

Incidência de fungos endofíticos em tecidos vegetais de *Phaseolus vulgaris*

Incidence of endophotic fungi in plant tissues of *Phaseolus vulgaris*

Jacqueline Dalbelo Puia

Doutoranda em Agronomia pela Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR.
Universidade Estadual de Londrina (UEL)
Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970
E-mail: jack_puia@hotmail.com

Isabela Brusarosco dos Santos

Graduanda em Agronomia pela Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Londrina-PR.
Instituição de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná), Londrina-PR.
Universidade Norte do Paraná (UNOPAR)
Av. Paris, 675 - Jardim Piza, Londrina - PR, 86041-100
E-mail: isabrusarosco@gmail.com

Estela Mariani Klein

Mestranda em Agronomia pela Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR.
Universidade Estadual de Londrina (UEL)
Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970
E-mail: estela.marianik@gmail.com

Emily Danila de Almeida

Graduanda em Agronomia pela Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Londrina-PR.
Instituição de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná), Londrina-PR.
Universidade Norte do Paraná (UNOPAR)
Av. Paris, 675 - Jardim Piza, Londrina - PR, 86041-100
E-mail: emilydanila21@gmail.com

Ana Maria da Silva Moreira

Graduanda em Agronomia pela Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Londrina-PR.
Instituição de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná), Londrina-PR.
Universidade Norte do Paraná (UNOPAR)
Av. Paris, 675 - Jardim Piza, Londrina - PR, 86041-100

Leandro Camargo Borsato

Mestre em Recursos Genéticos Vegetais pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Brasil.
Instituição de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná), Londrina-PR.
Rodovia Celso Garcia Cid, km 375, 86047-902 - Londrina - PR
E-mail: leandro@iapar.br

Sandra Cristina Vigo

Doutora em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) Brasil.

Instituição de Desenvolvimento Rural do Paraná (IAPAR-EMATER), Londrina-PR.
Rodovia Celso Garcia Cid, km 375, 86047-902 - Londrina – PR
E-mail: sandracvigo@iapar.br

RESUMO

Fungos endofíticos representam uma fonte rica de produtos naturais novos e bioativos, devido seus metabólitos secundários, que são particularmente ativos. O presente estudo teve como objetivos realizar o isolamento de fungos endofíticos de folhas, caules e raízes, além de identifica-los para trabalhos futuros. A pesquisa foi conduzida no Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, Londrina-PR, no laboratório de patologia de sementes. Amostras de plantas de feijão foram coletadas na estação experimental de Londrina e em campo experimental orgânico na UENP em Bandeirantes. Foram separadas em folhas, caules e raízes e lavadas com sabão em água corrente. Após lavagem, foram retirados discos foliares (5 mm diâmetro) e fragmentos do caule e raiz (5 mm comprimento), desinfestados em álcool 70% e hipoclorito de sódio, lavadas em água destilada esterilizada e colocadas para secar em papel de filtro esterilizado. Foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA com antibiótico, e incubadas à temperatura ambiente. Após sete dias, foi determinada a taxa de colonização (TC) expressa em percentagem. As colônias fúngicas que se apresentaram distintas de acordo com observações de coloração e características de crescimento das colônias. Foram purificadas, preservadas e armazenadas, para identificação posterior. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por uma placa com seis discos de folha ou fragmentos de caule ou raiz. A quantidade de fungos endofíticos encontrados na raiz foi 13, no caule 17 e na folha 18, totalizando 48 isolados. As taxas de colonização variaram de 17 a 100% (folha), de 17 a 83% (caule) e de 16,9 a 100% (raízes). Em relação a especificação de fungos aos órgãos amostrados, o gênero *Alternaria* sp. e *Cladosporium* sp. apresentam especificidade maior com a folha e caule, e o gênero *Penicillium* com raiz e caule. Notou-se que os gêneros *Fusarium* e *Aspergillus* são gênero encontrados em todos os órgãos amostrados, os gêneros *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp. e *Thichoderma* sp. demonstraram especificidade em folha, o gênero *Macrophomina* sp. a raiz, e o gênero *Colletotrichum* sp. ao caule. Foram encontrados mais isolados em plantas em estágio de desenvolvimento reprodutivo em comparação aos estágios vegetativos.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*, agroecologia, controle biológico.

