

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Controle de fitopatógenos por fungos endofíticos de aroeira
Ação de um isolado de *Diaporthe* sobre *Fusarium graminearum*

FRANCINE FALCÃO DE MACEDO NAVA

Passo Fundo
2020

FRANCINE FALCÃO DE MACEDO NAVA

Controle de fitopatógenos por fungos endofíticos de aroeira
Ação de um isolado de *Diaporthe* sobre *Fusarium graminearum*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Agronomia.

Orientadora:

Fabiana Tonial

Passo Fundo
2020

CIP – Catalogação na Publicação

N316c Nava, Francine Falcão de Macedo
Controle de fitopatógenos por fungos endofíticos de aroeira
[recurso eletrônico] : ação de um isolado de *Diaporthe* sobre
Fusarium graminearum / Francine Falcão de Macedo Nava. –
2020.

2.7 MB ; PDF.

Orientadora Profa. Dra. Fabiana Tonial.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de
Passo Fundo, 2020.

1. Plantas – Doenças – Controle. 2. Fitopatologia. 3. Aroeira.
4. Fungos. I. Tonial, Fabiana, orientadora. II. Título.

CDU: 581.2

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

**"Controle de fitopatógenos por fungos endofíticos de aroeira.
Ação de um isolado de *Diaporthe* sobre *Fusarium graminearum*"**

Elaborada por

Francine Falcão de Macedo Nava

**Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestra em
Agronomia – Produção e Proteção de Plantas**

Aprovada em: 17/04/2020
Pela Comissão Examinadora

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Fabiana Tonial'.

Dra. Fabiana Tonial
Presidente da Comissão Examinadora
Orientadora

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Chirlei Glienke'.

Dra. Chirlei Glienke
UFPR

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Edson Campanhola Bortoluzzi'.

Dr. Edson Campanhola Bortoluzzi
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Paola Mendes Milanesi'.

Dra. Paola Mendes Milanesi
UFFS

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Eraldo Lourenço Zanella'.

Dr. Eraldo Lourenço Zanella
Diretor FAMV

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À minha amada família que sempre me incentivou e esteve presente.

Ao meu esposo, Anderson e sua família, pelo apoio incondicional, parceria e compreensão.

À Profa. Dra. Fabiana Tonial, por me orientar de fato, pela disponibilidade, paciência e por ser acessível e cordial sempre.

À Profa. Dra. Paola Milanesi da UFFS pela incansável ajuda, sugestões e amizade. À Profa. Dra. Jaqueline Novakowski por todo auxílio na parte estatística e pelas excelentes contribuições. À Profa. Dra. Beatriz Sales Maia e Profa. Dra. Chirlei Glienke da UFPR que cederam seus laboratórios e experiência para auxiliar na execução de algumas etapas.

Aos Professores do PPGAgro da UPF pelos valiosos ensinamentos.

À colega e amiga Kielli Guerra, que não mediou esforços para me ajudar e foi fundamental na execução de algumas etapas. Às colegas do laboratório da UPF, Talita Mar e Ana Luisa Gayger pela ajuda e pela boa companhia. Aos colegas do laboratório da UFFS pelo acolhimento, especialmente a graduanda Alessandra Galina pela ajuda.

Às queridas amigas de pós-graduação Serleni Sossmeier, Débora Munaretto, Patrícia Nogueira e Kassiana Kehl que sempre estiveram presentes tornando esses anos de mestrado mais alegres.

“Transportai um punhado de terra todos os dias e fareis uma montanha.”

Confúcio

RESUMO

NAVA, Francine Falcão de Macedo. Controle de fitopatógenos por fungos endofíticos de aroeira: ação de um isolado de *Diaporthe* sobre *Fusarium graminearum*. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2020.

O sistema agrícola necessita de revisão e aprimoramento constantes dos métodos de controle de fitopatógenos, uma vez que a resistência genética e o uso de agrotóxicos perdem eficiência de inibição do desenvolvimento dos agentes etiológicos de doenças. Microrganismos como os endofíticos de plantas medicinais com bioatividade podem ser alternativa para este controle. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi prospectar fungos endofíticos de *Schinus terebinthifolius* (aoeira) quanto à capacidade de controlar o crescimento de fitopatógenos. Para a seleção do microrganismo mais promissor foi realizado um screening com 15 endófitos por teste de cultura pareada contra os patógenos *Fusarium graminearum*, *Pyrenophora tritici-repentis* e *Phomopsis sojae*. Os quinze fungos apresentaram atividade antifúngica e endófitos do gênero *Diaporthe* reduziram de forma significativa o crescimento dos três patógenos. O isolado de *Diaporthe* LGMF694 foi selecionado como o mais promissor dentre os isolados avaliados. Portanto, a partir dele foram obtidos extratos metanólicos brutos que tiveram a bioatividade de controle do desenvolvimento de *F. graminearum* testada *in vitro* por difusão em ágar e *in vivo* por testes em sementes de trigo. Um dos extratos brutos do *Diaporthe* LGMF694 manteve a inibição do crescimento micelial do patógeno em 54,48% após 96 horas de contato. O fungo endofítico foi identificado através de análise multilocus das regiões do espaçador interno transcrito (ITS), e de parte dos genes do fator de elongação da tradução 1- α (TEF1), da β -tubulina (TUB), da histona H3 (HIS) e da calmodulina (CAL), como *Diaporthe infecunda*. Este estudo evidenciou a atividade antagônica de fungos endofíticos de aroeira sobre fitopatógenos, principalmente do gênero *Diaporthe*, sendo o extrato bruto do isolado LGMF694 capaz de controlar o crescimento micelial de *F. graminearum* *in vitro*. Assim, tanto os fungos endofíticos quanto os compostos responsáveis por sua bioatividade apresentam potencial

biotecnológico a ser explorado pela indústria de produtos biológicos e de fungicidas sintéticos.

Palavras-chave: 1. Atividade antifúngica. 2. Bioprospecção. 3. *Schinus terebinthifolius*. 4. *Diaporthe infecunda*. 5. *Fusarium graminearum*.

ABSTRACT

NAVA, Francine Falcão de Macedo. Control of plant pathogens by endophytic fungi from aroeira: action of a *Diaporthe* isolate against *Fusarium graminearum*. 99 f. Dissertation (Masters in Agronomy) – University of Passo Fundo, Passo Fundo, 2020.

Control methods of plant pathogens should be reviewed and improved in view of genetic resistance and the low efficiency of pesticides. Microorganisms such as, medicinal plants endophytes with antagonistic activity are an alternative for this control. Thus, the objective of the present study was to prospect endophytic fungi obtained from *Schinus terebinthifolius* with the ability to reduce the growth of plant pathogens. The screening of antifungal potential of fifteen endophytic isolates against *Fusarium graminearum*, *Pyrenophora tritici-repentis* and *Phomopsis sojae* was assessed by dual culture method. All of them showed antifungal activity, and *Diaporthe* significantly reduced the growth of the three pathogens. *Diaporthe* LGMF694 isolate was selected as the most promising among the isolates evaluated. Hence, methanolic crude extracts were obtained and evaluated for *F. graminearum* development control *in vitro* by diffusion on agar and *in vivo* by tests with wheat seed. One of the extracts from *Diaporthe* LGMF694 inhibited pathogen growth *in vitro* by 54.48% after 96 hours of contact. The endophytic fungus was identified as *Diaporthe infecunda* through multilocus analysis of internal transcribed spacer (ITS) region, and partial translation elongation factor 1-alpha (TEF1), beta-tubulin (TUB), histone H3 (HIS) and calmodulin (CAL) genes. This study showed the antagonistic activity of endophytic from *S. terebinthifolius*, mainly *Diaporthe*, against the phytopathogens. *Diaporthe infecunda* LGMF694 crude extract has the ability to control the mycelial growth of *F. graminearum* *in vitro*. Thus, both the endophytic fungi of *S. terebinthifolius* and their crude extracts have biotechnological potential to be explored by biological products and synthetic fungicides industries.

Key words: 1. Antifungal activity. 2. Bioprospecting. 3. *Schinus terebinthifolius*. 4. *Diaporthe infecunda*. 5. *Fusarium graminearum*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 <i>Controle de doenças de plantas</i>	14
2.1.1 Fitopatógenos <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> e <i>Phomopsis sojae</i>	15
2.1.2 Métodos de controle dos fitopatógenos <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> e <i>Phomopsis sojae</i>	17
2.2 <i>Endófitos</i>	19
2.2.1 Endófitos como agentes de controle biológico	20
2.2.2 Bioprospecção de metabólitos de endófitos	22
2.2.3 Fungos endofíticos de <i>Schinus terebenthifolius</i>	23
2.2.4 O gênero de fungos endofíticos <i>Diaporthe</i>	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 <i>Screening</i>	26
3.1.1 Microrganismos utilizados	26
3.1.2 Teste de cultura pareada	27
3.1.2.1. Análise estatística	28
3.2 <i>Obtenção dos extratos</i>	28
3.3 <i>Bioatividade dos extratos</i>	29
3.3.1 Teste de difusão em ágar	29
3.3.1.1. Análise estatística	30
3.3.2 Teste em sementes de trigo	30
3.3.2.1. Ajuste de metodologia de inoculação do fitopatógeno nas sementes	30
3.3.2.2. Avaliação da atividade dos extratos <i>in vivo</i>	31
3.3.2.3. Análise estatística	32
3.4 <i>Identificação do fungo endofítico</i>	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 <i>Screening</i>	36
4.2 <i>Bioatividade de extratos</i>	41

4.2.1 Teste de difusão em ágar	41
4.2.2 Teste em sementes de trigo	43
4.3 <i>Identificação do fungo endofítico</i>	47
5 CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	52
APÊNDICES	71

1 INTRODUÇÃO

O controle de doenças nas culturas agrícolas é realizado principalmente pelo emprego de agrotóxicos e pelo uso de cultivares resistentes, que, por vezes, são ferramentas inexistentes ou que tornam-se ineficientes. Uma das causas desta condição está relacionada ao fato de que o modelo agrícola utiliza fungicidas de forma indiscriminada e em larga escala, o que leva ao desenvolvimento de resistência desses microrganismos aos mecanismos de ação disponíveis. Ainda, a não existência de cultivares com resistência completa e a presença de determinadas raças fisiológicas dos patógenos agravam o quadro e inviabilizam o controle de algumas doenças. Os fitopatógenos *Fusarium gramineum*, *Pyrenophora tritici-repentis* e *Phomopsis sojae* são agentes etiológicos de doenças de plantas e apresentam casos de resistência a ingredientes ativos fungicidas, raças fisiológicas, estruturas de sobrevivência eficientes e/ou sobrevivência em restos culturais e, por isso, são de difícil controle. Dessa forma, a revisão e o aprimoramento dos métodos de inibição de seu desenvolvimento são frequentes objetos de pesquisas, assim como a necessidade de aplicação das novas alternativas.

A prospecção de recursos naturais com potencial biotecnológico é uma estratégia promissora para o controle de doenças, principalmente se for considerada a vasta biodiversidade brasileira. Neste contexto, os microrganismos, dentre eles os endofíticos, apresentam capacidade de controlar fitopatógenos atuando por indução de resistência do hospedeiro, pela antibiose de metabólitos, pela competição por subsistência e por micoparasitismo. Dos mecanismos de controle induzidos pelos endófitos, a produção de compostos bioativos é uma via atrativa aos pesquisadores pelo potencial de aplicação biotecnológica que seus resultados podem gerar. Vale destacar que pesquisas desse âmbito realizadas no meio acadêmico encurtam e reduzem riscos para as indústrias no

processo de desenvolvimento e produção de novas estratégias de controle de doenças, sendo também de relevância para extensão universitária.

Neste sentido e sabendo do potencial de produção de compostos com atividade antimicrobiana tanto de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) como dos seus endófitos, teve-se por objetivo com esta dissertação prospectar fungos endofíticos de aroeira com capacidade de controlar o crescimento de fitopatógenos. De modo a verificar se esses microrganismos inibem o crescimento micelial de *Fusarium graminearum*, *Pyrenophora tritici-repentis* e *Phomopsis sojae* e avaliar se o extrato do fungo mais promissor apresenta capacidade de controlar o desenvolvimento de *F. graminearum* *in vitro* e em sementes de trigo. Ainda, teve-se o objetivo de realizar a identificação multilocus do fungo endofítico com maior potencial de controle do crescimento dos fitopatógenos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta revisão serão apresentados conceitos relacionados ao controle de doenças de plantas, aos fitopatógenos utilizados neste estudo, às principais formas de controle destes agentes etiológicos e seus entraves. Em seguida serão abordados aspectos sobre endófitos, as possibilidades de emprego como agentes de controle biológico de fitopatógenos, seu uso em estudos de bioprospecção, e informações sobre fungos endofíticos de *Schinus terebinthifolius* e do gênero *Diaporthe*.

2.1 Controle de doenças de plantas

Doença de planta é um fenômeno biológico que se dá por interferência prejudicial em processos fisiológicos que levam a planta a um desempenho anormal de funções vitais. O foco do estudo da fitopatologia é em doenças bióticas, ou seja, causadas por organismos transmissíveis que estabelecem relação de parasitismo com as plantas, os fitopatógenos (REZENDE et al., 2011).

Controlar uma doença é impedir que ela cause prejuízos. Na área agronômica, o objetivo desse controle é manter a cultura lucrativa. Isso pode ser feito através de prevenção e/ou de tratamento curativo que reduz(em) a incidência e/ou a severidade da patogênese, consequentemente diminuem os danos e perdas (KIMATI; BERGAMIN-FILHO; AMORIM, 2011).

Os princípios de controle de doenças são exclusão, erradicação, proteção, imunização, terapia, regulação e evasão (KIMATI; BERGAMIN-FILHO; AMORIM, 2011). Eles são empregados através dos métodos de controle classificados em regulatório, cultural, biológico, físico e químico (AGRIOS, 2005, p. 294).

2.1.1 Fitopatógenos *Fusarium graminearum*, *Pyrenophora tritici-repentis* e *Phomopsis sojae*

O fitopatógeno *Fusarium graminearum* causa a doença conhecida como giberela no trigo (*Triticum aestivum*), um problema para o cultivo deste cereal em diversos países com consequente elevada perda econômica (REIS; CASA, 2005). A infecção das sementes ocorre principalmente na inflorescência do trigo durante a antese por estímulo presente nas anteras (PARRY; JENKINSON; McLEOD, 1995). A sintomatologia (Figura 1) é caracterizada por descoloração da espigueta, onde pontuações alaranjadas que escurecem com o tempo são verificadas, há desordem das aristas e colonização de toda espiga através da ráquis (REIS; CASA, 2005).

O principal problema associado a essa doença é a presença de micotoxinas, como a deoxinivalenol (DON), que tornam os alimentos prejudiciais à alimentação humana e animal (PARRY; JENKINSON; McLEOD, 1995). O fungo sobrevive em sementes, em restos culturais e/ou em hospedeiros alternativos, sendo de difícil controle e de elevado dano econômico (CASA et al., 2004). Além disso, a presença do fungo em sementes também pode servir como inóculo primário para podridão comum das raízes do trigo devido à passagem do patógeno para outras partes da planta, como colo, haste e raiz primária (GARCIA JUNIOR et al., 2008). Uma vez presentes na lavoura os respingos de chuva nos restos culturais onde estão os peritécios tornam-se uma forma de disseminação do patógeno (REIS; CASA, 2005).

Figura 1 - Sintomas de giberela (*Fusarium graminearum*) em trigo



Fonte: Tibola, C.S. Embrapa Trigo, 2013.

O fungo *Pyrenophora tritici-repentis* é o agente causal da mancha-amarela-do-trigo, que pode ocorrer em todas as fases da cultura, principalmente na fase adulta. Os sintomas (Figura 2) são caracterizados por lesões que se iniciam por pontuações escuras e evoluem para necroses marrons com halo amarelo, característicos da produção de fitotoxinas que conferem patogenicidade ao fungo (REIS; CASA, 2005). Já foram descritas oito raças fisiológicas deste fungo, com capacidade de causar danos relevantes de rendimento por todo o mundo (LAMARI et al., 2003). Além disso, os conídios são levados a longas distâncias pelo vento (REIS; CASA, 2005) e os ascósporos sobrevivem em restos culturais, servindo como fonte de inóculo da doença (JORGENSEN; OLSEN, 2007).

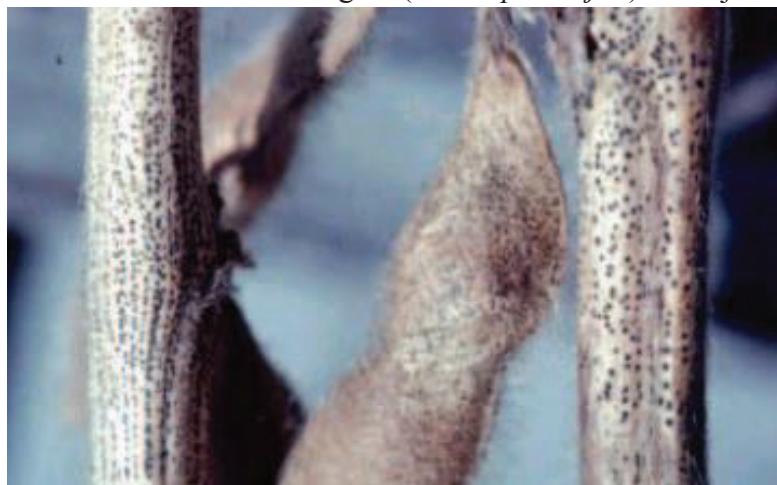
Figura 2 - Sintomas de mancha-amarela-do-trigo (*Pyrenophora tritici-repentis*) em trigo



Fonte: Santana, F. Embrapa Trigo, 2018.

O fitopatógeno *Phomopsis sojae* é o agente causal da seca-da-haste e da vagem de soja (Figura 3), afetando a qualidade da semente, que é o meio de dispersão para áreas livres da doença (BALDUCCHI; MCGEE, 1987). Esse fungo é capaz de suprimir a produção, causar senescência prematura, reduzir a qualidade da semente pela redução na germinação e diminuir a qualidade do óleo proveniente do grão processado pela indústria (SINCLAIR, 1993; MERILES et al., 2004). Práticas de manejo devem ser adotadas para seu controle devido a sobrevivência do fungo em restos culturais e ampla gama de hospedeiros (ALMEIDA et al., 2001).

Figura 3 - Sintomas de seca-da-haste e da vagem (*Phomopsis sojae*) em soja



Fonte: Embrapa Soja, 2005.

2.1.2 Métodos de controle dos fitopatógenos *Fusarium graminearum*, *Pyrenophora tritici-repentis* e *Phomopsis sojae*

O uso de cultivares resistentes para controle de giberela (*F. graminearum*) é amplamente relatado e muitos são os esforços na busca por genes e pela identificação de lócus quantitativos, porém características agronômicas, de qualidade e de resistência são controladas por poligenes e a seleção simultânea ainda é difícil (JIA et al., 2018). Assim, a eficiência deste método de controle é limitada pelo surgimento de raças fisiológicas que superem a resistência genética e por não existirem cultivares com resistência completa (DEUNER et al., 2015). No caso de *P. tritici-repentis*, genótipos de trigo resistentes à raça 1 já foram implantados nos Estados Unidos, entretanto, a resistência apresentada foi de apenas 50 a 75% (LAMARI et al., 2003); no Brasil ainda não há cultivares resistentes à mancha-amarela-do-trigo disponíveis (REIS; CASA, 2005). Já para controle de *P. sojae* o emprego de cultivares resistentes tem sido satisfatório (COSTAMILAN et al., 2008).

São poucos os relatos de sucesso com a utilização de agrotóxicos para o controle de giberela (PARRY; JENKINSON; McLEOD, 1995). Além disso, a aplicação de agrotóxicos pode resultar no depósito de resíduo químico nos grãos (KIMURA et al., 2006). Mesmo para um produto eficiente no controle de giberela verificam-se

problemas associados ao momento da aplicação aérea (PARRY; JENKINSON; McLEOD, 1995). Para a mancha-amarela (*P. tritici-repentis*), o emprego do controle químico em larga escala é a principal forma de controle da doença, tanto como tratamento de sementes como para aplicação aérea (REIS; CASA, 2005). *Phomopsis sojae* tem sido controlado de forma eficaz com tratamento químico das sementes, rotação de culturas e adubação potássica (HENNING et al., 2014). O uso do controle químico no tratamento de sementes impede que o patógeno cause danos nas plântulas (PARRY; JENKINSON; McLEOD, 1995) e pode servir como forma de reduzir a quantidade de inóculo na área, desta forma, a menor incidência nas sementes pode manter o peso dos grãos, o rendimento e a altura das plantas geradas (GILBERT et al., 2005).

Os tradicionais métodos de controle, dentre os quais estão o uso de cultivares resistentes e a aplicação de agrotóxicos, têm a capacidade de controlar doenças gradativamente reduzida (PAL; GARDENER, 2006) devido, principalmente, à resistência dos fungos fitopatogênicos aos agrotóxicos utilizados indiscriminadamente e em larga escala (BARDIN et al., 2015) e ao surgimento de raças fisiológicas que superam a resistência das cultivares (DEUNER et al., 2015). Além do fato de que as medidas de controle baseadas na proteção química nem sempre são eficazes elas ainda oneram o custo de produção. Também, vale destacar que, há necessidade de produtos com alta toxidez contra o patógeno e estabilidade em condições ambientais. O controle baseado em resistência genética não onera custos como o controle químico, entretanto para que haja resistência a doenças, por vezes é necessário renunciar à produtividade e ao valor comercial da cultivar (KIMATI; BERGAMIN-FILHO; AMORIM, 2011).

Tanto a dificuldade de controle utilizando agrotóxicos, quanto a eficiência limitada do uso de resistência genética evidenciam a necessidade de busca por novas alternativas de controle dos fitopatógenos. Neste contexto insere-se o controle biológico, que faz uso de organismos antagônicos, dentre os quais os microrganismos endofíticos (DAGAMAC et al., 2008) produtores de metabólitos com atividade contra patógenos (NORILER et al., 2018) que podem revelar moléculas ainda não exploradas

com a capacidade de atuar tanto no controle direto quanto na indução de resistência dos hospedeiros.

2.2 Endófitos

Endófitos são microrganismos que realizam pelo menos uma etapa de seu ciclo vital em tecidos vegetais sem causar qualquer sintoma visível (SAIKKONEN et al., 1998). Eles residem em todas as partes da planta e podem esporular na senescênciade tecido (RODRIGUEZ et al., 2009). A associação de microrganismos endofíticos com plantas terrestres é datada de mais de 400 milhões de anos (KRINGS et al., 2007) e é baseada em uma relação de coevolução dos endófitos e das plantas caracterizada por mutualismo (SAIKKONEN et al., 2004). Nessa interação é possível a transferência de informação genética entre hóspede e hospedeiro, o endófito adapta-se ao hospedeiro que lhe garante proteção e nutrição, em contrapartida, o microrganismo protege as plantas de agentes estressantes (STROBEL, 2003) de origem biótica (HEIJDEN; HARTMANN, 2016) e abiótica (SCHULZ et al., 2002).

Esses microrganismos podem ser transmitidos de uma planta à outra horizontalmente ou de forma vertical, e a colonização pode ser sistêmica ou local (SAIKKONEN et al., 1998). São divididos em endófitos clavicipitáceos, que infectam algumas gramíneas, e endófitos não clavicipitáceos, recuperados em plantas não vasculares, samambaias e semelhantes, coníferas e angiospermas (RODRIGUEZ et al., 2009). No conceito de fungo endofítico caberiam ainda os patogênicos em período de latência (SAIKKONEN et al., 1998). Acredita-se que os fungos endofíticos de plantas lenhosas são uma evolução dos fungos fitopatogênicos pela íntima relação entre eles (CHADHA et al., 2015), visto que um mesmo gênero fúngico, como exemplo *Diaporthe*, é capaz de apresentar espécies endofíticas, saprofíticas e patogênicas para as plantas (GOMES et al., 2013). Entretanto, através de análises de genoma e transcriptoma, já foi demonstrado que, por mais que os fungos tenham conjuntos de genes relacionados à patogenicidade estes respondem a sinais derivados das plantas, que podem reprogramar a expressão dos genes fúngicos (O'CONNELL et al., 2012).

2.2.1 Endófitos como agentes de controle biológico

Os microrganismos endofíticos desempenham função na evolução e na resistência a estresses da planta (YUAN; ZHANG; LIN, 2010). Como mutualistas que conferem proteção contra agressores bióticos, os endófitos podem auxiliar seus hospedeiros de quatro maneiras principais: por indução de resistência com elicidores que ativam as defesas intrínsecas das plantas, quando competem por nutrientes e espaço levando à exclusão de outros organismos, através do parasitismo direto e do antagonismo ou por antibiose de substâncias nocivas aos patógenos (CARD et al., 2016). A proteção contra os patógenos pode ser o resultado do efeito combinado de diferentes mecanismos de ação e de diversos gêneros de endófitos (ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006).

A resistência sistêmica induzida pela presença de endófitos é geralmente associada à rota do ácido jasmônico (AJ) e atua através do chamado *priming* ou “estado de alerta”, em que o acúmulo de fatores de transcrição e de proteínas de sinalização nas células ficam inativos até um ataque (BASTIAS et al., 2017a; IASON; TAYLOR; HELFER, 2018). Essa modificação de defesa é consequência de interações moleculares que ocorrem durante o estabelecimento da simbiose entre a planta e o endófito (BASTIAS et al., 2017a).

Há transcrição reprogramada da planta quando em simbiose com endófitos, como evidenciado na modificação de 38% dos genes de plantas de azevém (*Lolium perene* var. *lolii*) quando colonizado pelo fungo *Epichloë festucae*, aumentando os precursores de AJ (BASTIAS et al., 2017b) e na ativação de genes que demonstram atividade de defesa sistêmica (WALLER et al., 2008). Além disso, pode ocorrer aumento na expressão de proteínas relacionadas à patogênese, como PR2, PR6, PR15 e PR16 (JI; GURURANI; CHUN, 2014); na atividade de enzimas como quitinase, peroxidase, glucanase, celulase (YEDIDIA et al., 2000) fenilalanina amônia-liase, polifenol oxidase, superóxido dismutase, peroxidase, ascorbato peroxidase e peroxidase de guaiacol (SINGH; GAUR, 2017), lipoxigenase, catalase e aminociclopropano-carboxilato-oxidase (CABANÁS et al., 2014), e maior deposição de lignina e de

celulose (MEJÍA et al., 2014). Estas respostas podem ser sistêmicas, como evidenciado pelo desencadeamento de respostas na parte aérea de oliveiras colonizadas por bactérias nas raízes (CABANÁS et al., 2014) e, também pela presença de bactérias endofíticas em porções de raízes separadas fisicamente das porções onde foi feita a inoculação destas (LIU et al., 2018).

Os endófitos são capazes de biossintetizar metabólitos secundários que atuam na colonização das plantas (ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006) e podem ser tóxicos para insetos, patógenos (BASTIAS et al., 2017a) e algumas algas (TAN; ZOU, 2001). Um dos grupos químicos produzidos pelos endófitos e amplamente relatado é o dos alcaloides, com atividade de defesa contra fungos e insetos (ALY et al., 2010). Também há registro de produção de esteroides, terpenoides (sesquiterpenos, diterpenos, monoterpenos) derivados de isocumarina, quinonas, flavonoides, fenilpropanoides e ligninas, peptídeos, fenol e ácidos fenólicos, compostos alifáticos, metabólitos clorados e outros (TAN; ZOU, 2001).

A exemplo disso, metabólitos produzidos por *Diaporthe* cf. *heveae* LGMF1631 inibiram em 90% o crescimento micelial de *Phyllosticta citricarpa* e em 70% de *Colletotrichum abscissum* (NORILER et al., 2018). Compostos orgânicos voláteis do isolado LGMF1256 identificado como *Muscodor brasiliensis* sp. nov. isolado de *Schinus terebinthifolius* inibiu em 100% o crescimento de *Penicillium digitatum* em BDA e 77% em laranjas (PENA et al., 2019). Um extrato do fungo endofítico *Diaporthe terebinthifolii* contendo compostos identificados como verbanol, álcool feniletílico, hexadecanoato de metilo e isoverbanol foi eficaz no controle de *Phyllosticta citricarpa* (TONIAL, 2017) e substâncias possivelmente alelopáticos suprimiram a proliferação de nematoides em lesões radiculares (STURZ; KIMPINSKI, 2004). Os endófitos podem ainda produzir compostos indutores de crescimento como o ácido indol-1,3-acético (AIA) e auxiliar na fixação de nitrogênio (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2014).

