como *Acrocalymma vagum*, *Setophoma terrestris*, *Fusarium oxysporum* e *Pyrenophora gallaeciana*, promoveram o crescimento de *Brassica rapa*, *B. napus*, *B. nigra*, *B. juncea* e *B. carinata*, devido a produção de auxinas, sideróforos, solubilização de fósforo ou atividade de celulase, xilanase ou amilase (Poveda *et al.*, 2022). Isolados endofíticos de *Curvularia lunata* (NRRI EF-11) e *Hypocreales sp.* (NRRI EF-8) apresentaram aumento da produtividade do arroz (*Oryza sativa* L) devido a produção de ácido indol acético (IAA) e fosfato inorgânico (IP) (Jena *et al.*, 2024), demonstrando que em alguns casos os endofíticos podem influenciar positivamente o crescimento das plantas.

2.5. Efeito de fungos endofíticos sobre fitopatógenos

Os fungos endofíticos podem produzir compostos bioativos com propriedades antibacterianas, inseticidas e antifúngicas, reduzindo o crescimento de fitopatógenos (Farhat *et al.*, 2023). Também induzem o sistema de defesa da hospedeira por meio da modulação dos níveis de fito-hormônios, inibição direta por meio da competição

por espaço e nutrientes, micoparasitismo ou antibiose, ou indireta por meio da indução de resistência (Latz *et al.*, 2018; Pavithra *et al.*, 2020; Wagar *et al.*, 2024).

Fungos endofíticos dos gêneros *Colletotrichum*, *Botryosphaeria*, *Xylaria* e *Phomopsis*, foram obtidos a partir de folhas e ramos de plantas de cacau, e restringiram o crescimento *in vitro* em 40%, 65% e 27% contra *Phytophthora palmivora*, *Moniliophthora roreri* e *M. perniciosa*, respectivamente (Mejía *et al.*, *et al.* 2008).

Da mesma forma (Silva Santos *et al.*, 2022) observaram que os fungos endofíticos utilizados no trabalho *Colletotrichum siamense* e *Diaporthe masirevicii*, provenientes de folhas sadias de planta de camarão mexicana (*Justicia brandegeana*) mostraram inibição *in vitro* com taxas de inibição variando entre 68,19 e 54,21% contra o fitopatógeno *Fusarium oxysporum*. Já em experimentos em casa de vegetação foi possível observar os efeitos promotores de crescimento desses endofíticos e a supressão dos sintomas de *F. oxysporum* em plantas de tomateiro.

Da mesma forma 1 6 8 isolados endofíticos foram isolados de planta de açaí e testados para controlar o crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*, entretanto apenas 151 foram capazes de inibir o crescimento do fitopatógeno, destacando-se gêneros de *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Pestalotiopsis*, *Nigrospora*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Guignardia*, *Acremonium*, *Daldinia* e *Paecilomyces* (Peters *et al.*, 2020).

Em outros trabalhos o fungo endofítico *Lasiodiplodia pseudotheobromae* inibiu significativamente o crescimento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* ($70 \pm 0,15\%$) *Rhizoctonia solani* ($66 \pm 0,1\%$), e *Macrophomina phaseolina* ($54 \pm 0,1\%$) O fungo endofítico recobrando completamente o patógeno em apenas 72 horas (Segaran *et al.*, 2023).

Em folhas sadias provenientes de batata o fungo endofítico *Talaromyces muroii* (SD-14) inibiu 69,19% da taxa de crescimento micelial do patógeno *Alternaria alternata in vitro*, obtendo também bons resultados em experimento em campo, reduzindo a severidade da doença demonstrando o potencial de biocontrole contra a doença mancha foliar da batata (Zhang *et al.*, 2024).

O uso de fungos endofíticos como agentes de biocontrole de fitopatógenos pode ser uma alternativa para a agricultura sustentável (Segaran, 2019). O estímulo à pesquisa científica atual está voltado para a conscientização sobre a importância da sustentabilidade, visando a proteção do meio ambiente e a redução de impactos negativos da agricultura convencional (Baron *et al.*, 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Estudar a diversidade de fungos endofíticos associados a plantas de cupuaçuzeiro sadias e com sintomas de vassoura-de-bruxa, e avaliar o potencial desses fungos como agentes de biocontrole de *Moniliophthora perniciosa*.

3.2. Objetivos específicos

1. Isolar e identificar os microrganismos endofíticos cultiváveis a partir de plantas de cupuaçuzeiro com e sem sintomas de vassoura-de-bruxa.
2. Inferir sobre a diversidade de fungos endofíticos associados a plantas de cupuaçuzeiro, com e sem sintomas de vassoura-de-bruxa.
3. Testar o potencial dos fungos endofíticos como agentes de biocontrole de *Moniliophthora perniciosa in vitro*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta de material e isolamento de fungos endofíticos

As coletas foram realizadas em áreas produtoras de cupuaçu nos municípios de Manaus (CEPLAC: 2°33'32"S 60°01'33.78"W), Presidente Figueiredo (2°03'10"S 59°4'06"W) e Itacoatiara (Novo remanso) no estado do Amazonas.

Em cada área foram selecionadas aleatoriamente cinco plantas de cupuaçu com e sem sintomas da doença vassoura-de-bruxa. Foram coletadas 10 folhas, depositadas em saco de papel e transportadas para o Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Faculdade de Ciências Agrárias/UFAM, onde foi realizado o isolamento dos fungos endofíticos.

O isolamento seguiu o método descrito por (Santos *et al.*, 2020), inicialmente, as folhas foram lavadas em água corrente e depois secas em temperatura ambiente ($\pm 26^{\circ}\text{C}$). De cada planta, foram selecionadas três folhas sem danos visíveis, e cada folha foi dividida em quatro quadrantes. De cada quadrante retiraram-se três fragmentos de 1 cm^2 , totalizando 12 fragmentos por folha, que foram submetidos à desinfestação superficial em etanol 70% por 1 minuto, seguida de hipoclorito de sódio (NaCl) a 1,5% por 1 minuto, e, finalizando com três lavagens em água destilada esterilizada.

Após a desinfestação, as bordas dos fragmentos foram removidas, obtendo as amostras de $0,5\text{ cm}^2$, em seguida foram plaqueados em placas de Petri de 8cm de diâmetro, contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Àgar; Millipore, Darmstadt,

Alemanha) suplementado com 250 gm L⁻¹ de clorafenicol (Amresco, Solon, OH, EUA). A eficiência da desinfestação foi verificada pela deposição de uma alíquota de 50 µL da água usada na última lavagem dos fragmentos em meio de cultura BDA. As placas foram mantidas incubadora B.O.D (Tecnal) a 28 °C, na ausência de fotoperíodo.

Após 24-48 horas em B.O.D foi realizada a repicagem dos primeiros fragmentos de hifa para novas placas contendo o mesmo meio de cultura para o desenvolvimento das colônias. Os isolados obtidos foram agrupados em morfotipos de acordo com as características morfológicas das colônias e estruturas reprodutivas, que foram observadas em lâminas de microscopia contendo corante azul de algodão (1%) em lactofenol, usando um microscópio de luz (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) sob objetiva de 40X.

Para manter a uniformidade genética dos isolados, foram obtidas culturas monospóricas de cada morfotipo (Pinho *et al.*, 2016), preservados pelo método de Castellani (Castellani, 1939) e mantidas na coleção de isolados do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFAM. O isolado de *Moniliophthora perniciosa* foi cedido pela Embrapa Amazônia Ocidental.

4.2. Identificação molecular dos isolados endofíticos e de *Moniliophthora perniciosa*

4.2.1. Extração do DNA

O DNA foi obtido a partir de culturas monospóricas com dez dias de cultivo em placas de Petri contendo meio BDA, seguindo o protocolo proposto por Doyle e Doyle (1987). O micélio de cada isolado foi removido da superfície da colônia com o auxílio de uma espátula estéril, macerado com nitrogênio líquido, homogeneizado com detergente CTAB (brometo de cetil-trimetilamônio). A mistura foi incubada em banho-Maria a 37 °C durante 30 minutos. Após o resfriamento em temperatura ambiente, os DNAs foram extraídos com clorofórmio e álcool isoamílico (24:1 v/v), precipitado com isopropanol, e lavado com etanol 75%. A ressuspensão foi realizada com água ultrapura (30 µL).

A concentração e a qualidade dos DNAs extraídos foi determinada em espectrofotômetro (Nanodrop® 2000c), através da razão A260nm/A280nm, e em eletroforese em gel de agarose (0,8%). A concentração final dos DNAs foi ajustada para 10 ng/µl e estes foram armazenados à temperatura de 4 °C para posterior uso.

4.2.2. PCR e sequenciamento

A reação em cadeia de polimerase (PCR) foi realizada para amplificar a região genômica parcial do espaçador interno transcrito (ITS do rDNA) com os oligonucleotídeos ITS1 e ITS4 (ITS1F 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'/ITS4R-5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') (WHITE *et al.*, 1990). As amostras foram preparadas em volume final de 12 µl, contendo 1 µl de DNA, 2,4 µl de tampão incolor GoTaq® Flexi (5X) (Promega, Madison, WI, USA), 0,8 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,5 µl de dNTPs (10 mM), 0,5 µl de cada iniciador (10 µM), 0,12 µl da enzima GoTaq® DNA polimerase (Promega, Madison, WI, USA) e 6,18 µl de água ultrapura.

A reação de PCR foi realizada em termociclador (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), nas seguintes condições: etapa inicial de 5 min a 94 °C, seguida de 35 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s a 52 °C e 30 s a 72 °C, e uma etapa final de 10 min a 72 °C. Para excluir a possibilidade de contaminação dos reagentes, foram preparados controles negativos substituindo o DNA pela água usada na reação.

Os *amplicons* gerados foram verificados em gel de agarose (1%) corado com Gel Red™ (Biotium, Fremont, CA, USA), usando marcador de peso molecular de 100 pares de base (Sinapse Biotecnologia, São Paulo, Brasil).

Os produtos de PCR foram purificados com 4 µl de Exosap (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), posteriormente foram levados para o termociclador nas seguintes condições para a purificação: 37 °C/30 min, 80 °C/15 min, 10 °C/1 min. O sequenciamento Sanger foi realizado utilizando o kit BigDye® Terminator (v3.1 Cycle Sequencing, CA, USA), para um volume final de 10 µl. Os produtos da PCR foram precipitados com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e etanol (EtOH), e ressuspendidos em 10 µL de formamida Hi-Di. As leituras dos produtos de PCR foram feitas em sequenciador automático ABI 3130 (Applied Biosystems Foster, City, CA, USA) no Laboratório de Biodegradação da UFAM.

Somente isolados obtidos de plantas saudáveis, coletadas no município de Presidente Figueiredo, foram submetidos ao sequenciamento para identificação dos gêneros, devido à baixa qualidade dos DNAs obtidos de isolados de plantas doentes desta localidade. Os isolados estão preservados no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFAM para posteriores análises.

4.2.3. Análises filogenéticas

Os eletroferogramas obtidos no sequenciamento foram analisados com o programa SeqAssem® (Hepperle, 2004). As sequências obtidas foram comparadas com sequências de ITS depositadas no GenBank do NCBI (National Center for Biotechnology Information) utilizando a ferramenta BLAST (Nilsson *et al.*, 2019).

As sequências ITS dos fungos endofíticos deste trabalho e sequências referências que apresentaram as maiores percentagem de identidade no BLAST, foram alinhadas com o algoritmo Clustalw (Thompson *et al.*, 1997), implementado no programa MEGA12 (Tamura *et al.*, *et al.* 2016). As filogenias foram construídas para o filo Ascomycota, utilizando o método de máxima verossimilhança RAxMLHPC v.8 no XSEDE 8.2.12 (Stamatakis, 2014), pelo portal CIPRES (Schwartz *et al.*, 2011). A árvore filogenética foi visualizada usando o software FigTree v1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/>), e editada no software Inkscape 0.92 (<https://inkscape.org/>). As sequências dos fungos endofíticos deste estudo foram depositadas no GenBank, conforme anexo 1 (Tabela S1)

4.3. Análises de diversidade e composição taxonômica

A análise da diversidade e da composição taxonômica dos fungos endofíticos foi realizada com base nos dados obtidos a partir do sequenciamento molecular e do isolamento. Os isolados foram identificados até o nível de gênero e, quando possível, até o nível de espécie. A partir dessas identificações, foram construídas tabelas de abundância para cada município amostrado, discriminando entre os fenótipos de plantas de cupuaçuzeiro consideradas saudáveis e aquelas com sintomas de doenças.