ABSTRACT

Endophytic fungi represent a rich source of new natural and bioactive products, due to their secondary metabolites, which are particularly active. The present study aimed to isolate endophilic fungi from leaves, stems and roots, in addition to identifying them for future work. The research was conducted at the Institute of Rural Development of Paraná, Londrina-PR, in the seed pathology laboratory. Bean plant samples were collected at Londrina experimental station and in organic experimental field at UENP in Bandeirantes. They were separated into leaves, stems and roots and washed with soap in running water. After washing, leaf discs (5 mm diameter) and fragments of the stem and root (5 mm length), disinfested in 70% alcohol and sodium hypochlorite, washed in sterile distilled water and placed to dry on sterile filter paper were removed. They were transferred to Petri dishes containing the BDA culture medium with antibiotic, and incubated at room temperature. After seven days, the colonization rate (TC) expressed as a percentage was determined. The fungal colonies that were distinct according to staining observations and growth characteristics of the colonies. They were purified, preserved and stored for later identification. The experiment was conducted in a completely randomized design (IHD) with five replications, and the experimental unit consisted of a plate with six leaf discs or fragments of stem or root. The amount of endophilic fungi found in the root was 13, in stem 17 and in leaf 18, totaling 48 isolates. Colonization rates ranged from 17 to 100% (leaf), 17 to 83% (stem) and 16.9 to 100% (roots). Regarding the specification of fungi to the organs sampled, the genus *Alternaria* and *Cladosporium* sp. present greater specificity with the leaf and stem, and the genus *Penicillium* sp. with root and stem. It was observed that the genera *Fusarium* sp. and *Aspergillus* sp. are a genus found in all organs sampled, the genera *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp. and *Thichoderma* sp. demonstrated leaf specificity, the genus *Macrophomina* sp. the root, and the genus *Colletotrichum* sp. to the stem. More isolates were found in plants in the stage of reproductive development compared to vegetative stages.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, agroecology, biological control.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*) é uma planta herbácea de ciclo anual, pertencente à família Fabaceae e originária do Continente Americano, onde era cultivada há milhares de anos pela cultura Inca. Atualmente é cultivada em todo o mundo, em aproximadamente 30 milhões de hectares (DEPEC, 2017).

Essa leguminosa apresenta uma grande importância econômica e nutricional, por ser uma excelente fonte de proteína. Além disso tem uma grande importância social, pois proporciona uma opção de renda e alimentação aos pequenos produtores rurais, que na maioria das vezes produzem as sementes para seu cultivo, que são conhecidas como sementes salva (CABRAL et al., 2011).

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão (SNA, 2017). De acordo com dados da Conab 2018/2019 a produção brasileira foi de 672,3 mil toneladas (CONAB, 2019). A cultura se destaca na agricultura paranaense, ocupando o quarto lugar em área plantada, contribuindo com aproximadamente 22% do total nacional (SALVADOR, 2012).

Características técnicas, agrônômicas e culturais tornam a cultura uma ótima opção para exploração agrícola de pequenas áreas, cerca de 70 % da produção é atribuída a agricultura familiar (BARBOSA; GONZAGA, 2012). Sendo assim, uma cultura de papel importante na economia paranaense, pois contribui na geração de emprego e renda no campo (SEAB, 2014).

A cultura apresenta ampla adaptação edafoclimática, o que permite ser cultivada durante o ano todo em diferentes épocas, via de regra, a semeadura concentra-se em três épocas: “águas” ou primeira época, “seca” ou segunda época e “outono-inverno” ou terceira época (POSSE et al., 2010). Condição que expõe a planta a vários fatores desfavoráveis, como doenças e pragas, que são um grande entrave na agricultura, podendo trazer danos significativos nas lavouras, o que justifica o emprego de medidas de controle (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

Entre as práticas de controle, podemos destacar o controle biológico, que nada mais é do que um fenômeno que acontece espontaneamente na natureza, baseia-se na regulação dos números de plantas e microrganismos por inimigos naturais (AGUIAR MENEZES, 2003). É uma estratégia que o homem vem usando há muito tempo, investigando inimigos naturais para o controle de patógenos e pragas.