No contato direto entre endófito e patógeno pode haver o controle do microrganismo no local de desafio entre ambos (ARNOLD et al., 2003), seja pelo

parasitismo direto, em que deformidades no patógeno podem ser observadas (VINAYARANI; PRAKASH, 2018; PRETO et al., 2017) ou pela competição (RIBEIRO et al., 2018), mesmo sem a indução de mecanismos de defesa, como proteínas relacionadas à patogênese (SOUZA et al., 2008). A competição e o parasitismo direto requerem contato entre endófito e patógeno, o que faz desses mecanismos pouco frequentes, uma vez que o endófito e o patógeno tem muito pouco ou nenhum contato direto (CARD et al., 2016), mesmo com a disseminação dos endófitos pelos feixes vasculares para caules e folhas (JI; GURURANI; CHUN, 2014), e pela atração dos mesmos por plantas que estão sendo atacadas por patógenos (SESSITSCH; REITER; BERG, 2004).

A sobreposição de antibiose, competição e parasitismo direto dificulta a distinção entre os mecanismos de controle de patógenos por endófitos, mas representa a complexidade do sistema de inibição (LATZ et al., 2018). Apesar desta divisão didática em diferentes mecanismos, estes podem operar de forma combinada contra os patógenos, a exemplo dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium brunneum* que atuam por competição e antibiose no controle de *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum* e *F. moniliforme* (JABER; ALANANBEH, 2018).

2.2.2 Bioprospecção de metabólitos de endófitos

A busca por novos compostos, enzimas, extratos e princípios ativos em diversas fontes biológicas é chamada de bioprospecção (STROBEL; DAISY, 2003). A partir do metabolismo secundário de microrganismos é possível encontrar compostos com atividade antiviral, anti-helmíntica, inibidores enzimáticos, nutracêuticos, herbicidas, inseticidas, antimicrobianos, entre outros compostos de interesse médico e agrícola (DEMAIN, 2014). As plantas e os microrganismos são importantes fontes de novas moléculas para combater patógenos, pois expressam moléculas bioativas de diferentes grupos químicos (SILVER, 2015). Na medicina, a bioprospecção é responsável por 75% de novos compostos com atividade contra doenças infecciosas (DEMAIN, 2014), a exemplo da penicilina isolada do fungo *Penicillium* por Fleming (FLEMING, 1941). Na

área agrícola, com ampla utilização, tem-se as estrobilurinas, cujas substâncias com atividade fungicida (estrobilurina A e B) foram primeiramente isoladas do basidiomiceto *Strobilurus tenacellus* (ANKE et al., 1977) e na sequência passaram a ser produzidas de modo sintético para comercialização e uso agrícola.

Os endófitos apresentam ampla capacidade para bioprospecção, sendo capazes de fornecer novas soluções para problemas antigos de resistência a compostos químicos pelos microrganismos (STROBEL; DAISY, 2003). Eles biosintetizam metabólitos secundários, que, além de importantes para os processos de colonização das plantas (ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006), podem ser tóxicos para insetos, patógenos (BASTIAS et al., 2017a) e algumas algas (TAN; ZOU, 2001). Gramíneas em simbiose com endófitos são protegidas por alcaloides contra fungos e insetos (ALY et al., 2010).

Compostos produzidos por endófitos podem controlar fitopatógenos, o isolado *Trichoderma harzianum* TharDOB-31, endofítico isolado do rizoma de açafrão (*Curcuma longa*), produz metabólitos bioativos com propriedades antimicrobianas contra *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani* (VINAYARANI; PRAKASH, 2018). Ainda, os endófitos de *Tagetes* spp. introduzidos em batata foram capazes de suprimir a proliferação de nematoides das lesões radiculares, possivelmente através de alelopatia (STURZ; KIMPINSKI 2004). Outra forma de prospectar endófitos como controle biológico é inoculando os microrganismos nas plantas suscetíveis a patógenos (SANTOS et al., 2016). Mas o principal foco das pesquisas tem sido o relato quanto a produção de compostos que inibem o desenvolvimento de patógenos.

2.2.3 Fungos endofíticos de *Schinus terebenthifolius*

A planta *Schinus terebenthifolius* Raddi, da família Anacardiaceae, conhecida popularmente como aroeira apresenta propriedades bioativas atribuídas à atividade antimicrobiana de folhas, frutos e casca (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; PRADO, 2005). As folhas e frutos apresentam elevada quantidade de fenois (QUEIRES; RODRIGUES, 1998) que podem ser alcaloides, taninos e flavonoides. Esses compostos

foram encontrados em extratos de folhas dessa planta e correlacionados com a inibição do crescimento micelial de fitopatógenos, como *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* (RHOUMA et al., 2009).

A produção de substâncias de interesse agronômico pela aroeira pode estar atrelada à produção própria de compostos ativos ou pela presença de endófitos, visto que há comunicação da planta com esses microrganismos e um pode influenciar no metabolismo do outro (ALY et al., 2010). A comunidade endofítica de folhas da aroeira, composta principalmente por fungos do gênero *Alternaria*, *Bjerkandera*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Penicillium* e *Xylaria*, possui representantes com capacidade de produzir compostos antimicrobianos em condições de fermentação que controlam o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosa* (TONIAL et al., 2015). Além disso, um dos isolados endofíticos dessa planta, *Diaporthe terebinthifolii*, libera compostos que inibem a germinação de esporos do fitopatógeno *Phyllosticta citricarpa* (TONIAL et al., 2017).

2.2.4 O gênero de fungos endofíticos *Diaporthe*

O gênero *Diaporthe*, cuja fase anamórfica é conhecida como *Phomopsis* pertence ao filo Ascomycota, subfilo Pezizomycotina, classe Sordariomycetes, subclasse Diaporthomycetidae, ordem Diaporthales, família Diaporthaceae (MYCOBANK, 2020). Para esse gênero de fungos são encontrados representantes fitopatogênicos, endofíticos e saprofíticos amplamente distribuídos e como hóspedes de diversas plantas (GOMES et al., 2013). Algumas das espécies podem ser agrupadas em complexos, como *D. arecae*, *D. eres* e *D. sojae* (MARIN-FELIX et al., 2019).

Devido à complexidade do gênero e ampla gama de hospedeiros, tem sido cada vez mais difícil identificá-lo em nível de espécie, uma vez que é um gênero polifilético que incorpora outros gêneros morfológicamente distintos (GAO et al., 2017). Mesmo utilizando o sequenciamento da região do espaçador transscrito interno (ITS) aliado a dados morfológicos a identificação não tem sido satisfatória (GOMES et al., 2013). Em

estudo sobre a filogenia e taxonomia do gênero *Diaporthe* Gomes et al. (2013) sugerem que sejam feitas análises multilocus para uma identificação de espécie mais robusta, através da combinação das regiões genômicas: espaçador transcrito interno (ITS), fator de alongamento da tradução 1- α (TEF1), β -tubulina (TUB), histona H3 (HIS) e calmodulina (CAL).

Diaporthe é o gênero fúngico mais frequentemente isolado como endófito e tem a produção de metabólitos com bioatividade investigada, servindo assim de fonte para exploração de novos metabólitos secundários com potencial biotecnológico (UDAYANGA et al., 2011; SAVI; ALUIZIO; GLIENKE. 2019). Em estudo sobre a comunidade endofítica nos biomas pantanal e cerrado, no Brasil, fungos do gênero *Diaporthe* foram predominantes em ambos os biomas (NORILER et al., 2018). Foi também o gênero predominante (51,72%) como endófito de folhas de *Tibouchina granulosa* (GOLIAS et al., 2019). Vale destacar que *Diaporthe* é um gênero que se adapta a diferentes ambientes e condições (GOMES et al., 2013).

Na bioprospecção de compostos produzidos pelo metabolismo secundário de endófitos de aroeira foi identificada a presença de diaportina e ortosporina no cultivo do fungo endofítico *Diaporthe terebinthifolii* (LGMF907), ambos compostos com comprovada ação antimicrobiana contra patógenos clínicos (MEDEIROS et al., 2018). Com outro isolado do mesmo gênero (LGMF658) foi constatada a presença de verbanol, álcool feniletílico, hexadecanoato de metilo e isoverbanol no extrato do fungo, o sinergismo entre esses compostos foi eficaz no controle do desenvolvimento do fitopatógeno *Phyllosticta citricarpa* (TONIAL, 2017). Além da atividade contra microrganismos, compostos obtidos de *Diaporthe* sp. apresentam outras atividades biológicas, como diaportois A e B que podem atuar como inibidores de metástase tumoral (NAKASHIMA et al. 2018), e diaporthichalasinand, um inibidor do CYP3A4 (PORNPAKAKUL et al. 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi realizado o *screening* dos endófitos de *Schinus terebinthifolius* por teste de cultura pareada para selecionar o microrganismo com maior potencial de controle dos fitopatógenos. A partir do fungo selecionado foram obtidos extratos, que tiveram a bioatividade contra fitopatógenos testada *in vitro* por difusão em ágar e *in vivo* por testes em sementes de trigo. Para a identificação do microrganismo com maior potencial biotecnológico foi realizada uma análise multilocus da região do espaçador interno transcrito (ITS), de parte dos genes do fator de elongação da tradução 1- α (TEF1), da calmodulina (CAL), da histona H3 (HIS) e da β -tubulina (TUB).

3.1 Screening

3.1.1 Microrganismos utilizados

Os fungos endofíticos prospectados na pesquisa foram isolados de folhas de um exemplar de aroeira cuja exsicata encontra-se no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR) sob o registro UPCB-30848 (TONIAL, 2010). Esses microrganismos pertencem à micoteca do BIOGEMM – Bioprospecção e Genética Molecular de Microorganismos da UFPR - e estão codificados como LGMF625, LGMF626, LGMF627, LGMF651, LGMF653, LGMF658, LGMF659, LGMF673, LGMF692, LGMF694, LGMF695, LGMF700, LGMF701, LGMF713 e LGMF714. Os exemplares avaliados foram identificados por microscopia, macroscopia e sequenciamento da região ITS (ITS1-5.8S-ITS2 do rDNA) (TONIAL, 2010) como pertencentes aos gêneros *Alternaria* (LGMF626 e LGMF692), *Bjerkandera* (LGMF713), *Diaporthe* (LGMF625, LGMF651, LGMF658 LGMF627, LGMF653, LGMF694, LGMF695, LGMF700, LGMF701 e LGMF714) e *Xylaria* (LGMF673); um isolado não identificado (LGMF659).

Os fungos fitopatogênicos utilizados nos ensaios de bioatividade foram identificados morfologicamente a partir do cultivo monospórico em meio de cultivo como *Pyrenophora tritici-repentis* e *Fusarium graminearum* oriundos de trigo (*Triticum aestivum*), e *Phomopsis sojae* obtido de soja (*Glycine max*). Esses microrganismos foram isolados de amostras vegetais sintomáticas e cedidos para a pesquisa pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo.

3.1.2 Teste de cultura pareada

A primeira etapa de seleção do fungo a ser prospectado foi realizada pelo teste de cultura pareada (BADALYAN; INNOCENTI; GARIBYAN, 2002). Os fungos fitopatogênicos e os endófitos foram cultivados em meio de cultivo batata-dextrose ágar (BDA) durante dez dias, após esse período foram confrontados em placas de Petri. Discos de micélio de 5 mm de diâmetro (\varnothing) de endófitos e patógenos foram repicados a 4,5 cm de distância e dispostos em lados opostos nas placas de Petri contendo meio BDA (Figura 4).

Figura 4 - Representação do teste de cultura pareada entre endófito e patógeno em placa de Petri



Fonte: O Autor, 2019.

As placas foram mantidas a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas em câmara incubadora. Foi mensurado o crescimento micelial dos patógenos com auxílio de régua em intervalos de 24 horas através da tomada de duas medidas em eixos ortogonais da colônia do fitopatógeno até que o patógeno atingisse as bordas da placa de controle. O fitopatógeno *Fusarium graminearum* teve seu crescimento mensurado por até 96 horas, *Drechslera tritici-repentis* por 144 horas e *Phomopsis sojae* por 72 horas. A

porcentagem de inibição (PI) do crescimento micelial dos patógenos foi calculada de acordo com Quiroga, Sampietro e Vattuone (2001), através da equação (1), onde PC indica o crescimento do fitopatógenos na placa de controle negativo (sem a presença de endófito/tratamento) e PE representa o crescimento do fitopatógeno na placa contendo o endófito/tratamento.

$$\text{PI} (\%) = (\text{PC}-\text{PE})/\text{PC} * 100 \quad (1)$$

3.1.2.1 Análise estatística

Os testes de cultura pareada foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os resultados do crescimento micelial foram analisados utilizando o programa RStudio (R CORE TEAM, 2019). Os resíduos não foram considerados normais de acordo com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($p \leq 0,05$). Sendo assim, realizou o teste de não-paramétrico de Kruskal-Wallis que utiliza um ordenamento global dos dados com atribuição de postos de acordo com os valores observados.

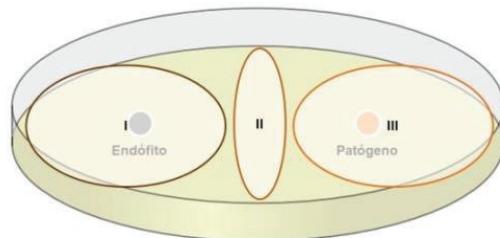
3.2 Obtenção dos extratos

O fungo endofítico *Diaporthe* LGMF694 selecionado no screening e o fitopatógeno *Fusarium graminearum* foram novamente confrontados em meio BDA por teste de cultura pareada (3.1.2). Deste co-cultivo, 24 horas após, foram coletadas três porções distintas do meio de crescimento dos microrganismos para o preparo dos extratos. Essas frações apresentavam sobre o meio de cultura: (I) crescimento micelial do endófito, (II) ponto de intersecção sem conter crescimento micelial dos fungos confrontados, e (III) crescimento micelial do patógeno (Figura 5). Além dessas frações foi preparado um extrato do endófito crescido em meio BDA sem a presença do fitopatógeno.

As frações I, II e III e o meio de cultivo contendo o endófito crescido sem a presença do patógeno foram macerados em metanol (CH_3OH). Os resíduos sólidos foram separados utilizando papel filtro e as porções líquidas coletadas foram

concentradas em evaporador rotativo a 45 °C para a obtenção dos extratos, que foram mantidos em estufa a 35 °C até o solvente evaporar por completo. Os rendimentos foram quantificados com auxílio de uma balança de precisão e, posteriormente os extratos foram ressuspendidos em metanol:água (1:4) na concentração de 1 mg/mL para utilização nos ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Figura 5 - Representação dos locais de coleta das frações nas placas de confronto entre endófito e patógeno para a obtenção dos extratos a serem avaliados



Fonte: O Autor, 2019.

Legenda: (I) crescimento micelial do endófito, (II) ponto de intersecção sem conter crescimento micelial dos fungos confrontados, e (III) crescimento micelial do patógeno.

3.3 Bioatividade dos extratos

A bioatividade dos extratos obtidos a partir do endófito selecionado no *screening* foi avaliada *in vitro* pela metodologia de difusão em ágar e *in vivo* pelo tratamento de sementes de trigo.

3.3.1 Teste de difusão em ágar

Para avaliar a capacidade dos extratos em controlar o crescimento micelial de *F. graminearum* 100 µL de cada tratamento foram pipetados sobre a superfície do meio BDA em placa de Petri, espalhado uniformemente com uma alça de Drigalski e, após absorção completa do tratamento pelo meio, um disco de micélio do fitopatógeno (\varnothing de 5 mm) foi inoculado no centro da placa. Medidas em eixos ortogonais da colônia do fungo foram tomadas a cada 24 horas durante 96 horas. A porcentagem de inibição foi

calculada conforme equação (1), em que se comparou o diâmetro da colônia na presença dos tratamentos em relação ao controle com o solvente metanol.

3.3.1.1. Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. Para cada teste de difusão em ágar foram realizadas cinco repetições por tratamento. O experimento foi repetido por três vezes. Os dados conjuntos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$). Os dados foram analisados utilizando o programa RStudio (R CORE TEAM, 2019).

3.3.2 Teste em sementes de trigo

3.3.2.1. Ajuste de metodologia de inoculação do fitopatógeno nas sementes

O uso de restritores hídricos em substratos utilizados para inocular fungos em sementes é um procedimento eficaz para controlar a germinação antecipada das sementes sem prejudicar o desenvolvimento dos fungos e da semente (COSTA et al., 2003; FALLEIRO et al., 2010).

Para a inoculação de *Fusarium graminearum* nas sementes de trigo foi necessário realizar um ajuste metodológico em vista da não existência de referência para esse ensaio com uso de restritor hídrico. Sendo assim, preparou-se meio de cultivo BDA acrescido das diferentes quantidades do restritor hídrico 1,8, 8,8, 15,7, 22,5 e 29,1 g manitol em 500 mL BDA para alcançar os potenciais hídricos de -0,4, -0,6, -0,8, -1,0 e -1,2 MPa, respectivamente. O tratamento controle, sem adição de manitol, correspondeu ao potencial hídrico do meio BDA de -0,36 MPa (BERTAGNOLLI et al., 2017).

O crescimento micelial foi avaliado a partir de um disco de micélio do fitopatógeno (\varnothing 5 mm) inoculado no centro de cada placa. As medidas foram realizadas a cada 24 horas tomando-se medidas (cm) em eixos ortogonais da colônia do fungo com auxílio de uma régua. Após o crescimento do micélio em toda a placa de Petri sementes

de trigo da cultivar TBIO Sonic® (Biotrigo Genética) previamente submetidas à antisepsia com hipoclorito de sódio 1% por dois minutos seguida de três lavagens em água estéril e secagem a temperatura ambiente foram colocadas sobre a colônia. As sementes ficaram em contato com o micélio do patógeno por 12, 24, 36, 48 e 60 h. Depois de retiradas do contato direto com o patógeno as sementes passaram por secagem a temperatura ambiente e em seguida foram testadas quanto à germinação e à sanidade.

Para avaliar a porcentagem de germinação duzentas sementes foram acondicionadas em papel mata-borrão umedecido com água estéril em 2,5 vezes o peso do papel e armazenados em incubadora do tipo DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. A primeira e segunda contagem do número de sementes germinadas foram realizadas após 4 e 8 dias, respectivamente (BRASIL, 2009 com adaptações). A sanidade de 200 sementes foi avaliada através da disposição destas em caixas gerbox contendo papel mata-borrão umedecido com água estéril em 2,5 vezes o peso do papel e armazenados em incubadora do tipo DBO a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, após 7 dias foi verificado o crescimento de micélio aéreo nas sementes com uso de microscópio estereoscópico (BERTAGNOLLI et al., 2017).

Com esse ensaio foi determinada que o potencial hídrico do meio de cultura para inoculação do patógeno deve ser de -1,0 MPa. Uma vez que o ponto máximo de crescimento do fungo no tempo foi entre -0,8 e -1,06 MPa. Na condição de -1,0 MPa a manutenção da germinação das sementes foi de 92% em contato com o patógeno por 12 horas. Além disso, a porcentagem de inoculação de *F. graminearum* nas sementes de trigo nesta condição foi de 100% (Apêndice I).

3.3.2.2. Avaliação da atividade dos extratos *in vivo*

Para verificar a capacidade dos extratos obtidos em inibir o *F. graminearum* *in vivo*, os mesmos foram utilizados como tratamento de sementes (TS) após elas terem sido inoculadas por 12 horas de contato direto com o micélio do fitopatógeno crescido

em meio BDA com potencial hídrico de -1,0 MPa (conforme metodologia descrita no item 3.3.2.1).

Os tratamentos utilizados foram: T1 = extrato obtido da fração I do co-cultivo; T2 = extrato do crescimento do endófito na ausência do patógeno; T3 = controle negativo de metanol:água (1:4); T4 = controle positivo com o fungicida Standak® Top (BASF 2,5% m/v de piraclostrobina, 22,5% m/v de tiofanato metílico e 25% m/v de fipronil); T5 = sementes inoculadas sem nenhum tratamento, como controle negativo.

Para cada tratamento foi preparado um volume de calda de 500 mL por 100 kg de sementes (conforme recomendação do produto comercial) que foram pipetados sobre sementes acondicionadas em sacos plásticos. As misturas foram homogeneizadas delicadamente. Acrescentou-se um controle de germinação, de sanidade e de emergência de plântulas, nos quais as sementes não foram inoculadas e nem tratadas. Após secagem, as sementes foram submetidas aos testes de germinação e de sanidade (conforme descritos no item 3.2.3.1) e ao teste de emergência de plântulas, no qual as sementes foram colocadas para germinar a 1,5 cm de profundidade em solo em recipientes estéreis e foram contabilizadas quanto à emergência das plântulas após 12 dias.

3.2.3.3 Análise estatística

Para o ajuste da metodologia de inoculação utilizou-se oito repetições para o crescimento micelial e 4 repetições de 50 sementes para os testes de germinação e de sanidade. Fez-se análise de regressão utilizando o programa RStudio (R CORE TEAM, 2019).

Na avaliação da atividade dos extratos foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes para o teste de germinação e de sanidade, e 13 repetições de 16 sementes para o teste de emergência de plântulas. Os resultados de germinação foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis (não-paramétrico), uma vez que os resíduos não foram considerados normais de acordo com o teste de normalidade dos resíduos de Shapiro-

Wilk ($p \leq 0,05$). Os resultados do teste de sanidade estão apresentados em histograma construído no SigmaPlot. Os resultados do teste de emergência de plântulas foram analisados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Todos os testes estatísticos foram realizados no programa RStudio (R CORE TEAM, 2019).

3.4 Identificação do fungo endofítico

O isolado *Diaporthe* LGMF694 foi cultivado durante três dias a 28 °C em BDA coberto com celofane esterilizado. A extração de DNA foi realizada de acordo com Raeder e Broda (1985). Para o sequenciamento parcial dos genes do rDNA foram utilizados os primers descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Primers utilizados para sequenciamento parcial dos genes do rDNA do isolado *Diaporthe* LGMF694, espaçador interno transcrito (ITS), fator de elongação da tradução 1- α (TEF1), calmodulina (CAL), histona H3 (HIS) e β -tubulina (TUB)

Região	Primer	Referência
ITS	ITS1 e ITS4	(WHITE et al., 1990)
TEF1	EF1-728F e EF1-986R	(CARBONE; KOHN, 1999)
CAL	CAL-228F e CAL-737R	(CARBONE; KOHN 1999).
HIS	CYLH3F e H3-1b	(CROUS et al. 2004; GLASS; DONALDSON, 1995)
TUB	T1 e Bt-2b	(O'DONNELL; CIGELNIK, 1997; GLASS; DONALDSON 1995)

O volume total da reação foi de 12 μ L, composto por 1,25 μ L de tampão, 8,275 μ L de água, 0,25 μ L de cada primer, 0,5 μ L de DNTP, 0,375 μ L de MgCl₂, 0,1 μ L da enzima Taq DNA polimerase e 1 μ L de DNA. As condições da PCR foram iniciadas por 5 minutos a 94 °C seguida de 35 ciclos de 30 segundos a 95 °C, o anelamento foi feito por 30 segundos a 55 °C para TEF1, TUB e HIS e a 58 °C para a CAL, a temperatura de alongamento foi de 72 °C por 45 segundos para TEF1 e CAL e por 2 minutos para TUB e HIS, a reação foi finalizada por 5 minutos a 72°C e resfriada a 4 °C. Para a região ITS foram utilizados 32 ciclos de 30 segundo a 96 °C, para o anelamento utilizou-se 58 °C

por 45 segundos e 72 °C por 45 segundos para alongamento. As reações foram purificadas enzimaticamente com *ExoI* e *FastAPTM* e sequenciadas com o *Kit BigDye® Terminator v3.1*. As reações das regiões TEF1, CAL, TUB e HIS foram purificados utilizando o polímero *Sephadex G50* e as leituras da reação foram feitas utilizando o sequenciador automático ABI3500® (*Applied Biosystem*). As leituras das reações da região ITS foram feitas no sequenciador *Genetic Analyser 3500xL (Thermo)*.

As sequências de cada região foram analisadas no programa MEGA X (KUMAR et al., 2018) e BioEdit (HALL, 1999) para obtenção das sequências consenso, as quais foram comparadas na base de dados do *GenBank* utilizando a ferramenta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) para buscar isolados com taxonomia próxima. Após essa análise sequências de material *type* de espécies do gênero *Diaporthe* acessadas através do *Mycobank* (<http://www.mycobank.org/>) foram selecionadas. Sequências de 235 isolados (Apêndice II) mais o isolado LGMF694 e as sequências de espécies do complexo *Diaporthe sojae* foram alinhadas utilizando o serviço MAFFT v.7 online (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server>) e foram concatenadas através da ferramenta *SequenceMatrix* (VAIDYA; LOHMAN; MEIER, 2011).

Para determinação do melhor modelo evolutivo (Apêndice III) para as análises de inferência Bayesiana e Máxima verossimilhança utilizou-se a ferramenta *jModelTest* 2 (DARRIBA et al., 2015). As árvores foram geradas com as ferramentas *MrBayes* 3.2.6 (RONQUIST et al., 2012) e GARLI 2.01 (ZWICKL, 2006). Para inferência Bayesiana a análise de quatro cadeias, uma fria e três quentes, foi iniciada em paralelo a partir de uma topologia de árvore aleatória e durou até o desvio padrão médio das frequências divididas ficar abaixo de 0,01. As árvores foram salvas a cada 1.000 gerações e os *bootstraps* foram sumarizados com a ferramenta *Sumtrees* (SUKUMARAN; HOLDER, 2010). Os valores de probabilidade a posteriori e dos *bootstraps* foram calculados após o descarte dos primeiros 25% de árvores geradas.

As análises de inferência Bayesiana, Máxima verossimilhança e a determinação do modelo evolutivo foram executadas na plataforma *CIPRES Science Gateway* v.3.3. (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010). A árvore filogenética resultante de cada

teste foi plotada com o programa *FigTree* v.1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) e o layout editado no Adobe Illustrator v. CS5.1. A espécie *Diaporthella corylina* (CBS 121124) foi utilizada como *outgroup* na análise filogenética com base em sua posição na família Diaporthales (VASILYEVA; ROSSMAN; FARR, 2007) e a espécie *Diaporthe amygdali* foi utilizada como *outgroup* na análise filogenética da árvore do Complexo *D. sojae* (GUO et al., 2020). As sequências das regiões ITS, CAL, HIS, TUB e TEF1 do endófito *Diaporthe infecunda* LGMF694 foram depositadas na base de dados do *GenBank* (www.ncbi.nlm.nih.gov) e possuem os respectivos números de acesso: MT124506, MT274577, MT274693, MT274715 e MT276224.

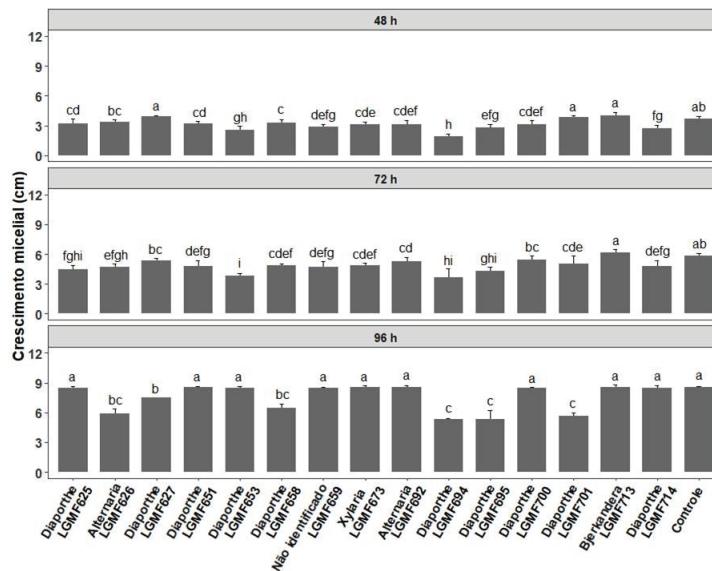
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O controle biológico faz uso de organismos antagônicos, dentre os quais estão fungos e bactérias endofíticos produtores de metabólitos ativos (DAGAMAC et al., 2008). Com esse propósito foi realizado um *screening* de fungos endofíticos oriundos de folhas de aroeira que selecionou o isolado de *Diaporthe infecunda* LGMF694 como o mais promissor dentre os isolados avaliados no controle do crescimento micelial de *Fusarium graminearum*. Um extrato obtido desse fungo inibiu significativamente o crescimento do patógeno *in vitro*. O fungo endofítico foi identificado através de uma análise multilocus das regiões CAL, HIS, ITS, TEF1 e TUB como *Diaporthe infecunda*.

