

Uso de microrganismos eficientes no controle *in vitro* da *Puccinia cymbopogonis*

Use of efficient microorganisms in the *in vitro* control of *Puccinia cymbopogonis*

Uso de microorganismos eficientes en el control *in vitro* de *Puccinia cymbopogonis*

Received: 31/07/2025 | Revised: 05/08/2025 | Accepted: 05/08/2025 | Published: 07/08/2025

Francisco Fernandes Guião

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1746-3303>

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil

E-mail: chicoguiao@gmail.com

Danielle Piuzana Mucida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5756-8081>

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil

E-mail: danielle.piuzana@ufvjm.edu.br

Newton Moreno Sanches

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0746-1849>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: newton.nm@ufv.br

Resumo

A *Puccinia cymbopogonis* é um patógeno endófito do capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) causando a ferrugem, uma doença que causa o aparecimento de pústulas na superfície foliar, diminuindo o valor comercial das folhas. Métodos tradicionais de controle como o uso de agrotóxicos não são recomendados em alguns tipos de produção, na produção de chá para o consumo humano, então alternativas são importantes. O controle biológico aparece como uma alternativa viável, e a utilização de microrganismos eficientes aparece como uma forma factível para encontrar possíveis antagonistas. Este trabalho buscou isolar e analisar morfologicamente dezesseis microrganismos com atividade antagônica contra a *P. cymbopogonis*, obtidos partir de áreas de mata ciliar da região de Florestal, Minas Gerais. Testes de antagonismo *in vitro* usando a escala de Badalyan de avaliação do index de antagonismo (IA) foram utilizados para a seleção de microrganismos. Foram obtidos cinco fungos com atividade antagonista nos testes *in vitro*, identificados por análise das características morfológicas como sendo dos gêneros *Cladosporium* spp. e *Aspergillus* spp. Três isolados do gênero *Cladosporium* apresentaram o IA de 100%, e foram selecionados como promissores candidatos para testes *in vivo* posteriores.

Palavras-chave: Capim cidreira; Controle biológico; Ferrugem do capim-cidreira; Micologia.

Abstract

Puccinia cymbopogonis is an endophytic pathogen of lemongrass (*Cymbopogon citratus*), causing rust, a disease that leads to the development of pustules on the leaf surface, thereby reducing the commercial value of the leaves. Traditional control methods, such as the use of chemical pesticides, are not recommended for certain types of production, especially for tea intended for human consumption, making alternative strategies essential. Biological control emerges as a viable alternative, and the use of efficient microorganisms represents a feasible approach for identifying potential antagonists. This study aimed to isolate and morphologically analyze sixteen microorganisms with antagonistic activity against *P. cymbopogonis*, obtained from riparian forest areas in the Florestal region of Minas Gerais, Brazil. In vitro antagonism assays were performed using the Badalyan scale for assessing the antagonism index (AI) to select effective microorganisms. Five fungi exhibiting antagonistic activity in vitro were obtained and identified by morphological analysis as belonging to the genera *Cladosporium* spp. and *Aspergillus* spp. Three *Cladosporium* isolates exhibited an AI of 100% and were selected as promising candidates for subsequent *in vivo* testing.

Keywords: Biological control; Lemongrass; Lemongrass rust; Mycology.

Resumen

Puccinia cymbopogonis *Puccinia cymbopogonis* es un patógeno endófito del pasto limón (*Cymbopogon citratus*), responsable de la roya, una enfermedad que provoca la aparición de pústulas en la superficie foliar, disminuyendo así el valor comercial de las hojas. Los métodos tradicionales de control, como el uso de agroquímicos, no se recomiendan en ciertos tipos de producción, especialmente en la elaboración de té para consumo humano, por lo que se requieren alternativas viables. El control biológico se presenta como una opción eficaz, y el uso de microorganismos eficientes constituye una estrategia factible para la identificación de posibles antagonistas. Este trabajo tuvo como objetivo aislar y analizar morfológicamente diecisés microorganismos con actividad antagónica contra *P. cymbopogonis*, obtenidos de áreas de bosque ribereño en la región de Florestal, Minas Gerais, Brasil. Se realizaron ensayos de antagonismo *in vitro* utilizando la escala de Badalyan para evaluar el índice de antagonismo (IA), con el fin de seleccionar

microorganismos efectivos. Se obtuvieron cinco hongos con actividad antagónica in vitro, identificados mediante análisis morfológico como pertenecientes a los géneros *Cladosporium* spp. y *Aspergillus* spp. Tres aislamientos del género *Cladosporium* presentaron un IA del 100% y fueron seleccionados como candidatos prometedores para pruebas in vivo posteriores.

Palabras clave: Control biológico; Micología; Pasto de limón; Roya del pasto de limón.

1. Introdução

O capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) é uma planta da família Poaceae, nativa do sudoeste asiático e está distribuída nas regiões tropicais e subtropicais. É uma erva perene que possui ampla aplicação na medicina popular em várias partes do mundo. Seu chá, preparado a partir das folhas, é utilizado para diversas indicações, incluindo problemas respiratórios, gástricos e do sistema nervoso. Além disso, seu óleo essencial é empregado em indústrias de alimentos, perfumaria e cosméticos (Aćimović et al., 2019).