Agricultores estão deixando de lado o controle químico e adotando essa prática, por conta de sua viabilidade econômica, alguns até por consciência, pois é um método ecológico e menos prejudicial ao meio ambiente (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

Dentre os métodos de biocontrole, podemos ressaltar o uso de fungos endofíticos como estratégia para o controle de doenças. Esses microrganismos são um grupo diversificado de ascomicetos devido seu comportamento assintomático nas plantas (JALGAONWALA et al., 2011). São caracterizados por habitarem no interior da planta de acordo com estado fisiológico do hospedeiro e as condições do ambiente. Foram estudados no início do século XIX, e no final dos anos 70 começaram a atrair a atenção, pois observou-se que possuíam propriedades interessantes, como exemplo proteção contra herbívoros, microrganismos fitopatogênicos, e até mesmo pragas.

No momento atual, é de conhecimento que endófitos podem produzir antibióticos, fármacos, toxinas, e muitos outros produtos biotecnológicos, além dos efeitos protetores a

patógenos. Os fungos endofíticos possuem grande importância na agricultura, podendo aumentar a resistência de plantas a déficit hídrico, a condições de estresse, alteração de propriedades fisiológicas e à produção de fitohormônios (AZEVEDO, 1998; VARAVALLO; SANTOS, 2011).

Esses microrganismos infectam a planta por meio de feridas e aberturas naturais. Alguns exemplos de meio de entrada são pelo rompimento que acontece nas raízes ao se desenvolverem, estômatos abertos e até mesmo injúrias causadas por outro patógeno ou inseto, alguns até são transmitidos via semente (AZEVEDO, 1998; VARAVALLO, SANTOS, 2011).

Possivelmente todas as plantas apresentam microrganismos endofíticos, um mesmo hospedeiro pode conter diversos deles. Encontram-se espécies bastante comuns em algumas plantas, sendo chamada de espécies dominantes, por outro lado, há espécies mais raras, que são as secundárias.

Os patógenos possuem muita variedade em questão de gênero ou espécie em uma mesma planta, e em diferentes órgãos, no entanto, podem ser encontrados em diferentes época e locais, de acordo com a variação fenológica (AZEVEDO, 1998).

Dentre os 6 fungos mais frequentemente isolados endofiticamente incluem: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cladosporium* Link, *Phomopsis* (Sacc.) Bubák., *Fusarium* Link:Fr. e *Xylaria* L. (ARAÚJO et al., 2001; MARIANO et al., 1997; PEREIRA et al., 1999; PHOTITA et al., 2001). Vários casos de controle de doenças com fungos endofíticos foram relatados, como já ditos, esses microrganismos protegem a planta contra ataques de patógenos.

Alguns trabalhos feitos mostram o efeito positivo no controle de algumas doenças no feijão. Em um experimento em testes realizado *in vitro*, mostraram que os fungos endofíticos *Trichoderma viride* e *Trichoderma tomentosum* inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* patógeno causador da antracnose, a principal doença fúngica do feijão (CHRISTMANN, 2019).

Em outro trabalho, também feito *in vitro*, selecionou-se quatro linhagens de patógenos com melhor atividade antagonística contra o agente do mofo branco, *Sclerotinia sclerotiorum*, onde, analisou o percentual de alongamento micelial, com e sem antagonismo, apresentando resultado de 46,7% a 50,0% de redução no crescimento micelial do fitopatógeno (ROCHA et al., 2009).

O isolamento de fungos que são habitantes endofíticos em plantas, sem serem patogênicos vem sendo estudado para possíveis aplicações no controle de patógenos da própria cultura. Eles colonizam um habitat ecológico praticamente inexplorado e seus metabólitos secundários são particularmente ativos, possivelmente devido às interações metabólicas com seus hospedeiros.

Neste contexto, o objetivo desse estudo foi realizar o isolamento de fungos endofíticos das áreas de folhas, caules e raízes, além de identifica-los para trabalhos futuros.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Patologia de Sementes do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná - IAPAR-EMATER, sob condições de laboratório no município de Londrina, Paraná.

Isolamento de patógenos em tecidos vegetais

Plantas de feijão foram coletadas na estação experimental de Londrina e em campo experimental orgânico na UENP (Universidade Estadual do Norte Pioneiro), em Bandeirantes.

Em laboratório as plantas coletadas foram separadas em folhas, caules e raízes, lavadas com sabão em água corrente e colocadas para secar em papel de filtro esterilizado.

Para o isolamento dos patógenos, discos de 5 mm diâmetro foram retirados do tecido foliar e fragmentos de 5 mm comprimento do caule e raiz. Os discos e fragmentos passaram por desinfestação em álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 1,5% (produto comercial com 2%) por 1 minuto, lavadas em água destilada esterilizada para retirar o excesso de produto.