Essas tabelas foram utilizadas para análises comparativas da composição taxonômica e da diversidade entre os municípios e os fenótipos. A composição taxonômica foi representada graficamente com barplots utilizando o pacote ggplot2 (Wickham, 2016) RStudio (versão 1.2.5042; R Core Team, 2020), permitindo a visualização clara da distribuição dos gêneros em cada condição avaliada.

As estimativas de diversidade foram calculadas com base na diversidade alfa, que representa a diversidade média de espécies dentro de um local ou unidade amostral. Foram utilizadas curvas de rarefação (interpolação) e extrapolação baseadas nos números de Hill (Hill, 1973), que integram a riqueza e a abundância

relativa das espécies. Nesse contexto, os valores de q indicam diferentes sensibilidades às espécies raras ou abundantes, onde $q = 0$: riqueza de espécies (todas as espécies contam igualmente), $q = 1$: índice de Shannon-Wiener (espécies são ponderadas pela abundância), $q = 2$: índice de Simpson (maior peso para espécies mais abundantes).

As estimativas foram obtidas utilizando os pacotes *vegan* (Oksanen *et al.* 2019) e *iNEXT* (Chao *et al.*, 2016) no software R. Os números de Hill, são estimativas de dados empíricos que tendem a ser uma função crescente do esforço amostral e são usados para caracterizar a diversidade taxonômica filogenética e funcional (Chao, 2014). Hill (1973) integrou riqueza e abundância de espécies em uma classe de medidas que atualmente é chamada Hill números, onde $q = 0$ corresponde à riqueza de espécies, $q = 1$ Entropia de Shannon - Wiener e $q = 2$ Simpson.

4.4. Avaliação do potencial de biocontrole de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos *in vitro*

A avaliação do potencial dos fungos endofíticos na inibição do crescimento de *M. perniciosa in vitro* foi verificada com um ensaio de culturas pareadas descritos por Dennis *et al.*, (1971). Os fungos endofíticos e o fitopatógeno foram cultivados durante sete dias em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, acondicionados em BOD a 28 °C. Para os ensaios foram usadas placas de Petri de 8 cm de diâmetro contendo o mesmo meio de cultura de B.D.A.

Em cada placa, foi depositado um disco de micélio do fitopatógeno e um disco de cultura do endofítico em direções opostas, distantes 1 cm da borda da placa, e mantidas em BOD a 28 °C, até que um dos tratamentos alcance as bordas da placa. Foram avaliados 132 isolados de fungos endofíticos com o delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições. A testemunha consistiu em discos de cultura do fitopatógeno que foram pareadas com discos de meio de cultura BDA. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas. Foram avaliados três tipos de interações entre os fitopatógenos e os fungos endofíticos, conforme definido por Meíja *et al.*, (2008): i) antibiose (caracterizada pela presença de uma zona de inibição entre o endofítico e o patógeno; ii) competição por substrato (maior crescimento de um organismo por outro); e iii) neutra (crescimento similar de ambos os organismos). O crescimento radial do patógeno em relação ao endofítico foi determinado pela fórmula Inibição (%) = $(R-r)/R * 100$ (Lee, *et al.*, 2014):

Onde:

R = crescimento radial do patógeno na placa controle;

r = crescimento radial do patógeno em culturas pareadas.

Os dados foram submetidos à análise de variância dos (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey (5%) utilizando o pacote Agricolae no programa R (Mendiburu, 2013) Rstudio versão 1.2.5042 (R Core Team., 2020).

5. RESULTADOS

5.1. Isolamento e identificação dos isolados

A partir de plantas de *T. grandiflorum* com e sem sintomas de vassoura-de-bruxa, foram obtidos 347 isolados de fungos endofíticos, distribuídos em 13 gêneros: *Colletotrichum*, *Daldinia*, *Lasiodiplodia*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Pestalotiopsis*, *Diaporthe*, *Hypoxylon*, *Phomopsis*, *Calonectria*, *Endomelanconiopsis*, *Aspergillus*, *Periconia* (Figura 1), na árvore filogenética foram colocados um indivíduo representante de cada gênero encontrado.

Todos os isolados pertencem ao filo Ascomycota, com representantes nas classes Sordariomycetes, Dothideomycetes, Eurotiomycetes e um representante da Ordem Xylariales, que não foi possível identificar em nível de gênero (Tabela 1). Vale ressaltar que somente isolados obtidos de plantas saudáveis, coletadas no município de Presidente Figueiredo, foram submetidos ao sequenciamento para identificação dos gêneros, devido à baixa qualidade dos DNAs obtidos de isolados de plantas doentes desta localidade. Os Isolados estão preservados no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UFAM para posteriores análises.

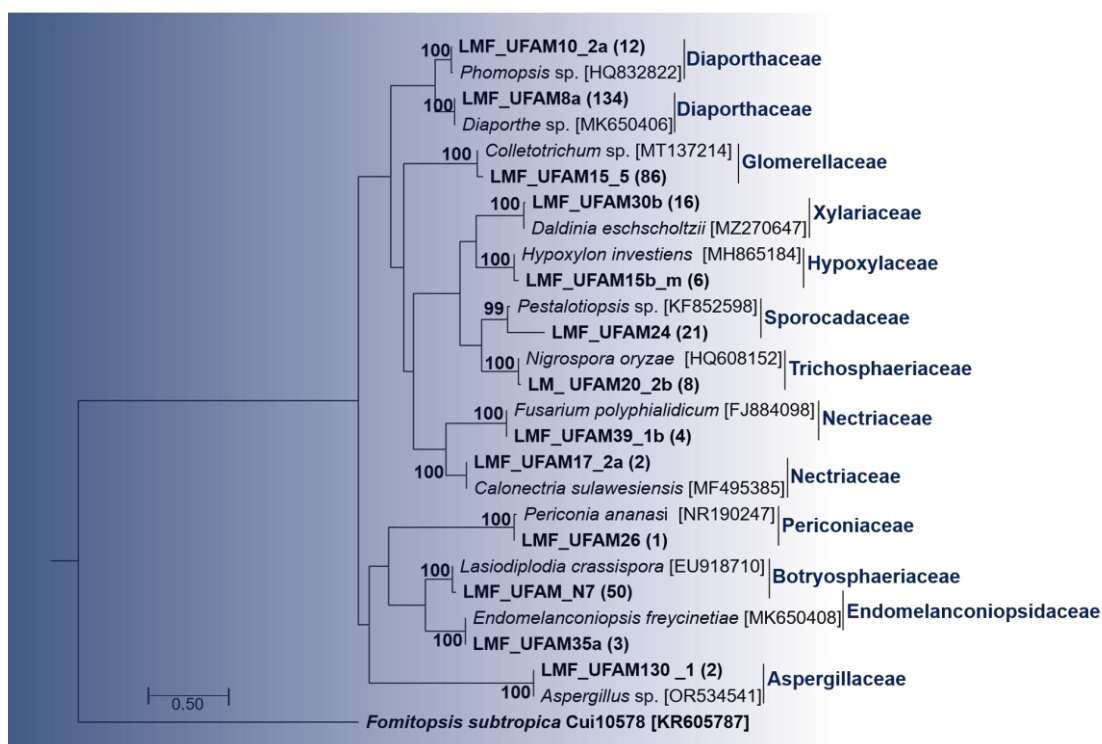


Figura 2: Árvore filogenética máximoverossimilhança baseada no sequenciamento da região ITS do rDNA de fungos endofíticos pertencentes ao filo Ascomycota, isolados de *Theobroma grandiflorum*.

Tabela 1. Identificação dos fungos endofíticos isolados de tecidos vegetais de *Theobroma grandiflorum*.

Classe	Ordem	Família	Gênero	N°
Sordariomycetes	Glomerellales	Glomerellaceae	<i>Colletotrichum</i>	86
Sordariomycetes	Diaporthales	Diaporthaceae	<i>Diaporthe</i>	134
Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	4
Sordariomycetes	Diaporthales	Diaporthaceae	<i>Phomopsis</i>	12
Sordariomycetes	Xylariales	Hypoxylaceae	<i>Hypoxylon</i>	6
Sordariomycetes	Xylariales	Hypoxylaceae	<i>Daldinia</i>	16
Ascomycetes	Xylariales	Xylariaceae	N.I	2
Dothideomycetes	Botryosphaeriales	Botryosphaeriaceae	<i>Lasiodiplodia</i>	50

Dothideomycetes	Botryosphaeriales	Endomelanconio psidaceae	<i>Endomelanconio psis</i>	3
Sordariomycetes	Xylariales	Sporocadaceae	<i>Pestalotiopsis</i>	21
Sordariomycetes	Trichosphaeriales	Trichosphaeriace ae	<i>Nigrospora</i>	8
Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Calonectria</i>	2
Dothideomycetes	Pleosporales	Periconiaceae	Periconia	1
Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	Aspergillus	2
Número total de isolados				347

Nº: número de isolados obtidos por gênero

N.I: não identificado

5.2. Análise da composição taxonômica e diversidade

A composição taxonômica dos fungos endofíticos isolados de *T. grandiflorum* variou entre plantas sadias e doentes nos diferentes municípios avaliados (Figura 2). Em Itacoatiara, observou-se maior abundância dos gêneros *Diaporthe* e *Lasiodiplodia* tanto em plantas sadias quanto doentes, com predominância de *Diaporthe* nas plantas sadias de Manaus e Itacoatiara. Contudo, alguns gêneros, como *fusarium*, foi exclusivo para plantas doentes.

Em Manaus, a comunidade fúngica apresentou composição semelhante, destacando-se *Diaporthe*, *Lasiodiplodia* e *Endomelanconiopsis*. Em Presidente Figueiredo, a diversidade foi menor, com predominância de *Colletotrichum* em plantas doentes e ausência desses gêneros nas sadias, por outro lado, *Lasiodiplodia* foram encontrados apenas em plantas doentes, não havendo gêneros exclusivos das plantas sadias nesse local.

Essas diferenças indicam que a composição de fungos endofíticos varia tanto em função do fenótipo da planta (sadia e doente) quanto do local de coleta, sugerindo influência das condições ambientais e do estado fitossanitário sobre a comunidade fúngica associada ao cupuaçuzeiro.

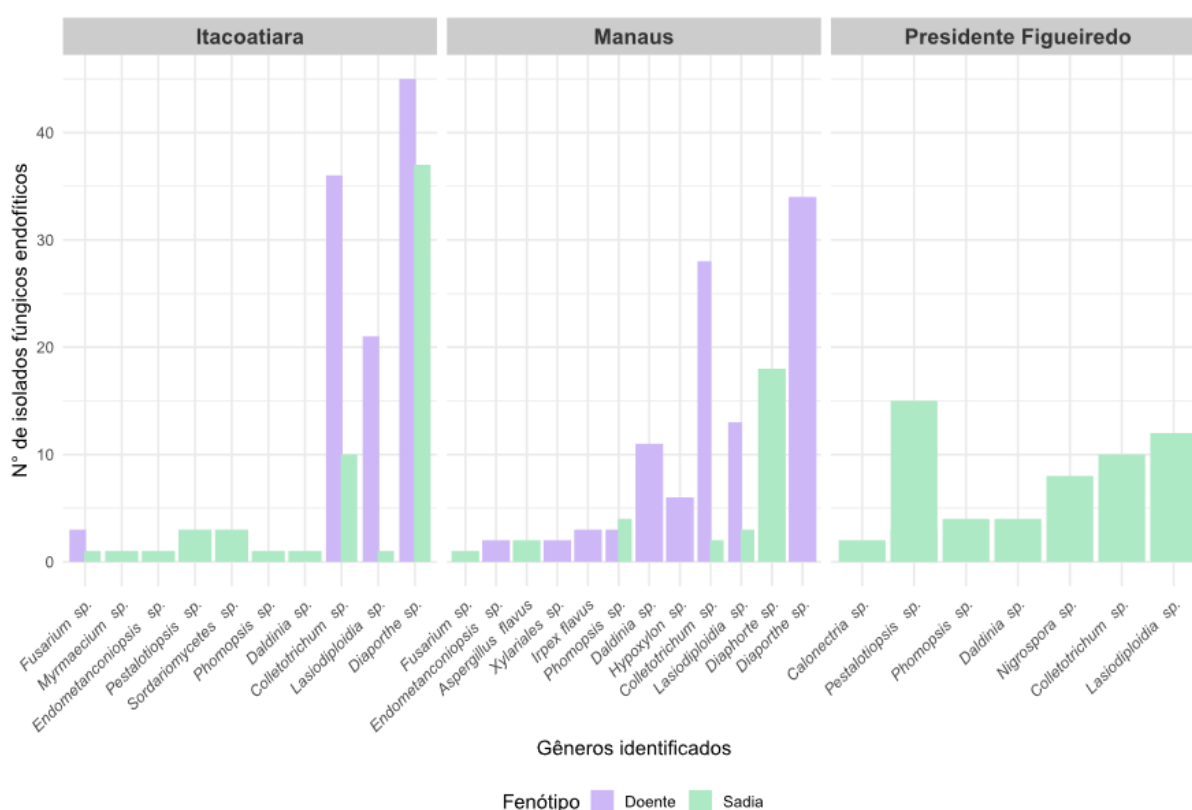


Figura 3: Composição taxonômica de fungos endofíticos obtidos de *Theobroma grandiflorum*, obtidos de plantas doentes (vassoura-de-bruxa).

