



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

Alexandra Martins Costa

**Comunidades fúngicas na filosfera de espécies lenhosas do Cerrado:
Efeitos da adição de nutrientes ao solo**

Brasília, 2024



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Ecologia

Comunidades fúngicas na filosfera de espécies lenhosas do Cerrado: Efeitos da adição de nutrientes ao solo

Alexandra Martins Costa

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília (UnB) como requisito para obtenção do título de Doutora em Ecologia.

Orientadora: Dra. Mercedes Maria C. Bustamante

Coorientadora: Dra. Laila Salmen Espindola

Brasília, DF
Fevereiro de 2024



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

Tese de Doutorado

ALEXANDRA MARTINS COSTA

Título:

**COMUNIDADES FÚNGICAS NA FILOSFERA DE ESPÉCIES LENHOSAS DO CERRADO:
EFEITOS DA ADIÇÃO DE NUTRIENTES AO SOLO**

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Mercedes Maria da Cunha Bustamante
Presidente - PPG Ecologia - UnB

Prof. Dr. Pedro Henrique Brum Togni
Membro titular - PPG Ecologia - UnB

Prof^a. Dr^a. Leonor Costa Maia
Membro titular - PPG Biologia de Fungos - UFPE

Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes
Membro titular - FCFRP - USP

Prof. Dr. Helson Mario Martins do Vale
Suplente - PPG Biologia Microbiana - UnB

Brasília, 02 de fevereiro de 2024

“Irmão, você não percebeu
Que você é o único representante
Do seu sonho na face da terra?
Se isso não fizer você correr, chapa
Eu não sei o que vai”

(Emicida / Rael da Rima)

AGRADECIMENTOS

Tenho tantas pessoas que eu gostaria de agradecer, que nem sei se consigo lembrar de todas. Tentarei ser breve, pois a lista é longa.

A primeira pessoa que me vem à mente é meu terapeuta, Carlos. Muito obrigada por todos esses anos de companhia, especialmente durante a pandemia e da metade para o final do doutorado, cada sessão fez muita diferença na minha vida e me ajudou a não me perder nessa jornada maluca que é a vida. Também gostaria de me agradecer por não desistir, por mais que as vezes parecesse impossível continuar.

Obrigada Mercedes! Obrigada por confiar no meu trabalho e por sempre soltar frases de incentivo quando eu mais precisava; Obrigada pela oportunidade de trabalharmos juntas e me permitir descobrir um novo mundo através da minha pesquisa, agradeço imensamente por compartilhar do seu enorme conhecimento.

Agradeço a banca pelo tempo dedicado e contribuições para melhorar meu trabalho. Obrigada CAPES, CNPq – PELD pela importante ajuda financeira sem a qual não seria possível realizar o doutorado. Obrigada ao PPG-Ecologia.

Agradeço a todos os laboratórios ao qual fiz parte nesses últimos anos, cada momento vivido foi importante para a minha formação. Obrigada Lucas Costa, Laís Morais, Sophia Motta e João por todas as conversas de lab e suporte em resolver problemas. Obrigada ao laboratório de Ecossistemas, especialmente a Maria Desterro Mendes que me ensinou as técnicas de biologia molecular e me apresentou a bendita *Mytaq*, hahaha, foi fundamental para que o trabalho prosseguisse. Obrigada professora Laila, por disponibilizar a estrutura do laboratório de Farmacognosia- UnB e pela ajuda de toda a equipe e networkings importantes que pude fazer. Obrigada professora Lorena Albernaz e Gabriel Craesmeyer, por toda ajuda prática que recebi. Professor Danilo Pinho, que prazer foi trabalhar com sua equipe, obrigada por todo suporte para a realização dos testes biológicos feitos no laboratório de Coleção Micológica - UnB.

Patrícia Cardoso e Daniel Demarque, MUITÍSSIMO obrigada pela ajuda e paciência infinita. Vocês foram fundamentais para a construção do segundo capítulo e sou imensamente grata pela vontade de me ajudar, esclarecer dúvidas e apoio dado durante todo o processo que estivemos juntos. Agradeço também ao professor Renato Caparroz pela ajuda em me explicar vários detalhes sobre sequenciamento de DNA, pelo interesse no meu trabalho e por me permitir utilizar o laboratório na etapa final de análise e escrita da tese.

Obrigada àqueles que estiveram bem próximos durante a pandemia, que momento difícil foi. Obrigada Eliel e Samuel, amei morar com vocês e morro de saudade disso! Além do

aconchego necessário em um momento tão desafiador, foi um divisor de águas na minha vida pessoal. Heidi Schulte, agradeço pelas conversas profundas e ajuda. Seja pela identificação e horas de conversa online que tive com Aída Giozza e Débora Tonelli, seja por profs Marcela Vieira e Luket acreditarem muito que eu conseguiria realizar meus sonhos e todo apoio na nova fase que estava vivendo, todos foram fundamentais durante os meses de isolamento. Obrigada por estarem tão presentes naquele período.

Obrigada amigos de corredor e convivência de UnB, foram dias muito mais leves ao ver vocês Leozinho, Ana Terra, Matheus Reis, Marcus Vinícius, Emanuel Messias e Amanda Vasconcelos. Mari Aragão, agradeço por me receber no seu lar e por me escutar com tanto carinho nos momentos de descoberta, uma das mentes com funcionamento mais incrível que conheço, é um prazer estar perto de ti.

Kamilla Tosetto, Hugo Vieira, Priscila Fernandes e Lídia Rosa, meus amigos de longa data que me acompanham desde a graduação, obrigada por ainda estarem presentes e pelo apoio quando tudo estava desmoronando. Luciana Galvão e Gustavo Portela, o que teria sido de mim sem vocês?! Obrigada pelo ombro amigo. Obrigada Pamela Moser, agradeço todo o suporte emocional e bons conselhos para que eu não me deixasse perder nos pensamentos pessimistas.

Aos novos amigos que chegaram, não poderia deixar de agradecer, Clemildo pelas festas e ajuda com os fungos e Rangel por toda a ideia trocada e confiança. Ao grupo mais especial do telegram, Banheirão do Senta, eu tenho um carinho enorme e gostaria de agradecer pela ajuda em me encontrar e me conhecer. O que vivi e as pessoas que conheci naquele grupo me permitiram ver um mundo novo no meio do caos pandêmico. Agradeço especialmente a Fer Bianchini, André Couto, Anna Calheiros, Gabi Cassemiro, Gabriel Lajtaváry, a Pássaro (Dani), Thomás Cairoli, Arthur Ferreira e Yara Dermani.

Acho esse o parágrafo mais difícil de fazer... Por mais que eu fique horas, dias, escrevendo, eu nunca vou conseguir passar para o papel o tanto que essa galera foi importante durante meu doutorado. São todos importantes na minha vida, claro, mas o peso que tiveram para que eu chegasse até o final, desculpem, ainda não inventaram uma palavra pra isso. Isa Castro Simbis, Fredinho Horst, Thiago Mello, Jeff Brendon, Waira Machida, Angela Dutra, Marcelle Cavalheiro, Renatinha Dusi, Carol Pereira e Ariane Rodrigues, como é possível agradecer vocês por estarem ao meu lado, acreditando em mim quando nem eu mesma acreditava? escutando todas as minhas inseguranças, por tirarem de mim uma solidão que me consumia e me fazia chorar todos os dias, como agradece? Muitas vezes foi de um de vocês que tirei força pra fazer algo, obrigada por isso. Obrigada pelos bons momentos, por toda a ajuda no laboratório, em análises, na hora da escrita, finalizando figuras. Nós por nós ♥

Ari Aguiar e Sérgio Prado, muito obrigada pela ideia genial de criarem o Piada Interna podcast. Por ironia do destino vocês ajudaram muito uma bióloga a superar os dias de solidão no laboratório, quando tudo dava errado. Obrigada por colocarem um sorriso no meu rosto e me fazerem aguentar ‘só mais um dia’.

Por fim, e não menos importante, agradeço minha família por me aguentar durante toda essa montanha-russa que foi o doutorado. Obrigada mãe, Diguera, Creuzinha, Ana e todos que torceram por mim e buscaram me compreender nos momentos mais delicados. Samanthinha Eduarda, obrigada pela filha incrível que você é, do jeitinho que é. Obrigada por todos os seus abraços enquanto eu chorava por alguma dificuldade da tese, pela companhia nas noites em claro e por confiar que esse processo irá render bons frutos para o nosso futuro.