Após a desinfestação, os discos e fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo o meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) com antibiótico sulfato de estreptomicina. As placas foram mantidas em B.O.D com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo 12/12 horas claro e escuro.

As colônias fúngicas que apresentavam características de coloração e crescimento em meio de cultura distintas foram observados em microscópio para diferenciação.

As avaliações ocorreram sete dias após a incubação, determinando a taxa de colonização (TC) no tecido foliar, caule e raiz (PETRINI et al., 1992), onde:

$$TC = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de segmentos com um ou mais isolados}}{\text{n}^\circ \text{ total de segmentos da amostra}} = (\%)$$

Posteriormente, as colônias identificadas foram repicadas em meio BDA e após crescimento foram conservadas em Castellani (CASTELLANI, 1939), armazenamento a $\pm 4^\circ\text{C}$.

Identificação a nível de gênero dos fungos endofíticos

Para identificação ao nível de gênero dos fungos endofíticos isolados, discos de colônias de cada fungo foram repicados em meio BDA, as placas incubadas em B.O.D a 25°C , por sete dias.

As avaliações de identificação foram realizadas pelas características de coloração, formato das colônias fúngicas e esporos.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por uma placa com seis discos de folha, caule e raiz.

Após a tabulação, os dados foram submetidos a análise de variância e média, a partir da taxa de colonização, com posterior aplicação do teste de comparação de médias Tukey ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

Taxa de colonização nos tecidos vegetais

Foram encontrados 48 fungos endofíticos provenientes dos tecidos foliar, caule e raiz. Observou-se uma taxa de colonização de fungos endofíticos de 50% em raiz, seguido do tecido foliar, com 47,03% e caule com 32,96% (Figura 1).

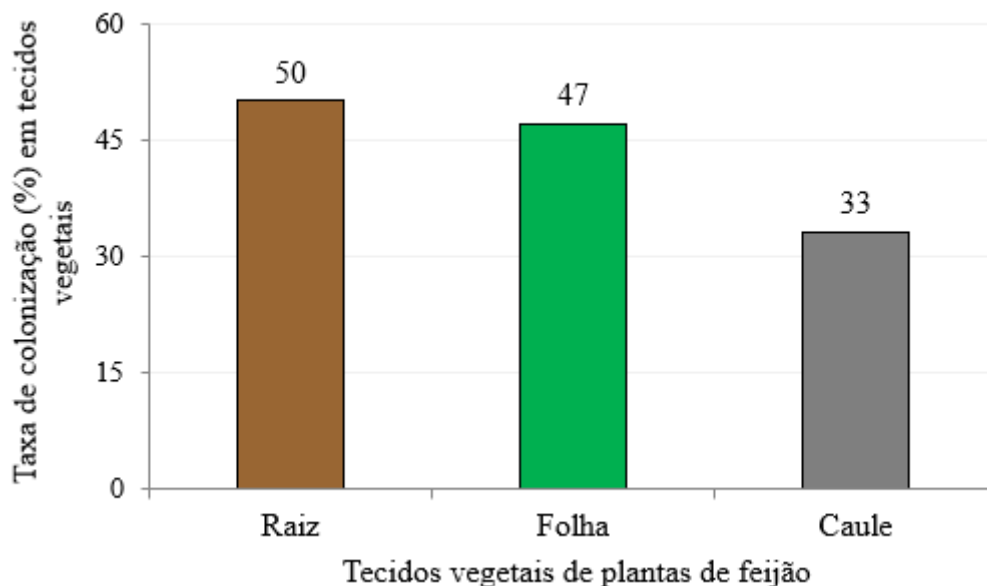


Figura 1- Crescimento de fungos endofíticos (taxa colonização) em tecido foliar, caule e raiz de plantas de feijão coletadas a campo. Letras minúsculas não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

Não houve diferença significativa na taxa de colonização entre os diferentes tecidos das plantas de feijão. As taxas de colonização variaram de 17 a 100% para folha, de 17 a 83% para caule e de 16,9 a 100% nas raízes.

Magalhães et. al (2008), em seus estudos encontrou diferença significativa na taxa de colonização de tecidos como semente, folha e caule, levando em consideração que se trata de planta perene, não cultivada.

Em contrapartida, estudos realizados com pinha e graviola apresentou diferença significativa entre taxa de colonização de fungos endofíticos em folhas, caule e raízes em uma amostra, diferente de graviola onde não se observou diferença entre os tecidos avaliados (SILVA et al., 2006).