A comparação dos índices de diversidade alfa revelou variações significativas na composição das comunidades de fungos endofíticos associadas a *Theobroma grandiflorum*, considerando diferentes municípios e estados fitossanitários. Com relação à riqueza de espécies ($q = 0$), as amostras de plantas sadias de Itacoatiara apresentaram o maior valor ($q_0 = 10,0$), seguidas pelas plantas doentes de Manaus ($q_0 = 9,0$), indicando a presença de um maior número de táxons distintos nessas localidades (Tabela 2).

Para o índice de Shannon ($q = 1$), que leva em conta tanto a riqueza quanto a equitatividade das espécies, os maiores valores foram observados em plantas sadias de Presidente Figueiredo ($q_1 = 5,8$) e em plantas doentes de Manaus ($q_1 = 5,7$). As demais amostras apresentaram valores mais baixos, variando entre $q_1 = 3,1$ e $q_1 = 3,7$. No caso da diversidade de Simpson ($q = 2$), que atribui maior peso às espécies mais abundantes, as plantas sadias de Presidente Figueiredo também se destacaram

($q_2 = 5,1$), seguidas pelas plantas doentes de Manaus ($q_2 = 4,5$). Nas demais localidades, os valores oscilaram entre $q_2 = 2,3$ e $q_2 = 2,9$, indicando comunidades mais dominadas por poucas espécies.

Esses resultados indicam que a condição fitossanitária das plantas não influenciou de forma uniforme a diversidade endofítica. Embora plantas sadias de Itacoatiara tenham apresentado maior riqueza (q_0), as plantas doentes de Manaus e as sadias de Presidente Figueiredo apresentaram os maiores valores para os índices que consideram a abundância relativa das espécies (q_1 e q_2), sugerindo comunidades mais equilibradas e diversas nesses contextos.

Tabela 2. Índices de diversidade alfa da comunidade de fungos endofíticos obtidos de *Theobroma grandiflorum*, doentes e sadias no Amazonas.

Procedência (AM)	Fenótipo	N° de isolados	Riqueza (q0)	Shannon (q1)	Simpson (q2)
Itacoatiara	Doente	105	4.0	3.1	2.9
Itacoatiara	Sadia	55	10.0	3.7	2.3
Manaus	Doente	99	9.0	5.7	4.5
Manaus	Sadia	30	6.0	3.5	2.5
Presidente Figueiredo	Sadia	58	7.0	5.8	5.1

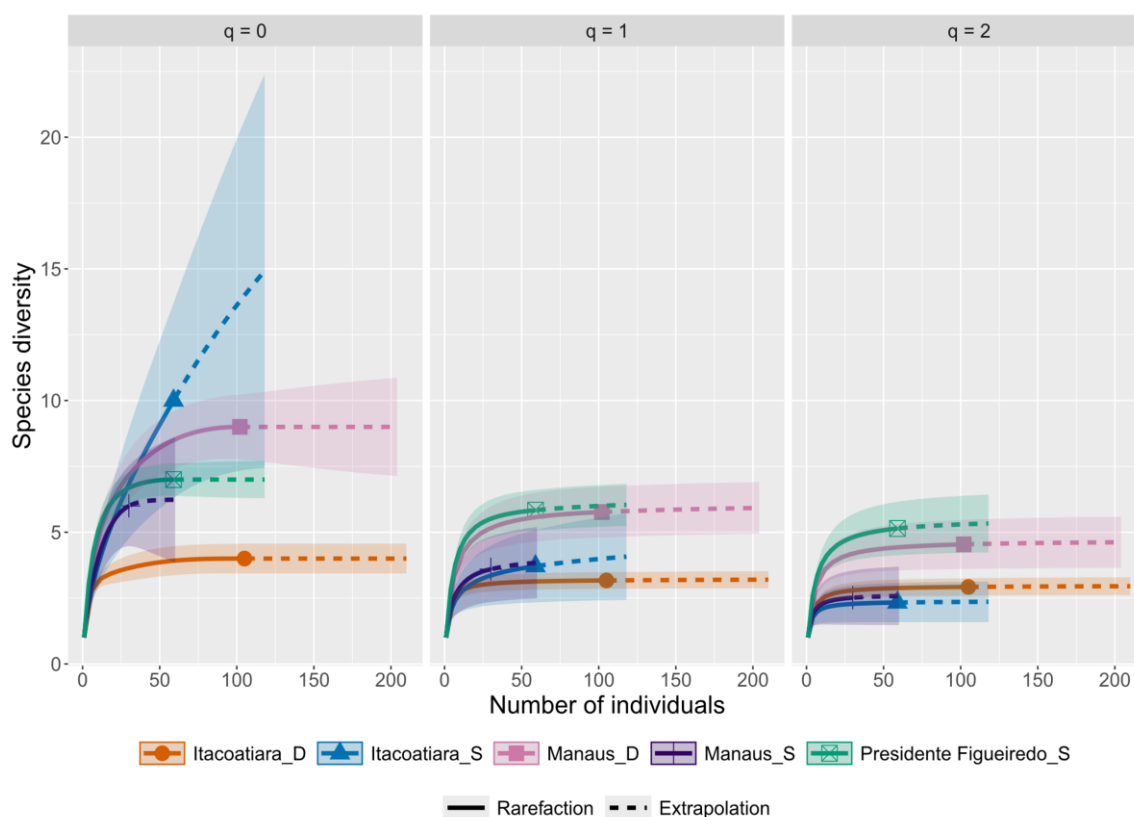


Figura 4: Curvas de rarefação (linhas contínuas) e extrapolação (linhas tracejadas) da diversidade de fungos endofíticos isolados de *Theobroma grandiflorum* em diferentes municípios do Amazonas.

As curvas de rarefação e extrapolação (Figura 3) corroboram os padrões observados nos índices de diversidade alfa apresentados na Tabela 2. Observa-se que as plantas sadias de Itacoatiara e as plantas doentes de Manaus exibiram maior riqueza de espécies ($q = 0$), com curvas em ascensão, sugerindo que o esforço amostral realizado nessas localidades ainda não foi suficiente para captar completamente a diversidade endofítica presente.

Por outro lado, as curvas correspondentes às plantas sadias de Manaus e de Presidente Figueiredo apresentaram tendência à estabilização (platô), indicando que a maioria das espécies endofíticas já foi amostrada nessas condições. Esses resultados evidenciam não apenas variações na riqueza e na composição das comunidades fúngicas entre os diferentes grupos analisados, mas também apontam para níveis distintos de saturação amostral, o que deve ser considerado na interpretação da diversidade observada.

5.3 Avaliação do potencial de biocontrole *in vitro* de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos

Foram avaliados 132 isolados endofíticos obtidos de plantas de cupuaçuzeiro, sadias e doentes com vassoura-de-bruxa, quanto ao potencial de inibição do crescimento micelial de *M. perniciosa in vitro*, usando a técnica de pareamento de colônias. Foram observados mecanismo de competição por nutrientes e espaço, não sendo observada inibição do fitopatógeno por meio de antibiose.

Foi possível observar que os fungos endofíticos avaliados apresentaram velocidade de crescimento micelial superior à *M. perniciosa*, em um intervalo de três a cinco dias, para que a colônia do endofítico atingisse a borda da placa de Petri (Figura 4), enquanto para o fitopatógeno esse período foi em torno de 10 dias, sugerindo uma maior habilidade competitiva por nutrientes por parte dos endofíticos (Figuras 4, 5, 6, e 7).

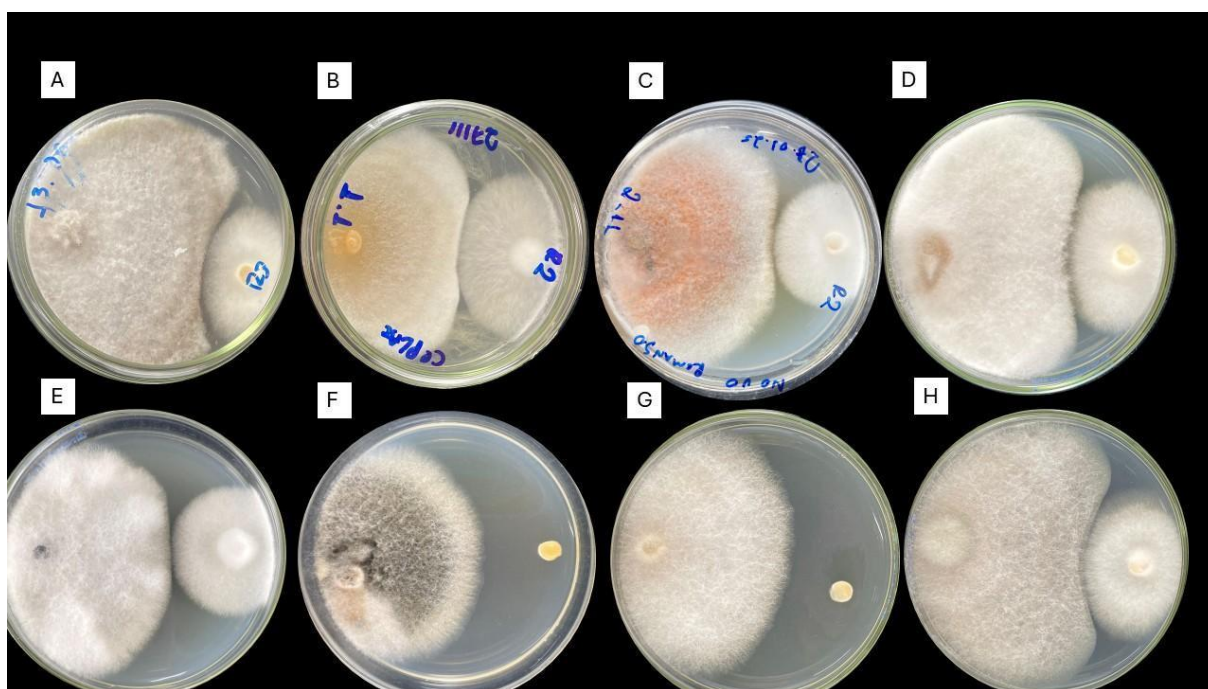


Figura 5: Teste de inibição de crescimento micelial de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos do gênero *Colletotrichum* sp.

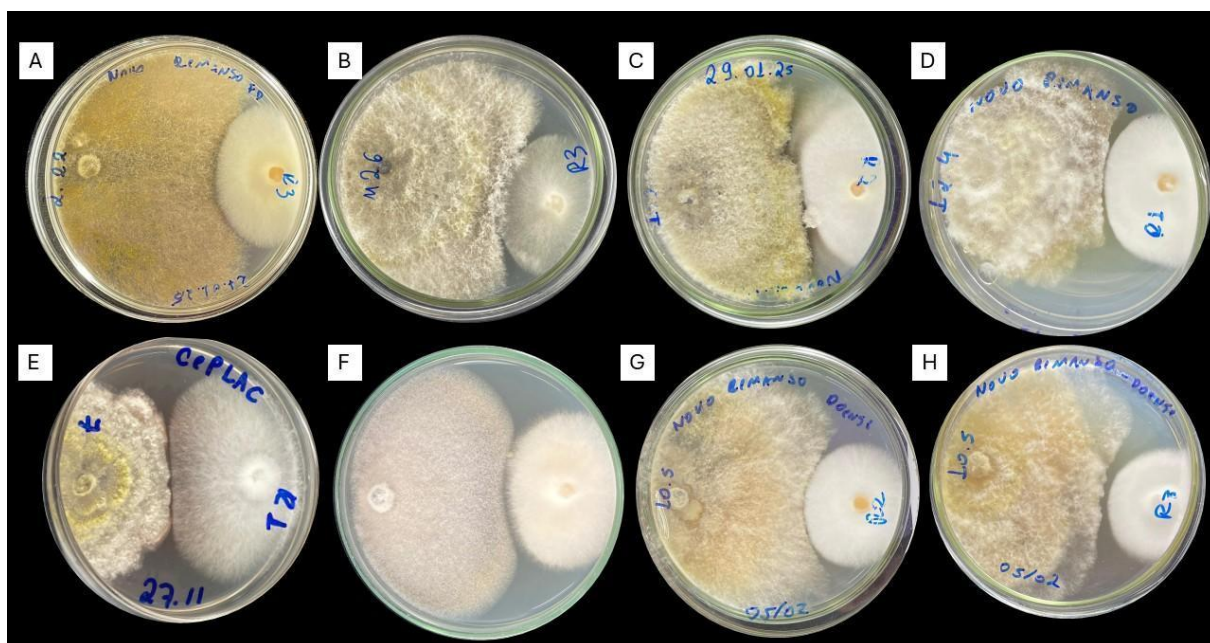


Figura 6: Teste de inibição de crescimento micelial de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos do gênero *Diaporthe* sp.