O óleo essencial obtido a partir do capim-cidreira é utilizado em produtos como bebidas alcoólicas e não alcoólicas, perfumes, doces, gelatinas, óleos saborizados, xampus, batons e outros produtos (Yadav et al. 2024). Essa diversidade de usos tem um impacto significativo na economia (Sharma et al., 2021). No Brasil, sendo produzida principalmente no estado do Paraná, em 2003 chegando a 40 hectares, gerando 7,5 toneladas de massa foliar (Negrelle, Gomes, 2007).

No entanto, a produção e o cultivo do capim-cidreira não estão isentos de desafios. A planta é suscetível a várias pragas, como pulgões e brocas, que podem afetar negativamente a sua qualidade e produção. Uma das ameaças mais severas que o capim-cidreira enfrenta são as doenças causadas por agentes microbianos, tendo as ferrugens como destaque. No Brasil, uma das moléstias mais comuns é aquela causada pelo fungo *Puccinia* (Paulert et al., 2025).

A *Puccinia cymbopogonis* gera uma infecção interna, passa grande parte do seu ciclo de vida dentro da planta hospedeira, o capim-cidreira, onde se alimenta dos nutrientes. Para combater o fungo, os agricultores costumam recorrer ao uso de fungicidas convencionais. No entanto, esses fungicidas tradicionais são frequentemente associados a um alto nível de toxicidade (Rodrigues et al., 2024) e, portanto, podem não ser adequados em todas as aplicações, como quando se deseja utilizar as folhas do capim-cidreira para a produção de chás medicinais (Bojarski & Witeska, 2020). Portanto, a alternativa promissora de se fazer um controle biológico da infecção por *Puccinia cymbopogonis* é das mais desejáveis para o manejo.

Dentre as várias estratégias de controle biológico, a utilização de microrganismos eficientes (ME) emerge como uma opção viável no combate a esse agente fitopatogênico (Avila et al., 2021). Uma das vantagens mais promissoras dos ME é a sua eficácia no controle de pragas, especialmente aquelas causadas por fungos que provocam ferrugens (Kiani et al., 2021).

Estudos recentes demonstram que fungos hiperparasitários podem ser aliados importantes nesse tipo de controle. Si et al. (2023) relataram que *Simplicillium lanosoniveum* apresentou efeito antagônico sobre uredósporos de *Puccinia graminis*. Da mesma forma, Mishra et al. (2021) demonstraram que cepas de *Trichoderma harzianum* foram capazes de parasitar uredinísporos de *Puccinia graminis*, interferindo diretamente na germinação dos esporos. Ainda, Singh et al. (2019) evidenciaram que *Alternaria alternata* apresenta potencial como agente de biocontrole contra ferrugens, atuando de maneira eficaz em diferentes estágios do ciclo do patógeno.

Investigar o potencial dos microrganismos eficientes como uma estratégia de controle da *Puccinia cymbopogonis* é fundamental para contribuir para a sustentabilidade da produção de capim-cidreira e garantir a continuidade dos benefícios que essa planta oferece à indústria e à saúde humana.

Neste contexto, o objetivo geral deste estudo foi isolar microrganismos a partir de mata ciliar na região de Florestal (MG) com atividade antagônica contra *Puccinia cymbopogonis*. Os objetivos específicos, (i) isolar o fungo causador da ferrugem do capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*); (ii) isolar e caracterizar morfológicamente microrganismos eficientes em mata ciliar na região de Florestal e (iii) analisar por testes in vitro a atividade antagônica dos microrganismos eficientes isolados contra o

Puccinia cymbopogonis.

2. Metodologia

Realizou-se uma pesquisa experimental, laboratorial, de natureza qualitativa (na identificação de imagens micrográficas) e quantitativa no uso de fórmulas (como no cálculo do index de antagonismo) e quantidades (Pereira et al., 2018) com emprego de estatística descritiva simples com uso de classes de dados e valores de mediana (Shitsuka et al., 2014) e de análise estatística (Vieira, 2021).

2.1 Isolamento e identificação de *Puccinia cymbopogonis*

Puccinia cymbopogonis foi isolado a partir de espécimes de capim cidreira (*Cymbopogon citratus*) em plantação comercial localizada no distrito de São Gonçalo do Rio das Pedras (Figura 1a), município do Serro, MG, na Ervanaria Marcos Guião (Figura 1b). O procedimento ocorreu durante a estação seca, no mês de julho de 2022. Foram retirados fragmentos foliares de plantas doentes de *Cymbopogon citratus* de acordo com o Procedimento Operacional Padrão (POP) 014.2.4.06.3.012 (Carollo et al. 2016). Os fragmentos foram transportados para a UFV-CAF e armazenado em geladeira.

Em ambiente higienizado, brevemente, fragmentos das folhas afetadas foram imersos em álcool 70% por dois minutos, seguido de imersão em hipoclorito de sódio por mais dois minutos e, por último, lavados em água destilada estéril por mais cinco minutos. Após esse processo de desinfecção os fragmentos foram depositados em placas de Petri com Ágar-BDA e incubados em temperatura ambiente por sete dias ou até o desenvolvimento das colônias. Com o aparecimento das colônias, placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura foram inoculadas com uma amostra dos microrganismos que se desenvolveram na etapa anterior, e incubados por sete dias em temperatura ambiente.

Figura 1 - A) Localização da Ervanaria Marcos Guião no contexto do distrito de São Gonçalo do Rio das Pedras, município do Serro, Minas Gerais (Fonte da imagem: Google Earth). B) Visão da Ervanaria Marcos Guião.