Segundo Abreu (2005) e Gamboa et al. (2002), a taxa de colonização por fungos endofíticos é alta (+600). E o número de fungos endofíticos encontrados no feijão foi baixo (48), resultado também obtido por Magalhães et al. (2008).

Foram encontrados 48 fungos, sendo 46 deles identificados a nível de gênero: *Fusarium* sp. (20,83%), *Cladosporium* sp. (18,75%), *Alternaria* sp. (16,67%), *Aspergillus* sp. (14,58%), *Penicillium* sp. (10,42%), *Curvularia* sp. (4,17%), *Macrophomina* sp. (2,08%), *Nigrospora* sp. (2,08%) e *Thichoderma* sp. (2,08%) (Figura 2).

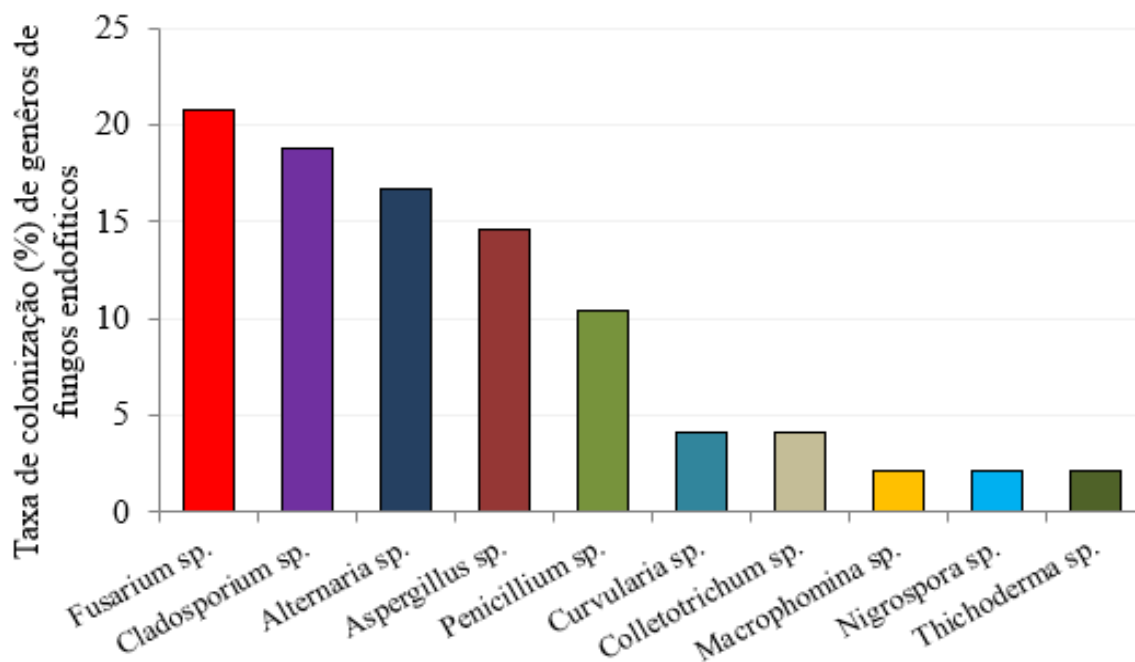


Figura 2- Incidência de gêneros de fungos endofíticos na colonização de tecidos vegetais de plantas de feijão coletados.

Em relação à especificidade de colonização por órgão amostrado, observou-se que os gêneros *Fusarium sp.* e *Aspergillus sp.* são generalista, pois foram encontrados em todos os tecidos amostrados (Figura 3).

Demonstraram especificação aos órgãos amostrados, o gênero *Alternaria sp.* e *Cladosporium sp.*, com a folha e caule, e o gênero *Penicillium sp.* com raiz e caule, os gêneros *Curvularia sp.*, *Nigrospora sp.* e *Thichoderma sp.* demonstraram especificidade em folha, o gênero *Macrophomina sp.* a raiz, e o gênero *Colletotrichum sp.* ao caule (Figura3).

Resultados semelhantes foram descritos por Magalhães et al. (2008) que obtiveram dois gêneros de fungos endofíticos generalistas e demais demonstraram uma certa especificidade por determinados órgãos vegetais.