Àqueles que estão ao meu lado e
fazem da minha existência mais feliz:
Aos meus amigos, dedico

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	17
RESUMO	20
ABSTRACT	22
INTRODUÇÃO GERAL	24
ESPÉCIES SELECIONADAS	31
CAPÍTULO 1 – EFEITOS DA ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO NA COMUNIDADE FILOSÓFICA FÚNGICA DE ESPÉCIES LENHOSAS DO CERRADO	32
1.1 INTRODUÇÃO	32
1.2 OBJETIVOS E HIPÓTESES	36
1.2.1 OBJETIVO GERAL E HIPÓTESES	36
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
1.3 MATERIAL E MÉTODOS	37
1.3.1 ÁREA DE ESTUDO	37
1.3.2 EXPERIMENTO DE ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO	37
1.3.3 ESPÉCIES SELECIONADAS	39
1.3.4 ÁREA DE COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	39
1.3.5 ANÁLISES MOLECULARES	40
1.3.5.1 REMOÇÃO E EXTRAÇÃO DE DNA	40
1.3.5.2 AMPLIFICAÇÃO POR PCR E SELEÇÃO DAS AMOSTRAS	40
1.3.5.3 SEQUENCIAMENTO	41
1.3.6 ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA E ANÁLISE DE NUTRIENTES FOLIARES	42
1.3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
1.4 RESULTADOS	44
1.4.1 NUTRIENTE FOLIAR E ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA	44
1.4.2 SEQUENCIAMENTO ITS1	46

1.4.3 CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE FILOSFÉRICA E ABUNDÂNCIA RELATIVA.....	47
1.4.4 DIVERSIDADE ALFA.....	56
1.4.5 DIVERSIDADE BETA.....	59
1.4.6 DIAGRAMA DE VENN.....	61
1.4.7 ABUNDÂNCIA DIFERENCIAL.....	62
1.4.8 GRUPOS FUNCIONAIS.....	63
1.5 DISCUSSÃO	65
1.5.1 COMPOSIÇÃO DA FILOSFERA.....	65
1.5.2 CARACTERÍSTICAS FOLIARES E DIVERSIDADE FÚNGICA.....	67
1.5.3 ABUNDÂNCIA DIFERENCIAL.....	70
1.5.4 GRUPOS FUNCIONAIS.....	72
1.6 CONCLUSÃO	73
CAPÍTULO 2 – EFEITO DA ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO NA METABOLÔMICA FOLIAR DE <i>STYRAX FERRUGINEUS</i> E SUA INFLUÊNCIA NA FILOSFERA.....	74
2.1 INTRODUÇÃO	74
2.2 OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	77
2.2.1 OBJETIVO GERAL E HIPÓTESES.....	77
2.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	77
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	78
2.3.1 ÁREA DE ESTUDO.....	78
2.3.2 EXPERIMENTO DE ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO.....	78
2.3.3 ESPÉCIE SELECIONADA.....	79
2.3.4 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	79
2.3.5 OBTENÇÃO DE EXTRATOS.....	79
2.3.6 ESPECTROMETRIA DE MASSA.....	79
2.3.6.1 ESPECTROMETRIA DE MASSA DE BAIXA RESOLUÇÃO.....	80
2.3.6.2 ESPECTROMETRIA DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO.....	80

2.3.7 ANOTAÇÃO DE METABÓLITOS E ANÁLISE METABOLÔMICA.....	81
2.3.7.1 CONSTRUÇÃO DE REDES MOLECULARES E ANOTAÇÃO DE METABÓLITOS.....	81
2.3.7.2 PROCESSAMENTO DE DADOS PARA ANÁLISE METABOLÔMICA.....	82
2.3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	82
2.4 RESULTADOS.....	83
2.4.1 ANOTAÇÃO DE METABÓLITOS.....	83
2.4.2 METABOLÔMICA.....	95
2.4.3 METABOLÔMICA E COMUNIDADES FILOSFÉRICAS.....	97
2.4.4 CORRELAÇÃO: FUNGOS E ÍONS.....	99
2.5 DISCUSSÃO	101
2.5.1 METABÓLITOS DE <i>STYRAX FERRUGINEUS</i>	101
2.5.2 METABOLÔMICA.....	102
2.5.3 METABOLÔMICA FOLIAR E FUNGOS FILOSFÉRICOS.....	103
2.6 CONCLUSÃO	105
CAPÍTULO 3 – ENSAIO BIOLÓGICO DE EXTRATOS DE FOLHAS CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS	106
3.1 INTRODUÇÃO	106
3.2 OBJETIVOS E HIPÓTESE.....	107
3.2.1 OBJETIVO GERAL E HIPÓTESE.....	107
3.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	107
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	108
3.3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	108
3.3.2 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E CULTIVO.....	108
3.3.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	108
3.3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	109
3.4 RESULTADOS.....	109
3.5 DISCUSSÃO	110

3.6 CONCLUSÃO	112
4. CONCLUSÃO GERAL.....	113
5. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	114
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	132

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Montagem do microbioma e saúde vegetal na filosfera, retirado de Liu et al., 2020. Em (A) diferentes fatores que influenciam a montagem do microbioma da filosfera. Fatores abióticos como o solo irá afetar a filosfera pois atua como uma fonte de microrganismos colonizadores e influencia a química da folha. O manejo agrícola e o clima também irão afetar a filosfera por meio da alteração do solo e das características da planta. Fatores bióticos como o genótipo da planta e estágio de desenvolvimento, ataque de herbívoros, visitação de polinizadores, infecção por patógenos, assim como a interação microbiana, também alteram a montagem do microbioma na filosfera. O círculo inserido representa a composição microbiana no nível do filo na filosfera; em laranja: Proteobactérias; em amarelo: Actinobacteria; em verde: Bacteroidetes e em vermelho: Firmicutes. Em (B) ocorrência de disbiose e seu impacto nas interações planta-microrganismo na filosfera. Uma alteração no metabolismo e na expressão gênica da planta afeta a química foliar, levando à uma disbiose. O microbioma alterado pode interagir com sua planta hospedeira e criar condições para proliferação de microrganismos, formando um ciclo de feedback de auto regulação.....26
- Figura 2.** Análise de componentes principais (PCA) para concentração de nutrientes foliares e área foliar específica de *Ouratea hexasperma* nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 63% do total da variação. AFE: área foliar específica, Al: alumínio, Ca: cálcio, K: potássio, Mg: magnésio, Mn: manganês, P: fósforo. N e S foliar foram removidos da figura pois estavam correlacionados com P e Al foliar, respectivamente.....45
- Figura 3.** Análise de componentes principais (PCA) para concentração de nutrientes foliares e área foliar específica de *Styrax ferrugineus* nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 62% do total da variação. AFE: área foliar específica, Al: alumínio, Ca: cálcio, Mg: magnésio, Mn: manganês, N: nitrogênio, P: fósforo, S: enxofre. K foliar foi removido da figura pois estava correlacionado com Al foliar.....46
- Figura 4.** Abundância relativa dos Filos de fungos filosféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Filos com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).47
- Figura 5.** Abundância relativa dos Filos de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Filos com abundância relativa < 1%

foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).48

Figura 6. Abundância relativa das Classes de fungos filosféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Classes com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).49

Figura 7. Abundância relativa das Classes de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Classes com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).50

Figura 8. Abundância relativa das Ordens de fungos filosféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Ordens com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).51

Figura 9. Abundância relativa das Ordens de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Ordens com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).52

Figura 10. Abundância relativa das Famílias de fungos filosféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Famílias com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).53

Figura 11. Abundância relativa das Famílias de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Famílias com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).54

Figura 12. Abundância relativa dos gêneros de fungos filosféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Gêneros com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).55

Figura 13. Abundância relativa dos gêneros de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Gêneros com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).56

- Figura 14.** Diferença entre os valores dos índices de diversidade alfa da comunidade filosférica fúngica de *Ouratea hexasperma* nos tratamentos calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P), comparados ao controle (C). Em ‘A’) Riqueza Observada, em ‘B)’ Índice de Shannon e em ‘C)’ Equitabilidade de Pielou. Figura gerada a partir de 5.000 permutações e intervalo de confiança de 95%, barras verticais indicam esse intervalo.57
- Figura 15.** Diferença entre os valores dos índices de diversidade alfa da comunidade filosférica fúngica de *Styrax ferrugineus* nos tratamentos calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P), comparados ao controle (C). Em ‘A)’ Riqueza Observada, em ‘B)’ Índice de Shannon e em ‘C)’ Equitabilidade de Pielou. Figura gerada a partir de 5.000 permutações e intervalo de confiança de 95%, barras verticais indicam esse intervalo.58
- Figura 16.** Análise de Coordenadas Principais (PCoA), pela distância de Bray-Curtis, da comunidade fúngica filosférica associada a *Ouratea hexasperma*. Porcentagem de explicação dos eixos 50,1%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3) e fósforo (P) (n=2).59
- Figura 17.** Análise de Coordenadas Principais (PCoA), pela distância de Bray-Curtis, da comunidade fúngica filosférica associada a *Styrax ferrugineus*. Porcentagem de explicação dos eixos 45,4%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3), nitrogênio + fósforo (NP) (n=2) e fósforo (P) (n=2).60
- Figura 18.** Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP), baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, entre a comunidade fúngica filosférica associada a *Styrax ferrugineus* e as diferentes variáveis que influenciam a separação das comunidades ($p < 0,05$). Porcentagem de explicação dos eixos 33,7%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3), nitrogênio + fósforo (NP) (n=2) e fósforo (P) (n=2).60
- Figura 19.** Diagrama de Venn com 516 OTUs presentes na filosfera de *Ouratea hexasperma*, únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P).61
- Figura 20.** Diagrama de Venn com 742 OTUs presentes na filosfera de *Styrax ferrugineus*, únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).62
- Figura 21.** Abundância relativa dos gêneros de fungos filosféricos indicadores, hospedados em *Styrax ferrugineus*, diferencialmente abundantes e associados aos tratamentos de fertilização do solo. A) Abundância Relativa de *Strelitziana*; B) Abundância Relativa de *Penidiellomyces*; C) Abundância Relativa de *Parmotrema*, *Aplosporella*, *Fusarium* e *Xenosonderhenioides*. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