Figura 7: Teste de inibição de crescimento micelial de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos do gênero *Lasiodiplodia* sp.

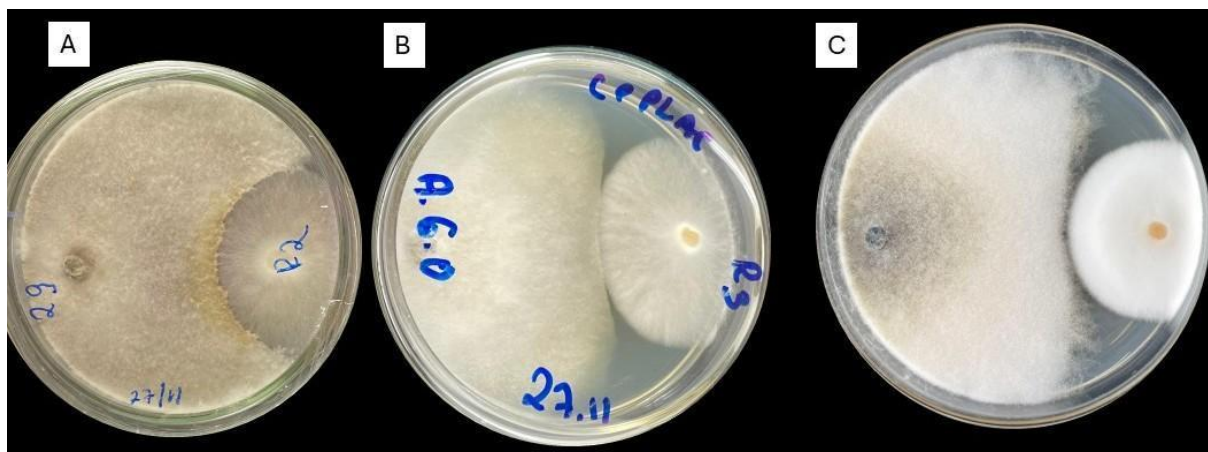


Figura 8: Teste de inibição de crescimento micelial de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos dos gêneros: (A) *Daldinia* sp., (B) Fungo da família Xylariales, não identificado, (C) *Nigrospora* sp.

Foram avaliados isolados endofíticos dos gêneros *Lasiodiplodia* (10 isolados), *Colletotrichum* (20), *Diaporthe* (28), *Daldinia* (4), *Nigrospora* (2), *Phomopsis* (1), *Hipoxylon* (1), um isolado da família Xylariales e 66 isolados que não foram identificados molecularmente e não apresentaram estruturas reprodutivas que permitissem a identificação morfológica (Tabela 3).

Houve uma ampla variação na inibição do crescimento micelial do fitopatógeno pelos diferentes gêneros testados. Para o gênero *Lasiodiplodia*, a porcentagem de inibição variou de 93,3% LMF_UFAM_16.4a a 35,8% LMF_UFAM_14, seguido pelos isolados de *Colletotrichum* com 90,2% LMF_UFAM_14.3 a LMF_UFAM_1.1, *Diaporthe* com 91.1% LMF_LMF_UFAM_7. Os isolados não identificados com 90.7% LMF_UFAM_15.16 e 0% LMF_UFAM_16 de inibição.

Tabela 3. Porcentagem de inibição de crescimento micelial de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos obtidos de plantas de *Theobroma grandiflorum*.

Número	Código	Gênero	% Inibição
1	9.2	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	69,2 abcdefg
2	9.4	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	56,9 abcdefg
3	9.1	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	74,2 abcdefg
4	9.3	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	71,2 abcdefg
5	12a	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	76,1 abcdefg
6	5.1	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	59,6 abcdefg

7	10.1	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	54,4abcdefg
8	14	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	35,8abcdefg
9	16.16	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	72,9abcdefg
10	16.4	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	93,3a
11	1.5	<i>Colletotrichum</i> sp.	59,6abcdefg
12	1.2	<i>Colletotrichum</i> sp.	30,0abcdefg
13	1.9	<i>Colletotrichum</i> sp.	12,1efg
14	1.1	<i>Colletotrichum</i> sp.	2,4g
15	2.6	<i>Colletotrichum</i> sp.	17,8cdefg
16	2.11	<i>Colletotrichum</i> sp.	43,3abcdefg
17	15.2	<i>Colletotrichum</i> sp.	52,6abcdefg
18	14.8	<i>Colletotrichum</i> sp.	73,8abcdefg
19	13.1	<i>Colletotrichum</i> sp.	79,9abcdef
20	15.12	<i>Colletotrichum</i> sp.	76,4abcdefg
21	13.29	<i>Colletotrichum</i> sp.	82,2abcdef
22	15.1.3	<i>Colletotrichum</i> sp.	88,3abc
23	15.9	<i>Colletotrichum</i> sp.	20,8bcdefg
24	21.12	<i>Colletotrichum</i> sp.	88,4abc
25	21.18	<i>Colletotrichum</i> sp.	85,9abcd
26	15.3	<i>Colletotrichum</i> sp.	86,3abcd
27	21.7	<i>Colletotrichum</i> sp.	33,0abcdefg
28	21.11	<i>Colletotrichum</i> sp.	24,4abcdefg
29	14.03	<i>Colletotrichum</i> sp.	90,2ab
30	46	<i>Colletotrichum</i> sp.	20,9bcdefg
31	18.8	<i>Nisgropora</i> sp.	26,3abcdefg
32	18.2	<i>Nisgropora</i> sp.	41,4abcdefg
33	26	<i>Diaporthe</i> sp.	31,6abcdefg
34	1.3	<i>Diaporthe</i> sp.	88,1abc
35	4.1	<i>Diaporthe</i> sp.	87,7abc
36	22.a	<i>Diaporthe</i> sp.	30,0abcdefg
37	18.1b	<i>Diaporthe</i> sp.	40,4abcdefg
38	7	<i>Diaporthe</i> sp.	0,0g
39	22	<i>Diaporthe</i> sp.	8,2g
40	18.1	<i>Diaporthe</i> sp.	27,5abcdefg

41	27	<i>Diaporthe sp.</i>	8,9fg
42	2.2	<i>Diaporthe sp.</i>	28,3abcdefg
43	2.13	<i>Diaporthe sp.</i>	22,2abcdefg
44	1.8	<i>Diaporthe sp.</i>	25,2abcdefg
45	12.2	<i>Diaporthe sp.</i>	88,6abc
46	12.9	<i>Diaporthe sp.</i>	38,1abcdefg
47	10.5	<i>Diaporthe sp.</i>	32,3abcdefg
48	9.3	<i>Diaporthe sp.</i>	81,2abcdef
49	1.7	<i>Diaporthe sp.</i>	19,9bcdefg
50	1.2	<i>Diaporthe sp.</i>	17,6cdefg
51	1.0	<i>Diaporthe sp.</i>	91,1ab
52	10.5	<i>Diaporthe sp.</i>	40,3abcdefg
53	12.4	<i>Diaporthe sp.</i>	40,2abcdefg
54	13.24	<i>Diaporthe sp.</i>	82,7abcde
55	13.17	<i>Diaporthe sp.</i>	84,4abcde
56	16.20	<i>Diaporthe sp.</i>	69,2abcdefg
57	16.23	<i>Diaporthe sp.</i>	19,8bcdefg
58	7.2	<i>Diaporthe sp.</i>	11,4efg
59	29	<i>Daldinia sp.</i>	34,5abcdefg
60	1.9	<i>Daldinia sp.</i>	24,5abcdefg
61	23	<i>Daldinia sp.</i>	27,8abcdefg
62	30	<i>Daldinia sp.</i>	52,0abcdefg
63	31	<i>Phomopsis sp.</i>	45,3abcdefg
64	6.0a	Xylariales	14,8defg
64	15b	<i>Hypoxylon sp.</i>	5,9g
66	96	(Não identificado)	4,0g
67	82	(Não identificado)	2,4g
68	1.6	(Não identificado)	26,4abcdefg
69	102	(Não identificado)	27,3abcdefg
70	91	(Não identificado)	20,3bcdefg
71	125	(Não identificado)	29,1abcdefg
72	72	(Não identificado)	21,0bcdefg
73	121	(Não identificado)	21,4bcdefg
74	131	(Não identificado)	15,4defg

75	72	(Não identificado)	22,9abcdefg
76	29.1	(Não identificado)	18,0cdefg
77	19.3	(Não identificado)	34,2abcdefg
78	6.1	(Não identificado)	8,2g
79	13.1	(Não identificado)	10,8fg
80	23.1	(Não identificado)	9,1fg
81	80	(Não identificado)	24,5abcdefg
82	16	(Não identificado)	0,0g
83	19.4	(Não identificado)	15,5cdefg
84	25.1	(Não identificado)	21,2bcdefg
85	12.3	(Não identificado)	38,2abcdefg
86	10.3	(Não identificado)	28,9abcdefg
87	16.3	(Não identificado)	73,5abcdefg
88	5.1	(Não identificado)	36,3abcdefg
89	12.2	(Não identificado)	36,5abcdefg
90	22	(Não identificado)	88,3abc
91	2	(Não identificado)	13,5efg
92	11.1	(Não identificado)	38,3abcdefg
93	5.2	(Não identificado)	22,3abcdefg
94	6.2	(Não identificado)	18,0cdefg
95	3.1	(Não identificado)	20,3bcdefg
96	21	(Não identificado)	27,2abcdefg
97	31.3	(Não identificado)	15,1defg
98	3.3	(Não identificado)	22,4abcdefg
99	15.4	(Não identificado)	15,6cdefg
100	19.2	(Não identificado)	22,6abcdefg
101	33.1	(Não identificado)	19,0bcdefg
102	16.1	(Não identificado)	28,9abcdefg
103	21.15	(Não identificado)	28,9abcdefg
104	17.9	(Não identificado)	86,5abcd
105	21.7	(Não identificado)	26,7abcdefg
106	15.16	(Não identificado)	90,7ab
107	21.6	(Não identificado)	20,2bcdefg
108	17.4	(Não identificado)	80,3abcdef

109	18.1	(Não identificado)	76,2abcdefg
110	17.7	(Não identificado)	80,9abcdef
111	13.19	(Não identificado)	27,5abcdefg
112	13.10.2	(Não identificado)	48,2abcdefg
113	12.3	(Não identificado)	32,8abcdefg
114	11.6	(Não identificado)	42,9abcdefg
115	11.3	(Não identificado)	45,3abcdefg
116	11.07	(Não identificado)	36,7abcdefg
117	10.6	(Não identificado)	28,2abcdefg
118	14.7	(Não identificado)	32,9abcdefg
119	13.7	(Não identificado)	38,1abcdefg
120	2.28	(Não identificado)	86,3abcd
121	14.8	(Não identificado)	62,6abcdefg
122	11.1	(Não identificado)	87,0abcd
123	4.2	(Não identificado)	60,8abcdefg
124	1.5	(Não identificado)	12,8efg
125	1.2	(Não identificado)	18,4bcdefg
126	2.15	(Não identificado)	26,2abcdefg
127	2.21	(Não identificado)	27,2abcdefg
128	7.1	(Não identificado)	19,1bcdefg
128	1.4	(Não identificado)	24,8abcdefg
129	2.3	(Não identificado)	27,3abcdefg
130	16	(Não identificado)	13,5defg
131	1.8	(Não identificado)	9,3fg
132	14	(Não identificado)	12,7efg

6. DISCUSSÃO

6.1 Análises Filogenéticas e Distribuição Taxonômica

A análise filogenética confirmou que os isolados endofíticos obtidos de *T. grandiflorum* pertencem ao filo Ascomycota, distribuídos principalmente nas Classes Sordariomycetes, Dothiedeomycetes e Eucariomycetes, sendo essas as dominantes entre os fungos endofíticos (Sadeghi *et al.*, 2019; De Carvalho *et al.*, 2021). A identificação de 13 gêneros com predominância de *Diaporthe*, *Colletotrichum* e *Lasiodiplodia*, reforçam o padrão já descrito para as espécies do gênero *Theobroma*, em que esses gêneros são relatados como endofíticos (Hanada *et al.*, 2010; Degambada *et al.*, 2023).