Fonte: Google Earth (2023) e Marcos Guião (2023).

Os microrganismos isolados foram analisados pela técnica de microcultivo (Carollo et al. 2016). Brevemente, um pequeno bloco de ágar-BDA de 1cm³ é colocado sobre uma lâmina de microscopia estéril. As laterais do bloco foram inoculadas com micélio coletado do fungo isolado e sobre o bloco são colocados delicadamente uma lamínula de microscópio estéril. O conjunto todo foi colocado no interior de uma placa de Petri, munida de um chumaço de algodão molhado com água destilada estéril. A placa foi tampada e incubada em temperatura ambiente por 8 dias.

Após a incubação, a lamínula é retirada e colocada sobre uma gota de azul de algodão previamente depositada em uma lâmina de microscopia. O material foi observado em microscópio ótico no aumento de 400x. Na observação, as estruturas reprodutivas específicas da *Puccinia cymbopogonis*, os uredósporos e teliosporos foram observadas em uma das amostras, os

fungos que não apresentaram essas características foram descartados. Após a identificação o fungo foi replicado em placas de ágar BDA, incubado em temperatura ambiente por sete dias. O acondicionamento dos fungos foi realizado repicando o micélio do fungo para tubos contendo meio ágar BDA inclinado. Após o desenvolvimento do micélio foi adicionado óleo mineral esterilizado até a cobertura completa do micélio. Os tubos foram acondicionados em geladeira.

Para o isolamento dos ME, armadilhas foram preparadas constituindo de um entrenó de bambu cortado em duas partes, formando dois hemisférios, um sendo preenchido de arroz branco cozido até a formação de uma papa. As duas metades dos gomos foram fixadas com auxílio de barbante e foi depositado no solo de mata ciliar dá a jusante da barragem de Florestal, coordenadas 19°51'30"S 44°24'11"W, entre os dias 05 e 20/04/2023, com uma temperatura média de 26°C. Após esse período, as armadilhas foram abertas, e colônias de microrganismos com características morfológicas distintas foram coletadas, transferidas para placa de Petri ágar BDA. As placas foram incubadas em temperatura ambiente até o desenvolvimento das colônias. Após esse período, foram replicadas para tubos de ensaio com ágar BDA, novamente incubadas em temperatura ambiente até o desenvolvimento do micélio, cobertas com óleo mineral e acondicionadas em geladeira.

2.2 Testes de antagonismo *in vitro*

Placas de Petri contendo Agar-BDA foram inoculadas com um tampão estéril de 0,5 cm contendo cultura de três dias dos EM capturados, e com um tampão estéril de *Puccinia cymbopogonis* de cinco dias. A distância do patógeno para os antagonistas foi de 4 cm. Cada combinação de patógeno X antagonista foi repetido 10 vezes. As placas foram incubadas por sete dias a 25°C. Todos os dias o crescimento radial foi medido e documentado. O Index de antagonismo (IA), segundo Campanile et al. (2007), foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$IA = \left(\frac{RM - rm}{RM} \right) \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

em que RM é o raio médio da colônia de patógeno que cresceu nas direções contrárias ao antagonista, rm é o raio da colônia que cresceu em direção ao antagonista.

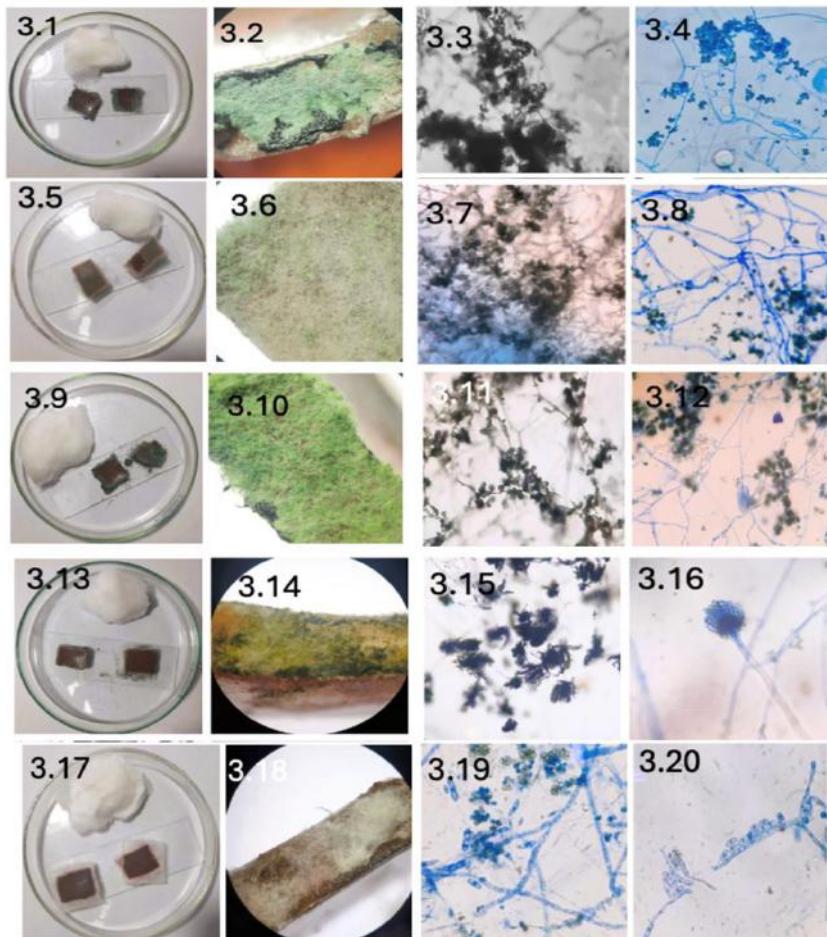
Durante esse processo também foi observado o tipo de antagonismo observado, utilizando a escala de Badalyan (Badalyan et al. 2002) e usamos os três tipos de antagonismo: A, B e C e os quatro subtipos: CA1, CA2, CB1 e CB2, que significam: A = estagnação com contato micelial; B = estagnação a uma distância; C = substituição, crescimento excessivo sem estagnação inicial; CA1 e CA2 = substituição parcial e completa após estagnação inicial com contato micelial e CB1 e CB2 = substituição parcial e completa após estagnação inicial a uma distância. A análise estatística foi feita através com os testes de análise unidirecional de variância nas classificações de Kruskal-Wallis e procedimentos de comparação múltipla pareada (teste de Tukey). A partir do teste de Kruskal-Wallis foi possível verificar que diferenças nos valores medianos entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado pelo acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0,001$), e para isolar quais grupos se diferenciam mais um dos outros, o teste de Tukey é realizado.