- Valor de Stat mais alto indica maior relação do gênero com o tratamento, seu valor máximo é 1. Asteriscos indicam diferenças significativas $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **.....63
- Figura 22.** Abundância relativa dos grupos funcionais de fungos filosféricos hospedeiros de *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P).....64
- Figura 23.** Abundância relativa dos grupos funcionais de fungos filosféricos hospedeiros de *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).....65
- Figura 24.** Análise de componentes principais (PCA) dos 236 íons detectados através da análise metabolômica de *Styrax ferrugineus* nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 48% do total da variação.95
- Figura 25.** Análise de componentes principais (PCA) dos 9 íons de *Styrax ferrugineus* que apresentam diferenças significativas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 74% do total da variação. Metabolite_34 não foi plotado por sua alta correlação com metabolite_151.96
- Figura 26.** Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP), baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, entre a comunidade filosférica associada a *Styrax ferrugineus* e os íons que influenciam a separação das comunidades ($p < 0,05$). Porcentagem de explicação dos eixos 43,7%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3), nitrogênio + fósforo (NP) (n=2) e fósforo (P) (n=2). Metabolite_51 não foi plotado por sua correlação com metabolite_26.....97
- Figura 27.** Abundância relativa das Ordens de fungos filosféricos, filtrados por abundância e prevalência, presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Ordens com abundância relativa $< 0,5\%$ foram agrupados na categoria “Others”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).98
- Figura 28.** Rede de correlações significativas entre os íons e as ordens de fungos filosféricos de *Styrax ferrugineus*. Cada ordem está nomeada e a cor do preenchimento representa a respectiva Classe taxonômica à qual a ordem pertence. Os coeficientes de correlação de Spearman indicam se a correlação é positiva (linhas vermelhas) ou negativas (linhas azuis) e os valores de p ajustado indicam a força da correlação. Os valores de p foram ajustados para testes múltiplos com correção de Benjamini-Hochberg. 100

Figura 29. Média de inibição do crescimento (em %) dos patógenos *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Corynespora* e *Botrytis* na presença de 100 µl de extratos de folhas de *Styrax ferrugineus* coletadas sob diferentes tratamentos de adições de nutrientes ao solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP), fósforo (P) e fungicida Cercobin. Letras diferentes representam diferenças estatísticas, $p < 0,05$ e as barras representam o desvio padrão. Anova One-way. 109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades do solo (0-10 cm) em diferentes tratamentos e três anos de amostragem (2015, 2018 e 2021), coletados na área do projeto fertilização na Reserva Ecológica do IBGE, Brasil central. Os resultados são expressos como valores médios \pm desvio padrão. Para 2018 e 2021, as diferenças significativas são representadas por letras diferentes ($p < 0,05$). Tratamentos: Controle, calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio e fósforo (NP) e fósforo (P). CTC = capacidade de troca catiônica. Dados obtidos de: Mello, 2019 e Silveira et al., 2021b39

Tabela 2. Valores de nutrientes foliares e área foliar específica (AFE), de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* para os tratamentos controle, calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Valores médios \pm desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre os tratamentos. One-way ANOVA ($p < 0,05$).....44

Tabela 3. Gêneros de fungos filosféricos indicadores, hospedados em *Styrax ferrugineus*, diferencialmente abundantes e associados aos tratamentos de fertilização do solo. *Indval statistic* (Stat) mais alto indica maior relação do gênero com o tratamento, seu valor máximo é 1. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). $p < 0,05$63

Tabela 4. Metabólitos anotados para *Styrax ferrugineus* a partir da comparação dos espectros MS/MS de alta e baixa resolução com as bibliotecas espectrais do GNPS. Para cada um dos 62 metabólitos, são reportados o precursor m/z informado pelo GNPS, nome do metabólito, fórmula molecular, identificador Smile, classificação química e propriedades descritas. As informações sobre classificação química (Via metabólica / Superclasse / Classe química) estão de acordo com o banco de dados *NP Classifier* (<https://npclassifier.ucsd.edu/>). As propriedades descritas indicam funções reportadas na literatura para cada um dos metabólitos.....84

Tabela 5. Íons de *Styrax ferrugineus* que diferiram significativamente entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio

+ fósforo (NP) e fósforo (P). Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre os tratamentos, $p < 0,05$. Anova One-way.96

Tabela 6. Resultados da ANOVA com 999 permutações. Realizada após a análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) baseada em RDA e distância de Bray-Curtis dos íons de *Styrax ferrugineus* e sua explicação da diferença entre as comunidades filosféricas ($p < 0,05$). Asteriscos indicam diferenças significativas $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ ** e $p < 0,001$ ***97

Tabela Suplementar 1. Altura e circunferência (a altura do solo) dos indivíduos de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* amostrados em cada parcela e seus respectivos tratamentos. Controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)..... 114

Tabela Suplementar 2. Indivíduos de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* que tiveram eDNA da superfície das folhas sequenciado na região ITS1, pela empresa Macrogen Inc. (Seoul, South Korea). Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P) 115

Tabela Suplementar 3. Atribuição taxonômica de sequências ITS1 fúngicas obtidas da filosfera de *Ouratea hexasperma* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada sequência são informadas a abundância por amostra. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P) 116

Tabela Suplementar 4. Atribuição taxonômica de sequências ITS1 fúngicas obtidas da filosfera de *Styrax ferrugineus* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada sequência são informadas a abundância por amostra. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P) 116

Tabela Suplementar 5. Índices de diversidade de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P) 116

Tabela Suplementar 6. Resultados da ANOVA com 999 permutações, realizada após Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, das variáveis relacionadas à concentração de nutrientes foliares e área foliar específica (AFE) de *Styrax ferrugineus* e sua explicação da diferença entre as comunidades filosféricas dos tratamentos de adição de nutrientes no solo ($p < 0,05$)..... 116

Tabela Suplementar 7. Contagem de OTUs presentes na filosfera de *Ouratea hexasperma*, únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Dados obtidos após

a filtragem das amostras por abundância e prevalência. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P)	117
Tabela Suplementar 8. Contagem de OTUs presentes na filosfera de <i>Styrax ferrugineus</i> , únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Dados obtidos após a filtragem das amostras por abundância e prevalência. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)	117
Tabela Suplementar 9. Grupos funcionais atribuídos aos gêneros de fungos filosféricos de <i>Ouratea hexasperma</i> em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada gênero é informado o valor da abundância relativa em cada um dos tratamentos. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P).....	118
Tabela Suplementar 10. Abundância Relativa dos grupos funcionais de fungos filosféricos de <i>Ouratea hexasperma</i> , em cada um dos tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P).....	121
Tabela Suplementar 11. Grupos funcionais atribuídos aos gêneros de fungos filosféricos de <i>Styrax ferrugineus</i> em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada gênero é informado o valor da abundância relativa em cada um dos tratamentos. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).....	122
Tabela Suplementar 12. Abundância Relativa dos grupos funcionais de fungos filosféricos de <i>Styrax ferrugineus</i> , em cada um dos tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).....	125
Tabela Suplementar 13. Ordens encontradas na filosfera de <i>Styrax ferrugineus</i> , após a filtragem das amostras por abundância e prevalência, em diferentes tratamentos de adição de nutrientes ao solo. Para cada ordem é mostrado o valor de sua abundância relativa por tratamento. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)	126
Tabela Suplementar 14. Ordem dos fungos filosféricos de <i>Styrax ferrugineus</i> e sua correlação com íons. Os valores de correlação indicam se a correlação é positiva ou negativa. O termo ' <i>p_adjust</i> ' refere-se ao valor p corrigido pelo método Benjamini-Hochberg ($p < 0,05$).....	127
Tabela Suplementar 15. Valores médios e desvio padrão da porcentagem de inibição dos patógenos <i>Fusarium</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Corynespora</i> e <i>Botrytis</i> na presença de 100 µl de extratos de folhas de <i>Styrax ferrugineus</i> coletadas sob diferentes adições de nutrientes ao solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP), fósforo (P) e fungicida Cercobin. Letras diferentes representam diferenças estatísticas, $p < 0,05$. Anova One-way.	131