O domínio do filo Ascomycota em comunidades endofíticas tem sido relatada em diversos estudos. Em um levantamento realizado por Rungjindamai e Jones (2024), o número de endofíticos do filo Ascomycota detectados em diferentes trabalhos, varia de 50 a 99.6%. As razões para essa dominância podem estar relacionadas com o procedimento de isolamento de meio de cultura usado, período de incubação, crescimento lento de basidiomicetos, identificação de isolados não esporulados, competição endofítica e interação fungo-planta hospedeira.

Em plantas de *T. cacao*, foram identificados 137 isolados de fungos endofíticos, pertencentes a nove táxons distribuídos em nove famílias do filo Ascomycota (Gorguette *et al.*, 2025). Hanada *et al.* (2010) obtiveram 160 isolados a partir de plantas de *T. cacao* e *T. grandiflorum*, todos pertencente ao filo Ascomycota. Estes resultados reforçam a dominância de representantes deste filo em plantas do gênero *Theobroma*.

Nossos resultados confirmam esse padrão, demonstrando que, independentemente da localidade e do fenótipo das plantas, o filo Ascomycota pode ser predominante, como já esperado para comunidades endofíticas altamente diversas (Chen *et al.*, 2024).

O agrupamento consistente dos isolados com sequência de referência de seus respectivos gêneros, sustentado por altos valores de *bootstrap*, válida a identificação molecular em nível de gênero, baseada na região ITS.

O gênero *Diaporthe* sp. foi predominante em plantas sadias e doentes de Cupuaçuzeiro, com 134 isolados, onde também foram identificados isolados da fase assexual *Phomopsis* sp (12 isolados). Este gênero é relatado como saprófito,

endofítico e fitopatígeno, tendo uma ampla gama de hospedeiras (Gomes *et al.*, 2013). Como endofítico, é reconhecido como produtor de enzimas e metabólitos secundários com atividade antimicrobiana e citotóxica (Wei *et al.*, 2023). Recentemente o gênero *Diaporthe* foi reestruturado com base em análises filogenéticas e multigenes (Dissanayake *et al.*, 2024), sendo estabelecidos 15 complexos de espécies, distribuídos em sete seções.

Apesar deste gênero ser reconhecidamente um endofítico em diversas espécies vegetais (Murali *et al.*, 2006; Botella *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2013; Lambert *et al.*, 2023), incluindo plantas de cacau (*T. cacao*), onde o fungo é descrito como endofítico em folhas (Rubini *et al.*, 2005) e em frutos (Álvarez-Romero *et al.*, 2025), também é relatado como fitopatígeno em cacau (Puig *et al.*, 2023) sendo a espécie *D. tulliensis* causadora de lesões em frutos.

Não foram encontrados trabalhos relatando o gênero *Diaporthe* como endofítico em cupuaçuzeiro (*T. grandiflorum*), no entanto a fase assexual *Phomopsis* sp., é relatada como agente causal da Mancha de Phomopsis em plantas de cupuaçu, de ocorrência generalizada em cultivos no Amazonas, causando manchas circulares de coloração parda, podendo reduzir a área fotossintética das plantas e causar danos à produção (Lima e Souza, 1998).

No presente trabalho, as amostras utilizadas para isolamento dos fungos não apresentavam danos visíveis ou sintomas foliares, permitindo reafirmar a condição endofítica dos isolados obtidos. Resultados semelhantes foram descritos para espécie *Copaifera langsdorffii* e *C. pubiflora*, em que o gênero *Diaporthe* foi o mais abundante, sem evidências de patogenicidade (De carvalho *et al.*, 2021).

O gênero de *Colletotrichum* sp., foi o segundo mais abundante nas amostras analisadas, com 86 isolados identificados. Este gênero interage com inúmeras plantas hospedeiras, como fitopatígeno ou comumente como endofítico. Não se sabe se estes modos ecológicos contrastantes são estratégias opcionais expressas por espécies individuais de *Colletotrichum* ou se a ecologia de uma espécie é explicitamente patogênica ou endofítica (Rojas *et al.*, 2010; Gal *et al.*, 2022).

Rojas *et al.*, (2010) identificaram diferentes clados de *Colletotrichum* em plantas de *T. cacao*, utilizando análises multilocus usando os genes e ITS e *tef1* para caracterizar isolados sintomáticos e assintomáticos do fungo. Foram identificados quatro clados, denominados de A e D. O clado A incluiu isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*; o clado B, isolados de *C. boninense*; enquanto os clados C e D

agruparam isolados não identificados a nível de espécie. Estes autores ainda descreveram duas novas espécies, *C. tropicale* e *C. ignotum*, que são assintomáticos em plantas de cacau, e *C. theobromicola*, que está associada a lesões foliares e antracnose em frutos de cacaueiro.

É possível que dentre os isolados de *Colletotrichum* obtidos neste estudo, incluam espécies reconhecidamente patogênicas às plantas do gênero *Theobroma*, como *C. theobromicola*, e outras assintomáticas com comportamento endofítico. O uso exclusivo da região ITS para a identificação dos isolados não foi suficiente para distinguir as espécies do gênero *Colletotrichum* associadas às plantas de cupuaçuzeiro. Para uma delimitação mais precisa, será necessário o sequenciamento de genes adicionais e a realização de análises filogenéticas multilocus mais robustas.

De forma semelhante, *Lasiodiplodia* sp., é um gênero comum em regiões tropicais e subtropicais, conhecido por seu comportamento patogênico, mas que também pode atuar como endofítico (Salvatore *et al.*, 2020). No presente trabalho, a ausência de sintomas associados ao gênero sugere que ele atua endofiticamente em folhas de cupuaçuzeiro, por outro lado em plantas de cajueiro esse fungo foi associado a doença conhecida como gomose do cajueiro, sendo 37 isolados identificados através da região espaçadora transcrita ITS e TEF-a, conforme os autores é recomendável o uso de vários loci para delimitação de novas espécies de *Lasiodiplodia* sp. Incluindo ITS, tef1-a, rpb2, cmdA (Dianda *et al.*, 2025) e β -tubulina(BT2) (Bautista *et al.*, 2019).

Apesar dessas limitações na identificação molecular, a análise dos índices de diversidade alfa e curvas de rarefação permitiu compreender o comportamento ecológico das comunidades endofíticas associadas às plantas de *T. grandiflorum*. Essas métricas revelam padrões de estrutura, equilíbrio e potencial de diversidade dentro das comunidades fúngicas, independentemente da resolução taxonômica das espécies.

As curvas de rarefação e extrapolação que permanecem ascendente reforçam a subestimação da diversidade real, indicando que o esforço amostral não capturou completamente o conjunto de espécies endofíticas associadas ao cupuaçuzeiro, um padrão comum em estudos com comunidades microbianas tropicais. A análise da diversidade alfa também auxilia na compreensão da relação entre os fungos endofíticos e *M. perniciosa*. A maior diversidade observada em plantas sadias de Presidente Figueiredo pode refletir comunidades endofíticas mais estáveis e competitivas, capazes de limitar a colonização do patógeno por meio de exclusão

competitiva e produção de metabólitos antagonistas, conforme já relatado para espécies endofíticas de *Theobroma cacao* (Arnold *et al.*, 2003; Mejía *et al.*, 2008).

Por outro lado, o aumento da diversidade em plantas doentes de Manaus pode indicar uma resposta da microbiota endofítica ao estresse causado pela infecção, uma vez que alterações fisiológicas e metabólicas no hospedeiro podem favorecer o estabelecimento de novos táxons (Christian *et al.*, 2017).

Esses resultados reforçam que a diversidade microbiana associada ao cupuaçuzeiro desempenha papel relevante na dinâmica da vassoura-de-bruxa. A manutenção de comunidades endofíticas diversas e equilibradas pode contribuir para a resistência natural das plantas, enquanto distúrbios causados pela infecção de *M. perniciosa* podem modificar a estrutura dessas comunidades.

Assim, compreender essa interação é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentável e biocontrole, considerando o potencial ecológico dos fungos endofíticos na supressão de patógenos (Villavicencio *et al.*, 2020).

7. Avaliação do potencial de biocontrole de *Moniliophthora perniciosa* por fungos endofíticos in vitro

Os fungos endofíticos *Lasiodiplodia* sp. (93%) *Diaporthe* sp. (90%), e *Colletotrichum* sp (90%) demonstraram alto potencial para o biocontrole de *Moniliophthora perniciosa* in vitro, com base na porcentagem de inibição do crescimento micelial. Especificamente, o desempenho de *Lasiodiplodia* pode ser atribuído ao seu rápido crescimento e elevada capacidade competitiva, o que favorece a ocupação do substrato e exclusão de patógenos por competição por espaço e nutrientes (Salvatore *et al.*, 2020).

Em *Cannabis sativa*, *Lasiodiplodia brasiliensis* apresentou 90% de inibição da podridão do caule causada pelo fungo *Sclerotium rolfsii*, degradando a parede celular de fungos fitopatogênicos pela produção de metabolitos secundários como β -1,3-glucanase e quitinase (Seemakram *et al.*, 2024).

Lasiodiplodia sp. foi relatado como o único isolado capaz de inibir os patógenos *Alternaria alternata*, *Botrytis cinera* e *Penicillium digitatum*, alcançando mais de 90% de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos fúngico por competição por espaço (Du *et al.*, 2022).

O gênero *Diaporthe* apresentou 90% de inibição do crescimento micelial de *M. perniciosa* (Tabela 3). Conforme Abramczyk *et al.*, (2022) o rápido crescimento dos

endofítico permitiu a ocupação do espaço e a limitação do crescimento do fitopatógeno bem como os isolados de *Diaporthe* reduziram o crescimento micelial de todos os fitopatógenos; *Vorticillium dahliae* (20,68%), *Botrytis cinerea* (29,20%), *Fusarium avenaceum* (33,40%), *F. sporotrichioides* (27,84%), *Alternaria alternata* (32,04%) e *Trichothecium roseum* (40,68%), destacando a competição por espaço como o principal mecanismo de antagonismo.

O gênero *Diaporthe* é ainda reconhecido pela produção de metabólitos, incluindo Acetol, ácido acético e ácido hexanóico, associados a atividades antimicrobiana (Rashid *et al.*, 2021). Um levantamento recente relatou 335 metabólitos desse gênero, classificados como policetídeos, terpenoides, esteroides, macrolídeos, lactonas, alcaloides, flavonoides e ácido graxos (Hilário *et al.*, 2022), o que evidencia o potencial biotecnológicos desses endofíticos. No caso de *Colletotrichum sp.*, embora a análise estatística tenha indicado desempenho inferior em relação a *Lasiodiplodia* e *Diaporthe*, alguns isolados também se destacaram, como o LMF_UFAM_14_03, que alcançou 90,2% de inibição, enquanto o isolado LMF_UFAM_1_1 apresentou apenas 2,4% (Tabela 3). Essa variabilidade pode ser explicada por vários fatores, pois espécies distintas de *Colletotrichum* produzem diferentes perfis de metabolitos secundários com capacidade antifúngica variadas (Narayanan *et al.*, 2024).

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* foi isolado de *Camelia sinensis* (Chá) e demonstrou potencial antagonista sobre *Pestalotiopsis theae* (64%) e para *Colletotrichum camelliae* (37%) restringindo o crescimento micelial dos patógenos por competição por crescimento (Rabha *et al.*, 2014). Uma revisão recente mostrou que isolados de *Colletotrichum* endofíticos possuem diversidade química como antimicrobianos, antifúngicos e antioxidantes (Zakaria *et al.*, 2025), isso sugere que isolados como o LMF_UFAM_14_03 podem produzir metabolitos em maior quantidade ou de estrutura mais eficiente contra *M. perniciososa*, enquanto outros, como o LMF_UFAM_1_1, podem produzir poucos ou compostos menos ativos.