4.1 *Screening* dos endófitos

Dos quinze endófitos que tiveram a atividade antagônica contra os fitopatógenos avaliada seis reduziram significativamente o crescimento micelial de *F. graminearum* (Figura 6), todos os quinze controlaram o crescimento de *P. tritici-repentis* (Figura 7), e treze foram ativos contra *P. sojae* (Figura 8). Os endófitos que exerceram controle estatisticamente superior sobre os fitopatógenos até o tempo máximo de avaliação são do gênero *Diaporthe*, LGMF694 contra *F. graminearum* (38,2%), LGMF651 contra *P. tritici-repentis* (65,7%) e LGMF651 contra *P. sojae* (15,8%) (Apêndice VI). Apesar do controle de LGMF651 contra dois dos fitopatógenos, a porcentagem de inibição de *P. sojae* foi baixa e ele não apresentou atividade contra *F. graminearum*. Enquanto que, o isolado LGMF694 inibiu em 38,2%, 50,0% e 15,8% o crescimento micelial dos fitopatógenos *F. graminearum*, *P. tritici-repentis* e *P. sojae*, respectivamente. Com destaque para o controle de *F. graminearum*, um fungo de difícil controle (JIA et al., 2018).

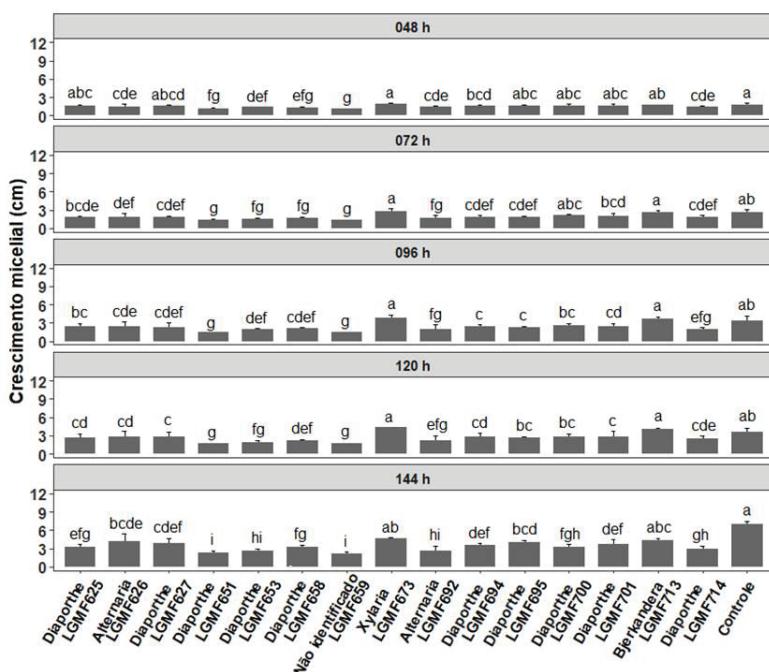
Figura 6 - Crescimento micelial (cm) de *Fusarium graminearum* após 48, 72 e 96 horas de confronto com isolados de fungos endofíticos oriundos de *Schinus terebinthifolius*



Fonte: Dados do autor, 2018.

Nota: Média ± desvio padrão ($n=5$). Letras distintas sobre as colunas indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p<0.05$).

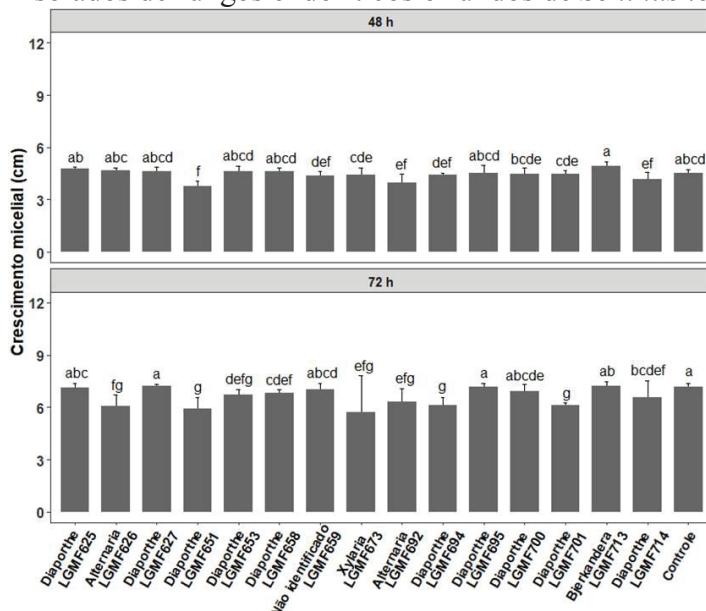
Figura 7 - Crescimento micelial (cm) de *Pyrenophora tritici-repentis* após 48, 72, 96, 120 e 144 horas de confronto com isolados de endófitos de *Schinus terebinthifolius*



Fonte: Dados do autor, 2018.

Nota: Média ± desvio padrão ($n=5$). Letras distintas sobre as colunas indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p<0.05$).

Figura 8 - Crescimento micelial (cm) de *Phomopsis sojae* após 48 e 72 horas de confronto com isolados de fungos endofíticos oriundos de *Schinus terebinthifolius*



Fonte: Dados do autor, 2018.

Nota: Média ± desvio padrão ($n=5$). Letras distintas sobre as colunas indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p<0.05$).

O isolado *Diaporthe* LGMF694 inibiu em 50,0% o crescimento micelial de *F. graminearum* após 48 horas de confronto mantendo a capacidade de inibição em 38,2% após 96 horas (Figura 9). Os fungos LGMF695 e LGMF701, também do gênero *Diaporthe*, controlaram o crescimento deste fitopatógeno em 37,64% e 34,11% respectivamente, 96 horas após o confronto (Apêndice VI).

Figura 9 - Ensaio de pareamento entre o fitopatógeno *Fusarium graminearum* e o fungo endofítico *Diaporthe* LGMF694 após 72 horas de confronto

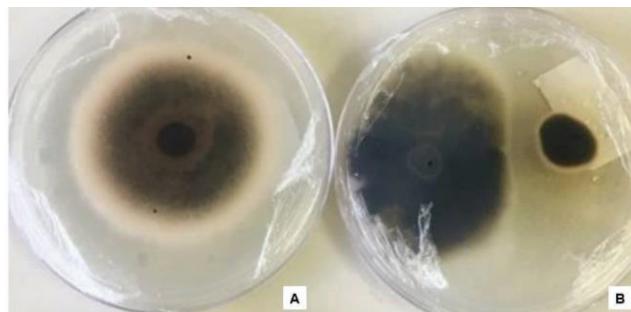


Fonte: O Autor, 2018.

Legenda: A – crescimento micelial do fitopatógeno *Fusarium graminearum*.
B – confronto entre o fitopatógeno (à esquerda) e o isolado *Diaporthe* LGMF694 (à direita).

Os resultados mais promissores no controle do crescimento micelial de *Pyrenophora tritici-repentis* foram obtidos com os isolados LGMF659 (não identificado) (Figura 10) e LGMF651 (*Diaporthe*) cujas porcentagens de inibição foram de 70,0% e 65,71%, respectivamente após 144 horas do pareamento (Apêndice VI).

Figura 10 - Ensaio de pareamento entre o fitopatógeno *Pyrenophora tritici-repentis* e o fungo endofítico isolado não identificado LGMF659 após 144 horas de confronto

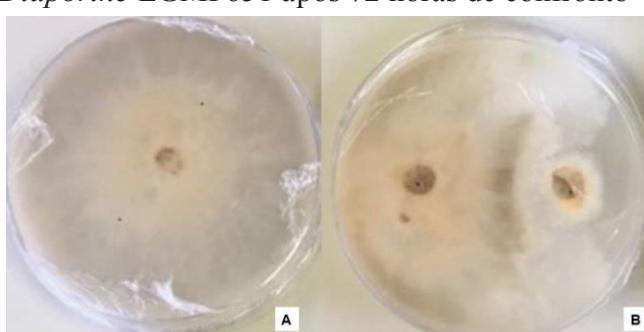


Fonte: O Autor, 2018.

Legenda: A – crescimento micelial do fitopatógeno *Pyrenophora tritici-repentis*.
B – confronto entre o fitopatógeno (à direita) e o isolado LGMF659 (à esquerda).

O isolado LGMF626 (*Alternaria*) inibiu em 19,3% e o isolado LGMF651 (*Diaporthe*) foi capaz de inibir em 15,79% o crescimento micelial de *Phomopsis sojae* após 72 horas de confronto (Figura 11; Apêndice VI).

Figura 11 - Ensaio de pareamento entre o fitopatógeno *Phomopsis sojae* e o fungo endofítico isolado *Diaporthe* LGMF651 após 72 horas de confronto



Fonte: O Autor, 2018.

Legenda: A – crescimento micelial do fitopatógeno *Phomopsis sojae*.
B – confronto entre o fitopatógeno (à esquerda) e o isolado *Diaporthe* LGMF651 (à direita).

Outros trabalhos reforçam as evidências obtidas nessa pesquisa, fungos endofíticos são fontes interessantes para a bioprospecção de agentes microbianos para o controle de fitopatógenos. A inibição do desenvolvimento de *Fusarium* já foi relatada quando confrontado com endófito do gênero *Diaporthe* oriundo de *Sapindus saponaria*, ao qual se associou o controle à ativação de enzimas como amilase, pectinase e celulase (SANTOS et al., 2019).

Gêneros de endófitos, como *Aspergillus* sp., também demonstraram capacidade de inibição de *Fusarium oxysporum* (DAGAMAC et al., 2008). Um isolado de *Streptomyces* sp. DEF09 foi capaz de reduzir *F. graminearum* pelo bloqueio do crescimento do patógeno no local da infecção, reduzindo a severidade da doença em 60% (COLOMBO et al., 2019). Endófitos dos gêneros *Epicoccum* e *Sordaria* reduziram os níveis de zearalenona, micotoxina de *F. graminearum*, em milho (ABDALLAH et al., 2018). *Bacillus halotolerans*, um endófito de tamarareira, apresentou atividade antagônica contra 16 isolados de *Fusarium* (BEN SLAMA et al., 2019a). Ainda, *Bacillus licheniformis*, endofítico de *Limoniastrum monopetalum*, além de promotor de crescimento exerceu biocontrole contra 14 espécies patogênicas de *Fusarium* (BEN SLAMA et al., 2019b).

O controle de *Pyrenophora* por endófitos já foi demonstrado em gramíneas (CHRISTENSEN, 1996). Ainda, a presença do gênero *Acremonium* como endófito de *Brachiaria brizantha* reduziu o número de lesões de *Pyrenophora* e a taxa de inoculação das folhas (KELEMU et al., 2001). Em outro estudo, isolados de bactérias endofíticas de soja também demonstraram atividade antagônica ao crescimento de *P. sojae*, sendo observado que os gêneros *Bacillus* sp. e *Burkholderia* sp. tiveram sua atividade relacionada a presença de peptídeos (LOPES et al., 2018).

O potencial de inibição apresentado nos resultados deste estudo, o conhecimento do gênero do endófito e característica de crescimento do fitopatógeno *Fusarium graminearum* direcionaram a continuidade da pesquisa sobre a capacidade do fungo endofítico *Diaporthe* sp. LGMF694 em controlar esse fungo patogênico.

4.2 Bioatividade de extratos

4.2.1 Teste de difusão em ágar

O extrato obtido da fração I do co-cultivo do fungo endofítico de aroeira *Diaporthe* sp. LGMF694 com *F. graminearum* reduziu significativamente o crescimento micelial desse fitopatógeno *in vitro* (Figuras 12 e 13) nas três repetições do experimento.

Figura 12 - Desenvolvimento micelial de *Fusarium graminearum* em contato com a fração I do extrato do fungo endofítico LGMF694 de co-cultivo após 96 horas



Fonte: O Autor, 2019.

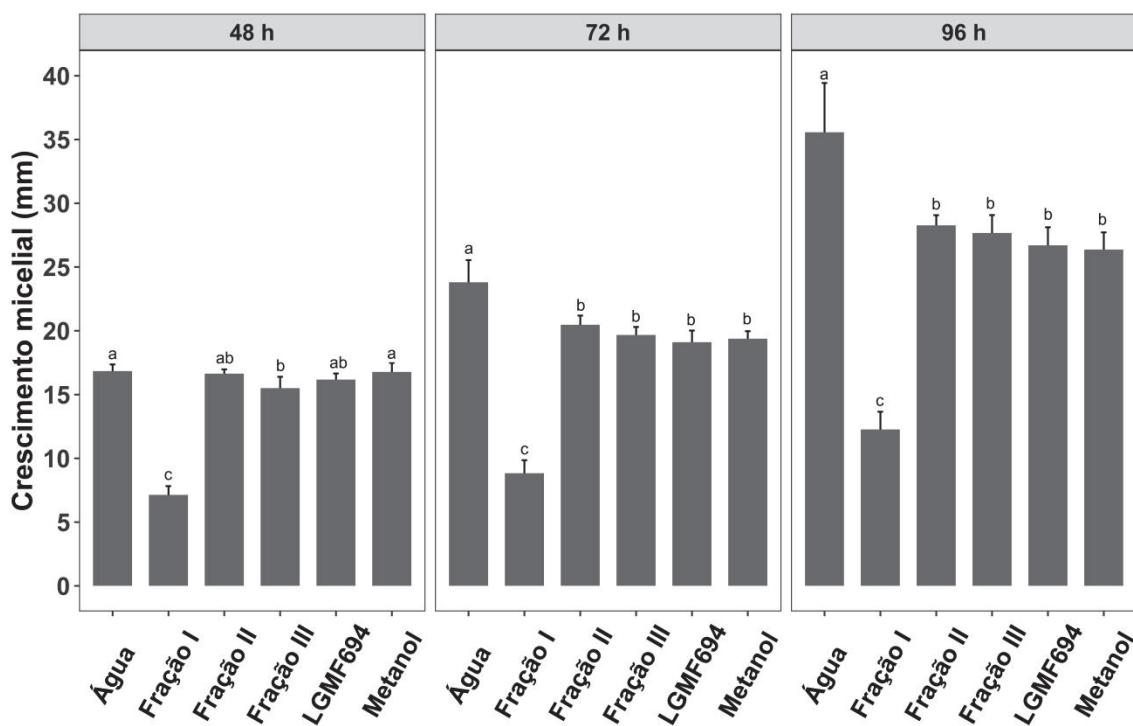
Legenda: A – crescimento micelial do fitopatógeno *F. graminearum* no tratamento controle negativo, meio de cultura BDA acrescido apenas de água destilada e esterilizada.

B – crescimento micelial do fitopatógeno em meio de cultura BDA acrescido da fração I do extrato do endófito *Diaporthe* LGMF694.

Foi verificado que o crescimento micelial do patógeno quando exposto à fração I do extrato de *Diaporthe* LGMF694 foi estatisticamente inferior ao controle com o solvente metanol. Na média dos três experimentos a porcentagem de inibição dessa fração sobre o fitopatógeno foi de 57,45% após 48 horas de contato, de 54,42% após 72 horas de contato e de 53,48% após 96 horas de contato (Figura 13; Apêndice VII). Extratos deste mesmo isolado também já demonstraram atividade na redução do crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* (TONIAL et al., 2015). E metabólitos produzidos por esse gênero fúngico também influenciam no desenvolvimento de outros fitopatógenos, o extrato do cultivo de *Diaporthe* cf. *heveae* LGMF1631 inibiu em 90% o

crescimento micelial de *Phyllosticta citricarpa* e em 70% de *Colletotrichum abscissum* (NORILER et al., 2018).

Figura 13 - Crescimento micelial (cm) de *Fusarium graminearum* quando em contato com os extratos obtidos a partir do co-cultivo do fungo endofítico de aroeira *Diaporthe LGMF694* com o fitopatógeno em ensaio de difusão em ágar



Fonte: Dados do autor, 2019.

Legenda: Água – controle negativo com água estéril.

Metanol – controle negativo com o solvente.

Fração I – crescimento micelial do endófito *Diaporthe LGMF694* em confronto com o fitopatógeno.

Fração II – ponto de intersecção sem conter crescimento micelial dos fungos confrontados .

Fração III – crescimento micelial de *Fusarium graminearum* em confronto com o endófito.

LGMF694 – endófito *Diaporthe LGMF694* crescido sem a presença do fitopatógeno.

Metanol:Água – controle do solvente.

Nota: Média dos três experimentos \pm desvio padrão ($n=5$). Letras distintas sobre as colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

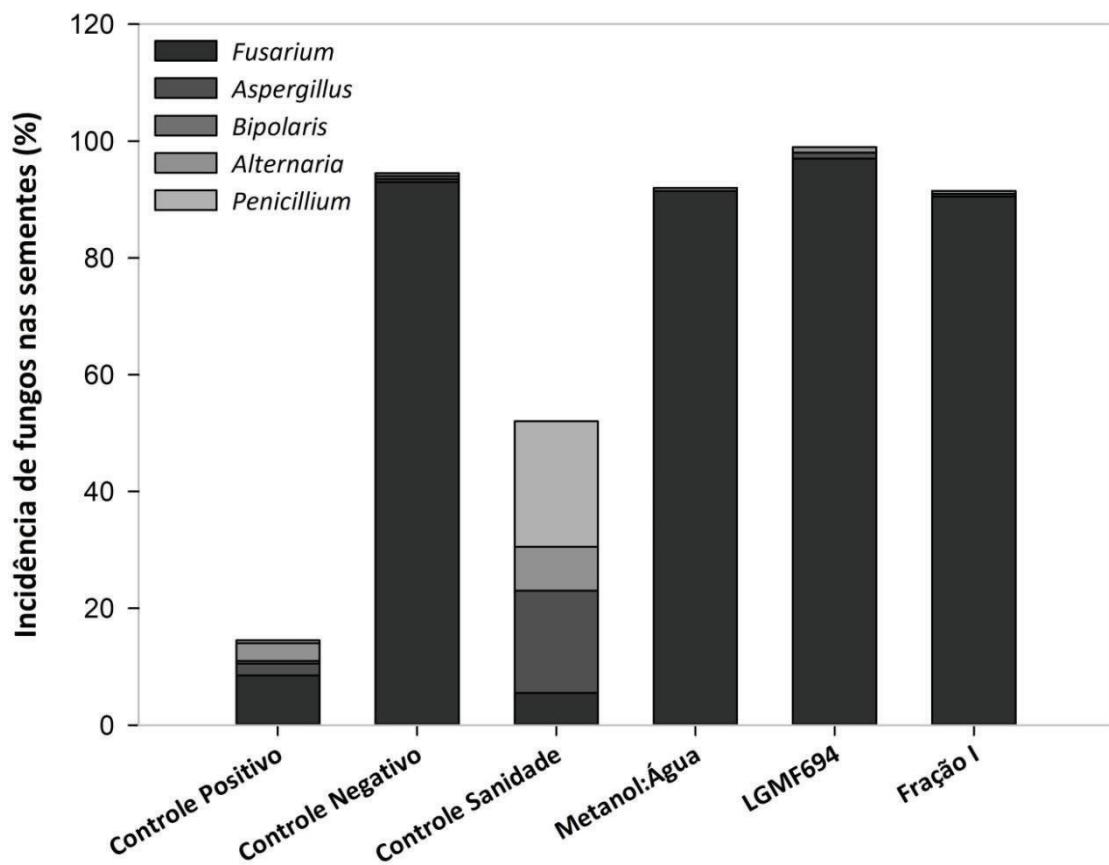
A inibição de *F. graminearum* por extratos metanólicos do endófito *Diaporthe* LGMF694 é estatiticamente superior quando este é crescido em co-cultivo com o patógeno (57,45% após 48 horas) do que quando o endófito é crescido isolado (3,58% após 48 horas). Alterações em parâmetros de cultivo podem aumentar o número de metabólitos secundários disponíveis a partir de uma fonte microbiana (BODE et al., 2002). O co-cultivo tenta imitar condições de ambiente em que os organismos coexistem e por vezes permite a produção de diversos compostos envolvidos na antibiose (MARMANN et al., 2014). Clusters gênicos demonstram atuar em regulação específica que permitem a produção de metabólitos por microrganismos (WIEMANN et al., 2013) quando na condição adequada estes clusters gênicos podem ainda potencializar a produção de substâncias de interesse (LIGON et al., 2000). Esta pode ser uma via para compreender este aumento de bioatividade.

4.2.2 Teste em sementes de trigo

O fungo *Fusarium graminearum*, apesar de ser capaz de infectar sementes de trigo, não danifica o embrião, entretanto, quando em condições favoráveis, pode atingir diferentes partes da planta, como raízes primárias, hastes e colo (GARCIA JUNIOR et al., 2008), necessitando assim de alternativas de controle para que as sementes não sirvam de fonte de inóculo primário para podridão comum das raízes. Além disso, o *F. graminearum* pode liberar micotoxinas nos grãos de trigo tornando-os prejudiciais à saúde humana e animal (PARRY; JENKINSON; McLEOD, 1995).

A ausência de tratamento de sementes, o tratamento com metanol:água, e com o extrato da fração I tiveram incidência de *F. graminearum* de 93%, 91,5% e 90,5%, respectivamente. Enquanto que, as sementes do controle de sanidade e do controle positivo tiveram incidência do patógeno de 5,5% e 8,5%, respectivamente (Figura 14).

Figura 14 - Incidência (%) de fitopatógenos no teste de sanidade de sementes de trigo cultivar TBIO Sonic® inoculadas com *Fusarium graminearum* sob diferentes tratamentos de sementes



Fonte: Dados do autor, 2019.

Legenda: Controle Negativo – sementes inoculadas e sem tratamento.

Controle Positivo – fungicida Standak® Top.

Controle Sanidade – sementes sem inoculação do patógeno.

Fração I – crescimento micelial do endófito *Diaporthe* LGMF694 em confronto com o fitopatógeno.

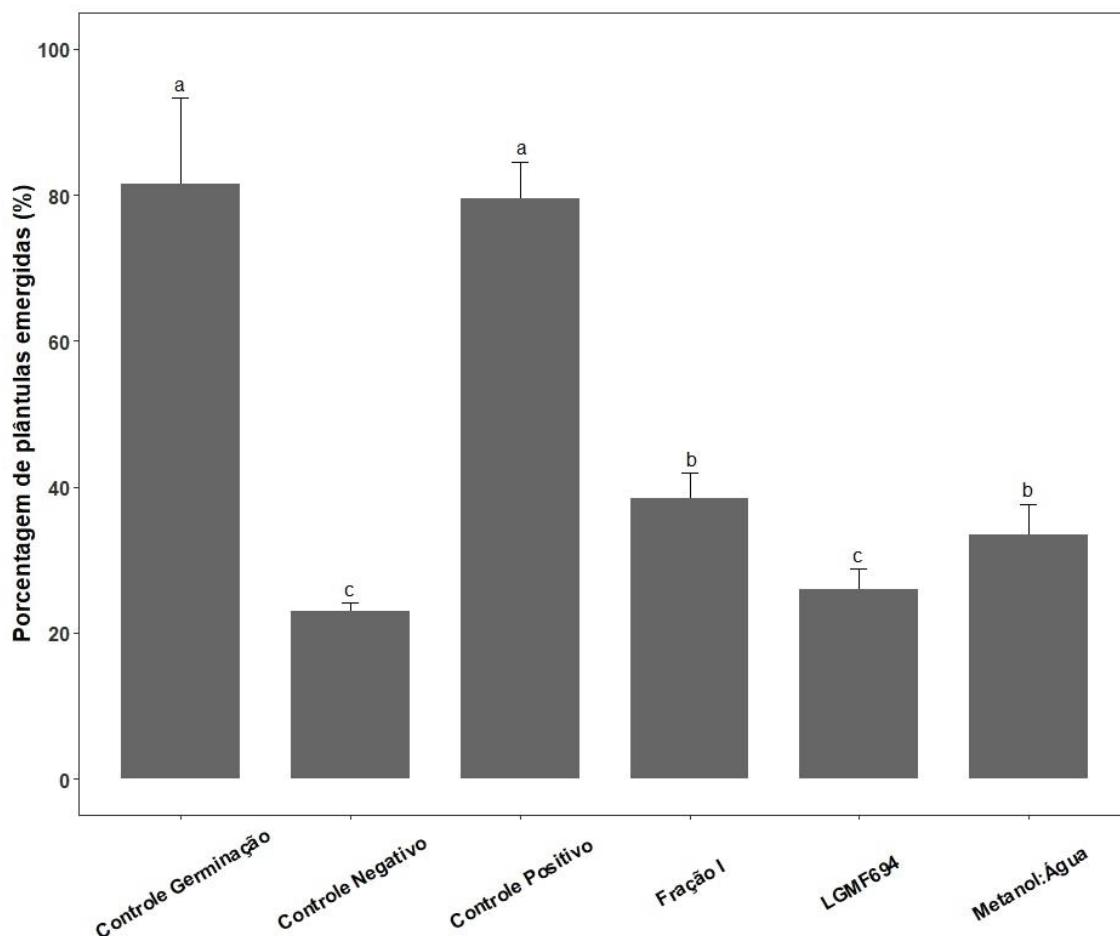
LGMF694 – endófito *Diaporthe* LGMF694 crescido sem a presença do fitopatógeno.

Metanol:Água – controle do solvente.

Utilizar o fungicida Standak® Top para tratar sementes de trigo inoculadas com *F. graminearum* garantiu germinação de sementes próxima ao controle da germinação 79,5% e 81,5%, respectivamente. O extrato da fração I e o metanol:água foram inferiores estatisticamente ao controle positivo e ao controle de germinação, com 38,5% e 33,5%, respectivamente. O controle negativo e o endófito crescido sem a presença do fitopatógeno tiveram germinação de 23% e 26%, inferiores aos demais tratamentos

(Figura 15).

Figura 15 - Germinação (%) de sementes de trigo cultivar TBIO Sonic® inoculadas com *Fusarium graminearum* sob diferentes tratamentos



Fonte: Dados do autor, 2019.

Legenda: Controle Germinação – sementes sem inoculação do patógeno.

Controle Negativo – sementes inoculadas e sem tratamento.

Controle Positivo – fungicida Standak® Top.

Fração I – crescimento micelial do endófito *Diaporthe* LGMF694 em confronto com o fitopatógeno.

LGMF694 – endófito *Diaporthe* LGMF694 crescido sem a presença do fitopatógeno.

Metanol:Água – controle do solvente.

Nota: Média ± desvio padrão. Letras distintas sobre as colunas indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p<0.05$).

Das sementes inoculadas que originaram mais plântulas emergidas, as tratadas

com o fungicida tiveram emergência de 47,59%, sendo que os demais tratamentos resultaram em emergência inferior a 28,84% (Tabela 2). Todos os tratamentos foram inferiores ao controle de emergência de plântulas.

Tabela 2 - Emergência (%) de plântulas provenientes de sementes de trigo cultivar TBIO Sonic® inoculadas com *Fusarium graminearum* sob diferentes tratamentos

Tratamento	Plântulas emergidas (%)
Controle Emergência de Plântulas	87.98±12.87 a
Controle Positivo	47.59±18.84 b
Fração I	28.84±14.99 c
Controle Negativo	28.36±12.91 c
LGMF694	26.92±12.33 c
Metanol:Água	26.92±18.11 c

Fonte: Dados do autor 2019.

Legenda: Controle Emergência de Plântulas – sementes sem inoculação do patógeno.

Controle Positivo – fungicida Standak® Top.

Fração I – crescimento micelial do endófito *Diaporthe LGMF694* em confronto com o fitopatógeno.

Controle Negativo – sementes inoculadas e sem tratamento.

LGMF694 – endófito *Diaporthe LGMF694* crescido sem a presença do fitopatógeno.

Metanol:Água – controle do solvente.

Nota: Média ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

Ao confrontar *Fusarium graminearum* com bactérias endofíticas de trigo verificou-se que a mesma capacidade antagônica verificada *in vitro* não teve correspondência na planta de trigo, assim os autores sinalizam a importância de incorporar gradientes ambientais em testes cujos resultados são dependentes de interações (WHITAKER; BAKKER, 2019).

Da mesma forma no presente estudo, quando houve interação com mais fatores a fração I do extrato, que apresentou atividade antagônica *in vitro*, não manteve a mesma efetividade. Isso demonstra a necessidade de buscar alternativas para que a atividade evidenciada *in vitro* seja reproduzível *in vivo*. Além disso, a produção do extrato testado fez-se após 24 horas do confronto, o que pode ter resultado em menor concentração de metabólitos secundários. Desta forma, técnicas que favorecem a produção de compostos secundários pelo endófito podem ser otimizadas com vistas na efetivação do controle

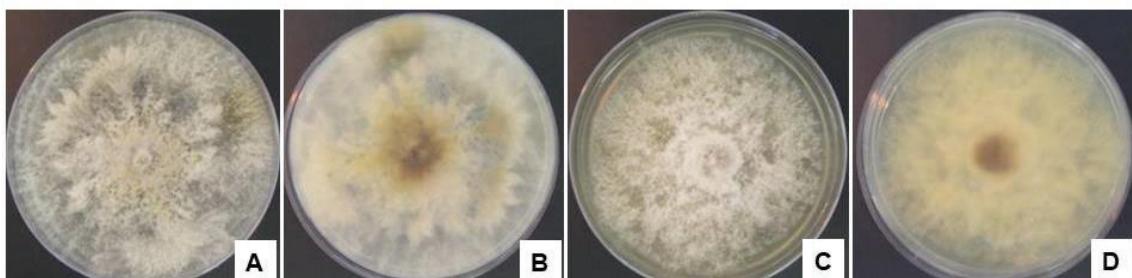
também *in vivo*.