3. Resultados

3.1 Identificação

Dezesseis (16) fungos foram isolados a partir da captura na mata ciliar da jusante da barragem de Florestal, MG. Após uma análise morfológica das colônias, padrão de hifas e conidióforos, os isolados fitopatogênicos foram descartados. Ao final do processo, foram selecionados cinco fungos, nomeados como isolados CAFFG de 1 a 5. A análise dos isolados por microcultivo considerou o padrão das estruturas microscópicas: tipo de hifa, morfologia dos esporos e dos conidióforos. Os isolados foram identificados até o nível de gênero e a identificação (Figura 2 e Tabela 1).

Figura 2 - 3. 1 a 3.4 de isolado CAFFG-1: *Cladosporium sp1* 3.5 a 3.8 Isolado CAFFG-2: *Cladosporium sp2*. 3.9 a 3.12 Isolado CAFFG-3: *Cladosporium sp3* 3.13 a 3.16 Isolado CAFFG-4: *Aspergillus spp* 3.17 a 3.20 Isolado CAFFG-5: *Cladosporium sp4*. 3.1, 3.5, 3.9, 3.12 e 3.17 câmeras úmidas de microcultivo; 3.2; 3.6, 3.10, 3.14 e 3.18 microcultivo (aumento de 4X); 3.3; 3.7; 3.11; 3.15 e 3.19 conidióforos (aumento de 400X) e 3.4; 3.8; 3.12; 3.16 e 3.20 - conídios e conidióforos (aumento de 400X). Todas as fotografias foram obtidas por câmera de celular em microscópio Olympus CX41.



Fonte: Francisco F. Guião (2023).

Tabela 1 - Identificação dos isolados por análise morfológica das hifas, esporos e conidióforos.

Isolado	Gênero	Index de Antagonismo	Figuras
CAFFG-1	<i>Cladosporium sp1</i>	100%	3.1 a 3.4
CAFFG-2	<i>Cladosporium sp2</i>	100%	3.5 a 3.8
CAFFG-3	<i>Cladosporium sp3</i>	100%	3.9 a 3.12
CAFFG-4	<i>Aspergillus spp</i>	43,94%	3.13 a 3.16
CAFFG-5	<i>Cladosporium sp4</i>	43,50%	3.17 a 3.20

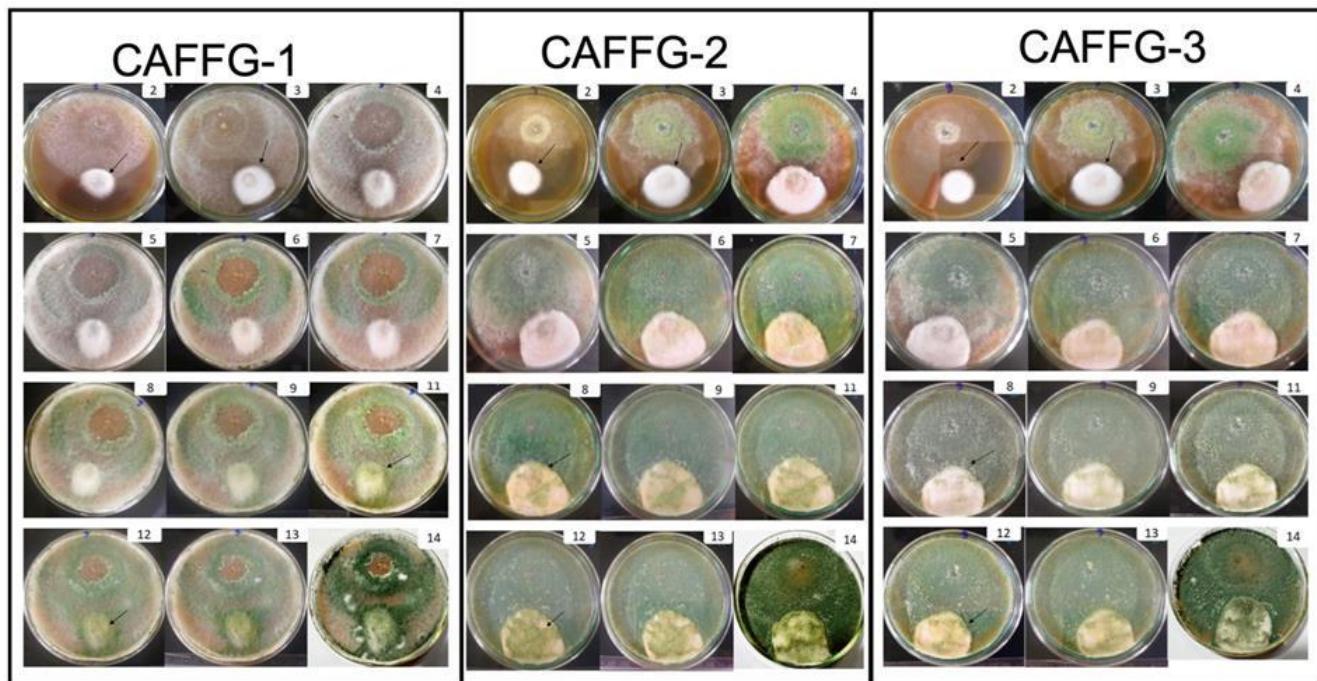
Fonte: Dados da pesquisa (2023).