RESUMO

Os fungos presentes na filosfera são importantes na produção de metabólitos, na aquisição de nutrientes e na proteção de seus hospedeiros contra patógenos. Compreender como a produção de metabólitos de uma espécie é modificada em função das alterações edáficas e também em função da comunidade microbiana associada, é importante para esclarecer como as interações ocorrem em sistemas naturais e quais as possíveis consequências que mudanças antrópicas (como maior deposição de nutrientes ao solo) podem trazer para a interação microrganismo-planta. Assim, o objetivo da tese é compreender como a adição de nutrientes no solo interfere na comunidade filosférica e suas consequências na produção de metabólitos produzidos por plantas típicas do Cerrado e efeitos em potenciais extratos de uso antifúngico. O trabalho foi realizado em uma área de cerrado *sensu stricto*, onde é conduzido um experimento de fertilização do solo desde 1998 na Reserva Ecológica do IBGE. Os tratamentos experimentais incluem adição de nitrogênio (N), fósforo (P), nitrogênio + fósforo (NP) e calagem (Ca). Duas espécies lenhosas comuns do Cerrado foram avaliadas *Styrax ferrugineus* e *Ouratea hexasperma*. No capítulo 1 foi feita a descrição da comunidade fúngica para todos os tratamentos de ambas as espécies através do sequenciamento do eDNA da filosfera. No capítulo 2 foi realizada uma análise metabolômica das folhas de *S. ferrugineus* e realizada uma correlação entre os íons encontrados e os fungos que habitam a filosfera. Finalmente, no capítulo 3, os extratos das folhas de *S. ferrugineus* foram testados em ensaios biológicos contra 4 gêneros de fungos fitopatogênicos (*Botrytis*, *Colletotrichum*, *Corynespora* e *Fusarium*) de importância econômica para agricultura. Os resultados revelam a predominância do filo Ascomycota na filosfera de ambas as espécies, independente do tratamento, e uma maior abundância das classes Dothideomycetes, Eurotiomycetes e Sordariomycetes. As análises de beta diversidade de *S. ferrugineus* indicam uma mudança significativa na comunidade filosférica. Tais mudanças não foram relacionadas com o conteúdo elementar das folhas e parecem estar mais relacionadas com as alterações anatômicas que os tratamentos de adição de nutrientes promoveram. A metabolômica foliar de *S. ferrugineus* não foi fortemente afetada pelos tratamentos, com apenas 3,8% dos íons detectados variando significativamente. Há uma relação entre os íons detectados e as diferentes ordens de fungos filosféricos, com correlações significativas em relação às classes de fungos mais diversas. Esses resultados são um primeiro indicativo de que as interações das espécies que permanecem no sistema após a eutrofização do solo também são afetadas e podem ter um impacto significativo na dinâmica entre as espécies. Os extratos das folhas de *S. ferrugineus* apresentaram uma potencial ação antifúngica contra *Botrytis*, com uma inibição > 40% nos extratos dos tratamentos fertilizados. Portanto a adição

de nutrientes nos solos do Cerrado impactam não só as espécies que permanecem no sistema, mas também as interações que estas estabelecem, podendo ter consequências a longo prazo na comunidade local e suas funções ecossistêmicas.

Palavras-chave: Fungos Epifíticos, Micobioma, Metabólitos Secundários, Ecometabolômica, Antifúngico, Savana Tropical, Eutrofização, Fertilização

ABSTRACT

Fungi found in the phyllosphere play a crucial role in producing metabolites, acquiring nutrients, and protecting their hosts against pathogens. Understanding how soil changes and associated microbial communities modify the production of metabolites in a species is crucial for clarifying natural system interactions and the potential consequences of anthropogenic changes, such as increased nutrient deposition, on microorganism-plant interactions. Thus, the objective of this work is to understand how the addition of nutrients to the soil interferes with the phyllosphere community and its consequences on the production of metabolites produced by typical Cerrado plants and effects on potential antifungal extracts. This work was carried out in an area of cerrado *sensu stricto*, where a soil fertilization experiment has been carried out since 1998 at the IBGE Ecological Reserve. Experimental treatments include addition of nitrogen (N), phosphorus (P), nitrogen + phosphorus (NP) and liming (Ca). Two common woody species from the Cerrado were evaluated: *Styrax ferrugineus* and *Ouratea hexasperma*. In chapter 1, the fungal community was described for all treatments of both species through phyllosphere eDNA sequencing. In chapter 2, a metabolomic analysis of the leaves of *S. ferrugineus* was carried out and a correlation was made between the ions found and the fungi that inhabit the phyllosphere. Finally, in chapter 3, extracts from *S. ferrugineus* leaves were tested in biological assays against 4 genera of phytopathogenic fungi (*Botrytis*, *Colletotrichum*, *Corynespora* and *Fusarium*) of economic importance for agriculture. The results reveal the predominance of the phylum Ascomycota in the phyllosphere of both species, regardless of treatments, and a greater abundance of the classes Dothideomycetes, Eurotiomycetes and Sordariomycetes. Beta diversity analyses of *S. ferrugineus* indicate a significant change in the phyllosphere communities. Such changes were not related to the elemental content of the leaves and seem to be more related to the anatomical changes that the nutrient addition treatments promoted. Metabolomics leaves of *S. ferrugineus* were not strongly affected by treatments, with only 3.8% of detected ions varying significantly. There is a relationship between the detected ions and the different orders of phyllosphere fungi, with significant correlations in relation to the most diverse classes of fungi. These results are a first indication that the interactions of species that remain in the system after soil eutrophication are also affected and can have a significant impact on the dynamics between species. Extracts from *S. ferrugineus* leaves showed potential antifungal action on *Botrytis*, with an inhibition of > 40% in the extracts from fertilised treatments. Therefore, the addition of nutrients to Cerrado soils impacts not only the species that remain in the system, but also the interactions they establish, which can have long-term consequences for the local community and its ecosystem functions.

Keywords: Epiphytic Fungi, Mycobiome, Secondary Metabolites, Ecometabolomics, Antifungal, Tropical Savanna, Eutrophication, Fertilization.

INTRODUÇÃO GERAL

Os microrganismos compreendem a maior parte da vida na Terra e apesar do grande número estimado de espécies (1 trilhão) (Locey & Lennon, 2016), sabemos proporcionalmente pouco sobre a identidade dessas espécies e suas funções nos ecossistemas. Dentre as maiores dificuldades para um melhor conhecimento desses organismos, estão a correta identificação e cultivo das espécies para posteriores análises morfológicas, metabólicas, moleculares e ecológicas (Edwards, 2000). Diferentes trabalhos demonstram que usar técnicas de sequenciamento e análises moleculares, de forma independente do cultivo, revela uma maior riqueza de espécies (Arnold, 2007; Yang et al., 2001) e, portanto, traz uma visão mais realista do que de fato está presente na comunidade estudada.

Fungos e bactérias desempenham importantes funções ecossistêmicas, atuando diretamente na decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, sendo fundamentais no ciclo do carbono, do nitrogênio e do fósforo (Cardoso et al., 2017; Delgado-Baquerizo et al., 2016; Tapia-Torres et al., 2016; Xu et al., 2013). Além de atuarem nos ciclos biogeoquímicos, fungos e bactérias fazem importantes associações com outros organismos, especialmente com plantas (Deveau et al., 2018; Hassan & Mathesius, 2012; Schreiber et al., 2005), e essa simbiose é um dos fatores mais importantes que determinam a estrutura e função das comunidades de plantas terrestres (por exemplo, Read et al., 2004).

Dentre estas associações, umas das mais bem estabelecidas se dá entre fungos micorrízicos (FM) e plantas (Strack et al., 2003). Cerca de 80% das espécies vegetais conhecidas fazem associação com algum tipo de FM (Gianinazzi et al., 2010), onde estes fornecem maior suprimento de água e promovem a absorção do fósforo pelas raízes, enquanto a planta fornece até 20% dos açúcares produzidos durante a fotossíntese (van der Heijden et al., 2015).

Parte essencial da nutrição das plantas vem da associação com microrganismos (Dellagi et al., 2020; Jacoby et al., 2017). Trabalhos recentes descrevem a importância de fungos saprofitos e endofíticos não-micorrízicos associados às raízes, na maior absorção de potássio, elemento fundamental para o controle osmótico das células, regulação do pH e ativação de enzimas envolvidas na síntese de proteínas e fotossíntese (Peng et al., 2021; Yun et al., 2018). Embora muitos dos mecanismos de transferência de nutrientes ainda não estejam elucidados, é notável a importância da simbiose microrganismo-planta para o crescimento e estabelecimento das espécies vegetais (Haro & Benito, 2019).

Ambos os exemplos descritos ocorrem com microrganismos que compõem a comunidade microbiana do solo e são endofíticos, ou seja, habitam o interior do tecido vegetal em ao menos uma parte de sua vida (Hardoim et al., 2015). Diversos estudos moleculares

investigaram a diversidade, estrutura e impacto dessas comunidades no solo (Anderson & Cairney, 2004; Lauber et al., 2009; Sinsabaugh et al., 2008; Wagg et al., 2014). Entretanto, estudos sobre microrganismos epifíticos, especialmente quando se trata de comunidades microbianas da superfície das folhas (filosfera), tem recebido menos atenção (Whipps et al., 2008). O termo filosfera é usado para se referir não só às folhas, mas também a diferentes órgãos aéreos como flores, superfície do fruto, caule e pólen (Hamonts et al., 2017; Kwon et al., 2017; Oliveira et al., 2018; Singh et al., 2018; Kim et al., 2018). Neste trabalho, o termo ‘filosfera’ será usado para se referir unicamente à superfície das folhas.