4.3 Identificação do fungo endofítico

A identificação do fungo endofítico isolado LGMF694 foi baseada em uma análise multilocus, que confirmou a presença do gênero *Diaporthe* associado à planta medicinal *Schinus terebinthifolius*. Este é o gênero fúngico mais frequentemente isolado como endófito, inclusive em plantas da flora brasileira (UDAYANGA et al., 2011; NORILER et al., 2018; SAVI; ALUIZIO; GLIENKE, 2019).

A análise filogenética foi inicialmente realizada com sequências de 236 isolados do gênero *Diaporthe* com 2152 caracteres incluindo *gaps* (Apêndice II). Nesta análise o isolado LGMF694 (Figura 16) agrupou-se com *Diaporthe acaciarum*, *Diaporthe beilharziae*, *Diaporthe caryae*, *Diaporthe infecunda*, *Diaporthe leucospermi*, *Diaporthe middletonii*, *Diaporthe pyracantha*, *Diaporthe sackstonii* e *Diaporthe serafinia* em um clado com bom suporte (PP 0,99 e ML 100%; Figura 17; Apêndice IV).

Figura 16 - Macromorfologia do isolado LGMF694 *Diaporthe* sp.



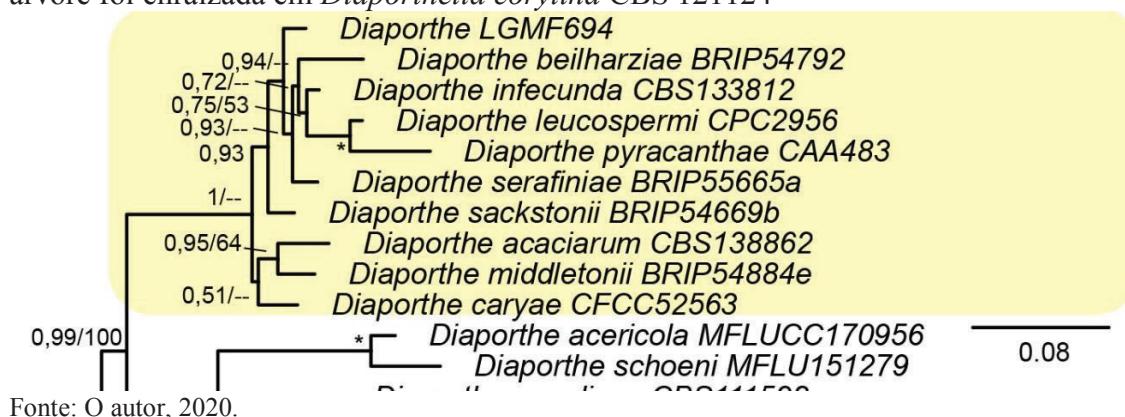
Fonte: Tonial, 2014.

Legenda: A – reverso da placa de Petri com o isolado LGMF694 crescido em meio de cultivo batata dextrose ágar.
B – verso da placa de Petri com o isolado LGMF694 crescido em meio de cultivo batata dextrose ágar.
C – reverso da placa de Petri com o isolado LGMF694 crescido em meio de cultivo extrato de malte ágar.
D – verso da placa de Petri com o isolado LGMF694 crescido em meio de cultivo extrato de malte ágar.

Os isolados *D. acaciarum*, *D. beilharziae*, *D. caryae*, *D. infecunda*, *D.*

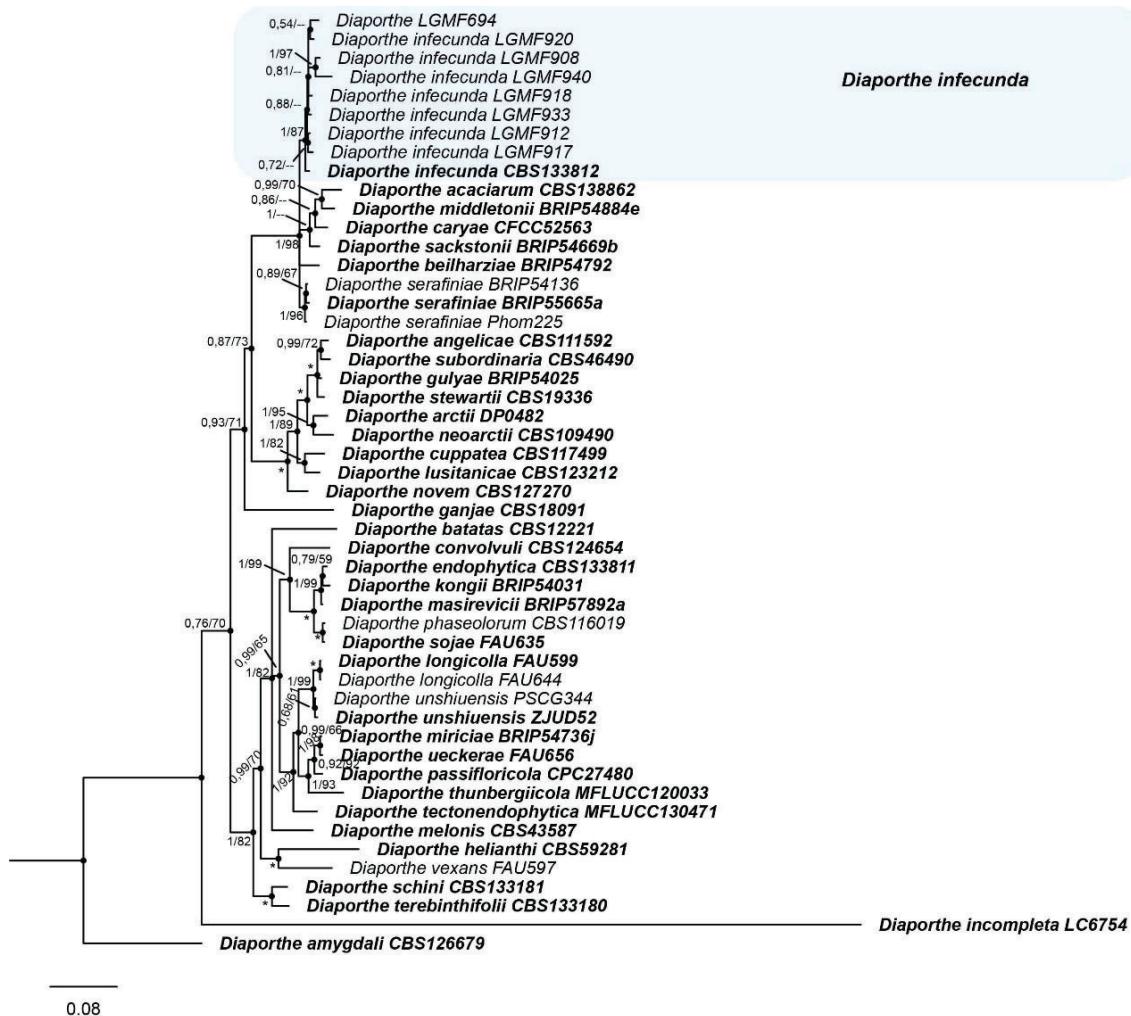
middletonii, *D. pyracanthae*, *D. sackstonii* e *D. serafiniae* (MANAWASINGHE et al., 2019), *D. beilharziae* e *D. infecunda* (TAN et al., 2013) *D. infecunda*, *D. pyracanthae*, *D. beilharziae*, *D. serafiniae* e *D. middletonii* (DISSANAYAKE et al., 2017b) e *D. sackstonii*, *D. infecunda* e *D. serafiniae* (LESUTHU et al., 2019) já formaram clados em outros estudos. Entretanto, apesar da proximidade na árvore filogenética, os isolados *D. acaciarum* e *D. middletonii*, já foram identificados como pertencentes à clados separados de *D. caryae* e *D. beilharziae*, que ficou igualmente separado de *D. sackstonii*, *D. infecunda* e *D. serafiniae* (GUO et al., 2020).

Figura 17 - Corte da árvore de inferência bayesiana do alinhamento concatenado das regiões do espaçador interno transrito, parte dos genes do fator de elongação da tradução 1- α , da β -tubulina, da histona H3 e da calmodulina de 236 isolados de *Diaporthe* spp. Os valores de probabilidade posteriori bayesiana ($PP \geq 0,5$) e os valores de suporte de bootstrap ($ML \geq 50\%$) são indicados nos nós (PP/ML), o asterisco indica 1/100% (PP/ML). Ao lado do nome da espécie estão listados os códigos dos isolados. A árvore foi enraizada em *Diaporthella corylina* CBS 121124



O isolado *Diaporthe* LGMF694 foi então agrupado com espécies do complexo *Diaporthe sojae* (Figura 17). Desta forma as sequências concatenadas foram submetidas a uma nova análise filogenética multilocus com 50 espécies (Apêndice V) do complexo *D. sojae* com 2255 caracteres incluindo gaps (Figura 18). Em vista da aproximação com a espécie *Diaporthe infecunda* em árvore filogenética prévia, utilizaram-se mais isolados desta espécie para confirmação da identidade do isolado avaliado neste trabalho.

Figura 18 - Árvore de inferência bayesiana do alinhamento concatenado das regiões do espaçador interno transcrito, parte dos genes do fator de elongação da tradução 1- α , da β -tubulina, da histona H3 e da calmodulina das espécies do complexo *Diaporthe sojae*. Os valores de probabilidade posteriori bayesiana ($PP \geq 0,5$) e os valores de suporte de *bootstrap* ($ML \geq 50\%$) são indicados nos nós (PP/ML). Ao lado do nome da espécie estão listados os códigos dos isolados. O isolado descrito neste trabalho é o primeiro isolado da árvore. As sequências *type* estão em negrito. A árvore foi enraizada em *Diaporthe amygdali* CBS 126679.



Fonte: O autor, 2020.

Legenda: FAU: Isolados da coleção de culturas do Laboratório de Micologia sistemática e Microbiologia, USDA-ARS, EUA; BRIP: Herbário / coleção de cultura de Queensland Plant Pathology, Austrália; CBS: Coleção de culturas das Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Center, Holanda; CFCC: Centro da coleção de culturas florestais da China, China; LGMF: coleção de culturas do Laboratório de Bioprospecção e Genética Molecular de Microorganismos, Brasil; MFLUCC: Coleção de Cultura da Universidade Mae Fah Luang, Tailândia; ZJUD: Zhejiang Universidade.

O isolado *Diaporthe* LGMF694 foi identificado como pertencente ao clado de *Diaporthe infecunda* (PP 1/ ML 87 %). A espécie de *D. infecunda* pode ser considerada como um patógeno latente em plantas de maçã, pêra, mirtilo e pêssego saudáveis (SESSA; ABREO; LUPO, 2018) e como agente etiológico de podridões em flores e frutos de maracujá (MOREIRA et al., 2020). Entretanto, já foi reportada como endofítica em folhas do hospedeiro *Schinus terebinthifolius*, em pecíolos de *Maytenus ilicifolia* (GOMES et al., 2013) e em folhas sadias de *Phaseolus vulgaris* (SANTOS et al., 2015). Esta espécie também já foi identificada em raízes da planta *Astragalus membranaceus* cultivada na Coréia e China, sendo esta a parte da planta que apresenta produção de compostos com atividade biológica (KIM et al., 2017).

Pode ser verificado que a probabilidade a posteriori e o *bootstrap* não apresentam valores de suporte tão consistentes entre algumas espécies de *D. infecunda* presentes neste clado. Marcadores moleculares revelam que existe altos níveis de variabilidade genética entre as espécies de *D. infecunda* (SANTOS et al., 2015). Além disso, a classificação de espécies do gênero *Diaporthe* está constantemente em andamento (GOMES et al., 2013).

Uma outra característica que deve ser levada em consideração são os aspectos morfológicos. Neste sentido, as características das culturas de *D. infecunda* crescida em meio BDA são a coloração do micélio superficial com manchas castanhas e coloração branca no reverso, e quando crescida no meio MEA superfície em tom branco sujo com reverso âmbar (GOMES et al., 2013), características que foram verificadas no crescimento do isolado *Diaporthe infecunda* LGMF694 (Figura 16) utilizado no presente estudo. As características morfológicas de *Diaporthe* têm correspondência com a filogenia de análise multilocus, como exemplo *D. eres* cujas colônias frequentemente segregam pigmentos oliváceos cinza e apresentam conídios alfa curtos e em forma de bastonete, que os diferem de isolados de outros clados (GUO et al., 2020).

5 CONCLUSÕES

Mesmo com os avanços na agricultura e o melhoramento genético, as doenças ainda são um fator limitante na produção e comercialização de diversas culturas. Dessa forma, a bioatividade apresentada pelos endófitos de aroeira e seus metabólitos contra fitopatógenos poderão ser explorados para o manejo integrado de doenças, representando uma alternativa de controle.

O screening de fungos endofíticos oriundos de folhas de *Schinus terebinthifolius* demonstrou que endófitos, principalmente do gênero *Diaporthe*, apresentam atividade antagônica contra os fitopatógenos *Fusarium graminearum*, *P. tritici-repentis* e *Phomopsis sojae*.

O extrato metanólico do isolado *Diaporte infecunda* LGMF694 obtido de uma placa de co-cultivo do endófito com o *F. graminearum* é capaz de inibir de forma expressiva o crescimento micelial deste fitopatógeno *in vitro*.

O isolado LGMF694 foi identificado como *Diaporthe infecunda* através de uma análise multilocus das regiões ITS, CAL, HIS, TEF1 e TUB condizente com as características macroscópicas do microrganismo.

Ademais, tanto os fungos endofíticos de aroeira quanto os compostos responsáveis por sua bioatividade poderão servir como fonte para exploração do potencial biotecnológico pela indústria de produtos biológicos e de fungicidas sintéticos.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, M. F.; DE BOEVRE, M.; LANDSCHOOT, S.; DE SAEGER, S.; HAESAERT, G.; AUDENAERT, K. Fungal Endophytes Control *Fusarium graminearum* and Reduce Trichothecenes and Zearalenone in Maize. **Toxins**, v. 10, n. 12, 2018.
- AGRIOS, G. N. Control of plant disease. IN: AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005, p. 293-353.
- ALMEIDA, A. M. R.; SARAIVA, O. F.; FARIA, J. R. B.; GAUDÊNCIO, C. A.; TORRES, E. Survival of pathogens on soybean debris under no-tillage and conventional tillage systems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 1231-1238, 2001.
- ALY, A. H.; DEBBAB, A.; KJER, J.; PROKSCH, O. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. **Fungal Diversity**, v. 41, p. 1-16, 2010.
- ANDO, Y.; MASUYA, H.; AIKAWA, T.; ICHIHARA, Y.; TABATA, M. *Diaporthe toxicodendri* sp. nov., a causal fungus of the canker disease on Toxicodendron vernicifluum in Japan. **Mycosphere**, v. 8, n. 5, p. 1157–1167, 2017.
- ANKE, T.; OBERWINKLER, F.; STEGLICH, W.; SCHRAMM, G. The strobilurins – new antifungal antibiotics from de basidiomycete *Strobilurus tenacellus*. **The journal of antibiotics**, v. 30, n. 10, p. 806-810, 1977.
- ARNOLD, A. E.; MEJÍA, L. C.; KYLLO, D.; ROJAS, E. I.; MAYNARD, Z.; ROBBINS, N.; HERRE, E. A. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 26, 2003.
- BADALYAN, S. M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N. G. Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 41, p. 200-225, 2002.
- BALDUCCHI, A. J.; MCGEE, D. C. Environmental factors influencing infection of seeds by *Phomopsis* and *Diaporthe* species during seed maturation. **Plant Disease**, v. 71, n. 3, p. 209-212, 1987.
- BARDIN, M.; AJOUZ, S.; COMBY, M.; LOPEZ-FERBER, M.; GRAILLOT, B.; SIEGWART, M.; NICOT, P.C. Is the efficacy of biological control against plant

diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2015.

BASTIAS, D. A.; MARTÍNEZ-GHERSA, M. A.; BALLARÈ, C. L.; GUNDEL, P. E. Epichloë Fungal Endophytes and Plant Defenses: Not Just Alkaloids. **Trend in Plant Science**, v. 22, n. 11, 2017a.

BASTIAS, D. A.; UENO, A. S.; MACHASO ASSEFH, A. E.; YOUNG, C. A.; GUNDEL, P. E. Metabolism or behavior: explaining the performance of aphids on alkaloid-producing fungal endophytes in annual ryegrass (*Lolium multiflorum*). **Oecologia**, v. 185, p. 245-256, 2017b.

BAUMGARTNER, K.; FUJIYOSHI, P. T.; TRAVADON, R.; CASTLEBURY, L. A.; WILCOX, W. F.; ROLSHAUSEN, P. E. Characterization of species of *Diaporthe* from wood cankers of grape in eastern North American vineyards. **Plant Disease**, v. 97, p. 912-920, 2013.

BEN SLAMA, H.; CHERIF-SILINI, H.; BOUKET, A. C.; QADER, M.; SILINI, A.; YAHIAOUI, B.; ALENEZI, F. N.; LUPTAKOVA, L.; TRIKI, M. A.; VALLAT, A.; OSZAKO, T.; RATEB, M. E.; BELBAHRI, L. Screening for *Fusarium* Antagonistic Bacteria From Contrasting Niches Designated the Endophyte *Bacillus halotolerans* as Plant Warden Against *Fusarium*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2019a.

BEN SLAMA, H.; TRIKI, M. A.; BOUKET, A. C.; BEN MEFTECH, F.; ALENEZI, F. N.; LUPTAKOVA, L.; CHERIF-SILINI, H.; VALLAT, A.; OSZAKO, T.; GHARSALLAH, N.; BELBAHRI, L. Screening of the High-Rhizosphere Competent *Limoniastrum monopetalum'* Culturable Endophyte Microbiota Allows the Recovery of Multifaceted and Versatile Biocontrol Agents. **Microorganisms**, v. 7, n. 8, 2019b.

BERTAGNOLLI, V. V.; DEUNER, C. C.; FRIZON, P.; GHISSI, V. C. Water potential and time of *Pyrenophora tritici-repentis* inoculation in wheat seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 1681-1690, 2017.

BODE, H. B.; BETHE, B.; HÖFS, R.; ZEECK, A. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. **ChemBioChem**, v. 3, p. 619-627, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 398 p.

CABANÁS, C. G. L.; SCHILIRÒ, E.; VALVERDE-CORREDOR, A.; MERCADO-BLANCO, J. The biocontrol endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* PICF7 induces systemic defense responses in aerial tissues upon colonization of olive roots. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 2014.

CARD, S.; JOHNSON, L.; TEASDALE, S.; CARADUS, J. Deciphering endophyte behaviour: the link between endophyte biology and efficacious biological control agents. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, 2016.

CARBONE, I.; KOHN, L. M. A Method for designing primer sets for speciation studies of filamentous Ascomycetes. **Mycologia**, v. 91, n. 3, p. 553-556, 1999.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; BLUM, M. M. C.; BOGO, A.; SCHEER, O.; ZANATA, T. Danos causados pela infecção de *Gibberella zae* em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 39, n. 3, 2004.

CHADHA, N.; MISHRA, M.; RAJPAL, K.; CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. An ecological role of fungus endophytes to ameliorate plants under biotic stress. **Archives of Microbiology**, v. 197, p. 869-881, 2015.

CHRISTENSEN, M. J. Antifungal activity in grasses infected with *Acremonium* and *Epichloë endophytes*. **Australasian Plant Pathology**, v. 25, n. 3, p. 186-191, 1996.

COLOMBO, E. M.; KUNOVA, A.; PIZZATI, C.; SARACHI, M.; CORTESI, P.; PASQUALI, M. Selection of an Endophytic *Streptomyces* sp. Strain DEF09 From Wheat Roots as a Biocontrol Agent Against *Fusarium graminearum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.

COSTA, M. L. N.; MACHADO, J. C.; GUIMARÃES, R. M.; POZZA, E. A.; ORIDE, D. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1023-1030, 2003.

COSTAMILAN, L. M.; YORINORI, J. T.; ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. C.; BINNECK, E.; ARAÚJO, M. R.; CARBONARI, J. A. First report of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* infecting soybean plants in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 381-385, 2008.

CROUS, P. W.; GROENEWALD, J. Z.; RISEDE J.; SIMONEAU, P. M.; HYWEL-JONES, N. L. *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaero- dunculate vesicles. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 415–430, 2004.

CROUS, P. W.; SCHUMACHER, R. K.; WINGFIELD, M. J.; LOMBARD, L.; GIRALDO, A.; CHRISTENSEN, M.; GARDIENNET, A.; NAKASHIMA, C.; PEREIRA, O.; SMITH, A. J.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Systematics and Evolution: FUSE 1. **Sydowia**, v. 67, p. 81–118, 2015a.

CROUS, P. W.; SHIVAS, R. G.; QUAEDVIEG, W.; VAN DER BANK, M.; ZHANG, Y.; SUMMERELL, B. A.; GUARRO, J.; WINGFIELD, M. J.; WOOD, A. R. ALFENAS, A. C.; BRAUN, U.; CANO-LIRA, J. F.; GARCÍA, D.; MARIN-FELIX, Y.; ALVARADO, P.; ANDRADE, J. P.; ARMENGOL, J.; ASSEFA, A.; DEN BREEËN, A.; CAMELE, I.; CHEEWANGKOON, R.; DE SOUZA, J. T.; DUONG, T. A.; ESTEVE-RAVENTÓS, F.; FOURNIER, J.; FRISULLO, S.; GARCÍA-

JIMÉNEZ, J.; GARDIENNET, A.; GENÉ, J.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; HIROOKA, Y.; HOSPENTHAL, D. R.; KING, A.; LECHAT, C.; LOMBARD, L.; MANG, S. M.; MARBACH, P. A. S.; MARINCOWITZ, S.; MARIN-FELIX, Y.; MONTAÑO-MATA, N. J.; MORENO, G.; PEREZ, C. A.; PÉREZ SIERRA, A. M.; ROBERTSON, J. L.; ROUX, J.; RUBIO, E.; SCHUMACHER, R. K.; STCHIGEL, A. M.; SUTTON, D. A.; TAN, Y. P.; THOMPSON, E. H.; VAN DER LINDE, E.; WALKER, A. K.; WALKER, D. M.; WICKES, B. L.; WONG, P. T. W.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Planet description sheets: 214–280. **Persoonia**, v. 32, p. 184–306, 2014a.

CROUS, P. W.; SUMMERELL, B. A.; SHIVAS, R. G.; BURGESS, T. I.; DECOCK, C. A.; DREYER, L. L.; GRANKE, L. L.; GUEST, D. I.; HARDY, G. E. S. T. J.; HAUSBECK, M. K.; HÜBERLI, D.; JUNG, T.; KOUKOL, O.; LENNOX, C. L.; LIEW, E. C. Y.; LOMBARD, L.; MCTAGGART, A. R.; PRYKE, J. S.; ROETS, F.; SAUDE, C.; SHUTTLEWORTH, L. A.; STUKELY, M. J. C.; VÁNKY, K.; WEBSTER, B. J.; WINDSTAM, S. T.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Planet description sheets: 107–127. **Persoonia**, v. 28, p. 138–182, 2012.

CROUS, P. W.; SUMMERELL, B. A.; SHIVAS, R. G.; ROMBERG, M.; MEL'NIK, V. A.; VERKLEY, G. J. M.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Planet description sheets: 92–106. **Persoonia**, v. 27, p. 130–162, 2011.

CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; BURGESS, T. I.; CARNEGIE, A. J.; HARDY, G. E. S. J.; SMITH, D.; SUMMERELL, B. A.; CANO-LIRA, J. F.; GUARRO, J.; HOUBRAKEN, J.; LOMBARD, L.; MARTÍN, M. P.; SANDOVAL-DENIS, M.; ALEXANDROVA, A. V.; BARNES, C. W.; BASEIA, I. G.; BEZERRA, J. D. P.; GUARNACCIA, V.; MAY, T. W.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; STCHIGEL, A. M.; MILLER, A. N.; ORDOÑEZ, M. E.; ABREU, V. P.; ACCIOLY, T.; AGNELLO, C.; COLMÁN, A.; ALBUQUERQUE, C. C.; ALFREDO, D. S.; ALVARADO, P.; ARAÚJO-MAGALHÃES, G. R.; ARAUZO, S.; ATKINSON, T.; BARILI, A.; BARRETO, R. W.; BEZERRA, J. L.; CABRAL, T. S.; RODRÍGUEZ, F. C.; CRUZ, R. H. S. F.; DANIËLS, P. P.; SILVA, B. D. B.; ALMEIDA, D. A. C.; CARVALHO JÚNIOR, A. A.; DECOCK, C. A.; DELGAT, L.; DENMAN, S.; DIMITROV, R. A.; EDWARDS, J.; FEDOSOVA, A.G.; FERREIRA, R.J.; FIRMINO, A.L.; FLORES, J. A.; GARCÍA, D.; GENÉ, J.; GIRALDO, A.; GÓIS, J. S.; GOMES, A. A. M.; GONÇALVES, C. M.; GOULIAMOVA, D. E.; GROENEWALD, M.; GUÉORGUIEV, B. V.; GUEVARA-SUAREZ, M.; GUSMÃO, L. F. P.; HOSAKA, K.; HUBKA, V.; HUHNDORF, S. M.; JADAN, M.; JURJEVIĆ, Ž.; KRAAK, B.; KUČERA, V.; KUMAR, T. K. A.; KUŠAN, I.; LACERDA, S. R.; LAMLERTTHON, S.; LISBOA, W. S.; LOIZIDES, M.; LUANGSA-ARD, J. J.; LYSKOVÁ, P.; MAC CORMACK, W. P.; MACEDO, D. M.; MACHADO, A. R.; MALYSHEVA, E. F.; MARINHO, P.; MATOČEC, N.; MEIJER, M.; MEŠIĆ, A.; MONGKOLSAMRIT, S.; MOREIRA, K. A.; MOROZOVA, O. V.; NAIR, K. U.; NAKAMURA, N.; NOISRIPOOM, W.; OLARIAGA, I.; OLIVEIRA, R. J. V.; PAIVA, L. M.; PAWAR, P.; PEREIRA, O. L.; PETERSON, S. W.; PRIETO, M.; RODRÍGUEZ-ANDRADE, E.; ROJO DE BLAS, C.; ROY, M.; SANTOS, E. S.; SHARMA, R.; SILVA, G. A.; SOUZA-MOTTA, C. M.; TAKEUCHI-KANEKO, Y.; TANAKA, C.; THAKUR, A.; SMITH, M. T.; TKALČEC,

Z.; VALENZUELA-LOPEZ, N.; VAN DER KLEIJ, P.; VERBEKEN, A.; VIANA, M. G.; WANG, X. W.; GROENEWALD, J.Z. Fungal Planet description sheets: 625-715. *Persoonia*, v. 39, p. 270-467, 2017.

CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; BURGESS, T. I.; HARDY, G. E. S. T. J.; CRANE, C.; BARRETT, S.; CANO-LIRA, J. F.; LE ROUX, J. J.; THANGAVEL, R.; GUARRO, J.; STCHIGEL, A. M.; MARTÍN, M. P.; ALFREDO, D. S.; BARBER, P. A.; BARRETO, R. W.; BASEIA, I. G.; CANO-CANALS, J.; CHEEWANGKOON, R.; FERREIRA, R. J.; GENÉ, J.; LECHAT, C.; MORENO, G.; ROETS, F.; SHIVAS, R. G.; SOUSA, J. O.; TAN, Y. P.; WIEDERHOLD, N. P.; ABELL, S.E.; ACCIOLY, T.; ALBIZU, J.L.; ALVES, J.L.; ANTONIOLLI, Z.I.; APLIN, N.; ARAÚJO, J.; ARZANLOU, M.; BEZERRA, J.D.P.; BOUCHARA, J.P.; CARLAVILLA, J.R.; CASTILLO, A.; CASTROAGUDÍN, V.L.; CERESINI; P.C.; CLARIDGE, G.F.; COELHO, G.; COIMBRA, V.R.M.; COSTA, L.A.; CUNHA, K.C.; SILVA, S.S.; DANIEL, R.; DE BEER, Z.W.; DUEÑAS, M.; EDWARDS, J.; ENWISTLE, P.; FIUZA, P.O.; FOURNIER, J.; GARCÍA; D.; GIBERTONI, T.B.; GIRAUD, S.; GUEVARA-SUAREZ, M.; GUSMÃO, L.F.P.; HAITUK, S.; HEYKOOP, M.; HIROOKA, Y.; HOFMANN, T.A.; HOUBRAKEN, J.; HUGHES, D.P.; KAUTMANOVÁ, I.; KOPPEL, O.; KOUKOL, O.; LARSSON, E.; LATHA, K.P.D.; LEE, D.H.; LISBOA, D.O.; LISBOA, W.S.; LÓPEZ-VILLALBA, Á.; MACIEL, J.L.N.; MANIMOHAN, P.; MANJÓN, J.L.; MARINCOWITZ, S.; MARNEY, T.S.; MEIJER, M.; MILLER, A.N.; OLARIAGA, I.; PAIVA, L.M.; PIEPENBRING, M.; POVEDAMOLERO, J.C.; RAJ, K.N.A.; RAJA, H.A.; ROUGERON, A.; SALCEDO, I.; SAMADI, R.; SANTOS, T.A.B.; SCARLETT, K.; SEIFERT, K.A.; SHUTTLEWORTH, L.A.; SILVA, G.A.; SILVA, M.; SIQUEIRA, J.P.Z.; SOUZA-MOTTA, C.M.; STEPHENSON, S.L.; SUTTON, D.A.; TAMAKEAW, N.; TELLERIA, M.T.; VALENZUELA-LOPEZ, N.; VILJOEN, A.; VISAGIE, C.M.; VIZZINI, A.; WARTCHOW, F.; WINGFIELD, B.D.; YURCHENKO, E.; ZAMORA, J.C.; GROENEWALD, J.Z. Fungal Planet description sheets: 469-557. *Persoonia*, v.37, p.218-403, 2016a.

CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; GUARRO, J.; CHEEWANGKOON, R.; VAN DER BANK, M.; SWART, W. J.; STCHIGEL, A. M.; CANO-LIRA, J. F.; ROUX, J.; MADRID, H.; DAMM, U.; WOOD, A. R.; SHUTTLEWORTH, L. A.; HODGES, C. S.; MUNSTER, M.; YÁÑEZ-MORALES, M. J.; ZÚÑIGAESTRADA, L.; CRUYWAGEN, E. M.; HOOG, G. S.; SILVERA, C.; NAJAFZADEH, J.; DAVISON, E. M.; DAVISON, P. J. N.; BARRETT, M. D.; BARRETT, R. L.; MANAMGODA, D. S.; MINNIS, A. M.; KLECZEWSKI, N. M.; FLORY, S. L.; CASTLEBURY, L. A.; CLAY, K.; HYDE, K. D.; MAÙSSE-SITOË, S. N. D.; CHEN, S.; LECHAT, C.; HAIRAUD, M.; LESAGE-MEESSEN, L.; PAWŁOWSKA, J.; WILK, M.; ŚLIWIŃSKA-WYRZYCHOWSKA, A.; MĘTRAK, M.; WRZOSEK, M.; PAVLIC-ZUPANC, D.; MALEME, H. M.; SLIPPERS, B.; MAC CORMACK, W. P.; ARCHUBY, D. I.; GRÜNWALD, N. J.; TELLERÍA, M. T.; DUEÑAS, M.; MARTÍN, M. P.; MARINCOWITZ, S.; DE BEER, Z. W.; PEREZ, C. A.; GENÉ, J.; MARINFELIX, Y.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Planet description sheets: 154–213. *Persoonia*, v. 31, p. 188–296, 2013.

CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; LE ROUX, J. J.; RICHARDSON, D. M.; STRASBERG, D.; SHIVAS, R. G.; ALVARADO, P.; EDWARDS, J.; MORENO, G.; SHARMA, R.; SONAWANE, M. S.; TAN, Y. P.; ALTÉS, A.; BARASUBIYE, T.; BARNES, C. W.; BLANCHETTE, R. A.; BOERTMANN, D.; BOGO, A.; CARLAVILLA, J. R.; CHEEWANGKOON, R.; DANIEL, R.; DE BEER, Z. W.; YÁÑEZ-MORALES, M. J.; DUONG, T. A.; FERNÁNDEZ-VICENTE, J.; GEERING, A. D. W.; GUEST, D.I.; HELD, B. W.; HEYKOOP, M.; HUBKA, V.; ISMAIL, A. M.; KAJALE, S. C.; KHEMMUK, W.; KOLAŘÍK, M.; KURLI, R.; LEBEUF, R.; LÉVESQUE, C. A.; LOMBARD, L.; MAGISTA, D.; MANJÓN, J. L.; MARINCOWITZ, S.; MOHEDANO, J. M.; NOVÁKOVÁ, A.; OBERLIES, N. H.; OTTO, E. C.; PAGUIGAN, N. D.; PASCOE, I. G.; PÉREZ-BUTRÓN, J. L.; PERRONE, G.; RAHI, P.; RAJA, H. A.; RINTOUL, T.; SANHUEZA, R. M. V.; SCARLETT, K.; SHOUCHE, Y. S.; SHUTTLEWORTH, L. A.; TAYLOR, P. W. J.; THORN, R. G.; VAWDREY, L. L.; SOLANO-VIDAL, R.; VOITK, A.; WONG, P. T. W.; WOOD, A. R.; ZAMORA, J. C.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Planet description sheets: 371–399. *Persoonia*, v. 35, p. 264-327, 2015b.

CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; RICHARDSON, D. M.; LE ROUX, J. J.; STRASBERG, D.; EDWARDS, J.; ROETS, F.; HUBKA, V.; TAYLOR, P. W.; HEYKOOP, M.; MARTÍN, M. P.; MORENO, G.; SUTTON, D. A.; WIEDERHOLD, N. P.; BARNES, C. W.; CARLAVILLA, J. R.; GENÉ, J.; GIRALDO, A.; GUARNACCIA, V.; GUARRO, J.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; KOLAŘÍK, M.; MANJÓN, J. L.; PASCOE, I. G.; POPOV, E. S.; SANDOVAL-DENIS, M.; WOUDENBERG, J. H.; ACHARYA, K.; ALEXANDROVA, A. V.; ALVARADO, P.; BARBOSA, R. N.; BASEIA, I. G.; BLANCHETTE, R. A.; BOEKHOUT, T.; BURGESS, T. I.; CANO-LIRA, J. F.; ČMOKOVÁ, A.; DIMITROV, R. A.; DYAKOV, M. Y.; DUEÑAS, M.; DUTTA, A. K.; ESTEVE-RAVENTÓS, F.; FEDOSOVA, A. G.; FOURNIER, J.; GAMBOA, P.; GOULIAMOVA, D. E.; GREBENC, T.; GROENEWALD, M.; HANSE, B.; HARDY, G. E.; HELD, B. W.; JURJEVIĆ, Ž.; KAEWGRAJANG, T.; LATHA, K. P.; LOMBARD, L.; LUANGSA-ARD, J. J.; LYSKOVÁ, P.; MALLÁTOVÁ, N.; MANIMOHAN, P.; MILLER, A. N.; MIRABOLFATHY, M.; MOROZOVA, O. V.; OBODAI, M.; OLIVEIRA, N. T.; ORDÓÑEZ, M.E.; OTTO, E.C.; PALOI, S.; PETERSON, S.W.; PHOSRI, C.; ROUX, J.; SALAZAR, W.A.; SÁNCHEZ, A.; SARRIA, G.A.; SHIN, H.D.; SILVA, B.D.; SILVA, G.A.; SMITH, M.T.; SOUZA-MOTTA, C.M.; STCHIGEL, A.M.; STOILOVA-DISHEVA, M.M.; SULZBACHER, M.A.; TELLERIA, M.T.; TOAPANTA, C.; TRABA, J.M.; VALENZUELA-LOPEZ, N.; WATLING, R.; GROENEWALD, J.Z. Fungal Planet description sheets: 400-468. *Persoonia*, v. 36, p. 316-458, 2016b.

CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; SCHUMACHER, R. K.; SUMMERELL, B. A.; GIRALDO, A.; GENÉ, J.; GUARRO, J.; WANASINGHE, D. N.; HYDE, K. D.; CAMPORESI, E.; GARETH JONES, E. B.; THAMBUGALA, K. M.; MALYSHEVA, E. F.; MALYSHEVA, V. F.; ACHARYA, K.; ÁLVAREZ, J.; ALVARADO, P.; ASSEFA, A.; BARNES, C. W.; BARTLETT, J. S.; BLANCHETTE, R. A.; BURGESS, T. I.; CARLAVILLA, J. R.; COETZEE, M. P. A.; DAMM, U.; DECOCK, C. A.; DEN BREEŽEN, A. ; DE VRIES, B.; DUTTA, A. K.; HOLDOM, D. G.; ROONEY-

LATHAM, S.; MANJÓN, J. L.; MARINCOWITZ, S.; MIRABOLFATHY, M.; MORENO, G.; NAKASHIMA, C.; PAPIZADEH, M.; SHAHZADEH FAZELI, S. A.; AMOOZEGAR, M. A.; ROMBERG, M. K.; SHIVAS, R. G.; STALPERS, J. A.; STIELOW, B.; STUKELY, M. J. C.; SWART, W. J.; TAN, Y. P.; VAN DER BANK, M.; WOOD, A. R.; ZHANG, Y.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Planet description sheets: 281–319. **Persoonia**, v. 33, p. 212-289, 2014b.

DAGAMAC, N. H. A.; SOGONO, P. G.; CABALFIN, R. C. B.; ADDUCUL, A. C. Y.; CRUZ, T. E. E. Fungal Root Endophytes from *Musa* spp. as Biological Control Agents against the Plant Pathogen *Fusarium oxysporum*. **Acta Manilana**, v. 56, p. 27-35, 2008.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 617-622, 2005.

DARRIBA, D.; TABOADA, G. L.; DOALLO, R.; POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and high-performance computing. **Nature Methods**, v. 9, n. 8, 2015.

DEMAIN, A. L. Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 41, p. 185-201, 2014.

DISSANAYAKE, A. J.; CAMPORESI, E.; HYDE, K. D.; ZHANG, W.; YAN, J. Y.; LI, X. H. Molecular phylogenetic analysis reveals seven new *Diaporthe* species from Italy. **Mycosphere**, v. 8, n. 5, p. 853–877, 2017a.

DISSANAYAKE A. J.; PHILLIPS, A. J. L.; HYDE, K. D.; YAN, J. Y.; LI, X. H. The current status of species in *Diaporthe*. **Mycosphere**, v. 8, n. 44, p. 1106–1156, 2017b.

DISSANAYAKE, A. J.; ZHANG, W.; LIU, M.; HYDE, K. D.; ZHAO, W. S.; LI, X. H.; YAN, J.Y. *Diaporthe* species associated with peach tree dieback in Hubei, China. **Mycosphere**, v. 8, n. 5, p. 533–549, 2017c.

DEUNER, C. C.; VIANA, E.; CAMERA, J. N.; REIS, E. M. Resistência de cultivares de trigo à giberela mediante inoculação artificial em espiguetas. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 202-206, 2015.

DOILOM, M.; DISSANAYAKE, A. J.; WANASINGHE, D. N.; BOONMEE, S.; LIU, J. K.; BHAT, D. J., TAYLOR, J. E.; BAHKALI, A. H.; MCKENZIE, E. H. C; HYDE, K. D. Microfungi on *Tectona grandis* (teak) in Northern Thailand. **Fungal Diversity**, v. 82, n. 1, p. 107–182, 2016.

DU, Z.; FAN, X. L.; HYDE, K. D.; YANG, Q.; LIANG, Y. M.; TIAN, C. M. Phylogeny and morphology reveal two new species of *Diaporthe* from *Betula* spp. in China. **Phytotaxa**, v. 269, n. 2, p. 090–102, 2016.

FALLEIRO, B. A. S.; ALMEIDA, P. B. A.; COUTINHO, W. M.; SUASSUNA, N. D.; KOBAYASTI, L. Use of osmotic solutions for inhibition of sunflower seed germination in blotter test. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 6, p. 343-350, 2010.

FAN, X. L.; HYDE, K. D.; UDAYANGA, D.; WU, X. Y.; TIAN, C. M. *Diaporthe rostrata*, a novel ascomycete from *Juglans mandshurica* associated with walnut dieback. **Mycological Progress**, v. 14, n. 82, 2015.

FAN, X.; YANG, Q.; BEZERRA, J. D. P.; ALVAREZ, L. V.; TIAN, C. DIAPORTHE from walnut tree (*Juglans regia*) in China, with insight of the *Diaporthe eres* complex. **Mycological Progress**, v. 17, n. 7, p. 841–853, 2018.

FLEMING, A. Penicillin. **British Medical Journal**, p. 386. 1941.

GAO, Y.; LIU, F.; CAI, L. Unravelling *Diaporthe* species associated with Camellia. **Systematics and Biodiversity**, v. 14, n. 1, p. 102-117, 2016.

GAO, Y.; LIU, F.; DUAN, W.; CROUS, P. W.; CAI, L. *Diaporthe* is paraphyletic. **IMA Fungus**, v. 8, n. 1, p. 153-187, 2017.

GAO, Y.; SU, Y.; SUN, W.; CAI, L. *Diaporthe* species occurring on *Lithocarpus glabra* in China, with descriptions of five new species. **Fungal Biology**, v. 119, n. 5, p. 295-309, 2015.

GAO, Y. H.; SUN, W.; SU, Y. Y.; CAI, L. Three new species of *Phomopsis* in Gutianshan Nature Reserve in China. **Mycological Progress**, v. 13, n. 1, p. 111–121, 2013.

GARCIA JUNIOR, D.; VECCHIATO, M. H.; MENTEN, J. O. M.; LIMA, M. I. P. M. Relação entre a incidência de *Fusarium graminearum* em sementes, emergência e ocorrência de giberela em plântulas de trigo. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 4, p. 302-308, 2008.

GILBERT, J.; WOODS, S. M.; TURKINGTON, T. K.; TEKAUZ, A. Effect of heat treatment to control *Fusarium graminearum* in wheat seed. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 27, n. 3, p. 448-452, 2005.

GLASS, N. L.; DONALDSON, G. Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 1323-1330, 1995.

GOLIAS, H. C.; POLONIO, J. C.; RIBEIRO, M. A. S.; POLLI, A. D.; SILVA, A. A.; BULLA, A. M.; VOLPATO, H.; NAKAMURA, C. V.; MEURER, E. C.; AZEVEDO, J. L.; PAPHILE, J. A. *Tibouchina granulosa* (Vell.) Cogn (Melastomataceae) as source of endophytic fungi: isolation, identification, and antiprotozoal activity of metabolites from *Phyllosticta capitalensis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2019.

GOMES, R. R.; GLIENKE, C.; VIDEIRA, S. I.; LOMBARD, L.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. **Persoonia**, v. 31, p. 1-41, 2013.

GUARNACCIA, V.; CROUS, P. W. Emerging citrus diseases in Europe caused by species of *Diaporthe*. **IMA fungus**, v. 8, n. 2, p. 317-334, 2017.

GUARNACCIA, V.; GROENEWALD, J. Z.; WOODHALL, J.; ARMENGOL, J.; CINELLI, T.; EICHMEIER, A.; EZRA, D.; FONTAINE, F.; GRAMAJE, D.; GUTIERREZ-AGUIRREGABIRIA, A.; KALITERNA, J.; KISS, L.; LARIGNON, P.; LUQUE, J.; MUGNAI, L.; NAOR, V.; RAPOSO, R.; SÁNDOR, E.; VÁCZY, K. Z.; CROUS, P. W. *Diaporthe* diversity and pathogenicity revealed from a broad survey of grapevine diseases in Europe. **Persoonia**, n. 40, p. 135-153, 2018.

GUO, Y. S.; CROUS, P. W.; BAI, Q.; FU, M.; YANG, M. M.; WANG, X. H.; DU, Y. M.; HONG, N.; XU, W. X.; WANG, G. P. High diversity of *Diaporthe* species associated with pear shoot canker in China. **Persoonia**, v. 45, p. 132-162, 2020.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In: **Nucleic Acids Symposium Series**, Information retrieval Ltd., Londres, v. 41, p. 95-98, 1999.

HEIJDEN, M. G. A.; HARTMANN, M. Networking in the plant microbe. **PLoS Biology**, v. 14, 2016.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças da soja**. 5 ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014. (Documento 256).

HU, D. M.; CAI, L.; HYDE, K. D. Three new ascomycetes from freshwater in China. **Mycologia**, v. 104, n. 6, p. 1478–1489, 2012.

HUANG, F.; UDAYANGA, D.; WANG, X.; HOU, X.; MEI, X.; FU, Y.; HYDE, K. D.; LI, H. Endophytic *Diaporthe* associated with *Citrus*: A phylogenetic reassessment with seven new species from China. **Fungal Biology**, v. 119, p. 331-347, 2015.

IASON, G. R.; TAYLOR, J.; HELFER, S. Community-based biotic effects as determinants of tree resistance to pests and pathogens. **Forest Ecology and Management**, v. 417, p. 301-312, 2018.

JABER, L. R.; ALANANBEH, K. M. Fungal entomopathogens as endophytes reduce several species of *Fusarium* causing crown and root rot in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). **Biological Control**, v. 126, p. 117-126, 2018.

JI, S. H.; GURURANI, M. A.; CHUN, S. C. Expression Analysis of Rice Pathogenesis-related Proteins Involved in Stress Response and Endophytic Colonization Properties of

gfp-tagged *Bacillus subtilis* CB-R05. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 174, p. 231-341, 2014.

JIA, H.; ZHOU, J.; XUE, S.; LI, G.; YAN, H.; RAN, C.; ZHANG, Y.; SHI, J.; JIA, L.; WANG, X.; LUO, J.; MA, Z. A journey to understand wheat *Fusarium* head blight resistance in the Chinese wheat landrace Wangshuibai. **The crop journal**, v. 6, n. 1, p. 48-59, 2018.

JORGENSEN, L. N.; OLSEN, L. V. Control of tan spot (*Drechslera tritici-repentis*) using cultivar resistance, tillage methods and fungicides. **Crop protection**, v. 26, p. 1606-1616, 2007.

KIM, J. H.; KIM, D. Y.; PARK, H.; EOM, A. H. Two endophytic *Diaporthe* species isolated from the leaves of *Astragalus membranaceus* in Korea. **Mycobiology**, v. 45, n. 4, p. 430-433, 2017.

KIMATI, H.; BERGAMIN-FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN-FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 2011. p. 307-323.

KIMURA, M.; TAKAHASHI-ANDO, N.; NISHIUCHI, T.; OHSATO, S.; TOKAI, T.; OCHIAI, N.; FUJIMURA, M.; KUDO, T.; HAMAMOTO, H.; YAMAGUCHI, I. Molecular biology and biotechnology for reduction of *Fusarium* micotoxin contamination. **Pesticida biochemistry physiology**, v. 86, p. 117-123, 2006.

KELEMU, S.; WHITE Jr J. F.; MUÑOZ, F.; TAKAYAMA, Y. An endophyte of the tropical forage grass *Brachiaria brizantha*: Isolating, identifying, and characterizing the fungus, and determining its antimycotic properties. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 55-62, 2001.

KRINGS, M.; TAYLOR, T. N.; HASS, H.; KERP, H.; DOTZLER, N.; HERMSEN, E. J. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. **New Phytologist**, v. 174, p. 648–657, 2007.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA. K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, p. 1547-1549, 2018.

LAMARI, L.; STREIKOV, S. E.; YAHYAOUI, A.; ORABI, J.; SMITH, R. B. The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat. **Phytopathology**, v. 93, p. 391-396, 2003.

LATZ, M. A. C., JENSEN, B.; COLLINGE, D. B.; JORGENSEN, H. J. L. Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. **Plant Ecology & Diversity**, v. 11, 2018.

LESUTHU, P.; MOSTERT, L.; SPIES, C. F. J.; MOYO, P.; REGNIER, T.; HALLEEN, F. *Diaporthe nebulae* sp. nov. and First Report of *D. cynaroidis*, *D. novem* and *D. serafiniae* on grapevines in South Africa. **Plant Disease**, v. 103, n. 5, 2019.

LIGON, J. M.; HILL, D. S.; HAMMER, P. R.; TORKEWITZ, N. R.; HOFMANN, D.; KEMPF, H. J.; VAN PÉE, K. H. Natural products with antifungal activity from *Pseudomonas* biocontrol bacteria. **Pest Management Science**, v. 56, p. 688-695, 2000.

LIU, D.; CHEN, L.; ZHU, X.; WANG, Y.; XUAN, Y.; LIU, X.; CHEN, L.; DUAN, Y. *Klebsiella pneumoniae* SnebYK mediates resistance against *Heterodera glycines* and promotes soybean growth. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 1, 2018.

LIU, J. K.; HYDE, K. D.; JONES, E. B. G.; ARIYAWANSA, H. A.; BHAT, D. J.; BOONMEE, S.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; MCKENZIE, E. H. C.; PHOOKAMSAK, R.; PHUKHAMSAKDA, C.; SHENOY, B. D.; ABDEL-WAHAB, M. A.; BUYCK, B.; CHEN, J.; CHETHANA, K. W. T.; SINGTRIPOP, C.; DAI, D. Q.; DAI, Y. C.; DARANAGAMA, D. A.; DISSANAYAKE, A. J.; DOILOM, M.; D'SOUZA, M. J.; FAN, X. L.; GOONASEKARA, I. D.; HIRAYAMA, K.; HONGSANAN, S.; JAYASIRI, S. C.; JAYAWARDENA, R. S.; KARUNARATHNA, S. C.; LI, W. J.; MAPOOK, A.; NORPHANPHOUN, C.; PANG, K. L.; PERERA, R. H.; PERSOH, D.; PINRUAN, U.; SENANAYAKE, I. C.; SOMRITHIPOL, S.; SUETRONG, S.; TANAKA, K.; THAMBUGALA, K. M.; TIAN, Q.; TIBPROMMA, S.; UDAYANGA, D.; WIJAYAWARDENE, N.N.; WANASINGHE,D.; WISITRASSAMEEWONG, K.; ZENG, X. Y.; ABDEL-AZIZ, F. A.; ADAMČÍK, S.; BAHKALI, A. H.; BOONYUEN, N.; BULGAKOV, T.; CALLAC, P.; CHOMNUNTI, P.; GREINER, K.; HASHIMOTO, A.; HOFSTETTER, V.; KANG, J. C.; LEWIS, D.; LI, X. H.; LIU, X. Z.; LIU, Z. Y.; MATSUMURA, M.; MORTIMER, P.E.; RAMBOLD, G.; RANDRIANJOHANY, E.; SATO, G.; SRI-INDRASUTDHI, V.; TIAN, C. M.; VERBEKEN, A.; VON BRACKEL, W.; WANG, Y.; WEN, T. C.; XU, J. C.; YAN, J. Y.; ZHAO, R. L.; CAMPORESI, E. Fungal diversity notes 1–110: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal species. **Fungal Diversity**, v. 72, n. 1, p. 1–197, 2015.

LOMBARD, L.; LEEUWEN, G. C. M.; GUARNACCIA, V.; POLIZZI, G.; RIJSWICK, P. C. J.; ROSENDAHL, K. C. H. M.; GABLER, J.; CROUS, P. W. *Diaporthe* species associated with *Vaccinium*, with specific reference to Europe. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 53, n. 2, p. 287–299, 2014.

LOPES, K. B. D.; CARPENTIERI-PIPOLO, V.; FIRÁ, D.; BALATTI, P. A.; LOPEZ, S. M. Y.; ORO, T. H.; PAGLIOSA, E. S.; DEGRASSI, G. Screening of bacterial endophytes as potential biocontrol agents against soybean diseases. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 5, p. 1466-1481, 2018.

MANAWASINGHE, I. S.; DISSANAYAKE, A. J.; LI, X.; LIU, M.; WANASINGHE, D. N.; XU, J.; ZHAO, W.; ZHANG, W.; ZHOU, Y.; HYDE, K. D.; BROOKS, S.; YAN, J. High diversity and species complexity of *Diaporthe* associated with grapevine dieback in China. **Frontiers in Microbiology**, 2019.

MARIN-FELIX, Y.; M. HERNANDEZ-RESTREPO, M.; WINGFIELD, M. J.; AKULOV, A.; CARNEGIE, A. J.; CHEEWANGKOON, R.; GRAMAJE, D.; GROENEWALD, J. Z.; GUARNACCIA, V.; HALLEEN, F.; LOMBARD, L.; LUANGSA-ARD, J.; MARINCOWITZ, S.; MOSLEMI, A.; MOSTERT, L.; QUAEDVLIEG, W.; SCHUMACHER, R. K.; SPIES, C. F. J.; THANGAVEL, R.; TAYLOR, P. W. J.; WILSON, A. M.; WINGFIELD, B. D.; WOOD, A. R.; CROUS, P. W. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 2. **Studies in Mycology**, v. 92, p. 47-133, 2019.

MARMANN, A.; ALY, A. H.; LIN, W.; WANG, B.; PROKSCH, P. Co-Cultivation—A powerful emerging tool for enhancing the chemical diversity of microorganisms. **Marine drugs**, v. 12, p. 1043-1065, 2014.

MEDEIROS, A. G.; SAVI, D. C.; MITRA, P.; SHAABAN, K. A.; JHA, A. K.; THORSON, J. S.; ROHR, J.; GLIENKE, C. Bioprospecting of *Diaporthe terebinthifoliae* LGMF907 for antimicrobial compounds. **Folia Microbiologica**, v. 63, p. 499-505, 2018.

MEJÍA, L. C.; HERRE, E. A.; SPARKS, J. P.; WINTER, K.; GARCÍA, M. N.; VAN BAEL, S. A.; STITT, J.; SHI, Z.; ZHANG, Y.; GUILTINAN, M. J.; MAXIMOVA, S. N. Pervasive effects of a dominant foliar endophytic fungus on host genetic and phenotypic expression in a tropical tree. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 2014.

MERILES, J. M.; LAMARQUE, A. L.; LABUCKAS, D. O.; MAESTRI, D. M. Effect of fungal damage by *Fusarium* spp. and *Diaporthe/Phomopsis* complex on protein quantity and quality of soybean seed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1594-1598, 2004.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**, New Orleans, LA pp 1 – 8, 2010.

MOREIRA, R. R.; CAUS, G.; FIGUEIREDO, J. A. G.; MIO, L. L. M. D. *Phomopsis* rot caused by *Diaporthe infecunda* on fruit and flowers of *Passiflora edulis* in Brazil. **Australasian Plant Pathology**, v. 49, p. 141-145, 2020.

MYCOBANK. Disponível em: <<http://www.mycobank.org/>>. Acesso em: 27 fev. 2020.

NAKASHIMA, K.; TOMIDA, J.; KAMIYA, T.; HIRAI, T.; MORITA, Y.; HARA, H.; KAWAMURA, Y.; ADACHI, T.; INOUE, M. Diaporthols A and B: Bioactive diphenyl ether derivatives from an endophytic fungus *Diaporthe* sp. **Tetrahedron Letters**, v. 59, p. 1212-1215, 2018.

NORILER, S. A.; SAVI, D. C.; ALUÍZIO, R.; PALÁCIO-CORTES, A. M.; POSSIEDE, Y. M.; GLIENKE, C. Bioprospecting and Structure of Fungal Endophyte

Communities Found in the Brazilian Biomes, Pantanal, and Cerrado. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E. Two divergent intragenomic rDNAITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 7, p. 103–116, 1997.

O'CONNELL, R. J.; THON, M. R.; HACQUARD, S.; AMYOTTE, S. G.; KLEEMANN, J.; TORRES, M. F.; DAMM, U.; BUIATE, E. A.; EPSTEIN, L.; ALKAN, N.; ALTMÜLLER, J.; ALVARADO-BALDERRAMA, L.; BAUSER, C. A.; BECKER, C.; BIRREN, B. W.; CHEN, Z.; CHOI, J.; CROUCH, J. A.; DUVICK, J. P.; FARMAN, M. A.; GAN, P.; HEIMAN, D.; HENRISSAT, B.; HOWARD, R. J.; KABBAGE, M.; KOCH, C.; KRACHER, B.; KUBO, Y.; LAW, A. D.; LEBRUN, M. H.; LEE, Y. W.; MIYARA, I.; MOORE, N.; NEUMANN, U.; NORDSTRÖM, K.; PANACCIONE, D. G.; PANSTRUGA, R.; PLACE, M.; PROCTOR, R.H.; PRUSKY, D.; RECH, G.; REINHARDT R.; ROLLINS, J. A.; ROUNSLEY, S.; SCHARDL, C. L.; SCHWARTZ, D. C.; SHENOY, N.; SHIRASU, K.; SIKHAKOLLI, U. R.; STÜBER, K.; SUKNO, S. A.; SWEIGARD, J. A.; TAKANO, Y.; TAKAHARA, H.; TRAIL, F.; VAN DER DOES, H. C.; VOLLM, L. M.; WILL, I.; YOUNG, S.; ZENG, Q.; ZHANG, J.; ZHOU, S.; DICKMAN, M. B.; SCHULZE-LEFERT, P.; VAN THEMAAT, E. V. L.; MA, L. J.; VAILLANCOURT, L. J. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. **Nature genetics**, v. 44, n. 9, 2012.

PAL, K. K.; GARDENER, B. M. Biological control of plant pathogens. **The Plant Health Instructor**, v. 2, 2006.