3.2 Testes de Antagonismo *In Vitro*

Os isolados CAFFG-1, CAFFG-2 e CAFFG-3 (Figura 3) apresentaram um index de antagonismo de 100% ao final de 14 dias de incubação (Figura 5). Foi observado antagonismo do tipo CA2, que indica substituição completa após estagnação inicial, quando o fungo antagonista primeiro impede o crescimento do antagonizado, e depois começa a matar e crescer onde

havia o outro fungo. Todos os isolados que apresentaram este padrão de antagonismo fazem parte do gênero *Cladosporium*.

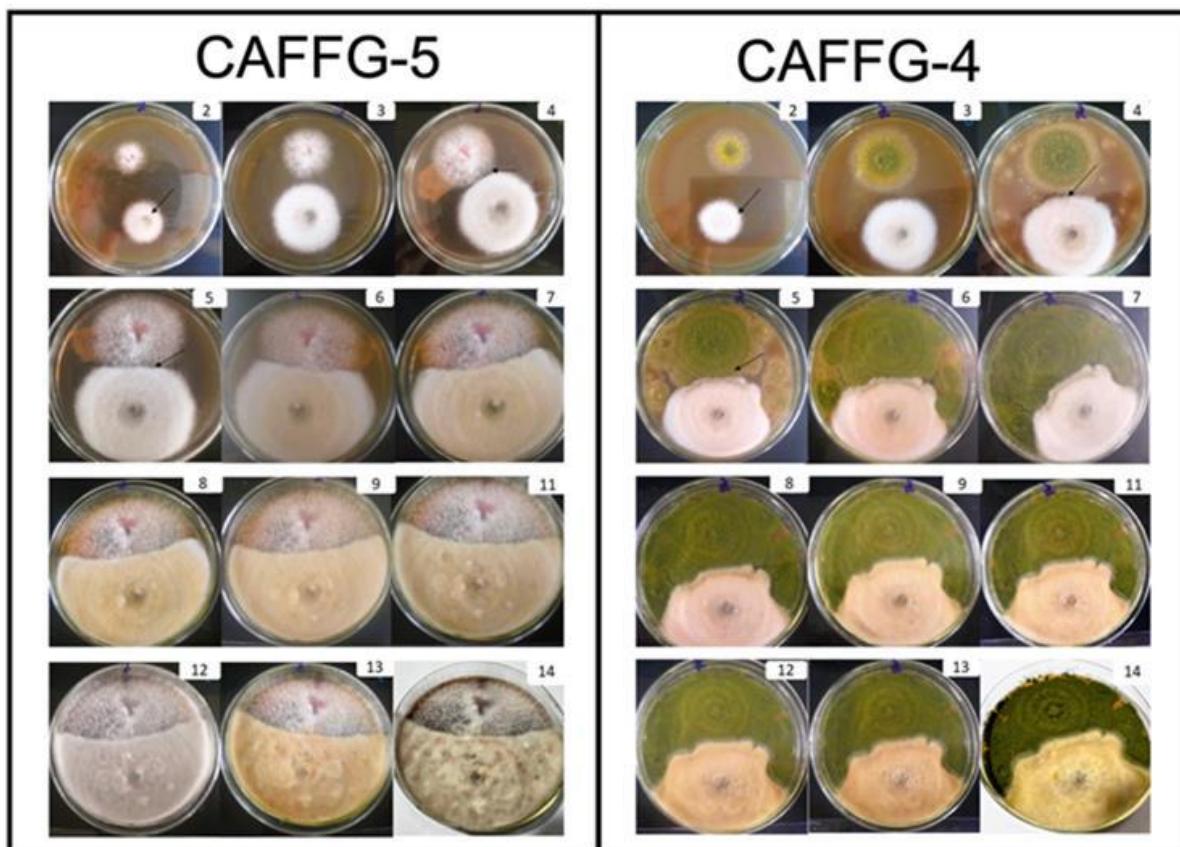
Figura 3 - Isolados CAFFG-1, CAFFG-2 em fotos do dia 2 a 14 do teste de antagonismo. Em CAFFG-1, no dia 2(seta) *Puccinia*; dia 3-(seta) princípio de estagnação com contato micelial; dia 11-(seta) princípio de substituição e dia 12-(seta) substituição completa da *Puccina* pelo *Cladosporium*. Em CAFFG-2 no dia 2-(seta) *Puccinia* 3-(seta) princípio de estagnação com contato micelial; dia 8-(seta) princípio de substituição; dia 12-(seta) substituição completa da *Puccina* pelo *Cladosporium*. Em CAFFG-3, dia 3-(seta) princípio de estagnação com contato micelial, dia 8-(seta) princípio de substituição e dia 12-(seta) substituição completa da *Puccina* pelo *Cladosporium*.