De modo geral, os resultados evidenciam que os isolados de *Lasiodiplodia* apresentaram desempenho mais consistente, seguido por *Diaporthe* que também demonstrou elevado potencial competitivo, enquanto que os isolados de *Colletotrichum* exibiram maior variabilidades nos efeitos inibitórios, embora ainda sejam necessários estudos complementares para identificar com maior precisão as espécies envolvidas, caracterizar sua capacidade de produção de metabólitos

bioativos, compreender as interações com a planta hospedeira e avaliar sua eficiência em ensaios *in vivo*.

8. CONCLUSÃO

A comunidade de fungos endofíticos associada ao cupuaçuzeiro apresenta diversidade significativa. A condição fitossanitária da planta e Município e o local de coleta não influenciou a diversidade dos isolados. Os gêneros *Lasiodiplodia*, *Diaporthe* e *Colletotrichum* se destacaram não apenas pela frequência, mas também pelo potencial de biocontrole contra *Moniliophthora perniciosa*, com percentuais de inibição do crescimento micelial superiores a 90% para os melhores isolados, o mecanismo de antagonismo predominante foi a competição por espaço e nutrientes. Os fungos endofíticos nativos do cupuaçuzeiro, especialmente dos gêneros *Lasiodiplodia* e *Diaporthe* apresentaram maiores percentuais de inibição do patógeno, podendo ser utilizados para estudos futuros.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR-MARCELINO, L. *et al.* Using molecular techniques applied to beneficial microorganisms as biotechnological tools for controlling agricultural plant pathogens and pest. In: Molina,g.;sharma, P.(Eds).Molecular aspects of plant beneficial microbes in agriculture. **Academic Press**, 2020. p. 333-349. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818469-1.00027-4>.
- AIME, M.C.; PHILLIPS- MORA,W. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (*Theobroma cacao*) form a new lineage of marasmiaceae. **Mycologia**, v. 97, n. 5, p. 1012-1022, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832751>.
- ALABOUVETTE, C.; OLIVAIN, C.; STEINBERG, C. Biological control of plant diseases: the European situation. **European journal of plant pathology**, v. 114, n. 3, p. 329-341, 2006 . DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-005-0233-0>
- Agência de desenvolvimento sustentável do Amazonas – ADS. Cupuaçu está na safra e é facilmente encontrado nas feiras da ADS. Disponível em: <https://www.ads.am.gov.br/cupuacu-esta-na-safra-e-e-facilmente-encontrado%20nas-feiras-da-ads>. Acesso em: 07 jul. 2024.
- ARNOLD, A. Elizabeth *et al.*, *Fungal endophytes* limit pathogen damage in a tropical tree. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 26, p. 15649-15654, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2533483100>
- ALVES, R. M. *et al.*, Evolution of the witch's broom disease and evaluation of resistance in cupuassu progenies. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 31, n. 4, p. 1022-1032, 2009.
- ALVES, R.M. *et al.*, Genetic evaluation of individuals and progenies of *Theobroma grandiflorum* in the state of Pará and estimates of genetic parameters. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 30, p. 696-701, 2008. DOI:[10.1590/S0100-29452008000300023](https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000300023)
- ALVES, R. M.; CHAVES, S. F.S. BRS Careca, BRS Fartura, BRS Duquesa, BRS Curinga, and BRS Golias: new cupuassu tree cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, p. e342920413, 2020. DOI: [10.1590/1984-70332020v20n4c66](https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n4c66)
- AZEEM,S. *et al.* Caracterización y supervivencia de agentes de control biológico de amplio espectro frente a hongos fitopatógenos. **Revista argentina de microbiología**, v. 54, n. 3, p. 61-70, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.10.005>
- ÁLVAREZ-ROMERO, P. I. *et al.*, Diversity and Composition of Endophytic Fungal Communities Associated with Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Fruits in the Northern

Ecuadorian Amazon. **International Journal of Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 17, 2025.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijpb16010017>

ARNOLD, A. E.; LUTZONI, F. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? **Ecology**, v. 88, n. 3, p. 541–549, 2007. DOI:

<https://doi.org/10.1890/05-1459>

ABRAMCZYK, Barbara; MARZEC-GRZĄDZIEL, Anna; GRZĄDZIEL, Jarosław; KRÓL, Ewa; GAŁĄZKA, Anna; OLESZEK, Wiesław. Biocontrol potential and catabolic profile of endophytic *Diaporthe* strain 1420S from *Prunus domestica* L. in Poland—a preliminary study. **Agronomy**, v. 12, n. 1, p. 165, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy12010165>

BAMISILE, B. S. *et al.*, Fungal endophytes: beyond herbivore management. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 544, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00544>

BANHOS, E. F. *et al.*, Endophytic fungi from *Myrcia guianensis* at the Brazilian Amazon: distribution and bioactivity. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, p. 153-162, 2014. DOI: [10.1590/S1517-83822014005000027](https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000027)

BARON, N. C.; RIGOBELLO, E. C. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. **Mycology**, v. 13, n. 1, p. 39-55, 2022.

DOI: [10.1080/21501203.2021.1945699](https://doi.org/10.1080/21501203.2021.1945699)

BARROS, B.N.D. *et al.*, Avaliação do potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados a espécies vegetais de ocorrência amazônica: uma revisão. **Contribuciones a las ciencias sociales**, v. 16, n. 11, p. 2721127234, 2023.

DOI: [10.55905/revconv.16n.11-147](https://doi.org/10.55905/revconv.16n.11-147)

BARON, N. C.; RIGOBELLO, E. C. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. **Mycology**, v. 13, n. 1, p. 39-55, 2022.

DOI: [10.1080/21501203.2021.1945699](https://doi.org/10.1080/21501203.2021.1945699)

BAUTISTA-CRUZ, M. A. *et al.*, Phylogeny, distribution, and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with cankers and dieback symptoms of Persian lime in Mexico. **Plant disease**, v. 103, n. 6, p. 1156-1165, 2019. DOI: [10.1094/PDIS-06-18-1036-RE](https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1036-RE)

BILAL, S. *et al.*, Phytohormones enabled endophytic *penicillium funiculosum* Ih106 protects glycine max l. From synergistic toxicity of heavy metals by hormonal and stress-responsive proteins modulation. **Journal of hazardous materials**, v. 379, p. 120824, 2019. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2019.120824](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120824)

- BOGAS, A.C. *et al.*, Endophytic fungi: an overview on biotechnological and agronomic potential. *Braz J Biol.* 2022. DOI: [10.1590/1519-6984.258557](https://doi.org/10.1590/1519-6984.258557)
- BOTELLA, L.; DIEZ, J. J. Phylogenetic diversity of fungal endophytes in Spanish stands of *Pinus halepensis*. **Fungal Diversity**, v. 47, p. 9–18, 2011. DOI: [10.1007/s13225-010-0061-1](https://doi.org/10.1007/s13225-010-0061-1)
- CHENG, C. *et al.* The root endophytic fungus *Serendipita indica* improves resistance of banana to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4. **European Journal of Plant Pathology**, v. 156, n. 1, p. 87-100, 2020. DOI: [10.1007/s10658-019-01863-3](https://doi.org/10.1007/s10658-019-01863-3)
- CLEMENT, C.R. The of amazon crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. **Economic botany**, v.53, n.2, p.188-202, 1999.
- CHRISTIAN, Natalie *et al.*, Exposure to the leaf litter microbiome of healthy adults protects seedlings from pathogen damage. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1858, p. 20170641, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01863-3>
- COLLI-SILVA, M. *et al.*, Domestication of the amazonian fruit tree cupuaçu may have stretched over the past 8000 years. **Communications earth & environment**, v. 4, n. 1, p. 401, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s43247-023-01066-z>
- COSTA, Juliana L. *et al.*, *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao, interferes with cytokinin metabolism during infection of Micro-Tom tomato and promotes symptom development. **New Phytologist**, v. 231, n. 1, p. 365-381, 2021. DOI: [10.1111/nph.17386](https://doi.org/10.1111/nph.17386)
- CHAO, A. *et al.*, Rarefação e extrapolação com números de hill: uma estrutura para amostragem e estimativa em estudos de diversidade de espécies. **Ecol monogr** 84:45–67. 2014. <https://doi.org/10.1890/13-0133.1>
- CHEN, Meiqi *et al.*, The diversity of endophytic fungi in Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) and its correlation with flavonoids and phenotypic traits. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1360988, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1360988>
- CURIMBABA, T. F. S. *et al.*, Prebiotic, antioxidant and anti-inflammatory properties of edible Amazon fruits. **Food Bioscience**, v. 36, p. 100599, 2020.
DOI: [10.1016/j.fbio.2020.100599](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100599)

- DA SILVA, C.V.A. *et al.*, Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*): a multifunctional amazonian fruit with extensive benefits. **Food research international**, p. 114729, 2024.
- DA SILVA, G.M. *et al.*, Obtenção de farinhas das cascas de cupuaçu e pitomba: análise bromatológica e fitoquímica. In: extensão rural: práticas e pesquisas para o fortalecimento da agricultura familiar-volume 1. **Editora científica digital**, P. 431-449 2021.
- DA SILVA, Natália Jordana Alves *et al.*, A molecular diagnostic for *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao, that differentiates it from its sister taxon *Moniliophthora roreri*. **Crop Protection**, v. 158, p. 106003, 2022.
- DE ANDRANDE SILVA, E.M. *et al.* *Moniliophthora perniciosa* development: key genes involved in stress-mediated cell wall organization and autophagy. **International journal of biological macromolecules**, v. 154, p. 1022-1035, 2020.
- DE CARVALHO, C. R. *et al.* Diversity and antimicrobial activity of culturable endophytic fungi associated with the neotropical ethnomedicinal plants *Copaifera langsdorffii* and *Copaifera pubiflora*. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 305-315, 2021.
- DE SOUZA, J. T. *et al.*, Colonization of cacao seedlings by trichoderma stromaticum, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. **Biological control**, v. 46, n. 1, p. 36-45, 2008.
- DE SOUZA, M.G *et al.*, Vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro na amazônia. Tropical plant pathology, Brasília, DF, v. 37, 2012. 1 cd-rom. Suplemento. **Edição do 45º congresso brasileiro de fitopatologia**, 2012, Manaus. Mesa redonda 9/36.
- DE SOUZA, J.M.L. *et al.*, Caracterização de amêndoas de cupuaçu despelculadas e torta parcialmente desengordurada. 2020.
- DEGAMBADA, K. D. *et al.*, *Diaporthe* sp. F18; a new source of camptothecin-producing endophytic fungus from *Nothapodytes nimmoniana* growing in Sri Lanka. **Natural Product Research**, v. 37, n. 1, p. 113-118, 2023.
- DELGADO-OSPINA, Johannes *et al.*, The role of fungi in the cocoa production chain and the challenge of climate change. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 3, p. 202, 2021.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 25–39, 1971.
- DIANDA, C.; WEBSTER, J. *et al.* Phylogeny and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with gummosis and dieback of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in

- Burkina Faso. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 138, p. 102698, 2025.
- DISSANAYAKE, A. J. *et al.* A re-evaluation of *Diaporthe*: refining the boundaries of species and species complexes. **Fungal Diversity**, v. 126, p. 1–125, 2024. DOI: 10.1007/s13225-024-00538-7
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid dna isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1987.
- DUCK, A. As espécies brasileiras do gênero *Theobroma* L.In. **EMBRAPA**, 2020. P. 21-43.
- DU, T-Y. *et al.* Endophytic fungi associated with *Aquilaria sinensis* (Agarwood) from China show antagonism against bacterial and fungal pathogens. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 11, p. 1197, 2022. DOI: 10.3390/jof8111197
- ELVERSON, T. R. *et al.*, Quantitative PCR assays developed for *Diaporthe helianthi* and *Diaporthe gulyae* for phomopsis stem canker diagnosis and germplasm screening in sunflower (*Helianthus annuus*). **Plant disease**, v. 104, n. 3, p. 793-800, 2020.
- ENITH, I. R.; REHNER, S. A.; SAMUELS, G.J. *et al.*, *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panama: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycologia**, v. 102, n. 6, p. 1318–1338, 2010. DOI: 10.3852/09-244.
- EPPO. EPPO Global Database. 2024 Dispinível <https://gd.eppo.int>
- FALCÃO, L.L. *al.* Comparative transcriptomics of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) offers insights into the early defense mechanism to *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease. **Journal of plant interactions**, v. 17, n. 1, p. 991-1005, 2022.
- FARHAT, H. *et al.* Plant disease management with amelioration of systemic resistance in soybean by endophytic fungi associated with gc-ms metabolic profiling of chaetomium sp. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 126, p. 102049, 2023.
- FERRAZ DOS SANTOS, L. *et al.*, Cupuassu (*Theobroma grandiflorum* [willd. Ex sprengel] schumann) fruit development: key genes involved in primary metabolism and stress response. **Agronomy**, v. 12, n. 4, p. 763, 2022.
- FERRAZ, P.; CÁSSIO, F.; LUCAS, Cândia. Potential of yeasts as biocontrol agents of the phytopathogen causing cacao witches' broom disease: is microbial warfare a solution?. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1766, 2019.