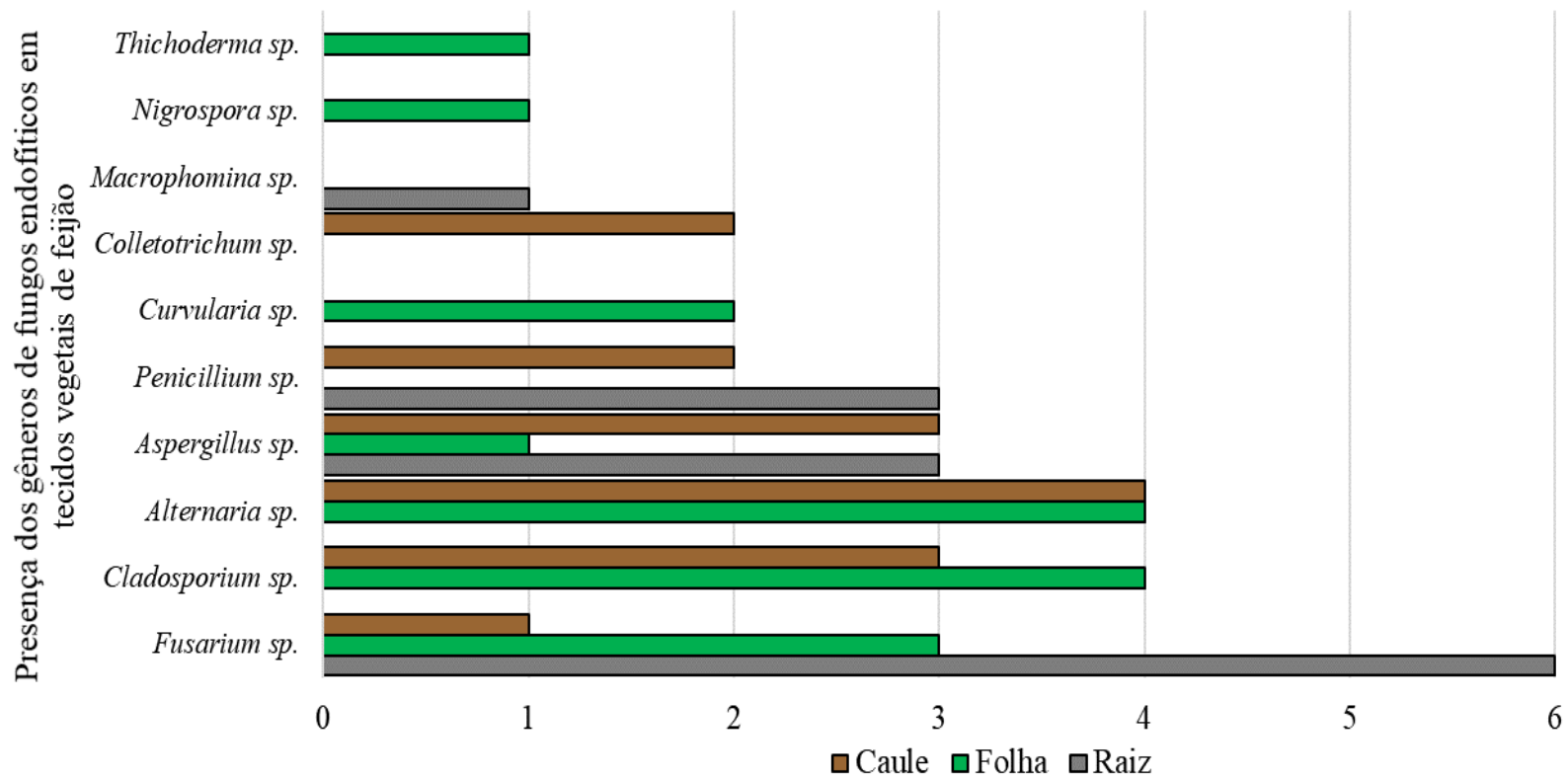


Figura 3- Presença e ausência dos gêneros de fungos endofíticos em diferentes tecidos vegetais de plantas de feijão.

4 CONCLUSÃO

Foram obtidos 48 isolados, sendo 13 fungos da parte da raiz, 17 do caule e 18 da folha, onde 46 deles foram identificados no nível de gênero.

Não existe diferença entre taxas de colonização em cada tecido analisado.