A composição de organismos filosféricos é muito diversa, podendo ser composta por bactérias, vírus, algas, fungos e protozoários (Balogh et al., 2018; Flues et al., 2018; Zhu et al., 2018). Porém, bactérias e fungos são os mais representativos e, em geral, produzem substâncias para antagonizar um ao outro (Hibbing et al., 2010; Lindow & Brandl, 2003). A chegada e remoção desses organismos se dá pela ação do vento, da chuva, por insetos e pelo solo, através da transmissão mediada por sementes (Abdelfattah et al., 2021; Koskella, 2020; Lindemann & Upper, 1985). Em sistemas agrícolas, a aplicação de fertilizantes e pesticidas também têm impacto na sobrevivência e montagem dessas comunidades (Koskella, 2020).

A filosfera é considerada um ambiente oligotrófico (Bringel & Couée, 2015), onde a disponibilidade de nutrientes está relacionada à estrutura física das folhas, como a maior presença de tricomas e sua relação com mais nutrientes disponíveis (Leveau & Lindow, 2001; Remus-Emsermann et al., 2012). Além da limitação por nutrientes, esta comunidade deve lidar com a radiação ultravioleta e a baixa disponibilidade de água, sendo comum a produção de carotenoides para a proteção contra a radiação UV e secreção de polissacarídeos para evitar a dessecação (Beattie, 2011; Walterson & Stavrínides, 2015).

Entre os benefícios dos organismos filosféricos para seus hospedeiros, está a proteção da planta contra patógenos (Xu et al., 2020), podendo atuar diretamente em seu sistema imune (Schlechter et al., 2019). Outros benefícios são a proteção contra herbivoria, sinalização planta-planta e atração de polinizadores influenciados pela composição da comunidade epifítica (Karamanoli et al., 2020; Rering et al., 2018). Assim como os microrganismos do solo, a comunidade filosférica tem impacto no funcionamento dos ecossistemas e, embora não tenhamos estudado extensivamente a ecologia da maior parte desses microrganismos (especialmente dos fungos epifíticos), eles desempenham um papel importante na decomposição inicial das folhas após a senescência (Osono et al., 2004; Voriskova & Baldrian, 2013), atuando diretamente na ciclagem de nutrientes.

Nos últimos anos, vários trabalhos foram feitos na tentativa de elucidar o papel funcional desta microbiota em diferentes escalas (Lambais et al., 2017; Vacher et al., 2016). O uso de ferramentas da biologia molecular e ciências ômicas (por exemplo, metagenômica e proteômica) são importantes aliadas para a elucidação de processos e interações deste microbioma (Thapa & Prasanna, 2018; Vacher et al., 2016). Entretanto, para que haja um entendimento mais completo do que ocorre nas folhas deve-se conhecer os grupos de organismos ali presentes. Com os recentes avanços nas pesquisas com microrganismos filosféricos, Liu et al., (2020) discutem como a interação planta-filosfera é influenciada por múltiplos fatores (por exemplo: genética da planta, polinizadores, condições do solo) e a importância do microbioma foliar na saúde da planta, afetando principalmente o sistema imune e o sistema de defesa das espécies vegetais (Figura 1).

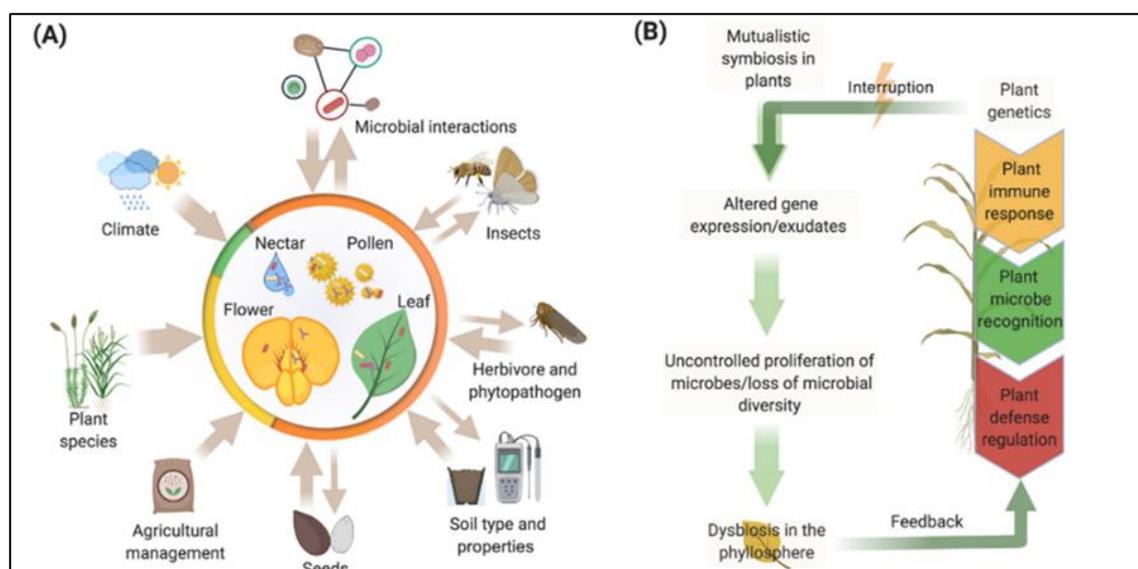


Figura 1. Montagem do microbioma e saúde vegetal na filosfera, retirado de Liu et al., 2020. Em (A) diferentes fatores que influenciam a montagem do microbioma da filosfera. Fatores abióticos como o solo irá afetar a filosfera pois atua como uma fonte de microrganismos colonizadores e influencia a química da folha. O manejo agrícola e o clima também irão afetar a filosfera por meio da alteração do solo e das características da planta. Fatores bióticos como o genótipo da planta e estágio de desenvolvimento, ataque de herbívoros, visitaçao de polinizadores, infecção por patógenos, assim como a interação microbiana, também alteram a montagem do microbioma na filosfera. O círculo inserido representa a composição microbiana no nível do filo na filosfera; em laranja: Proteobactérias; em amarelo: Actinobacteria; em verde: Bacteroidetes e em vermelho: Firmicutes. Em (B) ocorrência de disbiose e seu impacto nas interações planta-microrganismo na filosfera. Uma alteração no metabolismo e na expressão gênica da planta afeta a química foliar, levando à uma disbiose. O microbioma alterado pode interagir com sua planta hospedeira e criar condições para proliferação de microrganismos, formando um ciclo de feedback de auto-regulação.

Outra importante área de estudo que vem ganhando destaque nos trabalhos de ecologia, especialmente na ecologia química, é a metabolômica (Poulin & Pohnert, 2019), uma das ciências ômicas que tem como objetivo identificar e quantificar o conjunto de metabólitos produzidos pelos organismos (Rochfort, 2005). Sendo eficaz para analisar características e reconhecer padrões, uma vez que envolve o estudo de produtos do metabolismo celular afetados

por circunstâncias genéticas e ambientais, sendo possível a rápida detecção a estressores antropogênicos (Fiehn, 2002; Peñuelas & Sardans, 2009).

Plantas produzem uma série de metabólitos em seus órgãos; tais compostos desempenham as mais variadas funções (Kessler & Kalske, 2018; Santner & Estelle, 2009) desde a proteção da planta contra agentes externos, como o excesso de luz UV (Harbone & Williams, 2000), estresse hídrico (Samanta et al., 2011), ataques por herbívoros ou patógenos (Mithöfer & Boland, 2012) e atuam diretamente no estabelecimento das interações que as plantas estabelecem acima e abaixo do solo (Bonfante & Anca, 2009; Stevenson et al., 2017).

Alguns metabólitos possuem ação antimicrobiana e podem ser secretados pelas folhas (Aziz et al., 2021; Pham et al., 2021), assim, a composição filosférica pode variar de acordo com os metabólitos produzidos por cada espécie hospedeira (Karamanoli et al., 2005). Entretanto, microrganismos também produzem uma série de compostos (Kumar et al., 2017; Nongkhlaw & Joshi, 2014; Vieira et al., 2014) e estes podem afetar a química de seus hospedeiros, conferindo à microbiota foliar um papel importante na função metabólica das plantas (Gargallo-Garriga et al., 2016).

Outro fator que contribui para a composição química foliar são as condições edáficas (Glover & Martin, 2012). A diversidade química de compostos produzidos pelas espécies vegetais está diretamente relacionada às condições do solo em que o indivíduo cresce. Por exemplo, para a produção de metabólitos nitrogenados como alcaloides, uma maior disponibilidade de nitrogênio no solo pode ser determinante para a alocação em compostos de defesa (Yang et al., 2018).