PARRY, D. W.; JENKINSON, P.; McLEOD L. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals—a review. **Plant Pathology**, v. 44, p. 207-238, 1995.

PENA, L. C.; JUNGKLAUS, G. H.; SAVI, D. C.; FERREIRA-MABA, L.; SERVIENSKI, A.; MAIA, B. H. L. N. S.; ANNIES, V.; GALLI-TERASAWA, L. V.; GLIENKE, C.; KAVA, V. *Muscodor brasiliensis* sp. nov. produces volatile organic compounds with activity against *Penicillium digitatum*. **Microbiological research**, v. 221, p. 28-35, 2019.

PERERA, R. H.; HYDE, K. D.; DISSANAYAKE, A. J.; JONES, E. B. G.; LIU, J. K.; WEI, D.; LIU, Z. Y. *Diaporthe collariana* sp. nov., with prominent collarettes associated with *Magnolia champaca* fruits in Thailand. **Studies in Fungi**, v. 3, n. 1, p. 141–151, 2018.

PORNPAKAKUL, S.; ROENGSUMRAN, S.; DEECHANGVIPART, S.; PETSON, A.; MUANGSIN, N.; NGAMROJNAVANICH, N.; SRIUBOLMAS, N.; CHAICHITC, N.; OHTAD, T. Diaporthichalasin, a novel CYP3A4 inhibitor from an endophytic *Diaporthe* sp. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p. 651-655, 2007.

PRETO, G.; MARTINS, F.; PEREIRA, J. A.; BAPTISTA, P. Fungal community in olive fruits of cultivars with different susceptibilities to anthracnose and selection of isolates to be used as biocontrol agentes. **Biological Control**, n. 110, p. 1-9, 2017.

QUEIRES, L. C. S.; RODRIGUES, L. E. A. Quantificação das substâncias fenólicas totais em órgãos da aroeira *Schinus terebinthifolius* (RADII). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, n. 2, p. 247-253, 1998.

QUIROGA, E. N.; SAMPIETRO, A. R.; VATTUONE, M. A. Screening antifungal activities of selected medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 89–96, 2001.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2019. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.

RAEDER, U.; BRODA, P. Rapid Preparation of DNA from filamentous fungi. **Letters in Applied Microbiology**, v. 1, p. 17-20, 1985.

REIS, E. M.; CASA, R. T. Doenças do Trigo. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia**: doenças de plantas cultivadas. vol. 2. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 631-638.

REZENDE, J. A. M.; MASSOLA JR, N. S.; BEDENDO, I. P.; KRUGNER, T. L. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN-FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**. 4.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 2011. p. 37-58.

RHOUMA, A.; DAOUD, H. B.; GHANMI, S.; SALAH, H.; ROMDHANE, M.; DEMAK, M. Antimicrobial activities of leaf extracts of *Pistacia* and *Schinus* species against some plant pathogenic fungi and bactéria. **Journal of Plant Pathology**, v. 91, n. 2, p. 339-345, 2009.

RIBEIRO, A. S.; POLONIO, J. C.; COSTA, A. T.; SANTOS, C. M.; RHODEN, S. A.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. Bioprospection of culturable endophytic fungi associated with the ornamental plant *Pachystachys lutea*. **Current Microbiology**, v. 75, p. 588–596, 2018.

RODRIGUEZ, R. J.; WHITE Jr, J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, R. S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**, v. 182, n. 2, p. 314–330, 2009.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; MARK, P. V. D.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HOHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 539–542, 2012.

ROSENBLUETH, M., MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, n. 8, p. 827–837, 2006.

SAIKKONEN, K.; FAETH, S. H.; HELANDER, M.; SULIVAN, T. J. Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 29, p. 319-343, 1998.

SAIKKONEN, K.; WÄLI, P.; HELANDER, M.; FAETH, S. H. Evolution of endophyte–plant symbioses. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 6, 2004.

SANTOS, C. M.; RIBEIRO, A. S.; GARCIA, A.; POLLI, A. D.; POLONIO, C.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J.A. Enzymatic and antagonist activity of endophytic fungi from *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Acta Biológica Colombiana**, v. 24, n. 2, 2019.

SANTOS, L.; PHILLIPS, A. J. L.; CROUS, P. W.; ALVES, A. *Diaporthe* species on Rosaceae with descriptions of *D. pyracanthae* sp. nov. and *D. malorum* sp. nov. **Mycosphere**, n. 8, v. 5, p. 485–511, 2017.

SANTOS, J. M.; CORREIA, V. G.; PHILLIPS, A. J. L. Primers for Mating-Type Diagnosis in *Diaporthe* and *Phomopsis*: Their Use in Teleomorph Induction *in Vitro* and Biological Species Definition. **Fungal Biology**, v. 114, p. 2-3, 2010.

SANTOS, P. J.; SAVI D. C.; GOMES, R. R.; GOULIN, E. H.; SENKIV, C. C.; TANAKA, F. A.; ALMEIDA, A. M.; GALLI- TERASAWA, L.; KAVA, V.; GLIENKE, C. *Diaporthe endophytica* and *D. terebinthifoliae* from medicinal plants for biological control of *Phyllosticta citricarpa*. **Microbial Research**, v. 186-187, p. 153-160, 2016.

SANTOS, T. T.; LEITE, T. S.; QUEIROZ, C. B.; ARAÚJO, E. F.; PEREIRA, O. L.; QUEIROZ, M. V. High genetic variability in endophytic fungi from the genus *Diaporthe* isolated from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Brazil. **Journal of applied microbiology**, v. 120, p. 388-401, 2015.

SAVI, D. C.; ALUIZIO, R.; GLIENKE, C. Brazilian plants: An unexplored source of endophytes as producers of active metabolites. **Planta medica**, v. 85, n. 8, p. 619-636, 2019.

SENA-NAYAKE, I. C.; CROUS, P. W.; GROENEWALD, J. Z.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; JEEWON, R.; PHILLIPS, A. J. L.; BHAT, J. D.; PERERA, R. H.; LI, Q. R.; LI, W. J.; TANGTHIRASUNUN, N.; NORPHANPHOUN,C.; KARUNARATHNA, S. C.; CAMPORESI, E.; MANAWASIGHE, I. S.; AL-SADI, A. M.; HYDE, K. D. Families of Diaporthales based on morphological and phylogenetic evidence. **Studies in Mycology**, v. 86, p. 217-296, 2017.

SESSA, L.; ABREO, E.; LUPO, S. Diversity of fungal latent pathogens and true endophytes associated with fruit trees in Uruguay. **Journal of Phytopathology**, v. 166, p. 633-647, 2018.

SESSITSCH, A.; REITER, B.; BERG, G. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 239-249, 2004.

SCHULZ, B.; BOYLE, C.; DRAEGER, S.; ROMMERT, A. K.; KROHN, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycological Research**, v. 106, n. 9, p. 996-1004, 2002.

SILVER, L. L. Natural products as a source of drug leads to overcome drug resistance. **Future Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 1711-1718, 2015.

SINCLAIR, J. B. *Phomopsis* seed decay of soybeans – a prototype for studying seed disease. **Plant Disease**, v. 77, n. 4, p. 329-334, 1993.

SINGH, S. P.; GAUR, R. Endophytic *Streptomyces* spp. underscore induction of defense regulatory genes and confers resistance against *Sclerotium rolfsii* in Chickpea. **Biological Control**, v. 104, p. 44-56, 2017.

SOUZA, J. T.; BAILEY, B. A.; POMELLA, A. W. V.; ERBE, E. F.; MURPHY, C. A.; BAE, G.; HEBBAR, P. K. 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, p. 36-45, 2008.

STROBEL, G. A. Endophytes as sources of bioactive products. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 6, p. 535–544, 2003.

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

STURZ, A. V.; KIMPINSKI, J. Endoroot bacteria derived from marigolds (*Tagetes* spp.) can decrease soil population densities of root-lesion nematodes in the potato root zone. **Plant and Soil**, v. 262, p. 241–249, 2004.

SUKUMARAN, J.; HOLDER, M. T. DendroPy: a Python library for phylogenetic computing. **Bioinformatics applications note**, v. 26, n. 12, p. 1569–1571, 2010.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; IKEDA, A.C.; HUNGRIA, M.; ADAMOSKI, D.; KAVA-CORDEIRO, V.; GLIENKE, C.; GALLI-TERASAWA, L. V. Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. **ABM Express**, v. 4, n. 26, 2014.

TAN, R. X.; ZOU, W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **Natural Products Reports**, v. 18, p. 448–459, 2001.

TAN, Y. P.; EDWARDS, J.; GRICE, K. R. E.; SHIVAS, R. G. Molecular Phylogenetic analysis reveals six new species of *Diaporthe* from Austrália. **Fungal Diversity**, v. 6, p. 251-260, 2013.

TANNEY, J. B.; McMULLIN, D. R.; GREEN, B. D.; MILLER, J. D.; SEIFERT, K. A. Production of antifungal and antiinsectan metabolites by the *Picea* endophyte *Diaporthe maritima* sp. nov. **Fungal Biology**, v. 120, n. 11, p. 1448-1457, 2016.

THOMPSON, S. M.; TAN, Y. P.; SHIVAS, R. G.; NEATE, S. M.; MORIN, L.; BISSETT, A.;AITKEN, E. A. B. Green and brown bridges between weeds and crops reveal novel *Diaporthe* species in Australia. **Persoonia**, v. 35, p. 39–49, 2015.

THOMPSON, S. M.; TAN, Y. P.; YOUNG, A. J.; NEATE, S. M.; AITKEN, E. A. B.; SHIVAS, R. G. Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species. **Persoonia**, v. 27, p. 80-89, 2011.

TIBPROMMA, S.; HYDE, K. D.; BHAT, J. D.; MORTIMER, P. E.; XU, J.; PROMPUTTHA, I.; DOILOM, M.; YANG, J. B.; TANG, A. M. C; KARUNARATHNA, S. C. Identification of endophytic fungi from leaves of *Pandanaceae* based on their morphotypes and DNA sequence data from southern Thailand. **Mycokeys**, v. 33, p. 25-67, 2018.

TONIAL, F. **Atividade antimicrobiana de endófitos e extratos foliares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira)**. 2010. 141f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) - Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

TONIAL, F.; MAIA, B. H. L. N. S.; GOMES-FIGUEIREDO, J. A.; SOBOTTKA, A. M.; BERTOL, C. D.; NEPEL, A.; SAVI, D. C.; VICENTE, V. A.; GOMES, R. R.; GLIENKE, C. Influence of culturing conditions on bioprospecting and the antimicrobial potential of endophytic fungi from *Schinus terebinthifolius*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 72, n. 2, 2015.

TONIAL, F.; MAIA, B. H. L. N. S.; SOBOTTKA, A. M.; SAVI, D. C.; VICENTE, V. A.; GOMES, R. R.; GLIENKE, C. Biological activity of *Diaporthe terebinthifolii* extracts against *Phyllosticta citricarpa*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 364, n. 5, 2017.

UDAYANGA, D.; CASTLEBURY, L. A.; ROSSMAN, A. Y.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. Insights into the genus *Diaporthe*: phylogenetic species delimitation in the *D. eres* species complex. **Fungal Diversity**, v. 67, p. 203–229, 2014a.

UDAYANGA, D.; CASTLEBURY, L. A.; ROSSMAN, A. Y.; HYDE, K. D. Species limits in *Diaporthe*: molecular re-assessment of *D. citri*, *D. cytosporaella*, *D. foeniculina* and *D. rufidis*. **Persoonia**, v. 32, p. 83-101, 2014b.

UDAYANGA, D.; CASTLEBURY, L. A.; ROSSMAN, A. Y.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. The *Diaporthe sojae* species complex: Phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. **Fungal Biology**, v. 119, n. 5, p. 383–407, 2015.

UDAYANGA, D.; LIU, X.; CROUS, P. W.; MCKENZIE, E. H. C.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. A multi-locus phylogenetic evaluation of *Diaporthe* (*Phomopsis*). **Fungal Diversity**, v. 56, n. 1, p. 157–171, 2012.

UDAYANGA, D.; LIU, X.; MCKENZIE, E. H. C.; CHUKEATIROTE, E.; BAHKALI, A. H. A.; HYDE, K. D. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. **Fungal Diversity**, v. 50, p. 189-225, 2011.

VAIDYA, G.; LOHMAN, D. J.; MEIER, R. SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multigene datasets with character set and codon information. **Cladistics**, 2010.

VASILYEVA, L. N.; ROSSMAN, A. Y.; FARR, D. F. New species of the Diaporthales from eastern Asia and eastern North America. **Mycologia**, v. 99, p. 916–923, 2007.

VINAYARANI, G.; PRAKASH, H. S. Fungal endophytes of turmeric (*Curcuma longa* L.) and their biocontrol potential against pathogens *Pythium aphanidermatum* and *Rhizoctonia solani*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 49, p. 9-17, 2018.

WALLER, F.; MUKHERJEE, K.; DESHMUKH, S. D.; ACHATZ, B.; SHARMA, M.; SCHÄFER, P.; KOGEL, K. H. Systemic and local modulation of plant responses by *Piriformospora indica* and related *Sebacinales* species. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 60-70, 2008.

WANASINGHE, D. N.; PHUKHAMSAKDA, C.; HYDE, K. D.; JEEWON, R.; LEE, H. B.; JONES, E. B. G.; TIBPROMMA, S.; TENNAKOON, D. S.; DISSANAYAKE, A. J.; JAYASIRI, S. C.; GAFFOROV, Y.; CAMPORESI, E.; BULGAKOV, T. S.; EKANAYAKE, A. H.; PERERA, R. H.; SAMARAKOON, M. C.; GOONASEKARA, I. D.; MAPOOK, A.; LI, W. J.; SENANAYAKE, I. C.; LI, J.; NORPHANPHOUN, C.; DOILOM, M.; BAHKALI, A. H.; XU, J.; MORTIMER, P. E.; TIBELL, L.; TIBELL, S.; KARUNARATHNA, S. C. Fungal diversity notes 709–839: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa with an emphasis on fungi on Rosaceae. **Fungal Diversity**, v. 89, n. 1, p. 1–236, 2018.

WHITAKER, B. K.; BAKKER, M. G. Bacterial endophyte antagonism toward a fungal pathogen in vitro does not predict protection in live plant tissue. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 95, n. 2, 2019.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, J.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (eds). **PCR protocols**: a guide to methods and applications. Academic Press, California, USA, p. 315-322, 1990.

WIEMANN, P.; SIEBER, C. M. K.; VON BARGEN, K. W.; STUDT, L.; NIEHAUS, E.; ESPINO, J. J.; HUB, K.; MICHELSE, C. B.; ALBERMANN, S.; WAGNER, D.; BERGNER, S. V.; CONNOLLY, L. R.; FISCHER, A.; REUTER, G.; KLEIGREWE, K.; BALD, T.; WINGFIELD, B. D.; OPHIR, R.; FREEMAN, S.; HIPPLER, M.; SMITH, K. M.; BROWN, D. W.; PROCTOR, R. H.; MÜNSTERKÖTTER, M.; FREITAG, M.; HUMPF, H. U.; GÜLDENER, U.; TUDZYNSKI, B. Deciphering the cryptic genome: genome-wide analyses of the rice pathogen *Fusarium fujikuroi* reveal complex regulation of secondary metabolism and novel metabolites. **PLOS Pathogens**, v. 9, n. 6, 2013.

YANG, Q.; FAN, X. L.; DU, Z.; TIAN, C. M. *Diaporthe juglandicola* sp. nov. (Diaporthales, Ascomycetes), evidenced by morphological characters and phylogenetic analysis. **Mycosphere**, v. 8, n. 5, p. 817–826, 2017a.

YANG, Q.; FAN, X. L.; DU, Z.; TIAN, C. M. *Diaporthe* species occurring on *Senna bicapsularis* in southern China, with descriptions of two new species. **Phytotaxa**, v. 302, n. 2, p. 145–155, 2017b.

YANG, Q.; FAN, X. L.; GUARNACCIA, V.; TIAN, C. M. High diversity of *Diaporthe* species associated with dieback diseases in China, with twelve new species described **MycoKeys**, v. 39, p. 97–149, 2018.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 863-873, 2000.

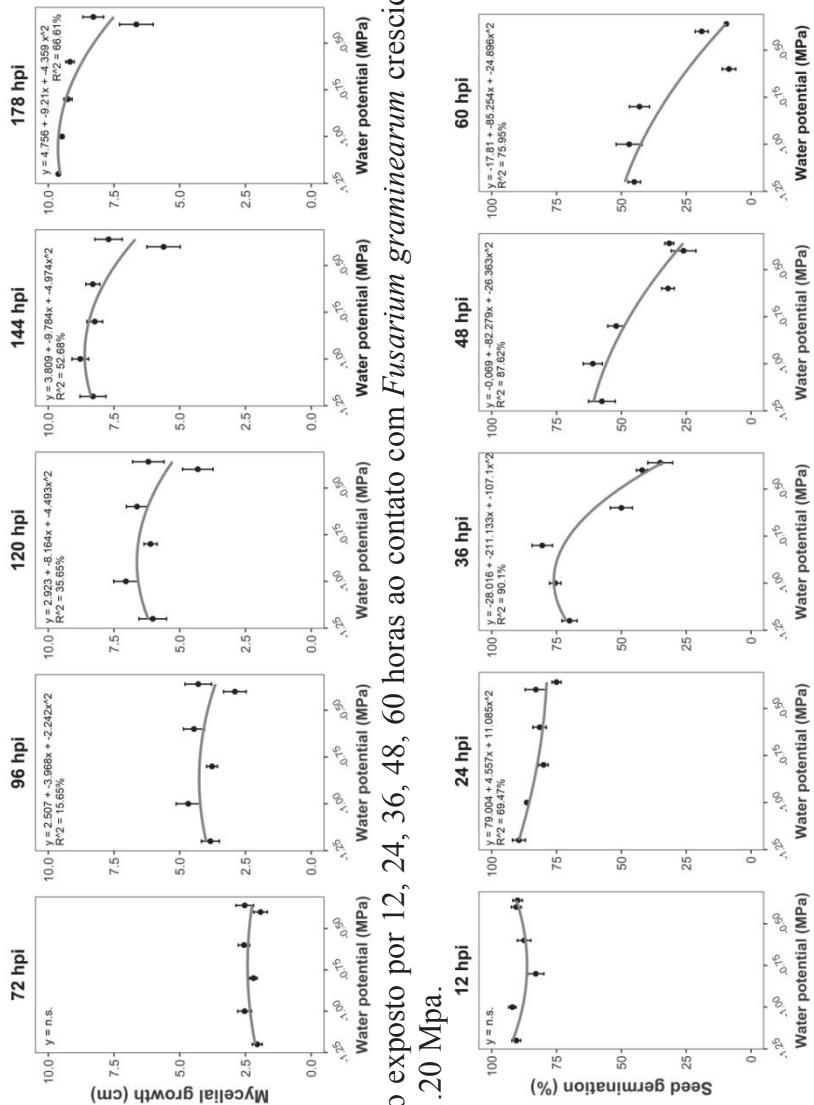
YUAN, Z.; ZHANG, C.; LIN, F. Role of diverse non-systemic fungal endophytes in plant performance and response to stress: progress and approaches. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 29, p. 116–126, 2010.

ZWICKL, D. J. **Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion**. 2006. 125f. Tese (Faculty of the Graduate School) - The University of Texas at Austin, Austin, 2006.

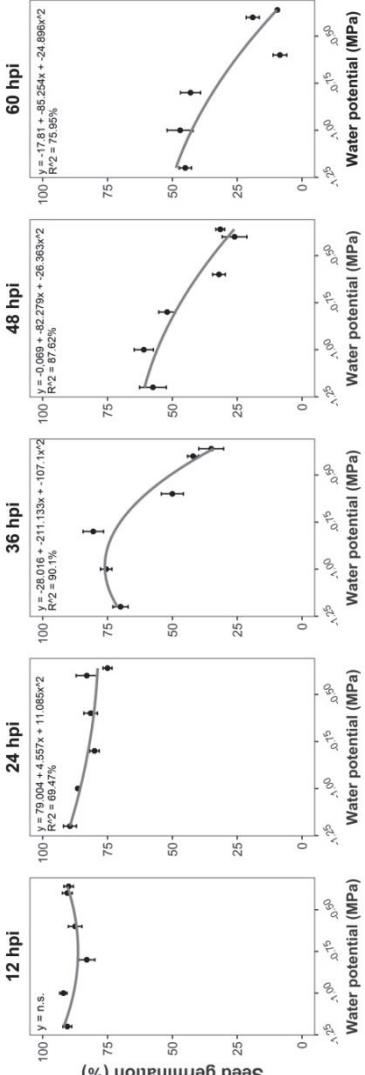
APÊNDICES

APÊNDICE I – Resultados do ajuste de metodologia de inoculação do *Fusarium graminearum* em sementes de trigo.

A - Crescimento micelial (cm) de *Fusarium graminearum* às 48, 72, 96, 120 e 144 horas após exposto à potenciais hídricos de -0.36, -0.40, -0.60, -0.8, -1.00 e -1.20 Mpa.



B - Germinação de sementes de trigo exposto por 12, 24, 36, 48, 60 horas ao contato com *Fusarium graminearum* crescido em meio com potenciais hídricos de -0.36, -0.40, -0.60, -0.8, -1.00 e -1.20 Mpa.



n.s – não significativo

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	Número de acesso GenBank			Referência	Tipo	Tecido de isolamento
					TUB	HIS	TEF1			
<i>Diaporthe acaciarum</i>	CBS 138862	<i>Acacia tortilis</i>	Tanzânia	KP004460	KP004509	KP004504	—	—	(CROUS et al., 2014b)	ex-type
<i>Diaporthe acaciigena</i>	CBS 129521	<i>Acacia retinodes</i>	Austrália	KC343005	KC343973	KC343489	KC343731	KC343247	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe acericola</i>	MFLUCC 17-0956	<i>Acer negundo</i>	Itália	KY964224	KY964074	—	KY964180	KY964137	(DISSANAYAKE et al., 2017a)	holotype
<i>Diaporthe acerigena</i>	CFCC 52554	<i>Acer tataricum</i>	China	MH121489	—	MH121449	MH121531	MH121413	(YANG et al., 2018)	holotype
<i>Diaporthe acutispora</i>	CGMCC 3.18285	<i>Coffea</i> sp.	China	KX986764	KX991995	KX999235	KX99155	KX999274	(GAO et al., 2017)	holotype
<i>Diaporthe alangii</i>	CFCC 52556	<i>Alangium kurzii</i>	China	MH121491	MH121573	MH121451	MH121533	MH121415	(YANG et al., 2018)	holotype
<i>Diaporthe alleghaniensis</i>	CBS 495.72	<i>Betula alleghaniensis</i>	Canadá	FJ889444	KC843228	KC343491	GQ250298	KC343249	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe alnea</i>	CBS 146.46	<i>Alnus</i> sp.	Holanda	KC343008	KC343976	KC343492	KC343734	KC343250	(GOMES et al., 2013)	epitype
<i>Diaporthe ambigua</i>	CBS 114015	<i>Pyrus communis</i>	África do Sul	KC343010	KC343978	KC343494	KC343736	KC343252	(GOMES et al., 2013)	ex-epitype
<i>Diaporthe amygdali</i>	CBS 126679	<i>Prunus dulcis</i>	Portugal	KC343022	KC343990	KC343506	KC343748	KC343264	(GOMES et al., 2013)	ex-epitype
<i>Diaporthe anacardii</i>	CBS 720.97	<i>Anacardium occidentale</i>	Leste da África	KC343024	KC343992	KC343508	KC343750	KC343266	(GOMES et al., 2013)	ex-epitype
<i>Diaporthe angelicae</i>	CBS 111592	<i>Heracleum sphondylium</i>	Austrália	KC343026	KC343994	KC343511	KC343752	KC343268	(GOMES et al., 2013)	ex-epitype
<i>Diaporthe apiculata</i>	CGMCC 3 17533	<i>Camellia sinensis</i>	China	KP267896	KP293476	KP293550	KP267970	—	(GAO et al., 2015)	—
<i>Diaporthe aquatica</i>	IFRDCC 3051	—	China	JQ797437	—	—	—	—	(HU et al., 2012)	—

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	Número de acesso GenBank	Referência	Tipos	Tecido de isolamento
						CAL			
<i>Diaporthe arctii</i>	CBS 139280	<i>Arcium lappa</i>	Áustria	KJ590736	KJ610891	KJ59218	KJ590776	KJ612133	(UDAYANGA et al., 2015) epitype
<i>Diaporthe arecae</i>	CBS 161.64	<i>Areca catechu</i>	Índia	KC343032	KC344000	KC343516	KC343758	KC343274	(GOMES et al., 2013) ex-isotype
<i>Diaporthe arengae</i>	CBS 114979	<i>Arenga engleri</i>	Hong Kong	KC343034	KC344002	KC343518	KC343760	KC343276	(GOMES et al., 2013) ex-type
<i>Diaporthe aseana</i>	MFLUCC 12-0299a	—	Tailândia	KT459414	KT459432	—	KT459448	KT459464	(DISSANAYAKE et al., 2017b) holotype
<i>Diaporthe asheicola</i>	CBS 136967	<i>Vaccinium ashei</i>	Chile	KJ160562	KJ160518	—	KJ160594	KJ160542	(LOMBARD et al., 2014) holotype
<i>Diaporthe aspalathi</i>	CBS 117169	<i>Aspalathus linearis</i>	Africa do Sul	KC343036	KC344004	KC343520	KC343762	KC343278	(GOMES et al., 2013) type
<i>Diaporthe australaficana</i>	CBS 111886	<i>Vitis vinifera</i>	Austrália	KC343038	KC344006	KC343522	KC343764	KC343280	(GOMES et al., 2013) ex-type
<i>Diaporthe baccæ</i>	CBS 136972	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Itália	KJ160565	MF418509	MF418264	KJ160597	—	(GUARNACCIA et al., 2018) holotype
<i>Diaporthe batatas</i>	CBS 122.21	<i>Ipomoea batatas</i>	Estados Unidos	KC343040	KC344008	KC343524	KC343766	KC343282	(GOMES et al., 2013) epitype
<i>Diaporthe beckhausii</i>	CBS 138.27	<i>Viburnum</i> sp.	—	KC343041	KC344009	KC343525	KC343767	KC343283	(GOMES et al., 2013) —
<i>Diaporthe beilharziae</i>	BRIP 54792	<i>Indigofera australis</i>	Austrália	JX862529	KF170921	—	JX862535	—	(TAN et al., 2013) holotype
<i>Diaporthe betulae</i>	CFCC 50469	<i>Betula planiphylla</i>	China	KT732950	KT733020	KT732999	KT733016	KT732997	(DU et al., 2016) holotype
<i>Diaporthe betulincola</i>	CFCC 51128	<i>Betula atbosinensis</i>	China	KX024653	KX024657	KX024661	KX024655	KX024659	(DU et al., 2016) holotype
<i>Diaporthe betulina</i>	CFCC 52561	<i>Betula costata</i>	China	MH121496	MH121578	MH121456	MH121538	MH121420	(YANG et al., 2018) —

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS	TEF1			
<i>Diaporthe bicincta</i>	CBS 121004	<i>Juglans</i> sp.	Estados Unidos	KC343134	KC344102	KC343618	KC343860	KC343376	(GOMES et al., 2013)	epitype
<i>Diaporthe biconispora</i>	CGMCC 3.17252	<i>Citrus grandis</i>	China	KJ490597	KJ490418	KJ490539	KJ490476	–	(HUANG et al., 2015)	type
<i>Diaporthe biguttulata</i>	CGMCC 3–17248	<i>Citrus limon</i>	China	KJ490582	KJ490403	KJ490524	KJ490461	–	(HUANG et al., 2015)	holotype
<i>Diaporthe biguttulus</i>	CGMCC 3.17081	<i>Lithocarpus glabra</i>	China	KF576282	KF576306	–	KF576257	–	(GAO et al., 2015)	holotype
<i>Diaporthe bohemiae</i>	CBS 143347	<i>Vitis</i> spp.	República Checa	MG281015	MG281188	MG281361	MG281536	MG281710	(GUARNACCIA et al., 2018)	holotype
<i>Diaporthe brasiliensis</i>	CBS 133183	<i>Aspidosperma tomentosum</i>	Brasil	KC343042	KC344010	KC343526	KC343768	KC343284	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe caatingaeensis</i>	CBS 141542	<i>Tacinga inamoena</i>	Brasil	KY085927	KY115600	KY115605	KY115603	KY115597	(CROUS et al., 2016a)	holotype
<i>Diaporthe campiothecicola</i>	CFCC 51632	<i>Campiotheca acuminata</i>	China	KY203726	KY228893	KY228881	KY228887	KY228877	(YANG et al., 2018)	–
<i>Diaporthe canthii</i>	CBS 132533	<i>Canthium inerme-folhas</i>	África do Sul	JX069864	KC843230	–	KC843120	KC843174	(CROUS et al., 2012)	–
<i>Diaporthe carpini</i>	CBS 114437	<i>Carpinus betulus</i>	Suecia	KC343044	KC344012	KC343528	KC343770	KC343286	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe caryae</i>	CFCC 52563	<i>Carya illinoensis</i>	China	MH121498	MH121580	MH121458	MH121540	MH121422	(YANG et al., 2018)	holotype
<i>Diaporthe cassines</i>	CBS 136440	<i>Cassine peragua</i>	África do Sul	KF777155	–	–	KF777244	–	(CROUS et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe caulinivora</i>	CBS 127268	<i>Glycine max</i>	Croácia	KC343045	KC344013	KC343529	KC343771	KC343287	(GOMES et al., 2013)	ex-neotype
<i>Diaporthe celastrina</i>	CBS 139.27	<i>Celastrus scandens</i>	–	KC343047	KC344015	KC343531	KC343773	KC343289	(GOMES et al., 2013)	epitype