Fonte: Francisco F. Guião (2023).

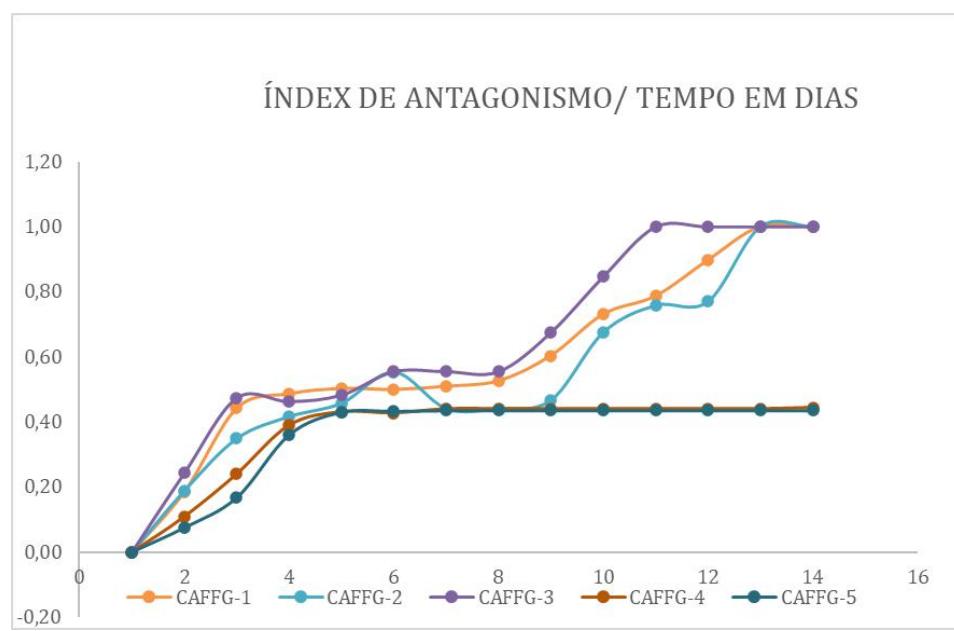
O isolado CAFFG-4 (Figura 4) apresentou um index final de 43,94% após os 14 dias (Figura 5), do tipo A= estagnação com contato micelial. Sendo o único de um gênero diferente, *Aspergillus*, apresentou uma taxa de crescimento lenta em relação aos outros isolados. Os isolados CAFFG-5 (Figura 4) também é um *Cladosporium*, mas apresentou diferenças, tendo apenas 43,50% de index de antagonismo, e tendo um tipo diferente de antagonismo dos outros, sendo do tipo A.

Figura 4 - Isolados CAFFG-5 e CAFFG-4 com fotos do dia 2 a 14 do teste de antagonismo. Em CAFFG5, dia 2-(seta) *Puccinia*, dia 4-(seta) princípio de estagnação com contato micelial e dia 5-(seta) estagnação com contato micelial. 2-(seta) *Puccinia* 3-(seta) princípio de estagnação com contato micelial 8-(seta) princípio de substituição 12-(seta) substituição completa da *Puccina* pelo *Cladosporium*.



Fonte: Francisco F. Guião (2023).

Figura 5 - Gráfico da variação Index de antagonismo pelo tempo.



Fonte: Dados da pesquisa (2023).

3.3 Análise estatística

Os dados obtidos (Tabelas 2 e 3) evidenciam que o isolado CAFFG-4 apresenta divergência significativa em relação aos demais, conforme esperado devido à sua classificação em um gênero fúngico distinto. Em sequência, destaca-se o CAFFG-5, que, embora pertencente ao mesmo gênero da maioria dos isolados, exibe padrões atípicos de crescimento colonial e atividade antagônica, indicando menor potencial para testes subsequentes. Quanto aos três isolados restantes, observa-se homogeneidade fenotípica e funcional, com similaridade estatística comprovada em parâmetros como morfologia colonial, taxa de crescimento e mecanismos de antagonismo, conforme demonstrado pelos resultados do ensaio.

Tabela 2 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis.

Grupo	N	Mediana	25%	75%
CAFFG-1	14	0,520	0,459	0,775
CAFFG-2	14	0,522	0,395	0,884
CAFFG-3	14	0,537	0,460	1,000
CAFFG-4	14	0,436	0,201	0,436
CAFFG-5	14	0,427	0,172	0,427

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Tabela 3 - Teste de Tukey.