Diferenças na disponibilidade de nutrientes no solo e pH estão relacionadas à mudança no metaboloma das espécies vegetais (Martins, 2019). Fator que pode ser agravado com a crescente taxa de entrada de nutrientes nos sistemas naturais, seja por deposição atmosférica ou por lixiviação de áreas cultivadas (Hunke et al., 2015; Kanakidou et al., 2016), podendo levar à uma modificação não só na quantidade, mas também contribuindo para a produção de alguns grupos de compostos em detrimento de outros (Gargallo-Garriga et al., 2017).

A produção de metabólitos secundários de origem vegetal tem um crescente interesse para a descoberta de novas moléculas com ação antimicrobiana (Obeidat et al., 2012; Skorić et al., 2022). Extensas pesquisas já foram realizadas com extratos de diferentes órgãos vegetais na busca de encontrar substâncias bioativas de relevância econômica que possam ser utilizadas contra microrganismos fitopatogênicos (Choudhury et al., 2018), microrganismos patógenos humanos (Achilonu & Udensi, 2022; Kokoska et al., 2018) e arbovírus e seus respectivos vetores (Goh et al., 2020; Silvério et al., 2020).

Mais de 1.340 espécies de plantas são conhecidas por produzirem compostos com atividade antimicrobiana, destes, mais de 30 mil componentes foram isolados de compostos de óleos vegetais e utilizados na indústria alimentícia (Tajkarimi et al., 2010). Embora a quantidade de metabólitos bioativos seja relativamente alta, a quantidade estimada de espécies de plantas - 374.000 – (Christenhusz & Byng, 2016) possibilita a descoberta de muitos outros compostos, uma vez que estes não foram exaustivamente investigados (Khameneh et al., 2019; Quiroga et al., 2001).

Agentes antimicrobianos naturais podem ser utilizados sozinhos, ou em conjunto com antibióticos, para aumentar sua eficácia contra uma ampla variedade de microrganismos (Bazzaz et al., 2016, 2018). Em sistemas de plantio, o uso indiscriminado de produtos antifúngicos sintéticos, tem levado ao surgimento de grupos de fungos resistentes a esses químicos (Fan et al., 2017; Thind, 2022). Uma alternativa que tem se mostrado bastante promissora, é o uso de substâncias naturais (sintetizadas por plantas ou outros microrganismos) que são menos poluentes e não trazem danos à saúde humana (Jiménez-reyes et al., 2019).

No Brasil, há uma grande expectativa de novos produtos com ação antimicrobiana e/ou antipatogênica a serem descritos a partir das espécies vegetais que ocorrem no país (de Queiroz et al., 2023; Póvoa Violante et al., 2012). A importância da filosfera na produção desses compostos ainda não é bem elucidada, visto que poucos estudos foram feitos com comunidades filosféricas de espécies arbóreas (Lambais et al., 2006, 2014, 2017), a maior parte com enfoque em bactérias.

O Cerrado brasileiro é um importante objeto de estudo, com uma área original ocupando cerca de 23,3% do território nacional, é o segundo maior bioma do Brasil (IBGE, 2019), sendo considerado a savana tropical mais biodiversa do mundo (Klink & Machado, 2005). Caracterizado por um mosaico de formações florestais, savânicas e campestres é encontrado majoritariamente sobre solos ácidos, distróficos, limitados em nutrientes e com elevada concentração de alumínio e ferro (Reatto et al., 2008).

Mesmo sob condições de solo, aparentemente, não favoráveis, há uma elevada riqueza de espécies vegetais. Com aproximadamente 10.000 espécies de plantas, sendo 4.400 endêmicas da região, o Cerrado é considerado um *hotspot* de biodiversidade (Myers et al., 2000). Embora no Cerrado uma grande quantidade de espécies arbóreas se associe a microrganismos, tanto endofíticos quanto epifíticos (Coelho et al., 2020; da Silva, 2012; da Silva et al., 2011; Dias et al., 2015; Vaz et al., 2012), há uma carência de dados sobre esses organismos (Colli et al., 2020).

As condições edáficas, especialmente pH e disponibilidade de nutrientes, são determinantes na evolução e desenvolvimento das espécies, tendo impacto nas comunidades que

habitam acima e abaixo do solo e em diferentes funções ecossistêmicas, como sequestro de carbono (Fageria & Baligar, 2008; Güsewell & Gessner, 2009; Janssens et al., 1998; Wagg et al., 2014). Sabendo disso, diferentes trabalhos de adição de nutrientes ao solo foram desenvolvidos afim de compreender como a alteração das condições edáficas em áreas naturais impactam na composição de espécies, nas interações interespecíficas, no metabolismo das espécies vegetais e processos ecossistêmicos (Gargallo-Garriga et al., 2017; Lannes et al., 2016; Marschner et al., 2003).

No Cerrado, há um experimento de fertilização de longo prazo iniciado em 1998 (Kozovits et al., 2007), onde foram adicionados nitrogênio (N), fósforo (P) e a combinação de nitrogênio e fósforo (NP), além da calagem (Ca), uma prática muito comum em áreas agricultáveis do bioma (Miranda et al., 2007). Diversos estudos foram feitos na área, tendo como interesse distintos níveis de organização ecológica (de indivíduos a ecossistemas). A adição de nutrientes no solo resultou em modificações anatômicas de estruturas relacionadas à arquitetura hidráulica de algumas espécies lenhosas (Bucci et al., 2006), o que ocasionou maior eficiência no uso de água por essas espécies (Costa et al., 2021).

O estudo conduzido por Cuevas-Reyes et al. (2011) encontrou variação na densidade de galhas em folhas de diferentes tratamentos de adição de nutrientes, com aumento da densidade em ao menos um tratamento a depender da espécie galhadora. A composição e diversidade florística também foi alterada e há um estímulo à invasão biológica por gramíneas exóticas nos tratamentos fertilizados (Bustamante et al., 2012; Lannes et al., 2016). Além da perda de diversidade de plantas, processos ecológicos como a decomposição e ciclagem de nutrientes também foram modificados comparados ao controle (Jacobson et al., 2011; Kozovits et al., 2007).

Alguns dos estudos feitos na área relatam como a mudança nas condições do solo alteram a comunidade microbiana. No trabalho feito por Silva (2012), avaliando o efeito a médio prazo da adição de nutrientes, foram encontradas mudanças na abundância dos filamentos de bactérias presentes no solo de acordo com os tratamentos, sendo a calagem o que mais se diferenciou dos demais. No trabalho de Silveira (2020), ao avaliar as comunidades bacterianas e de arqueias no solo, os resultados reforçam o efeito que as alterações edáficas em sistemas naturais causam na abundância dos grupos, sendo a calagem o tratamento que mais altera a comunidade microbiana do solo.

Tendo como foco os fungos, dois trabalhos foram feitos com esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) associados à rizosfera de espécies lenhosas e também ao *bulk soil* da área. Ambos os trabalhos encontraram mudanças na densidade de esporos de acordo com

os tratamentos, aumentando ou diminuindo a densidade a depender, também, da identidade da planta à qual os fungos estavam associados (Martins, 2019). Ao considerar o grupo taxonômico do FMA (nível de família) e grupo funcional, os tratamentos também resultaram em diferenças no número de esporos no *bulk soil*, demonstrando que para cada tratamento há um grupo que se beneficia mais em detrimento de outros (Mello, 2019).

Embora microrganismos filosféricos ainda não tenham sido estudados neste experimento, a química foliar das espécies arbóreas foi investigada em dois trabalhos. Ao observar o efeito dos tratamentos na metabolômica foliar de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth O. Berg.) foi encontrada uma clara diferenciação na abundância relativa dos compostos produzidos nos indivíduos do controle em relação aos indivíduos dos tratamentos, onde mais uma vez a calagem foi o tratamento que mais se diferenciou (Martins, 2019). Diferenças entre a concentração de fenóis e taninos nas folhas de espécies sempre-verdes e brevidecíduas também foram encontradas entre os diferentes tratamentos, com o aumento desses compostos nas espécies brevidecíduas com a adição de nitrogênio (Jacobson & Bustamante, 2019).

O conhecimento sobre comunidades filosféricas vem avançando muito nas últimas décadas (Laforest-Lapointe & Whitaker, 2019), mas algumas lacunas do conhecimento ainda precisam ser preenchidas: i) O núcleo do microbioma da filosfera e suas regras de montagem; ii) Traços das plantas envolvidos na colonização por comunidades microbianas; iii) Diversidade bioquímica de exsudatos foliares e sua influência na composição microbiana foliar; e iv) Grupos microbianos benéficos que poderiam ser utilizados comercialmente para agricultura, área farmacêutica e outros campos econômicos (Bashir et al., 2022).