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	HIS	TEF1	CAL	Número de acesso GenBank	Referência	Tipo	Tecido de isolamento
<i>Diaporthe celeris</i>	CBS 143349	<i>Vitis vinifera</i>	Reino Unido	MG281017	MG281190	MG281363	MG281538	MG281712	(GUARNACCIA et al., 2018)	<i>holotype</i>	—	—
<i>Diaporthe ceratozamiae</i>	CBS 131306	<i>Ceratozamia robusta</i>	Austrália	JQ044420	—	—	—	—	(CROUS et al., 2011)	—	Folhas	Galhos
<i>Diaporthe cercidis</i>	CFCC 52565	<i>Cercis chinensis</i>	China	MH121500	MH121582	MH121460	MH121542	MH121424	(YANG et al., 2018)	<i>holotype</i>	—	Castanhas
<i>Diaporthe cf nobilis</i>	CBS 113470	<i>Castanea sativa</i>	Coreia do Sul	KC343146	KC344114	KC343630	KC343872	KC343388	(GOMES et al., 2013)	—	—	—
<i>Diaporthe cf heveae 1</i>	CBS 852.97	<i>Hevea brasiliensis</i>	Brasil	KC343116	KC344084	KC343600	KC343842	KC343358	(GOMES et al., 2013)	—	—	—
<i>Diaporthe cf heveae 2</i>	CBS 681.84	<i>Hevea brasiliensis</i>	Índia	KC343117	KC344085	KC343601	KC343843	KC343359	(GOMES et al., 2013)	—	Folhas	—
<i>Diaporthe chamaerops</i>	CBS 454.81	<i>Chamaerops humilis</i>	Grécia	KC343048	KC344016	KC343532	KC343774	KC343290	(GOMES et al., 2013)	—	Folhas parte morta	—
<i>Diaporthe charlesworthii</i>	BRIP 54884m	<i>Rapistrum rugosum</i>	Austrália	KJ197288	—	KJ197250	—	(THOMPSON et al., 2015)	<i>holotype</i>	—	—	
<i>Diaporthe chensiensis</i>	CFCC 52567	<i>Abies chensiensis</i>	China	MH121502	MH121584	MH121462	MH121544	MH121426	(YANG et al., 2018)	<i>holotype</i>	Galhos	—
<i>Diaporthe cichorii</i>	MFLUCC 17-1023	<i>Cichorium intybus</i>	Itália	KY964220	KY964104	—	KY964176	KY964133	(DISSANAYAKE et al., 2017a)	<i>holotype</i>	—	—
<i>Diaporthe cinerascens</i>	CBS 719.96	<i>Ficus carica</i>	Bulgária	KC343050	KC344018	KC343534	KC343776	KC343292	(GOMES et al., 2013)	—	Galhos	Galhos
<i>Diaporthe cinnamoni</i>	CFCC 52569	<i>Cinnamomum</i> sp.	China	MH121504	MH121586	MH121464	MH121546	—	(YANG et al., 2018)	<i>holotype</i>	Galhos	Galhos
<i>Diaporthe cissampeli</i>	CBS 141331	<i>Cissampelos capensis</i>	Africa do Sul	KX228273	KX228384	KX228366	—	—	(CROUS et al., 2013)	<i>holotype</i>	Folhas e galhos	—

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS	TEF1			
<i>Diaporthe citri</i>	CBS 135422	<i>Citrus</i> sp.	Estados Unidos	KC843311	KC843187	MF418281	KC843071	KC843157	(GUARNACCIA; CROUS, 2017)	holotype
<i>Diaporthe citriasiiana</i>	CBS 134240	<i>Citrus unshiu</i>	China	JQ954645	KC357459	MF418282	JQ954663	KC357491	(GUARNACCIA; CROUS, 2017)	holotype
<i>Diaporthe citrichinensis</i>	CBS 134242	<i>Citrus</i> sp.	China	JQ954648	MF418524	KJ420880	JQ954666	KC357494	(UDAYANGA et al., 2014a)	holotype
<i>Diaporthe collariana</i>	MFLU 17-2770	<i>Magnolia champaca</i>	Tailândia	MG806115	MG783041	—	MG783040	MG783042	(PERERA et al., 2018)	—
<i>Diaporthe compactum</i>	LC3083	<i>Camellia sinensis</i>	China	KP267854	KP293434	KP293508	KP267928	—	(GAO et al., 2015)	—
<i>Diaporthe conica</i>	CFCC 52571	<i>Alangium chinense</i>	China	MH121506	MH121588	MH121466	MH121548	MH121428	(YANG et al., 2018)	holotype
<i>Diaporthe convolvuli</i>	CBS 124654	<i>Convolvulus arvensis</i>	Turquia	KC343054	KC344022	KC343538	KC343780	KC343296	(GOMES et al., 2013)	Galhos
<i>Diaporthe crataegi</i>	CBS 114435	<i>Crataegus oxyacantha</i>	Suecia	KC343055	KC344023	KC343539	KC343781	KC343297	(GOMES et al., 2013)	—
<i>Diaporthe croatariae</i>	CBS 162.33	<i>Crotalaria spectabilis</i>	Estados Unidos	KC343056	KC344024	KC343540	KC343782	KC343298	(GOMES et al., 2013)	—
<i>Diaporthe cucurbitae</i>	DAOM 42078	<i>Cucumis sativus</i>	Canadá	KM453210	KP118848	KM453212	KM453211	—	(UDAYANGA et al., 2015)	epitype
<i>Diaporthe cuppatea</i>	CBS 117499	<i>Aspalathus linearis</i>	Africa do Sul	AY339322	JX275420	KC343541	AY339354	JX197414	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe cynaroidis</i>	CBS 122676	<i>Protea cynaroides</i>	Africa do Sul	KC343058	KC344026	KC343542	KC343784	KC343300	(GOMES et al., 2013)	ex-type

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS	TEF1			
<i>Diaporthe cytioporella</i>	CBS 137020	<i>Citrus limon</i>	Espanha	KC843307	KC843221	MF418283	KC843116	KC843141	(GUARNACCIA; CROUS, 2017)	ex-type Frutos
<i>Diaporthe decadens</i>	CBS 109772	<i>Corylus avellana</i>	Áustria	KC343059	KC344027	KC343543	KC343785	KC343301	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe detrusa</i>	CBS 109770	<i>Berberis vulgaris</i>	Áustria	KC343061	KC344029	KC343545	KC343787	KC343303	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe diospyricola</i>	CBS 136552	<i>Royena whyeana</i>	África do Sul	KF777156	–	–	–	–	(CROUS et al., 2013)	Folhas
<i>Diaporthe discoidispora</i>	ZJUD89	<i>Citrus unshiu</i>	China	KJ490624	KJ490445	KJ490566	KJ490503	–	(HUANG et al., 2015)	holotype Galhos
<i>Diaporthe dorycnii</i>	MFLUCC 17-1015	<i>Dorycnium hirsutum</i>	Itália	KY964215	KY964099	–	KY964171	–	(DISSANAYAKE et al., 2017a)	holotype Haste morta
<i>Diaporthe elaeagniglabrae</i>	CGMCC 3.18287	<i>Elaeagnus glabra</i>	China	KX986779	KX999212	KX999251	KX999171	KX999281	(GAO et al., 2017)	holotype Folhas
<i>Diaporthe eleagni</i>	CBS 504.72	<i>Elaeagnus</i> sp.	Holanda	KC343064	KC344032	KC343548	KC343790	KC343306	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe ellipicola</i>	CGMCC 3.17084	<i>Lithocarpus glabra</i>	China	KF576270	KF576291	–	KF576245	–	(GAO et al., 2015)	Galhos
<i>Diaporthe endophytica</i>	CBS 133811	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343065	KC344033	KC343549	KC343791	KC343307	(GOMES et al., 2013)	Folhas
<i>Diaporthe eres</i>	CBS 138594	<i>Ulmus laevis</i>	Alemanha a	KJ210529	KJ420799	KJ420850	KJ210550	KJ434999	(UDAYANGA et al., 2014a)	type
<i>Diaporthe encalyptorum</i>	CBS 132525	<i>Eucalyptus</i> sp.	Austrália	JX069862	–	–	–	–	(CROUS et al., 2012)	holotype Folhas
<i>Diaporthe eugeniae</i>	CBS 444.82	<i>Eugenia aromaticata</i>	Indonésia	KC343098	KC344066	KC343582	KC343824	KC343340	(GOMES et al., 2013)	–

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank			Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS			
<i>Diaporthe fibrosa</i>	CBS 109751	<i>Rhamnus cathartica</i>	Áustria	KC343099	KC344067	KC343583	KC343825	KC343341	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe foeniculacea</i>	CBS 111553	<i>Foeniculum vulgare</i>	Espanha	KC343101	KC344069	KC343585	KC343827	KC343343	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe fraxini-angustifoliae</i>	BRIP 54781	<i>Fraxinus angustifolia</i> subsp. <i>oxycarpa</i>	Austrália	JX862528	KF170920	–	JX852534	–	(TAN et al., 2013) <i>isotype</i>
<i>Diaporthe fraxinicola</i>	CFCC 52582	<i>Fraxinus chinensis</i>	China	MH121517	–	–	MH121435	MH121559	(YANG et al., 2018)
<i>Diaporthe fukushii</i>	MAFF 625034	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Japan	JQ807469	–	–	JQ807418	–	(BAUMGARTNER et al., 2013)
<i>Diaporthe fusicola</i>	CGMCC 3.17087	<i>Lithocarpus glabra</i>	China	KF576281	KF576305	–	KF576256	KF576233	(GAO et al., 2015) <i>holotype</i>
<i>Diaporthe ganjae</i>	CBS 180.91	<i>Cannabis sativa</i>	Estados Unidos	KC343112	KC344080	KC343596	KC343838	KC343354	(GOMES et al., 2013) <i>ex-type</i>
<i>Diaporthe gardeniae</i>	CBS 288.56	<i>Gardenia jasminoides</i>	Itália	KC343113	KC344081	KC343597	KC343839	KC343355	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe garethjonesii</i>	MFLUCC 12-0542a	–	Tailândia	KT459423	KT459441	–	KT459457	KT459470	(DISSANAYAKE et al., 2017a)
<i>Diaporthe gouheri</i>	BRIP 55657a	<i>Helianthus annus</i>	Austrália	KJ197290	KJ197270	–	KJ197252	–	(THOMPSON et al., 2015) <i>holotype</i>
<i>Diaporthe guyae</i>	BRIP 54025	<i>Helianthus annus</i>	Austrália	JF431299	KJ197271	–	JN645803	–	(THOMPSON et al., 2015) <i>holotype</i>

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	HIS	TEF1	CAL	Número de acesso GenBank	Referência	Tipo	Tecido de isolamento
<i>Diaporthe helianthi</i>	CBS 592.81	<i>Helianthus annuus</i>	Sérvia	KC343115	KC344083	KC343599	KC343841	JX197454	(GOMES et al., 2013)	ex-type	Hastes de inverno	
<i>Diaporthe helicis</i>	CBS 138596	<i>Hedera helix</i>	França	KJ210538	KJ420828	KJ420875	KJ1210559	KJ435043	(UDAYANGA et al., 2014a)	—	—	
<i>Diaporthe heterophyllae</i>	CBS 143769	<i>Acacia heterophylla</i>	França	MG600222	MG600226	MG600220	MG600224	MG600218	(MARIN-FELIX et al., 2019)	—	—	
<i>Diaporthe hickoriae</i>	CBS 145.26	<i>Carya glabra</i>	Estados Unidos	KC343118	KC344086	KC343602	KC343844	KC343360	(GOMES et al., 2013)	ex-type	—	
<i>Diaporthe hispaniae</i>	CBS 143351	<i>Vitis vinifera</i>	Espanha	MG281123	MG281296	MG281471	MG281644	MG281820	(GUARNACCIA et al., 2018)	holotype	—	
<i>Diaporthe hongkongensis</i>	CBS 115448	<i>Dichroa febrifuga</i>	Hong Kong	KC343119	KC344087	KC343603	KC343845	KC343361	(GOMES et al., 2013)	ex-type	Frutos	
<i>Diaporthe hordei</i>	CBS 481.92	<i>Hordeum vulgare</i>	Noruega	KC343120	KC344088	KC343604	KC343846	KC343362	(GOMES et al., 2013)	—	Raízes	
<i>Diaporthe hungariae</i>	CBS 143353	<i>Vitis vinifera</i>	Hungria	MG281126	MG281299	MG281474	MG281647	MG281823	(GUARNACCIA et al., 2018)	holotype	—	
<i>Diaporthe impulsa</i>	CBS 114434	<i>Sorbus aucuparia</i>	Suécia	KC343121	KC344089	KC343605	KC343847	KC343363	(GOMES et al., 2013)	—	—	
<i>Diaporthe incompleta</i>	CGMCC 3.18288	<i>Camellia sinensis</i>	China	KX986794	KX99226	KX999265	KX999186	KX999289	(GAO et al., 2017)	holotype	Folhas	
<i>Diaporthe inconspicua</i>	CBS 133813	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343123	KC344091	KC343607	KC343849	KC343365	(GOMES et al., 2013)	ex-type	Pecíolo	
<i>Diaporthe infecunda</i>	CBS 133812	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343126	KC344094	KC343610	KC343852	KC343368	(GOMES et al., 2013)	ex-type	Folhas	
<i>Diaporthe infantilis</i>	CBS 230.52	<i>Citrus sinensis</i>	Suriname	KC343052	KC344020	KC343536	KC343778	KC343294	(GOMES et al., 2013)	—	Frutos em decomposição	
<i>Diaporthe isoberliniae</i>	CBS 137981	<i>Isoberlinia angolensis</i>	Zâmbia	KJ869133	KJ869245	—	—	—	(CROUS et al., 2014a)	—	—	

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS	TEF1			
<i>Diaporthe juglandicola</i>	CFCC 51134	<i>Juglans mandshurica</i>	China	KU985101	KX024634	KX024622	KX024628	KX024616	(YANG et al., 2017a)	ex-type
<i>Diaporthe kadsurae</i>	CFCC 52587	<i>Kadsura longipedunculata</i>	China	MH121522	MH121601	MH121480	MH121564	MH121440	(YANG et al., 2018)	–
<i>Diaporthe kochmanii</i>	BRIP 54033	<i>Helianthus annus</i>	Austrália	JF431295	–	–	JN645809	–	(THOMPSON et al., 2011)	Galhos
<i>Diaporthe kongii</i>	BRIP 54031	<i>Helianthus annus</i>	Austrália	JF431301	KJ197272	–	JN645797	–	(THOMPSON et al., 2015)	–
<i>Diaporthe leucospermi</i>	CBS 111980	<i>Leucospermum sp.</i>	Austrália	JN712460	KY435673	KY435653	KY435632	KY435663	(SANTOS et al., 2017)	type
<i>Diaporthe limonicola</i>	CBS 142549	<i>Citrus limon</i>	Malta	MF418422	MF418582	MF418342	MF418501	MF418256	(GUARNACCIA; CROUS, 2017)	ex-type
<i>Diaporthe litchicola</i>	BRIP 54900	<i>Litchi chinensis</i>	Austrália	JX862533	KF170925	–	JX862539	–	(TAN et al., 2013)	holotype
<i>Diaporthe lithocarpus</i>	CGMCC 3.15175	<i>Lithocarpus glabra</i>	China	KC153104	KF576311	–	KC153095	–	(GAO et al., 2015)	holotype
<i>Diaporthe litoricola</i>	MFLUCC 16-1195	–	Reino Unido	MF190139	–	–	–	–	(SENANAYAKE et al., 2017)	holotype
<i>Diaporthe longicolla</i>	CGMCC 3.17089	<i>Lithocarpus glabra</i>	China	KF576267	KF576291	–	KF576242	–	(GAO et al., 2015)	–
<i>Diaporthe longicolla</i>	FAU 599	<i>Glycine max</i>	Estados Unidos	KJ590728	KJ610883	KJ659188	KJ590767	KJ612124	(UDAYANGA et al., 2015)	holotype
<i>Diaporthe longispora</i>	CBS 194.36	<i>Ribes sp.</i>	Canadá	KC343135	KC344103	KC343619	KC343861	KC343377	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe lonicerae</i>	MFLUCC 17-0963	<i>Lonicera sp.</i>	Itália	KY964190	KY964073	–	KY964146	KY964116	(DISSANAYAKE et al., 2017a)	holotype
									Ramos mortos	

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	Número de acesso GenBank	Referência	Tipos	Tecido de isolamento
						CAL			
<i>Diaporthe lusitanicae</i>	CBS 123212	<i>Foeniculum vulgare</i>	Portugal	KC343136	KC344104	KC343620	KC343862	KC343378	(GOMES et al., 2013) <i>ex-type</i>
<i>Diaporthe macintoshii</i>	BRIP 55064a	<i>Rapistrum rugosum</i>	Austrália	KJ197289	KJ197269	–	KJ197251	–	(THOMPSON et al., 2015) –
<i>Diaporthe mahothocarpus</i>	CGMCC 3.15181	<i>Lithocarpus glabra</i>	China	KC153096	–	–	KC153087	–	(GAO et al., 2013) <i>holotype</i>
<i>Diaporthe malorum</i>	CBS142383	<i>Malus domestica</i>	Portugal	KY435638	KY435668	KY435648	KY435627	KY435658	(SANTOS et al., 2017) <i>holotype</i>
<i>Diaporthe manihotia</i>	CBS 505.76	<i>Manihot utilissima</i>	Ruanda	KC343138	KC344106	KC343622	KC343864	KC343380	(GOMES et al., 2013) –
<i>Diaporthe maritima</i>	DAOMC 250563	<i>Picea rubens</i>	Canadá	KU552025	KU574615	–	KU552023	–	(TANNEY et al., 2016) <i>holotype</i>
<i>Diaporthe masirevicii</i>	BRIP 57892a	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	KJ197277	KJ197257	–	KJ197239	–	(THOMPSON et al., 2015) <i>holotype</i>
<i>Diaporthe mayrenii</i>	CBS 133185	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343139	KC344107	KC343623	KC343865	KC343381	(GOMES et al., 2013) <i>ex-type</i>
<i>Diaporthe maytenicola</i>	CBS 136441	<i>Maytenus acuminata</i> var. <i>acuminata</i>	África do Sul	KF777157	KF777250	–	–	–	(CROUS et al., 2013) <i>ex-type</i>
<i>Diaporthe megalospora</i>	CBS 143.27	<i>Sambucus canadensis</i>	–	KC343140	KC344108	KC343624	KC343866	KC343382	(GOMES et al., 2013) –
<i>Diaporthe melitensis</i>	CBS 142551	<i>Citrus limon</i>	Malta	MF418424	MF418584	MF418344	MF418503	MF418258	(GUARNACCIA; CROUS, 2017) <i>ex-type</i>
<i>Diaporthe melonis</i>	CBS 507.78	<i>Cucumis melo</i>	Estados Unidos	KC343142	KC344110	KC343626	KC343868	KC343384	(GOMES et al., 2013) <i>ex-isotype</i>
<i>Diaporthe middletonii</i>	BRIP 54884e	<i>Rapistrum rugosum</i>	Austrália	KJ197286	KJ197266	–	KJ197248	–	(THOMPSON et al., 2015) <i>holotype</i>

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank			Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS			
<i>Diaporthe miriciae</i>	BRIP 54736j	<i>Glycine max</i>	Austrália	KJ197283	KJ197263	–	KJ197245	–	(THOMPSON et al., 2015)
<i>Diaporthe momicola</i>	MFLUCC 16-0113	<i>Prunus persica</i>	China	KU557563	KU557587	–	KU557631	KU557611	(DISSANAYAKE et al., 2017c)
<i>Diaporthe multiguttulata</i>	ICMP20656	<i>Citrus maxima</i>	China	KJ490633	KJ490454	KJ490575	KJ490512	–	(HUANG et al., 2015)
<i>Diaporthe musigena</i>	CBS 129519	<i>Musa</i> sp.	Austrália	KC343143	KC344111	KC343627	KC343869	KC343385	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe neilliae</i>	CBS 144.27	<i>Spiraea</i> sp.	–	KC343144	KC344112	KC343628	KC343870	KC343386	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe neoarcii</i>	CBS 109490	<i>Ambrosia trifida</i>	Estados Unidos	KC343145	KC344113	KC343629	KC343871	KC343387	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe neoraonikayaporum</i>	MFLUCC 14-1136	<i>Tectona grandis</i>	Tailândia	KU712449	KU743988	–	KU749369	KU749356	(DOLLOM et al., 2016)
<i>Diaporthe nomurai</i>	CBS 157.29	<i>Morus</i> sp.	Japão	KC343154	KC344122	KC343638	KC343880	KC343396	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe nothofagi</i>	BRIP 54801	<i>Nothofagus cunninghamii</i>	Austrália	JX862530	KF170922	–	JX862536	–	(TAN et al., 2013)
<i>Diaporthe novem</i>	CBS 127271	<i>Glycine max</i>	Croácia	KC343157	KC344125	KC343641	KC343883	KC343399	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe obtusifoliae</i>	CBS 143449	<i>Acacia obtusifolia</i>	Austrália	MG386072	–	MG386137	–	–	(CROUS et al., 2017)
<i>Diaporthe ocoteae</i>	CBS 141330	<i>Ocotea bullata</i>	França	KX228293	KX228388	–	–	–	(CROUS et al., 2016b)
<i>Diaporthe oncostoma</i>	CBS 589.78	<i>Robinia pseudoacacia</i>	França	KC343162	KC344130	KC343646	KC343888	KC343404	(GOMES et al., 2013)

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	Número de acesso GenBank	Referência	Tipos	Tecido de isolamento
						CAL			
<i>Diaporthe oraccini</i>	LC 3166	<i>Camellia sinensis</i>	China	KP267863	KP293443	KP293517	KP267937	—	(GAO et al., 2016)
<i>Diaporthe ovalispora</i>	ICMP20659	<i>Citrus limon</i>	China	KJ490628	KJ490449	KJ490507	—	(HUANG et al., 2015)	<i>holotype</i>
<i>Diaporthe ovocicola</i>	CGMCC 3.17092	<i>Lithocarpus glabra</i>	China	KF576264	KF576288	—	KF576239	KF576222	(GAO et al., 2015)
<i>Diaporthe oxe</i>	CBS 133186	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343164	KC344132	KC343648	KC343890	KC343406	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe padi var. padi</i>	CBS 114200	<i>Prunus padus</i>	Suécia	KC343169	KC344137	KC343653	KC343895	KC343411	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe padina</i>	CFCC 52590	<i>Padus racemosa</i>	China	MH121525	MH121604	MH121483	MH121567	MH121443	(YANG et al., 2018)
<i>Diaporthe pandanicola</i>	MFLU 18-0006	<i>Pandanus</i> sp.	Thailand	MG646974	MG646930	—	—	—	(TIBPPROMMA et al., 2018)
<i>Diaporthe parananensis</i>	CBS 133184	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343171	KC344139	KC343655	KC343897	KC343413	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe parapterocarpi</i>	CBS 137986	<i>Pterocarpus brenanii</i>	Zâmbia	KJ869138	KJ869248	—	—	—	(CROUS et al., 2014a)
<i>Diaporthe pascoei</i>	BRIP 54847	<i>Persea americana</i>	Austrália	JX862532	KF170924	—	JX862538	—	(TAN et al., 2013)
<i>Diaporthe passiflorae</i>	CBS 132527	<i>Passiflora edulis</i>	América do Sul	JX069860	KY435674	KY435654	KY435633	KY435664	(SANTOS et al., 2017)
<i>Diaporthe passifloricola</i>	CBS 141329	<i>Passiflora foetida</i>	Malásia	KX228292	KX228387	KX228367	—	—	(CROUS et al., 2016b)
<i>Diaporthe penetratum</i>	CGMCC 3.17532	<i>Camellia sinensis</i>	China	KP714505	KP714529	KP714493	KP714517	—	(GAO et al., 2016)
<i>Diaporthe perjuncta</i>	CBS 109745	<i>Ulmus glabra</i>	Áustria	KC343172	KC344140	KC343656	KC343898	KC343414	(GOMES et al., 2013)

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS	TEF1			
<i>Diaporthe perniciosa</i>	CBS 124030	<i>Malus pumila</i>	Nova Zelândia	KC343149	KC344117	KC343633	KC343875	KC343391	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe perseae</i>	CBS 151.73	<i>Persea americana</i>	Holanda	KC343173	KC344141	KC343657	KC343899	KC343415	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe pescicola</i>	MFLUCC 16-0105	<i>Prunus persica</i>	China	KU557555	KU557579	–	KU557623	KU557603	(DISSANAYAKE et al., 2017c)	–
<i>Diaporthe phaseolorum</i>	CBS 113425	<i>Olearia cf. rami</i>	Nova Zelândia	KC343174	KC344142	KC343658	KC343900	KC343416	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe phragmitis</i>	CBS 138897	<i>Phragmites australis</i>	China	KP004445	KP004507	KP004503	–	–	(CROUS et al., 2014b)	ex-type
<i>Diaporthe podocarpi-macrophylli</i>	CGMCC3.18-281	<i>Podocarpus macrophyllus</i>	Japão	KX986774	KX99207	KX99246	KX99167	KX999278	(GAO et al., 2017)	holotype
<i>Diaporthe pseudomangiferae</i>	CBS 101339	<i>Mangifera indica</i>	República Dominicana	KC343181	KC344149	KC343665	KC343907	KC343423	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe pseudophoenicicola</i>	CBS 462.69	<i>Phoenix dactylifera</i>	Espanha	KC343184	KC344152	KC343668	KC343910	KC343426	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe pseudosugae</i>	MFLU 15-3228	<i>Pseudosuga menziesii</i>	Itália	KY964225	KY964108	–	KY964181	KY964138	(DISSANAYAKE et al., 2017c)	–
<i>Diaporthe psoraleae</i>	CBS 136412	<i>Psoralea pinnata</i>	África do Sul	KF777158	KF777251	–	KF777245	–	(CROUS et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe psoraleae-pinnatae</i>	CBS 136413	<i>Psoralea pinnata</i>	África do Sul	KF777159	KF777252	–	–	–	(CROUS et al., 2013)	ex-type
									Ápices mortos de folhas verdes	
									Pinhas mortas	

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank			Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS			
<i>Diaporthe pterocarpi</i>	MFLUCC 10-0571	<i>Pterocarous indicus</i>	Tailândia	JQ619899	JX275460	–	JX275416	JX197451	(UDAYANGA et al., 2012)
<i>Diaporthe pterocarpicola</i>	MFLUCC 10-0580a	<i>Pterocarous indicus</i>	Tailândia	JQ619887	JX275441	–	JX275403	JX197433	(UDAYANGA et al., 2012)
<i>Diaporthe pulla</i>	CBS 338.89	<i>Hedera helix</i>	Croácia	KC343152	KC344120	KC343636	KC343878	KC343394	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe pustulata</i>	CBS 109742	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Áustria	KC343185	KC344153	KC343669	KC343911	KC343427	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe pyracanthae</i>	CBS142384	<i>Pyracantha coccinea</i>	Portugal	KY435635	KY435666	KY435645	KY435625	KY435656	(SANTOS et al., 2017)
<i>Diaporthe racemosae</i>	CBS 143770	<i>Euclea racemosa</i>	África do Sul	MG600223	MG600227	MG600221	MG600225	MG600219	(MARIN-FELIX et al., 2019)
<i>Diaporthe raoniakayaporum</i>	CBS 133182	<i>Spondias mombin</i>	Brasil	KC343188	KC344156	KC343672	KC343914	KC343430	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe ravennica</i>	MFLUCC 15-0479	<i>Tamarix</i> sp.	Itália	KU900335	KX432254	–	KX365197	–	(DISSANAYAKE et al., 2017a)
<i>Diaporthe rhoiana</i>	CBS 146.27	<i>Toxicodendron pubescens</i>	–	KC343189	KC344157	KC343673	KC343915	KC343431	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe rhusicola</i>	CBS 129528	<i>Rhus pendulina</i>	África do Sul	JF951146	KC843205	–	KC843100	KC843124	(UDAYANGA et al., 2014b)
<i>Diaporthe rosae</i>	MFLU 17-1550	<i>Rosa</i> sp.	Reino Unido	MG828894	MG843878	–	–	–	(WANASINGHE et al., 2018)
<i>Diaporthe rosicola</i>	MFLU 17-0646	<i>Rosa</i> sp.	Tailândia	MG828895	MG843877	–	MG829270	–	(WANASINGHE et al., 2018)