Os Gêneros *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp. foram considerados generalistas, pois foram encontrados em todas as partes vegetativas amostradas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. M. Diversidade de fungos endófitos associados à planta parasita *Phoradendron perrotteti* (DC.) EICHLER e sua hospedeira *Tapirira guianensis* AUBL. 2005. 86 p. **Dissertação (Mestrado)** Universidade Federal de Lavras, Lavras.

AGUIAR MENEZES, E. de L. Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas. Seropédica: **Embrapa Agrobiologia**, 2003. 44 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 164).

ARAÚJO, W.L.; SARIDAKIS H.O.; BARROSO, P.A.V.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; AZEVEDO J.L. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, 47, p. 229-236, 2001.

AZEVEDO, João Lúcio de. Biodiversidade microbiana e potencial biotecnológico. In: **Ecologia microbial**[S.l: s.n.], 1998.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O., **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro comum na Região Central- Brasileira: 2012-2014**, 2012, p.247.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-gropecuarioeextrativista/analisesdo-mercado/historico-mensal-de-feijao>. Acesso em : 04 de dezembro de 2019.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine & Hygiene, Baltimore**, v.24, p.270-276, 1939.

CHRISTMANN, P. E. T. P. **Produtos alternativos aplicados na cultura do feijão para controle da antracnose**. 2019.

DEFANTE, L. R.; NASCIMENTO, L. D. O.; LIMA-FILHO, D. O. **Comportamento de consumo de alimentos de famílias de baixa renda de pequenas cidades brasileiras: o caso de Mato Grosso do Sul**, v. 16, n. 2, p. 2015.

GAMBOA, M. A.; LAUREANO, S.; BAYMAN, P. Measuring diversity of endophytic fungi in leaf fragments: does size matter? **Mycopathologia**, v. 156, p. 41-45, 2002.

GONZAGA, A. C. O. **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**, 2 ed. rev. e ampl., 2014. 247 p.

JALGAONWALA, R. B.; MOHITE, B. V.; MAHAJAN, R. T. J. A review: Natural products from plant associated endophytic fungi. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 1, n. 2, p. 21-32, 2011.

MAGALHÃES, W.C.S.; MISSAGIA, R.V.; COSTA, F.A.F.; COSTA, C.M. Diversidade de fungos endofíticos em candeia. **Cerne**, v.14, n.3, p.267-273,2008.

MARIANO, R.L.R.; LIRA, R.V.I.; SILVEIRA, E.B.; MENEZES, M. Levantamento de fungos endofíticos e epifíticos em folhas de coqueiro no Nordeste do Brasil. I. Frequência da população fúngica e efeito da hospedeira. **Agrotópica**, 9, 3, p. 127-134, 1997.

PEREIRA, J.O.; CARNEIRO-VIEIRA, M.L.; AZEVEDO, J.L. Endophytic fungi from *Musa acuminata* and their reintroduction into axenic plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 15, p. 37-40, 1999.]

PETRINI, O.; STONE, J.; CARROLL, F. E. Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. **Canadian Journal of Botany**, 60, p.789-796, 1992.

PHOTITA, W.; LUMYONG, S.; LUMYONG, P.; HYDE, K.D. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. **Mycological Research**, 9 105, 12, p. 1508-1513, 2001.

POSSE S. C. P., SOUZA E. M. R., SILVA G. M., FASALO L. M., SILVA M. B., ROCHA M. A. M. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2009 – 2011. 2010.

ROCHA, R.; LUZ, D. E.; ENGELS, C.; PILEGGI, S. A. V.; JACCOUD FILHO, D. S.; MATIELLO, R. R.; PILEGGI, M. Selection of endophytic fungi from comfrey (*Symphytum officinale* L.) for in vitro biological control of the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.). **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 73- 78, 2009.

SALVADOR, C.A. Análise da conjuntura agropecuária safra 2011/12. Feijão. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/feijao_2011_12.pdf. 2012. Acesso: 01 de dezembro 2019.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. 2014. Feijão: Análise da Conjuntura Agropecuária. Disponível em:< <http://www.agricultura.pr.gov.br/>>. Acesso em: 17 maio 2016.

SILVA, R.L. de O; LUZ, J.S.; SILVEIRA, E.B.; CAVALCANTE, U.M.T. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). **Acta Botânica Brasilica**. V. 20, N. 3, p. 649-655. Brasília. 2006.

SNA. Sociedade Nacional de Agricultura. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/producaoconsumo-nacional-de-feijao-continuam-os-mesmos-ha-mais-de-10-anos/>. Acesso em: 05 de dezembro de 2019.