Com isso, o objetivo do presente trabalho é compreender como a adição de nutrientes no solo interfere na comunidade filosférica e suas consequências na produção de metabólitos produzidos por plantas típicas do Cerrado e efeitos em potenciais extratos de uso antifúngico. Este trabalho está dividido em três capítulos e será o passo inicial para futuras investigações sobre a importância e função da microbiota filosférica em suas espécies hospedeiras. O **capítulo 1** teve como objetivo descrever a comunidade filosférica fúngica de duas espécies lenhosas do Cerrado e avaliar se a adição de nutrientes no solo altera essas comunidades. O **capítulo 2** teve como objetivo compreender os efeitos da adição de nutrientes no solo na metabolômica foliar de uma espécie lenhosa do Cerrado e se com as mudanças encontradas na comunidade filosférica. O **capítulo 3** teve como objetivo testar se os extratos foliares de uma espécie arbórea tem ação antifúngica e se essa ação é alterada em função da adição de nutrientes no solo.

ESPÉCIES SELECIONADAS

Duas espécies arbóreas encontradas nas formações savânicas do Cerrado são abordadas neste trabalho: *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil) Baiil. (Ochnaceae); conhecida por suas inflorescências ressecadas, facilmente vistas em campo, que lhe conferem o nome popular de vassoura-de-bruxa (Lorenzi, 2014) e *Styrax ferrugineus* Nees & Mart. (Styracaceae); conhecida como Laranjinha-do-cerrado (Silva Júnior, 2012). Ambas são espécies de fenologia sempre-verde, encontradas em áreas de cerrado típico e cerradão (Oliveira, 2005) e conhecidas por sua associação com fungos (Armando, 2014; de Souza, 2017; dos Reis et al., 2023). *Styrax ferrugineus* é facilmente reconhecida em campo devido a presença de manchas circulares causadas pela colonização de fungos liquenizados epifíticos como *Parmularia styracis* Lév. (Guatimosim et al., 2015).

Os estudos com *O. hexasperma* se concentram em trabalhos sobre interações planta-artrópode e fitoquímica (de Araújo et al., 2011; Fidelis et al., 2014; Henriques, 1999; Pires et al., 2020). Investigações fitoquímicas foram realizadas nas folhas, inflorescência, caule e raiz, sendo a maior parte dos metabólitos identificados como compostos fenólicos, especialmente flavonoides (Daniel et al., 2005; de Carvalho et al., 2008; Suzart et al., 2012). *Ouratea hexasperma* tem uma literatura relativamente ampla no que diz respeito ao isolamento e identificação de metabólitos que despertam interesse por sua ação antioxidante, antimicrobiana e citotóxica (Fidelis et al., 2014, 2019), inclusive com a descrição de novos compostos (Moreira et al., 1994).

Em estudos sobre a fitoquímica de *S. ferrugineus* foram encontradas ações antifúngicas e antibacterianas nos extratos de folhas (Pauletti et al., 2000). Embora outras espécies do gênero sejam mais estudadas no que diz respeito à produção de metabólitos (Pauletti et al., 2006; Yusof et al., 2014), há relatos de compostos extraídos de seus frutos com resultados promissores para a pesquisa de drogas anticancerígenas (Silva et al., 2016).

CAPÍTULO 1 – EFEITOS DA ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO NA COMUNIDADE FILOSFÉRICA FÚNGICA DE ESPÉCIES LENHOSAS DO CERRADO

1.1 INTRODUÇÃO

A superfície aérea das plantas terrestres representa uma área estimada de 640 milhões km² (Morris & Kinkel, 2002), sendo os tecidos aéreos fotossintéticos uma das maiores áreas habitáveis do planeta. Devido à grande extensão e diversidade de biomas que ocupam, as folhas são ambientes muito heterogêneos (Andrews & Harris, 2000), o que possibilita uma alta diversidade de hospedeiros aos microrganismos.

Trabalhos que avaliaram as comunidades filosféricas em áreas naturais mostram que elas são extremamente variáveis entre espécies vegetais e que a distância genética entre as plantas hospedeiras prediz mais sobre a comunidade fúngica do que a distância geográfica (Cordier et al., 2012). No estudo de Lambais et al. (2006), que avaliou a diversidade bacteriana de espécies arbóreas da Mata Atlântica, apenas 0,5% das espécies de bactérias encontradas na filosfera eram comuns a todas as espécies de árvores avaliadas.

Associada à identidade taxonômica do hospedeiro, outros fatores irão atuar na regulação da comunidade filosférica. A concentração de diferentes elementos nas folhas (Yadav et al., 2015), aspectos físicos, como a maior presença de tricomas que facilitam a fixação e o estabelecimento dos microrganismos (Kim, 2019), a ação do vento e da chuva que removem microrganismos da superfície foliar (Lindemann & Upper, 1985) e as características funcionais das folhas (Lajoie et al., 2020).

No estudo desenvolvido por Wright et al. (2004) foram observados dados de características foliares de 2.548 espécies de plantas e descrito pela primeira vez um espectro de economia foliar em escala global. O trabalho considerou características químicas, estruturais e fisiológicas das diferentes espécies e avaliou como essas características se relacionam com o investimento em produção de folhas novas, produção de compostos de defesa e absorção de nutrientes. Na extremidade do espectro estão espécies com altas concentrações de nutrientes nas folhas, altas taxas de fotossíntese e respiração, curto tempo de vida útil das folhas e baixo investimento de massa seca por área foliar. Na outra extremidade estão espécies com espectro mais conservativo, com folhas de vida longa, construção de folhas com alta massa foliar por área, menor concentração de nutrientes e baixas taxas de fotossíntese e respiração (Wright et al., 2004).

Outro fator determinante na montagem das comunidades filosféricas são as condições edáficas (Debray et al., 2022; Xiang et al., 2020). Embora a maior parte dos estudos investiguem como o solo influencia comunidades presentes na rizosfera, a comunidade microbiana da parte aérea das plantas também é afetada por diferenças químicas do solo (Hartman et al., 2018; Trivedi et al., 2020), sendo este um dos primeiros reservatórios de espécies para colonizar as folhas (Sohrabi et al., 2023).

A adição de nutrientes no solo afeta a concentração de nutrientes foliares como fósforo, cálcio, enxofre e magnésio (Mello, 2019), assim como a razão N:P de diferentes espécies vegetais (Jacobson, 2009). Tais mudanças afetam as principais variáveis que moldam a montagem das comunidades filosféricas, podendo ter efeitos positivos, como o aumento da biodiversidade de espécies filosféricas (Zhu et al., 2022), mas também efeitos negativos, como a diminuição de genes funcionais envolvidos no metabolismo energético dos microbiomas da filosfera (Khoiri et al., 2021).

A microbiota filosférica é dominada por fungos e bactérias, porém, há menos informações sobre fungos filosféricos na literatura em comparação com bactérias (Vorholt, 2012) e, durante muitos anos, despertaram interesse apenas por sua patogenicidade em plantas (Keen, 2000). Hoje são conhecidos por sua importância na composição do microbioma vegetal (especialmente endofítico) podendo atuar, inclusive, na proteção de seus hospedeiros contra doenças (Arnold et al., 2003; Ritpitakphong et al., 2016).

Florestas tropicais sustentam uma alta diversidade de fungos associados às folhas (Arnold et al., 2003; Fröhlich & Hyde, 1999). Algumas dessas comunidades seguem o padrão de gradiente latitudinal de biodiversidade, possuindo uma maior riqueza em florestas tropicais e uma gradativa diminuição da riqueza conforme o aumento da latitude (Arnold & Lutzoni, 2007; Kembel & Mueller, 2014).

Em sistemas tropicais foram identificados representantes dos filos Basidiomycota, Chytridiomycota e Blastocladiomycota, representando menos de 20% da riqueza da comunidade (Jumpponen & Jones, 2010; Kembel & Mueller, 2014; Yao et al., 2019). O filo mais abundante é Ascomycota, compondo mais de 75% da comunidade fúngica (Abdelfattah et al., 2015; Gomes et al., 2018). As classes mais comuns são Sordariomycetes, Dothideomycetes e Eurotiomycetes. Para todas essas classes há relatos de fungos tanto endofíticos como epifíticos, indicando uma sobreposição entre as comunidades (Kembel & Mueller, 2014). Duas famílias dominantes são Davidiellaceae (Dothideomycetes) e Pleosporaceae (Dothideomycetes), ambas possuem espécies com hifas e esporos melanizados (Gomes et al., 2018), o que confere maior tolerância à radiação UV.

Dois conjuntos de fatores se correlacionam com a estrutura das comunidades de fungos filosféricos. O primeiro é a área foliar específica (AFE) e a concentração de nitrogênio e potássio foliar (Kembel & Mueller, 2014), associados às espécies vegetais que possuem um espectro de economia foliar mais conservativo (Wright et al., 2004), apresentando baixa taxa de absorção de recursos, maior tempo de vida das folhas e maior investimento em defesas estruturais. O segundo conjunto de fatores diz respeito às taxas de crescimento e mortalidade das espécies hospedeiras e maior concentração de alumínio nas folhas. Essa última variável foi a que mais contribuiu com a previsão da composição da micobiota em florestas tropicais, podendo atuar como um filtro ecológico, selecionando espécies de fungos tolerantes às concentrações mais elevadas desse elemento (Kembel & Mueller, 2014).