- GASPAROTTO, L. e *al.*, Poda fitossanitária no controle da vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2001, Folheto técnico 8383.
- GOMES, D.S *et al.*, Identification of a key protein set involved in *Moniliophthora perniciosa* necrotrophic mycelium and basidiocarp development. **Fungal Genetics and Biology**, v. 157, p. 103635, 2021.
- GOMES, R. R. *et al.*, *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*, v. 31, p. 1–41, 2013. DOI: 10.3767/003158513X666844.
- GORGUETTE, L *et al.*, Fungal endophytes from cacao trees in the “cabruca” system in south Bahia, Brazil. **Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana**, v. 23, n. 2, p. 1–17, 2025. <https://doi.org/10.55905/oelv23n2-130>
- HANADA, R. E. *et al.*, Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and t. Grandiflorum (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. **Fungal biology**, v. 114, n. 1112, p. 901-910, 2010.
- HARDOIM, P. R. *et al.*, The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 79, n. 3, p. 293-320, 2015.
- HEPPERLE, D. SeqAssem©. Uma ferramenta de análise de sequência, montador de contig e ferramenta de visualização de dados de rastreamento para sequências moleculares. [Http://www.sequentix.de](http://www.sequentix.de)
- HILL, M.O. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. **Ecology**, v. 54, n. 2, p. 427–432, 1973 <https://doi.org/10.2307/1934352>
- HSIEH, T. C. *et al.*, iNext: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, n. 12, p. 1451–1456, 2016. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12613>
- HILÁRIO, Sandra; GONÇALVES, Micael F. M. Endophytic *Diaporthe* as promising leads for the development of biopesticides and biofertilizers for a sustainable agriculture. **Microorganisms**, v. 10, n. 12, p. 2453, 2022. DOI: 10.3390/microorganisms10122453
- HOSSEINI, Behnoush; VOEGELE, Ralf T.; LINK, Tobias I. Establishment of a quadruplex real-time PCR assay to distinguish the fungal pathogens *Diaporthe longicolla*, *D. caulivora*, *D. eres*, and *D. novem* on soybean. **PLoS One**, v. 16, n. 9, p. e0257225, 2021.
- HUDA-SHAKIRAH, Abd Rahim; ZAKARIA, Latiffah; MOHD, Masratul Hawa. Morphology, phylogeny and pathogenicity of fungal species associated with leaf blight

and stem canker of *Theobroma cacao* in Malaysia. **Plant Pathology**, v. 73, n. 6, p. 1382-1399, 2024.

IDAM. Relatório de Acompanhamento Trimestral – Produção Vegetal 4º Trim – 2023. Manaus: IDAM, 2024. Disponível em: <https://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2024/03/03-Producao-Vegetal-4o-Trim-2023.pdf> Idam

IDAM. Relatório de Acompanhamento Trimestral – Produção Vegetal 4º Trim – 2024. Manaus: IDAM, 2025. Disponível em: <https://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2025/06/03-Producao-Vegetal-4o-Trim-2024-compactado.pdf>

ISMAIL, H. *et al.*, *Aspergillus niger* aumentou a tolerância ao estresse térmico em girassol e soja por meio da regulação de seus sistemas metabólico e antioxidante. **Journal of plant interactions**. V.15, n. 1, p. 223–232, 2020.

JENA, R. *et al.*, Isolation of endophytic fungi from wild rice species for disease management and growth promotion in cultivated rice (*oryza sativa* L.). **Biocontrol science and technology**, p. 1-27, 2024.

KUHN, D.N. *et al.*, Evaluating *theobroma grandiflorum* for comparative genomic studies with *Theobroma cacao*. **Tree genetics & genomes**. v. 6, n. 5, p. 783-792, 2010. Doi:10.1007/s11295-010-0291-0

KUMAR, S. *et al.*, Mega7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0. *Mol biol evol* 33:1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

LAMBERT, C. *et al.*, Four new endophytic species of *Diaporthe* (Diaporthaceae, Diaporthales) isolated from Cameroon. **MycoKeys**, v. 99, p. 319–362, 2023. DOI: 10.3897/mycokeys.99.110043.

LATZ, M.A. *et al.*, Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. **Plant ecology & diversity**, v. 11, n. 5-6, p. 555-567, 2018.

LIMA, M. I. P. M.; SOUZA, A. G. C. Diagnóstico das principais doenças do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.) e seu controle. Manaus: Embrapa-CPAA, 1998. (Documentos, 9). ISSN 0103-6238.

LISBOA, D.O. *et al.*, *Moniliophthora perniciosa*, the mushroom causing witches' broom disease of cacao: insights into its taxonomy, ecology and host range in Brazil. **Fungal biology**, 124: 983-1003, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.09.001>

LOGUERCIO, L.L. *et al.*, Selection of *Trichoderma stromaticum* isolates for efficient biological control of witches' broom disease in cacao. **Biological control**, v. 51, n. 1, p. 130-139, 2009.

- LÓPEZ, P.A.B. avaliação da cadeia produtiva do cupuaçu (*theobroma grandiflorum* (willd. Ex spreng.) Schum.) Nos municípios de itacoatiara, presidente figueiredo e manaus. Dissertação (mestrado em agricultura no trópico úmido) – instituto nacional de pesquisas na amazônia- inpa. Manaus, p.99. 2015.
- MEJÍA, L. C., Rojas, E. I. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. **Biological control**, 46(1), 4-14. 2008.
- MENDIIBURU, F. Statistical procedures for agricultural research: package ‘agricolae’ version 1.4–46. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2020. Disponível em: <http://cran.r-project.org/web/packages/agricolae>.
- MILLER, M.A. *et al.*, A community resource for phylogenetic analyses. In: miller ma, pfeiffer w, schwartz t (eds) proceedings of the 2011 teragrid conference: extreme digital discovery. **Association of computing machinery, nova york**, pp 1–8, 2011.
- Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Agrofit - sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>.
- MUHAMMAD, M. *et al.*, Endophytic fungi as potential bio-control agents of soil-borne pathogen. **Journal of crop health**, p. 1-20, 2024.
- MURALI, T. S.; SURYANARAYANAN, T. S.; GEETA, R. Endophytic Phomopsis species: host range and implications for diversity estimates. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 52, p. 673–680, 2006. DOI: 10.1139/w06-020.
- NARAYANAN, M. M. *et al.*, Mangrove endophytic fungi: Biocontrol potential against *Rhizoctonia solani* and biofertilizers for fragrant rice cultivation. **Heliyon**, v. 10, n. 11, 2024.
- NILSSON, R.H. *et al.*, The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. **Nucleic Acids Research**, v. 47, p. D259–D264.
- OKSANEN, J. *et al.* Vegan: community ecology package. R foundation for statistical computing [internet]. <https://cran.r-project.org/package=vegan>. 2020. Doi: 10.3923/ajps.2020.
- PAVITHRA, G. *et al.*, Role of endophytic microbes against plant pathogens: a review. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 19, p. 54–62, 2020.
- PETERS, Leila P. *et al.*, Selection of endophytes as antagonists of *Colletotrichum gloeosporioides* in açai palm. *Biological Control*, v. 150, p. 104350, 2020. DOI:

PORRAS-ALFARO, Andrea; BAYMAN, Paul. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. **Annual review of phytopathology**, v. 49, n. 1, p. 291-315, 2011.

PUIG, Alina Sandra. Fungal pathogens of cacao in Puerto Rico. **Plants**, v. 12, n. 22, p. 3855, 2023.

POVEDA, J. *trichoderma parareesei* favorece a tolerância da colza (*brassica napus* L.) À salinidade e à seca devido a uma mutase corismata. **Agronomy** 10:118, 2020.

POVEDA, J. *et al.*, Endophytic fungi from kale (*brassica oleracea* var. *Acephala*) modify roots-glucosinolate profile and promote plant growth in cultivated brassica species. First description of *pyrenophora gallaeciana*. **Frontiers in microbiology**, v. 13, p. 981507, 2022.

R CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2020. Disponível em: <https://www.r-project.org>

RASHID, Tavga Sulaiman. Bioactive metabolites from tomato endophytic fungi with antibacterial activity against tomato bacterial spot disease. *Rhizosphere*, v. 17, p. 100292, 2021. DOI: 10.1016/j.rhisph.2020.100292

RAMOS, S.; SALAZAR, J. *et al.* Influence of pulp on microbial diversity during cupuaçu fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, 2020

RAMOS, D. G. Barreto *et al.*, Espécies endofíticas de *Colletotrichum* associadas ao cajueiro no nordeste do Brasil **Fungal Biology** , v. 128, n. 3, p. 1780-1789, 2024.

IDAM. Relatório de atividades RAT 23.204. Disponível em : am.gov.br/biblioteca/relatorio-de-atividades-rat-23 acessado em : 02/8/2024

RABHA, A.J. *et al.*, In Vitro Evaluation of Antagonism of Endophytic *Colletotrichum gloeosporioides* Against Potent Fungal Pathogens of *Camellia sinensis*. **Indian J Microbiol**, V 54, 302–309, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12088-014-0458-8>

ROJAS, E.I *et al.*, *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycologia**, v. 102, n. 6, p. 1318–1338, 2010. DOI: 10.3852/09-244.

RUBINI, M. R *et al.*, Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches' broom disease. **International Journal of Biological Sciences**, v. 1, p. 24–33, 2005. DOI: 10.7150/ijbs.1.24.

RUNGJINDAMAI, N.; JONES, E. B. G. Why are there so few Basidiomycota and basal fungi as endophytes? A review. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 1, p. 67, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof10010067>

SADEGHI, F. *et al.*, Diversity and Spatiotemporal Distribution of Fungal Endophytes Associated with Citrus reticulata cv. Siyahoo. **Current Microbiology**, v. 76, p. 279–289, 2019. DOI: 10.1007/s00284-019-01632-9.

SALVATORE, M. M.; ALVES, A.; ANDOLFI, A. Secondary metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*. **Toxins**, v. 12, n. 7, p. 457, 2020.

SANTOS, C.; SILVA, B.N.S *et al.*, Fungal endophytic community associated with guarana (paullinia cupana var. Sorbilis): diversity driver by genotypes in the centre of origin. *Journal of Fungi*, v. 6, p. 123, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof6030123>

SEEMAKRAM, W. *et al.*, Fungicidal metabolites from *Lasiodiplodia brasiliensis* suppress sclerotium disease in cannabis. *Rhizosphere*, v. 29, p. 100853, 2024. DOI: 10.1016/j.rhisph.2024.100853.

SEGARAN, G. *et al.*, Fungal endophytes: a potent biocontrol agent and a bioactive metabolites reservoir. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 21, p. 101284, 2019.

SEGARAN, G.; SATHIAVELU, M. Fungicidal and plant growth-promoting traits of *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, an endophyte from Andrographis paniculata. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1125630, 2023.

SENA, K.; ALEMANN, L.; GRAMACHO, K.P. The infection process of *Moniliophthora perniciosa* in cacao. *Plant pathology*, v. 63, n. 6, p. 1272-1281, 2014.

SILVA SANTOS, S. *et al.*, Influence of plant growth-promoting endophytes Colletotrichum siamense and Diaporthe masirevici on tomato plants (Lycopersicon esculentum Mill.). **Mycology**, v. 13, n. 4, p. 257-270, 2022.

SIQUEIRA, J. S. *et al.* Influence of growth support on microbial communities. **Microbial Ecology**, v. 87, p. 129, 2024.