Comparação	Diferença entre postos	q	P	P<0,050
CAFFG-3 vs CAFFG-5	391,500	5,141	0,003	Sim
CAFFG-3 vs CAFFG-4	339,500	4,458	0,014	Sim
CAFFG-3 vs CAFFG-2	77,000	1,011	0,953	Não
CAFFG-3 vs CAFFG-1	49,500	0,650	0,991	Não
CAFFG-1 vs CAFFG-5	342,000	4,491	0,013	Sim
CAFFG-1 vs CAFFG-4	290,000	3,808	0,055	Não
CAFFG-1 vs CAFFG-2	27,500	0,361	0,999	Não
CAFFG-2 vs CAFFG-5	314,500	4,130	0,029	Sim
CAFFG-2 vs CAFFG-4	262,500	3,447	0,105	Não
CAFFG-4 vs CAFFG-5	52,000	0,683	0,989	Não

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

4 Discussão

Todos os resultados obtidos neste trabalho reforçam o expressivo potencial do gênero *Cladosporium* como agente antagônico contra *Puccinia cymbopogonis*, corroborando uma tendência já evidenciada na literatura científica recente. Três dos isolados testados (CAFFG-1, CAFFG-2 e CAFFG-3) demonstraram 100% de antagonismo, classificados como tipo CA2 — ou seja, substituição completa após estagnação inicial com contato micelial. Tal padrão de antagonismo sugere uma interação direta e eficaz com o patógeno, característica valorizada no contexto do controle biológico. Essa capacidade já havia sido reportada por Torres et al. (2017) estudos sobre a ferrugem branca do crisântemo (*Puccinia horiana*), nos quais *Cladosporium* foi capaz de atacar estruturas reprodutoras do patógeno.

Estudos mais recentes, como o de Zhang et al. (2022), investigando o controle de *Puccinia striiformis* por *Cladosporium cladosporioides*, observaram efeitos similares, com redução na produção e na germinação de uredósporos e interferência no ciclo

da ferrugem. Tais achados são reforçados por observações de isolados naturalmente colonizando estruturas esporogênicas dos uredíosporos de *Puccinia* em tecidos infectados, evidenciando uma associação funcional recorrente entre *Cladosporium* e patógenos do gênero *Puccinia* em hospedeiros diversos.

A eficácia variável entre isolados do mesmo gênero, observada neste trabalho (como no caso do isolado CAFFG-5 com apenas 43,5% de antagonismo e interação tipo A), é outro ponto relevante. Embora o isolado CAFFG-3 tenha se destacado pela rapidez — alcançando 100% de antagonismo no 11.º dia —, e os CAFFG-1 e CAFFG-2 tenham atingido eficácia completa nos dias 12 e 13, respectivamente, o desempenho divergente entre linhagens era esperado. Essa variabilidade já foi discutida por Islam (2022), que destacou a ampla diversidade genética e funcional dentro do gênero *Cladosporium*, apontando que a eficiência como agente de biocontrole está fortemente associada a características específicas de cada linhagem.

Além disso, trabalhos de Zheng et al. (2025) reforçam a necessidade de caracterização molecular e fenotípica rigorosa para seleção de cepas promissoras dentro do complexo *Cladosporium cladosporioides*, dada sua diversidade crítica e implicações para eficácia biológica.

Adicionalmente, o isolado CAFFG-4, identificado como pertencente ao gênero *Aspergillus*, também apresentou antagonismo moderado (43,94%), porém esse resultado deve ser interpretado com cautela. Apesar do potencial antagonista em condições laboratoriais, diversas espécies de *Aspergillus* são reconhecidamente produtoras de micotoxinas e apresentam potencial patogênico tanto para plantas quanto para seres humanos. Zakaria (2024) ressalta o impacto negativo de *Aspergillus* em cultivos agrícolas, especialmente pela contaminação de grãos com aflatoxinas e outras toxinas que comprometem a qualidade alimentar e a segurança dos produtos. No campo da saúde humana, Ullmann et al. (2018) enfatizam os riscos associados à exposição a esporos de *Aspergillus*, particularmente em ambientes laboratoriais, onde podem representar uma ameaça à saúde de indivíduos imunocomprometidos. Dado esse contexto, a continuidade de testes com o isolado CAFFG-4 não é recomendada, considerando o risco à biossegurança de pesquisadores e colaboradores.

Em síntese, este estudo contribui para o corpo crescente de evidências que apontam o gênero *Cladosporium* como promissor no controle biológico de ferrugens. Contudo, como apontado por Banasiak et al. (2019), a variabilidade intraespecífica e os diferentes modos de antagonismo observados demandam protocolos padronizados de seleção e avaliação de eficácia, assim como testes em condições de campo. O aprofundamento em análises moleculares, metabolômicas e de expressão gênica também pode ajudar a elucidar os mecanismos subjacentes à ação antagônica, conforme sugerido por Vázquez-Blanco et al. (2020).

5. Conclusão

O controle biológico se faz uma importante ferramenta para o controle de pragas, diminuição no uso de pesticidas e na garantia da qualidade dos produtos. Após o teste *in vitro*, chegou-se as seguintes conclusões: Os isolados CAFFG-1,2 e 3 apresentam um índice de antagonismo de 100%, sendo assim os melhores candidatos para a realização de testes *in vivo*, se fazendo necessário futuros estudos da atividade antagônica *in planta*. O Isolado CAFF-5 apresentou um index de antagonismo de 43,50%, mesmo assim ainda é um candidato interessante para futuros estudos de controle biológico *in vitro* com extratos fúngicos retirados dos mesmos. O isolado CAFFG-4 não é um bom candidato para os testes *in planta*, pois já é um patógeno conhecido

Agradecimentos

Os autores agradecem a todos que contribuíram para a realização desse trabalho, em especial a Universidade Federal de Viçosa-Campus Florestal por prover os meios materiais necessários para a conclusão dessa pesquisa.