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank			Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS			
<i>Diaporthe rostrata</i>	CFCC 50062	<i>Juglans mandshurica</i>	China	KP208847	KP208855	KP208851	KP208849	(FAN et al., 2015)	<i>holotype</i>
<i>Diaporthe rufidis</i>	AR3422	<i>Vitis vinifera</i>	Portugal	KC343234	KC344202	KC343718	KC343960	KC343476	<i>ex-epitype</i>
<i>Diaporthe saccarata</i>	CBS 116311	<i>Protea repens</i>	África do Sul	KC343190	KC344158	KC343674	KC343916	KC343432	<i>ex-type</i>
<i>Diaporthe sackstonii</i>	BRIP 54669b	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	KJ197287	KJ197267	–	KJ197249	–	(THOMPSON et al., 2015)
<i>Diaporthe salicicola</i>	BRIP 54825	<i>Salix purpurea</i>	Austrália	JX862531	KF170923	–	JX862537	–	<i>isotype</i>
<i>Diaporthe sambucusii</i>	CFCC 51986	<i>Sambucus williamsii</i>	China	KY852495	KY852511	KY852503	KY852507	KY852499	(TAN et al., 2013)
<i>Diaporthe schimi</i>	CBS 133181	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343191	KC344159	KC343675	KC343917	KC343433	(YANG et al., 2018)
<i>Diaporthe schisandrae</i>	CFCC 51988	<i>Schisandra chinensis</i>	China	KY852497	KY852513	KY852505	KY852509	KY852501	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe schoeni</i>	MFLU 15-1279	<i>Schoenus nigricans</i>	Itália	KY964226	KY964109	–	KY964182	KY964139	(DISSANAYAKE et al., 2017a)
<i>Diaporthe sclerotioides</i>	CBS 296.67	<i>Cucumis sativus</i>	Holanda	KC343193	KC344161	KC343677	KC343919	KC343435	<i>ex-type</i>
<i>Diaporthe scobina</i>	CBS 251.38	<i>Fraxinus excelsior</i>	Reino Unido	KC343195	KC344163	KC343679	KC343921	KC343437	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe sennae</i>	CFCC 51636	<i>Senna bicapsularis</i>	China	KY203724	KY228891	–	KY228885	KY228875	(YANG et al., 2017b)
<i>Diaporthe semincola</i>	CFCC 51634	<i>Senna bicapsularis</i>	China	KY203722	KY228889	KY228879	KY228883	KY228873	(GOMES et al., 2013)

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	Número de acesso GenBank	Referência	Tipos	Tecido de isolamento
						CAL			
<i>Diaporthe serafiniae</i>	BRIP 55665a	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	KJ197274	KJ197254	—	KJ197236	—	(THOMPSON et al., 2015)
<i>Diaporthe siamensis</i>	MFLUCC 10-0573a	<i>Dasyemaschalon</i> sp.	Tailândia	JQ619879	JX275429	—	JX275393	—	(UDAYANGA et al., 2012)
<i>Diaporthe sojae</i>	CBS 139282	<i>Glycine max</i>	Estados Unidos	KJ590719	KJ610875	KJ659208	KJ590762	KJ612116	(UDAYANGA et al., 2015)
<i>Diaporthe spartinicola</i>	CBS 140003	<i>Spartium junceum</i>	Espanha	KR611879	KR857695	KR857696	—	—	(CROUS et al., 2015a)
<i>Diaporthe tectonigena</i>	MFLUCC 12-0767	<i>Tectona grandis</i>	Tailândia	KU712429	KU743976	—	KU749371	KU749358	(DOLLOM et al., 2016)
<i>Diaporthe terebinthifoliae</i>	CBS 133180	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343216	KC344184	KC343700	KC343942	KC343458	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe ternstroemiae</i>	CGMCC 3.15183	<i>Ternstroemia gymnanthera</i>	China	KC153098	—	—	KC153089	—	(GAO et al., 2013)
<i>Diaporthe thunbergii</i>	MFLUCC 10-0756a	<i>Thunbergia laurifolia</i>	Tailândia	JQ619893	JX275449	—	JX275409	JX197440	(UDAYANGA et al., 2012)
<i>Diaporthe thunbergicola</i>	MFLUCC 12-0033	<i>Thunbergia laurifolia</i>	Tailândia	KP715097	—	—	KP715098	—	(LIU et al., 2015)
<i>Diaporthe tibetensis</i>	CFCC 51999	<i>Juglans regia</i>	China	MF279843	MF279873	MF279828	MF279858	MF279888	(FAN et al., 2018).
<i>Diaporthe torilicola</i>	MFLUCC 17-1051	<i>Torilis arvensis</i>	Itália	KY964212	KY964096	—	KY964168	KY964127	(DISSANAYAKE et al., 2017a)
<i>Diaporthe toxica</i>	CBS 534.93	<i>Lupinus angustifolius</i>	Austrália	KC343220	KC344188	KC343704	KC343946	KC343462	(GOMES et al., 2013)
<i>Diaporthe toxicodendri</i>	FFPR142098	<i>Toxicodendron verniciflum</i>	Japão	LC275192	LC275224	LC275208	LC275216	LC275200	(ANDO et al., 2017)

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS	TEFI			
<i>Diaporthe tulliensis</i>	BRIP 62248a	<i>Theobroma cacao</i>	Austrália	KR936130	KR936132	–	KR936133	–	(CROUS et al., 2015b)	Extremidade podre de frutos
<i>Diaporthe uecherae</i>	FAU 656	<i>Cucumis melo</i>	Estados Unidos	KJ590726	KJ610881	KJ659215	KJ590747	KJ612122	(HUANG et al., 2015)	holotype
<i>Diaporthe ukurunduensis</i>	CFCC 52593	<i>Acer ukurunduense</i>	China	MH121528	–	MH121486	MH121570	MH121446	(YANG et al., 2018)	holotype
<i>Diaporthe undulata</i>	CGMCC 3.18293	–	China	KX986798	KX999230	KX999269	KX999190	–	(GAO et al., 2017)	Galhos
<i>Diaporthe unshiuensis</i>	CGMCC3.17 569	<i>Citrus unshiu</i>	China	KJ490587	KJ490408	KJ490529	KJ490466	–	(HUANG et al., 2015)	holotype
<i>Diaporthe vaccinii</i>	CBS 160.32	<i>Orycococcus macrocarpos</i>	Estados Unidos	AF317578	KC344196	KC343712	Q250326	KC343470	(GOMES et al., 2013)	ex-type
<i>Diaporthe vangueriae</i>	CBS 137985	<i>Vangueria infausta</i>	Zâmbia	KJ869137	KJ869247	–	–	–	(CROUS et al., 2014a)	–
<i>Diaporthe vawdreyi</i>	BRIP 57887a	<i>Psidium guajava</i>	Austrália	KR936126	KR936128	–	KR936129	–	(CROUS et al., 2015b)	holotype
<i>Diaporthe velutina</i>	CGMCC 3.18286	<i>Neolitsea</i> sp.	China	KX986790	KX999223	KX999261	KX999182	–	(GAO et al., 2017)	Frutos podres
<i>Diaporthe vexans</i>	CBS 127.14	<i>Solanum melongena</i>	Estados Unidos	KC343229	KC344197	KC343713	KC343955	KC343471	(GOMES et al., 2013)	holotype
<i>Diaporthe woodii</i>	CBS 558.93	<i>Lupinus</i> sp.	Austrália	KC343244	KC344212	KC343728	KC343970	KC343486	(GOMES et al., 2013)	Haste
<i>Diaporthe woolworthii</i>	CBS 148.27	<i>Ulmus americana</i>	–	KC343245	KC344213	KC343729	KC343971	KC343487	(GOMES et al., 2013)	–
<i>Diaporthe xishuangbanica</i>	CGMCC 3.18282	<i>Camellia sinensis</i>	China	KX986783	KX999216	KX999255	KX999175	–	(GAO et al., 2017)	Folhas

APÊNDICE II – Lista de isolados de *Diaporthe* utilizados neste estudo. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso a genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento
				ITS	TUB	HIS	TEF1			
CGMCC 3.18289	<i>Coffea</i> sp.	China	KX986796	KX99228	KX99267	KX99188	KX99290	(GAO et al., 2017)	holotype	Folhas
<i>Diaporthe yunnanensis</i>	<i>Corylus</i> sp.	China	KC343004	KC343972	KC34488	KC343730	KC343246	(GOMES et al., 2013)	—	Hastes secas

Fonte: O Autor; Guerra, 2020.

Legenda: AR e FAU: Isolados da coleção de culturas do Laboratório de Micologia sistemática e Microbiologia, USDA-ARS, EUA; BRIP: Herbário / coleção de cultura de Queensland Plant Pathology, Austrália; CBS: Coleção de culturas das Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Center, Holanda; CFCC: Centro da coleção de culturas florestais da China, China; CGMCC: Coleção Geral de Cultura Microbiológica da China, LGMF: coleção de culturas do Laboratório Bioprospecção e Genética Molecular de Microorganismos, Brasil; MAFF: Projeto MAFF Genebank, Ministério da Agricultura, Florestas e Pesca, Japão; MFLUCC: Coleção de Cultura da Universidade Mae Fah Luang, Tailândia; ZJUD: Zhejiang Universidade.

APÊNDICE III – Modelo de substituição de nucleotídeos utilizados para as análises filogenéticas.

Locus**	Árvore com 236 isolados de <i>Diaporthe</i>	Árvore do complexo <i>Diaporthe sojae</i>
ITS	GTR+I+G*	GTR+I+G
CAL	HKY+I+G	HKY+G
HIS	GTR+I+G	GTR+I+G
TEF1	HKY+I+G	HKY+I+G
TUB	HKY+I+G	HKY+G

Legenda: *Modelos determinados através do critério de informação de Akaike.

**ITS: espaçador interno transrito

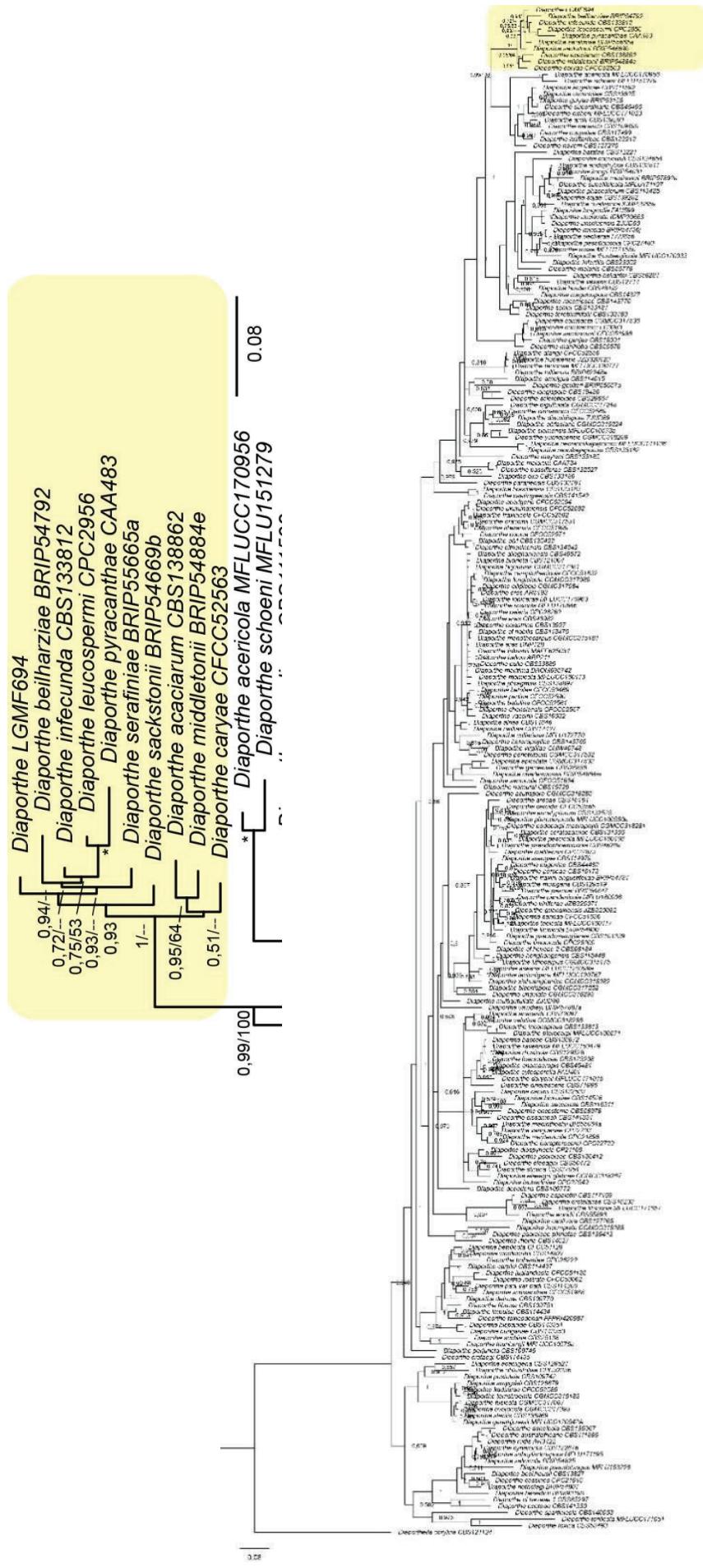
CAL: calmodulina

HIS: histona H3

TEF1: fator de elongação da tradução 1- α

TUB: β -tubulina.

APÊNDICE IV – Perspectiva ampla da árvore de inferência bayesiana do alinhamento concatenado das regiões ITS, TEF1, TUB, HIS e CAL de 236 isolados de *Diaporthe* spp. E aproximação no clado 1, onde o isolado descrito neste trabalho se agrupou. A árvore foi enraizada em *Diaporthella corylina* CBS 121124



APÊNDICE V – Lista de isolados do complexo *Diaporthe sojae*. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso ao genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continua)

Espécies	Isolado	Hospedeiro	País de coleta	ITS	CAL	Número de acesso GenBank	TEF	TUB	Referência	Tipo	Tecido de isolamento
<i>Diaporthe phaseolorum</i>	CBS 116019	<i>Caperonia pudicistris</i>	Estados unidos	KC343175	KC343417	KC343659	KC343901	KC344143	(GOMES et al., 2013)	-	-
<i>Diaporthe sojae</i>	FAU635	<i>Glycine max</i>	Estados unidos	KJ590719	KJ1612116	KJ659208	KJ590762	KJ610875	(UDAYANGA et al., 2015)	<i>epitype</i>	-
<i>Diaporthe endophytica</i>	CBS133811/ LGMF916	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343065	KC343307	KC343549	KC343791	KC344033	(GOMES et al., 2013)	<i>type</i>	Folhas
<i>Diaporthe kongii</i>	BRIP 54031	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	JF431301	-	-	JN645797	-	(THOMPSON et al., 2011)	<i>ex-type</i>	-
<i>Diaporthe masirevicii</i>	BRIP 57892a	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	KJ197277	-	-	KJ197239	KJ197257	(THOMPSON et al., 2015)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe convolvuli</i>	CBS124654/ DP0727	<i>Convolvulus arvensis</i>	Turquia	KC343054	KC343296	KC343538	KC343780	KC344022	(GOMES et al., 2013)	<i>ex-type</i>	Folhas
<i>Diaporthe tectorumendophytica</i>	MFLUCC 13-0471	<i>Tectona grandis</i>	China	KU712439	KU749354	KX999266	KU749367	KU749386	(DOILOM et al., 2016)	<i>holotype</i>	Galhos
<i>Diaporthe ueckerae</i>	FAU656	<i>Cucumis melo</i>	Estados unidos	KJ590726	KJ1612122	KJ659215	KJ590747	KJ610881	(UDAYANGA et al., 2015)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe miriciae</i>	BRIP 54736j	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	KJ197282	-	-	KJ197244	KJ197262	(THOMPSON et al., 2015)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe passifloricola</i>	CBS 141329	<i>Passiflora foetida</i>	Malásia	KX228292	-	KX228367	-	KX228387	(CROUS et al., 2013)	<i>ex-type</i>	Folhas
<i>Diaporthe thumbergiicola</i>	MFLUCC 12-0033	<i>Thumbergia laurifolia</i>	Tailând	KP715097	-	-	KP715098	-	(LIU et al., 2015)	<i>ex-type</i>	Folhas
<i>Diaporthe umshiuensis</i>	ZJUD52	<i>Citrus sp.</i>	China	KJ490587	-	KJ490529	KJ490466	KJ490408	(HUANG et al., 2015)	<i>ex-type</i>	Frutos
<i>Diaporthe umshiuensis</i>	PSCG 344	<i>P. pyrifolia</i>	China	MK62931	MK691187	MK726181	MK654874	MK691298	(GUO et al., 2020)	-	-
<i>Diaporthe longicolla</i>	FAU644	<i>Glycine max</i>	Estados unidos	KJ590730	KJ1612126	KJ659190	KJ590769	KJ610885	(UDAYANGA et al., 2015)	-	-

APÊNDICE V – Lista de isolados do complexo *Diaporthe sojae*. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso ao genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	Número de acesso GenBank HIS	TEFI	CAL	Referência	Tipo	Tecido de isolamento
<i>Diaporthe longicolla</i>	FAU599	<i>Glycine max</i>	Estados unidos	KJ590728	KJ612124	KJ659188	KJ590767	KJ610883	(UDAYANGA et al., 2015)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe batatas</i>	CBS 122.21	<i>Ipomoea batatas</i>	Estados unidos	KC343040	KC343282	KC343524	KC343766	KC344008	(GOMES et al., 2013)	<i>epitype</i>	-
<i>Diaporthe melonis</i>	CBS 507.78	<i>Glycine soja</i>	Estados unidos	KC343141	KC343883	KC343625	KC343867	KC344109	(GOMES et al., 2013)	<i>ex-type</i>	-
<i>Diaporthe vexans</i>	FAU597	<i>Solanum sp.</i>	República Dominicana	KJ590734	KJ612131	KJ659216	KJ590774	KJ610889	(UDAYANGA et al., 2015)	-	-
<i>Diaporthe helianthi</i>	CBS 592.81	<i>Helianthus annuus</i>	Sérvia	KC343115	KC343357	KC343599	KC343841	KC344083	(GOMES et al., 2013)	<i>paratype</i>	-
<i>Diaporthe schimi</i>	CBS 133181	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343191	KC343433	KC343675	KC343917	KC344159	(GOMES et al., 2013)	<i>type</i>	Folhas
<i>Diaporthe terebinthifoliū</i>	CBS 133180	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343216	KC343458	KC343700	KC343942	KC344184	(GOMES et al., 2013)	<i>ex-type</i>	Folhas
<i>Diaporthe acaciarum</i>	CBS 138862	<i>Acacia tortilis</i>	Tanzânia	KP004460	-	KP004504	-	KP004509	(CROUS et al., 2014b)	<i>holotype</i>	Espinhos
<i>Diaporthe middletonii</i>	BRIP 54884e	<i>Rapistrum rugosum</i>	Austrália	KJ197286	-	-	KJ197248	KJ197266	(THOMPSON et al., 2015)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe caryae</i>	CFCC 52563	<i>Carya illinoensis</i>	China	MH121498	MH121422	MH121458	MH121540	MH121580	(YANG et al., 2018)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe sackstonii</i>	BRIP 54669b	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	KJ197287	-	-	KJ197249	KJ197267	(THOMPSON et al., 2015)	<i>holotype</i>	Galhos
<i>Diaporthe infecunda</i>	LGMF91/ CPC 20288	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343128	KC343370	KC343612	KC343854	KC344096	(GOMES et al., 2013)	-	Folhas
<i>Diaporthe infecunda</i>	133812/ CPC 20282	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343126	KC343368	KC343610	KC343852	KC344094	(GOMES et al., 2013)	<i>ex-type</i>	Folhas

APÊNDICE V – Lista de isolados do complexo *Diaporthe sojae*. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso ao genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(continuação)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	Número de acesso GenBank				Referência	Tipo	Tecido de isolamento	
				ITS	TUB	HIS	TEF1				
<i>Diaporthe infecunda</i>	LGMF908/ CPC 20284	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343127	KC343369	KC343611	KC343853	(GOMES et al., 2013)	-	Folhas	
<i>Diaporthe infecunda</i>	LGMF917/ CPC 20293	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343129	KC343371	KC343613	KC343855	(GOMES et al., 2013)	-	Folhas	
<i>Diaporthe infecunda</i>	LGMF918/ CPC 20294	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343130	KC343372	KC343614	KC343856	(GOMES et al., 2013)	-	Folhas	
<i>Diaporthe infecunda</i>	LGMF920/ CPC 20296	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343131	KC343373	KC343615	KC343857	(GOMES et al., 2013)	-	Folhas	
<i>Diaporthe infecunda</i>	LGMF933/ CPC 20309	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343132	KC343374	KC343616	KC343858	KC344100	(GOMES et al., 2013)	-	Pecíolos
<i>Diaporthe infecunda</i>	LGMF940/ CPC 20316	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343133	KC343375	KC343617	KC343859	KC344101	(GOMES et al., 2013)	-	Pecíolos
<i>Diaporthe serafiniae</i>	BRIP 55665a	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	KJ197274	-	-	KJ197236	KJ197254	(THOMPSON et al., 2015)	<i>ex-type</i>	Hastes e sementes
<i>Diaporthe serafiniae</i>	BRIP 54136	<i>Lupinus albus</i>	Austrália	KJ197273	-	-	KJ197235	KJ197253	(THOMPSON et al., 2015)	-	Hastes mortas
<i>Diaporthe serafiniae</i>	Phom225	<i>Vitis sp.</i>	Austrália	KY511313	-	-	MH708545	KY511344	(LESUTHU et al., 2019)	-	Porta enxerto
<i>Diaporthe beilharziae</i>	BRIP 54792	<i>Indigofera australis</i>	Austrália	JX862529	-	-	JX862535	KF170921	(TAN et al., 2013)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe cuppatea</i>	CBS117499/ STE-U 5431	<i>Aspalathus linearis</i>	África do Sul	KC343057	KC343299	KC343541	KC343783	KC344025	(GOMES et al., 2013)	<i>holotype</i>	-
<i>Diaporthe lusitanicae</i>	CBS 123212	<i>Foeniculum vulgare</i>	Portugal	KC343136	KC343378	KC343620	KC343862	KC344104	(GOMES et al., 2013)	<i>ex-type</i>	Haste
<i>Diaporthe angelicae</i>	CBS 111592	<i>Heracleum sphondylium</i>	Austrália	KC343027	KC343269	KC343511	KC343753	KC343995	(GOMES et al., 2013)	<i>ex-type</i>	Hastes em decomposição
<i>Diaporthe subordinaria</i>	CBS 464.90	<i>Plantago lanceolata</i>	Nova Zelândia	KC343214	KC343456	KC343698	KC343940	KC344182	(GOMES et al., 2013)	<i>ex-type</i>	-

APÊNDICE V – Lista de isolados do complexo *Diaporthe sojae*. Contendo detalhes sobre hospedeiro, país de coleta, número de acesso ao genbank, tipo da sequência e tecidos de isolamento.

(conclusão)

Espécies	Isolado*	Hospedeiro	País de coleta	ITS	TUB	Número de acesso GenBank HIS	TEF1	CAL	Referência	Tipo	Tecido de isolamento
<i>Diaporthe gulyae</i>	BRIP 54025	<i>Helianthus annuus</i>	Austrália	JF431299	-	-	-	JN645803	-	(THOMPSON et al., 2011)	ex-type
<i>Diaporthe stewartii</i>	CBS 193.36	<i>Cosmos bipinnatus</i>	Estados unidos	FJ889448	JX197415	-	-	GQ250324	JX275421	(SANTOS; CORREA; PHILLIPS, 2010)	type
<i>Diaporthe neocarpii</i>	CBS 109490	<i>Ambrosia trifida</i>	Estados unidos	KC343145	KC343387	KC343629	KC343871	KC344113	(GOMES et al., 2013)	ex-type	-
<i>Diaporthe arctii</i>	DP0482	<i>Arcium lappa</i>	Austrália	KJ590736	KJ612133	KJ659218	KJ590776	KJ610891	(UDAYANGA et al., 2015)	ex-type	-
<i>Diaporthe novem</i>	CBS 127270	<i>Glycine max, seed</i>	Croácia	KC343156	KC343398	KC343640	KC343882	KC344124	(GOMES et al., 2013)	type	Sementes
<i>Diaporthe ganjae</i>	CBS 180.91	<i>Cannabis sativa</i>	Estados unidos	KC343112	KC343354	KC343596	KC343838	KC344080	(GOMES et al., 2013)	type	Folhas mortas
<i>Diaporthe incomplete</i>	CGMCC 3.18288	<i>Camellia sinensis</i>	China	KX986794	KX999289	KX999265	KX999186	KX999226	(GAO et al., 2017)	holotype	-
<i>Diaporthe amygdali</i>	CBS 126679	<i>Prunus dulcis</i>	Portugal	KC343022	KC343264	KC343506	KC343748	KC343990	(GOMES et al., 2013)	epitype	-

Fonte: O Autor, 2020.

Legenda: AR e FAU: Isolados da coleção de culturas do Laboratório de Micologia sistemática e Microbiologia, USDA-ARS, EUA; BRIP: Herbário / coleção de cultura de Queensland Plant Pathology, Austrália; CBS: Coleção de culturas das Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Center, Holanda; CFCC: Centro da coleção de culturas florestais da China, China; CGMCC: Coleção Geral de Cultura Microbiológica da China; LGMF: coleção de culturas do Laboratório Bioprospecção e Genética Molecular de Microorganismos, Brasil; MAFF: Projeto MAFF Genebank, Ministério da Agricultura, Florestas e Pesca, Japão; MFLUCC: Coleção de Cultura da Universidade Mae Fah Luang, Tailândia; ZJUD: Zhejiang Universidade.

APÊNDICE VI – Inibição do crescimento micelial *Fusarium graminearum*, *Pyrenopthora tritici-repentis* e *Phomopsis sojae* em screening de endófitos de
Schinus terebinthifolius

Endófito	Porcentagem de inibição (%)			
	Fitopatógeno	<i>Fusarium graminearum</i> 96 h	<i>Pyrenopthora tritici-repentis</i> 144 h	<i>Phomopsis sojae</i> 72 h
<i>Diaporthe</i> LGMF701	34,12	53,57		13,68
<i>Alternaria</i> LGMF626	31,76	48,57		19,30
<i>Diaporthe</i> LGMF658	26,47	54,46		3,16
<i>Diaporthe</i> LGMF653	0	60,71		4,56
<i>Diaporthe</i> LGMF625	0	53,57		1,75
<i>Diaporthe</i> LGMF694	38,23	50		15,79
<i>Diaporthe</i> LGMF627	11,76	46,43		-1,05
<i>Diaporthe</i> LGMF695	37,65	42,86		-1,05
<i>Diaporthe</i> LGMF651	0	65,71		15,79
<i>Xylaria</i> LGMF673	0	34,29		8,77
<i>Bjerkandera</i> LGMF713	0	35,71		1,75
Não identificado LGMF659	0	70		1,75
<i>Diaporthe</i> LGMF714	0	57,14		1,75
<i>Diaporthe</i> LGMF700	0	57,14		1,75
<i>Alternaria</i> LGMF692	0	67,14		8,77
Controle ¹	0	0		0

Fonte: Dados do autor, 2018.

¹Controle: Ausência do endófito.

Porcentagem de inibição (%) = (PC-PE)/PC*100

APÊNDICE VII – Inibição do crescimento micelial *Fusarium graminearum* em contato com o extrato metanólico das três frações do co-cultivo de *Diaporthe infecunda* LGMF694 com *Fusarium graminearum* (Fração I, II e III) e crescido sozinho (LGMF694)

Extratos	Crescimento micelial (cm)			Inibição (%)		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
LGMF694	16,17±0,49	19,10±0,92	26,70±1,42	3,58	1,44	-1,26
Fração I	7,13±0,69	8,83±1,02	12,27±1,39	57,45	54,42	53,48
Fração II	16,63±0,34	20,47±0,73	28,27±0,80	0,79	-5,61	-7,20
Fração III	15,50±0,90	19,67±0,63	27,67±1,41	7,55	-1,48	-4,93
Metanol	16,77±0,72	19,38±0,59	26,37±1,35	-	-	-

Fonte: Dados do autor, 2019.

Nota: Médias ±desvio padrão ($n=5$)

Porcentagem de inibição (%) = $(PC-PE)/PC * 100$