SOUZA FILHO, H.R. *et al.*, History, dissemination, and field control strategies of cocoa witches' broom. **Plant pathology**, 70:1971–1978, 2021. doi: 10.1111/ppa.13457

SOUZA, J.M.L *et al.*, Métodos para avaliação da Severidade da Vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiro em condições de Campo. Manaus, Embrapa amazônia ocidental, AM, 1517-2457 ISSN (Abril) 2009

- SCHÖNROGGE, K. *et al.*, Environmental factors and host genetic variation shape the fungal endophyte communities within needles of Scots pine (*Pinus sylvestris*). **Fungal Ecology**, v. 57, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2022.101162>
- STAMATAKIS, A. Raxml version 8: a tool for phylogenetic analysis and postanalysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, v.30.n9, p. 1312
- STEHLE, S. *et al.*, Agricultural insecticides threaten surface waters at the global scale. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 112, n. 18, p. 5750-5755, 2015.
- SINGH, Dheeraj K. *et al.*, Diversity of endophytic mycobiota of tropical tree *Tectona grandis* Linn. f.: Spatiotemporal and tissue type effects. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 3745, 2017.
- TRIVEDI, Pankaj *et al.*, Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. **Nature reviews microbiology**, v. 18, n. 11, p. 607-621, 2020.
- THOMPSON, J.D. *et al.*, The clustal_x windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic acids research**, v. 25, n. 24, p. 4876-4882, 1997.
- VENTURIERI, G. A. Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamento. Belém: Clube do Cupu, 108 p. 1993.
- VILLAVICENCIO, M. *et al.*, Foliar endophytic fungi of *Theobroma cacao* stimulate more than inhibit *Moniliophthora* spp. growth and behave more as an endophytes than pathogens. **AgriRxiv**, n. 2020, p. 20203407060, 2020. DOI: [10.31220/agriRxiv.2020.00019](https://doi.org/10.31220/agriRxiv.2020.00019)
- WANG, Z. *et al.*, Research advances on endophytic fungi and their bioactive metabolites. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 46, n. 2, p. 165170, 2023. DOI: 10.1007/s00449-022-02840-7
- WAQAR, S.; BHAT, A.A.; KHAN, A.A. *et al.*, Endophytic fungi: unravelling plant–endophyte interaction and the multifaceted role of fungal endophytes in stress amelioration. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 206, p. 108174, 2024. DOI: 10.1016/j.plaphy.2023.108174
- WEN, J. *et al.*, Endophytic fungi: an effective alternative source of plant-derived bioactive compounds for pharmacological studies. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 2, p. 205, 2022. DOI: [10.3390/jof8020205](https://doi.org/10.3390/jof8020205)

WHITE, T.J. *et al.*, Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal rna genes for phylogenetics. In pcr protocols: a guide to methods and applications. **Academic press**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.

WICKHAN, H. ggplot2: Elegant graphics for data analysis. New York: Springer, 201

YAN *et al.*, Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 8, p. 3327–3340, 2019. DOI: [10.1007/s00253-019-09713-2](https://doi.org/10.1007/s00253-019-09713-2)

YE, Bingzhu *et al.*, Beneficial effects of endophytic fungi from the *Anoectochilus* and *Ludisia* species on the growth and secondary metabolism of *Anoectochilus roxburghii*. **ACS omega**, v. 5, n. 7, p. 3487-3497, 2020. DOI: [10.1021/acsomega.9b03789](https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03789)

AKRAM, Shazia *et al.* Uniting the role of endophytic fungi against plant pathogens and their interaction. **Journal of Fungi, Basel**, v. 9, n. 1, p. 72, 2023.

DOI: [10.3390/jof9010072](https://doi.org/10.3390/jof9010072)

YANG, X. *et al.*, Diversity and functions of endophytic fungi associated with roots and leaves of *Stipa purpurea* in an alpine steppe at qinghai-Tibet plateau. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 7, p. 1027, 2020.

DOI: 10.4014/jmb.2002.02056

ZAKARIA, L. Plant Pathogenic and Endophytic *Colletotrichum fructicola*. **Microorganisms**, v. 13, n. 7, p. 1465, 2025.

DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13071465>

ZHANG, L. *et al.*, Biocontrol potential and growth-promoting effect of endophytic fungus *Talaromyces muroii* SD1-4 against potato leaf spot disease caused by *Alternaria alternata*. **BMC Microbiol**, v. 24, p. 255, 2024. DOI: [10.1186/s12866-024-03411-4](https://doi.org/10.1186/s12866-024-03411-4)

ZHANG, Danfeng Effect of chlorogenic acid on controlling kiwifruit postharvest decay caused by *Diaporthe* sp. **Lwt**, v. 132, p. 109805, 2020. DOI: [10.1016/j.lwt.2020.109805](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109805)

ZHENG, J. *et al.* Mechanism of regulation of plant response to heavy metal stress mediated by endophytic fungi. **International Journal of Phytoremediation**, v. 25, n. 12, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/15226514.2023.2176466>

ZIKANKUBA, V. L. *et al.* Pesticide regulations and their implications. **Cogent Food & Agriculture**, v. 5, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1601544>

ANEXO

Tabela 1. Números de depósito no GenBank das sequências ITS dos isolados endofíticos de *Theobroma grandiflorum*. geradas neste estudo.

Isolados	Código	Nº de acesso do Genbank
Colletotrichum sp. 1	LMF_UFAM1	PV642805
Colletotrichum sp. 2	LMF_UFAM1_1b	PV642806
Colletotrichum sp. 3	LMF_UFAM1_2a	PV642807
Colletotrichum sp. 4	LMF_UFAM1_2b	PV642808
Colletotrichum sp. 5	LMF_UFAM1_5a	PV642809
Colletotrichum sp. 6	LMF_UFAM1_6a	PV642809
Colletotrichum sp. 7	LMF_UFAM18	PV642828
Colletotrichum sp. 8	LMF_UFAM21	PV642830
Colletotrichum sp. 9	LMF_UFAM46	PV642847
Colletotrichum sp. 10	LMF_UFAM21_18	PV642861
Colletotrichum sp. 11	LMF_UFAM10_1b	PV642866
Colletotrichum sp. 12	LMF_UFAM10_4	PV642868
Colletotrichum sp. 13	LMF_UFAM11_1a	PV642869
Colletotrichum sp. 14	LMF_UFAM15_3a	PV642890
Colletotrichum sp. 15	LMF_UFAM15b	PV642891
Colletotrichum sp. 16	LMF_UFAM2_7	PV642899
Colletotrichum sp. 17	LMF_UFAM2_10_2	PV642900
Colletotrichum sp. 18	LMF_UFAM13_2	PV642906
Colletotrichum sp. 19	LMF_UFAM13_30_2	PV642909
Colletotrichum sp. 20	LMF_UFAM14_2	PV642910
Colletotrichum sp. 21	LMF_UFAM15_5	PV642911
Diaporthe sp. 1	LMF_UFAM_4_1b	PV642812

Diaporthe sp. 2	LMF_UFAM7	PV642816
Diaporthe sp. 3	LMF_UFAM8a	PV642817
Diaporthe sp. 4	LMF_UFAM17_1	PV642826
Diaporthe sp. 5	LMF_UFAM18_1a	PV642827
Diaporthe sp. 6	LMF_UFAM20a_m	PV642829
Diaporthe sp. 7	LMF_UFAM22a	PV642831

Diaporthe sp. 8	LMF_UFAM22b	PV642832
Diaporthe sp. 9	LMF_UFAM26a	PV642836
Diaporthe sp. 10	LMF_UFAM26b	PV642837
Diaporthe sp. 11	LMF_UFAM27a	PV642838
Diaporthe sp. 12	LMF_UFAM27b	PV642839
Diaporthe sp. 13	LMF_UFAM3_1	PV642844
Diaporthe sp. 14	LMF_UFAM27_1	PV642845
Diaporthe sp. 15	LMF_UFAM42_2	PV642846
Diaporthe sp. 16	LMF_UFAM47_1	PV642848
Diaporthe sp. 17	LMF_UFAM47_2	PV642849
Diaporthe sp. 18	LMF_UFAM_N9	PV642852
Diaporthe sp. 19	LMF_UFAM_N12	PV642854
Diaporthe sp. 20	LMF_UFAM12_8_2	PV642857
Diaporthe sp. 21	LMF_UFAM16_10	PV642858
Diaporthe sp. 22	LMF_UFAM16_19_2	PV642859
Diaporthe sp. 23	LMF_UFAM16_20	PV642860
Diaporthe sp. 24	LMF_UFAM103_2	PV642882
Diaporthe sp. 25	LMF_UFAM7_3	PV642888
Diaporthe sp. 26	LMF_UFAM1_7	PV642897
Diaporthe sp. 27	LMF_UFAM2_2	PV642898
Diaporthe sp. 28	LMF_UFAM8_1	PV642902
Diaporthe sp. 29	LMF_UFAM10_5	PV642903
Diaporthe sp. 30	LMF_UFAM12_1	PV642904
Diaporthe sp. 31	LMF_UFAM12_2_2	PV642905
Diaporthe sp. 32	LMF_UFAM13_20_1	PV642907
Diaporthe sp. 33	LMF_UFAM13_29	PV642908
Pestalotiopsis sp. 1	LMF_UFAM2_1b	PV642862
Pestalotiopsis sp. 2	LMF_UFAM7_2	PV642864
Pestalotiopsis sp. 3	LMF_UFAM9_2	PV642865
Pestalotiopsis sp. 4	LMF_UFAM12_1b	PV642870
Pestalotiopsis sp. 5	LMF_UFAM13_2a	PV642871
Pestalotiopsis sp. 6	LMF_UFAM16_2b	PV642872
Pestalotiopsis sp. 7	LMF_UFAM16_3	PV642873
Pestalotiopsis sp. 8	LMF_UFAM2_3	PV642884

Pestalotiopsis sp. 9	LMF_UFAM24	PV642887
Lasiodiplodia sp. 1	LMF_UFAM9_2a_m	PV642818
Lasiodiplodia sp. 2	LMF_UFAM9_2b	PV642819
Lasiodiplodia sp. 3	LMF_UFAM9_3	PV642820
Lasiodiplodia sp. 4	LMF_UFAM12a	PV642821
Lasiodiplodia sp. 5	LMF_UFAM_N7	PV642851
Lasiodiplodia sp. 6	LMF_UFAM_N10	PV642853
Lasiodiplodia sp. 7	LMF_UFAM5_2	PV642856
Lasiodiplodia sp. 8	LMF_UFAM25_1cp	PV642879
Lasiodiplodia sp. 9	LMF_UFAM49_1	PV642880
Lasiodiplodia sp. 10	LMF_UFAM49_2	PV642881
Lasiodiplodia sp. 11	LMF_UFAM14_4b	PV642885
Lasiodiplodia sp. 12	LMF_UFAM9_2a	PV642889
Lasiodiplodia sp. 13	LMF_UFAM5_1	PV642901
Lasiodiplodia sp. 14	LMF_UFAM16_4	PV642912
Daldinia sp. 1	LMF_UFAM23	PV642833
Daldinia sp. 2	LMF_UFAM_24_m	PV642834
Daldinia sp. 3	LMF_UFAM24a	PV642835
Daldinia sp. 4	LMF_UFAM29	PV642840
Daldinia sp. 5	LMF_UFAM30a	PV642841
Daldinia sp. 6	LMF_UFAM30b	PV642842
Aspergillus Flavus . 1	LMF_UFAM130_1	PV642883
Calonectria sp. 1	LMF_UFAM17_2a	PV642874
Calonectria sp. 2	LMF_UFAM17_2b	PV642875
Endomelanconiopsis sp. 1	LMF_UFAM13a	PV642822
Endomelanconiopsis sp. 2	LMF_UFAM13b	PV642823
Endomelanconiopsis sp. 3	LMF_UFAM35a	PV642893
Fusarium sp. 1	LMF_UFAM39_1b	PV642894
Hypomontagnella sp. 1	LMF_UFAM7_1	PV642863
Hypoxyton sp. 1	LMF_UFAM5	PV642813
Hypoxyton sp. 2	LMF_UFAM15a_m	PV642824
Hypoxyton sp.3	LMF_UFAM15b_m	PV642825
Nigrospora sp. 1	LMF_UFAM_N5	PV642850
Nigrospora sp. 2	LMF_UFAM_N13	PV642855

Nigrospora sp. 3	LMF_UFAM18_4	PV642876
Nigrospora sp. 4	LMF_UFAM20_1a	PV642877
Nigrospora sp. 5	LMF_UFAM25_1	PV642878
Nigrospora sp. 6	LMF_UFAM20_2b	PV642886
Onygenales sp. 1	LMF_UFAM51b	PV642896
Periconia sp . 1	LMF_UFAM26	PV642892
Phomopsis sp. 1	LMF_UFAM1_5b	PV642810
Phomopsis sp. 2	LMF_UFAM31a	PV642843
Phomopsis sp. 3	LMF_UFAM10_2a	PV642867
Sordariomycetes sp. 1	LMF_UFAM44b	PV642895
Xylariales sp . 1	LMF_UFAM6	PV642814
Xylariales sp . 2	LMF_UFAM6c	PV642815