Referências

- Aćimović, M. et al. (2019). The chemical composition of the essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. from Vojvodina Province (Serbia). *Biologia Nyssana*, 10(1), 23–28. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3463994>
- Avila, G. M. A., et al. (2021). Use of efficient microorganisms in agriculture. *Research, Society and Development*, 10(8), e40610817515. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17515>
- Badalyan, S. M., Garibyan, N. G., & Innocenti, G. (2002). Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. *Phytopathologia Mediterranea*, 41(3), 220–225. http://dx.doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1668
- Banasiak, Ł., et al. (2019). *Aureoboletus projectellus* (Fungi, Boletales) – An American bolete rapidly spreading in Europe as a new model species for studying expansion of macrofungi. *Fungal Ecology*, 39, 94–99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funeco.2018.12.004>
- Bojarski, B., & Witeska, M. (2020). Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 19236–19250. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-020-08248-8>
- Campanile, G., Ruscelli, A., & Luisi, N. (2007). Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in planta tests. *European Journal of Plant Pathology*, 117(3), 237–246. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-006-9089-1>
- Carollo, E. M., Peixoto, H., & Santos Filho, H. (2016). *Manual básico de técnicas fitopatológicas: Laboratório de Fitopatologia Embrapa Mandioca e Fruticultura* (1st ed.). Embrapa. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1054670>
- Islam, M. T. (2022). Current status and future prospects of *Cladosporium* sp., a biocontrol agent for sustainable plant protection. *Biocontrol Science*, 27(4), 185–191. <http://dx.doi.org/10.4265/bio.27.185>
- Kiani, T. et al. (2021). Control of stripe rust of wheat using indigenous endophytic bacteria at seedling and adult plant stage. *Scientific Reports*, 11(1), 14473. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-93939-6>
- Mishra, S., Kumar, A., & Prasad, R. (2021). *Trichoderma harzianum* as a potential biocontrol agent against stem rust (*Puccinia graminis*) in wheat. *Biocontrol Science and Technology*, 31(5), 470–482. <https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1868549>
- Negrelle, R. R. B., & Gomes, E. C. (2007). *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 9(1), 80–92.
- Paulert, R. et al. (2025). Ocorrência de doenças em plantas medicinais e aromáticas cultivadas em um horto botânico. *Observatório De La Economía Latinoamericana*, 23(5), e9897. <https://doi.org/10.55905/oelv23n5-062>
- Pereira, A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica* [e-book gratuito]. Editora da UFSM (UAB/NTE). DOI: 10.63715/9786581075057
- Rodrigues, A. P., Ferreira, M. J., & Almeida, T. S. (2024). Human health and ecosystem quality benefits with life cycle assessment due to fungicides elimination in agriculture. *Journal of Cleaner Production*, 438, 140973.
- Sharma, S. et al. (2021). Publisher Correction: Strain improvement of native *Saccharomyces cerevisiae* LN ITCC 8246 strain through protoplast fusion to enhance its xylose uptake. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(8), 2470. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-021-03575-z>
- Shitsuka, R. et al. (2014). *Matemática fundamental para tecnologia* (2^a ed.). Editora Érica.
- Si, S., Yang, C., Liu, Y., & Wang, X. (2023). Isolation and characterization of *Simplicillium lanosoniveum* as a hyperparasite of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Pathogens*, 12(1), 22. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010022>
- Singh, R., Chandra, S., & Sharma, P. (2019). *Alternaria alternata* as a mycoparasite for biocontrol of rust pathogens. *Journal of Plant Pathology*, 101(2), 375–382. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0159-3>
- Torres, D. E., et al. (2017). *Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium pseudocladosporioides* as potential new fungal antagonists of *Puccinia horiana* Henn., the causal agent of chrysanthemum white rust. *PLOS ONE*, 12(1), e0170782. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0170782>
- Ullmann, A. J., et al. (2018). Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clinical Microbiology and Infection*, 24, e1–e38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.002>
- Vázquez-Blanco, R., et al. (2020). Comparison of Cu salts and commercial Cu based fungicides on toxicity towards microorganisms in soil. *Environmental Pollution*, 257. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113637>
- Vieira, S. (2021). *Introdução à bioestatística* (6^a ed.). Editora GEN Guanabara Koogan.
- Yadav, D. K., et al. (2024). Insights into chemistry, extraction and industrial application of lemongrass essential oil: A review. *Journal of Essential Oil Research*, 36(2), 105–117.
- Zakaria, L. (2024). An overview of *Aspergillus* species associated with plant diseases. *Pathogens*, 13(9), 813. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens13090813>
- Zhang, H. et al. (2022). Isolation, identification and hyperparasitism of a novel *Cladosporium cladosporioides* isolate hyperparasitic to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the wheat stripe rust pathogen. *Biology*, 11(6), 892. <http://dx.doi.org/10.3390/biology11060892>
- Zheng, F. et al. (2025). Species diversity of *Cladosporium* in Citrus and the genetic mechanisms for *C. cladosporioides* complex to adapt broad host plants. *Fungal Diversity*, 1–22. <https://doi.org/10.1007/s13225-025-00559-w>