No que diz respeito ao solo, a maior parte dos estudos se dá com espécies vegetais de cultivo, onde a entrada de nutrientes leva a uma seleção de grupos que ocupam as folhas (Debray et al., 2022; Karlsson et al., 2017). Poucos estudos foram feitos com fungos filosféricos em sistemas naturais e diferentes condições do solo. No trabalho de dos Reis (2022), ao observar fungos endofíticos de duas espécies lenhosas do Cerrado, diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo levaram à uma alteração na equitabilidade das comunidades, com o tratamento com calagem reduzindo a riqueza de espécies e aumentando a abundância de grupos mais generalistas.

O Brasil está entre os países mais biodiversos do mundo (Lewinsohn & Prado, 2005), possuindo dois *hotspots* globais para a conservação da biodiversidade – Mata Atlântica e Cerrado (Myers et al., 2000). Ambos os biomas apresentam uma elevada riqueza de microrganismos associados à espécies vegetais (dos Reis et al., 2023; dos Santos et al., 2016; Hernández-Gutiérrez et al., 2014, 2015) e, durante os últimos anos, há um esforço em documentar e compreender as comunidades bacterianas filosféricas que habitam a Mata Atlântica (Lambais et al., 2014, 2017; Rigonato et al., 2016).

O primeiro trabalho realizado na Mata Atlântica, com foco na comunidade filosférica, foi feito por Lambais et al. (2006) os quais encontraram uma elevada riqueza de bactérias, variando de 95 a 671 espécies por comunidade. Dentre todas as espécies, 97% não estão descritas, sugerindo que poderiam ser exclusivas da filosfera. Com essa primeira descrição da comunidade, os autores apontam a importância de estudos iniciais como oportunidade para pesquisas posteriores que investiguem a capacidade metabólica e funções ecológicas dos microrganismos filosféricos. Os estudos sobre microrganismos no Cerrado, em sua maioria, estão voltados para o solo (de Araujo et al., 2017; de Castro et al., 2016; Silveira et al., 2021a), tanto de áreas naturais quanto de áreas cultivadas (Bresolin et al., 2010; Ferreira et al., 2013; Rachid et al., 2013). Porém,

mesmo com o crescimento exponencial do conhecimento sobre a biodiversidade do Cerrado nas duas últimas décadas, ainda há uma escassez de estudos envolvendo microrganismos (Colli et al., 2020).

Diversos trabalhos que abordam a filosfera de espécies arbóreas do Cerrado foram realizados na Universidade de Brasília (UnB); entretanto, a maior parte deles teve como objetivo a taxonomia e relações filogenéticas de alguns grupos de fungos (de Castro, 2012; de Souza, 2017; Souza, 2011; Zambriano, 2016), ou bioprospecção (Carvalho et al., 2012; Parpinelli et al., 2017; Vieira et al., 2014). No Cerrado há uma estimativa que para cada espécie de planta existam, pelo menos, 25 espécies de fungos (Dianese, 2000). Somente em pesquisas desenvolvidas na Coleção Micológica do Herbário da UnB, entre os anos de 1993 e 2016, foram descritas 144 novas espécies e gêneros de fungos associados às espécies do Cerrado (de Souza, 2016). A maior parte desses estudos foram feitos utilizando técnicas dependentes do cultivo, que apresenta limitações pois não traz um real panorama da diversidade presente no hospedeiro (Amann et al., 1995; Takaku et al., 2006).

Após o trabalho de Yang et al. (2001), várias técnicas de sequenciamento começaram a ser aplicadas em investigações acerca da diversidade filosférica (Thapa & Prasanna et al., 2018). Para identificação ao nível de espécie, a região do DNA do *internal transcribed spacer* (ITS) é a mais indicada para o sequenciamento (Raja et al., 2017), sendo escolhida como o DNA *barcode* oficial para fungos (Hibbett et al., 2007). Por ser facilmente amplificada, apresentar uma grande variação interespecífica e de uso generalizado em estudos com DNA ambiental, há um grande número de sequências disponíveis em bancos de dados para a atribuição taxonômica das espécies encontradas (Schoch et al., 2012). Apesar do grande esforço na descrição de fungos em hospedeiros vegetais, apenas um trabalho foi realizado com o DNA ambiental da filosfera fúngica de espécies de plantas nativas do Brasil (Fonseca et al., 2022); portanto, conhecemos pouco sobre a composição dessas comunidades e quais fatores a moldam.

Um estudo mais abrangente, buscando caracterizar e comparar a comunidade filosférica fúngica de diferentes espécies hospedeiras sob condições diversas do solo ainda não foi realizado no Cerrado. Estudos com essa abordagem, são importantes para agregar conhecimento sobre os organismos que habitam não só o bioma, mas a filosfera, negligenciada durante muitos anos (Leveau, 2019; Whipps et al., 2008). Estudos desse tipo são a base para compreender como a interação planta-microrganismo ocorre e qual o impacto desta sobre as funções ecossistêmicas.

1.2 OBJETIVOS E HIPÓTESES

1.2.1 OBJETIVO GERAL E HIPÓTESES

Mudanças no solo levam a alterações nas concentrações de nutrientes foliares (Jacobson, 2009; Mello, 2019) e essas mudanças estão relacionadas com a perda de diversidade nas comunidades fúngicas endofíticas (dos Reis, 2022). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi descrever as comunidades filosféricas fúngicas de duas espécies lenhosas do Cerrado e determinar se a adição de nutrientes no solo alterava essas comunidades. Com base em estudos anteriores, utilizando o experimento de fertilização de longo prazo mencionado, foi realizado o sequenciamento da região ITS1 de fungos da filosfera de ambas as hospedeiras e coletados dados da concentração de nutrientes foliares e área foliar específica (AFE).

Um dos fatores que regulam as comunidades microbianas filosféricas é o espectro de economia foliar das espécies hospedeiras (Bashir et al., 2022; Kembel & Mueller, 2014). Espécies sempre-verdes possuem folhas de vida mais longa, com menor concentração de nutrientes foliares e maior investimento de massa por área (Franco et al., 2005), podendo ser consideradas de um espectro mais conservativo. Portanto, nossa primeira hipótese (I) é que as comunidades filosféricas de ambas as espécies hospedeiras, no tratamento controle, terão os mesmos grupos fúngicos, ao nível de ordem, dominando a filosfera (abundância > 70%).

Outro filtro ambiental que seleciona os grupos de fungos que colonizam a filosfera de espécies tropicais é a concentração de Al foliar (Kembel & Mueller, 2014), que muitas vezes tem efeito fitotóxico e está presente em níveis elevados nos solos do Cerrado (Reatto et al., 2008; Seguel et al., 2013). Assim, a nossa segunda hipótese prediz (II) que nos tratamentos em que as plantas hospedeiras apresentarem menor concentração de Al foliar haverá maior diversidade de espécies fúngicas na filosfera.

O pH do solo e a disponibilidade de nutrientes são significativamente alterados pela calagem em solos naturais do Cerrado (Silveira et al. 2021b), apresentando uma proeminente mudança na presença de elementos tóxicos e disponibilidade de nutrientes para as plantas (Jacobson, 2009). Tais mudanças refletem na variação da concentração de nutrientes foliares de *O. hexasperma* (dos Reis, 2022) e *S. ferrugineus* (Martins, 2019), quando comparados entre controle e o tratamento calagem. Sabendo que a composição da comunidade filosférica é influenciada pela concentração de nutrientes foliares (Darlison et al., 2019), a nossa terceira hipótese (III) é que ambas as espécies hospedeiras, que crescem em parcelas submetidas à calagem, terão uma maior frequência de gêneros diferencialmente abundantes, em relação ao controle e demais tratamentos.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a comunidade filosférica fúngica associada à duas espécies lenhosas do Cerrado, sob diferentes tratamentos de fertilização do solo;
- Comparar o efeito dos diferentes tratamentos de fertilização do solo na diversidade filosférica das plantas hospedeiras;
- Determinar quais variáveis das folhas afetam a diversidade filosférica fúngica nos diferentes tratamentos de fertilização do solo.

1.3 MATERIAL E MÉTODOS

1.3.1 ÁREA DE ESTUDO

As coletas foram feitas em uma área de cerrado *stricto sensu*, localizada na Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE), no Brasil central (15° 56' S; 47° 53' N). Esta reserva se encontra na Área de Proteção Ambiental (APA) Gama e Cabeça de Veado, possuindo mais de 10.000 hectares de proteção ambiental contínua. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é tropical com inverno seco (Aw), com uma distribuição sazonal da chuva (Alvares et al., 2013). A estação seca ocorre de abril a setembro e a estação chuvosa ocorre nos meses de outubro a março, com precipitação média anual em torno de 1.450 mm, temperatura média de 22 °C e umidade relativa do ar variando entre estações, podendo chegar a 80% nos meses de chuva e abaixo dos 20% no auge da estação seca (Cavararo, 2004).

O cerrado *stricto sensu* é caracterizado pela presença contínua de gramíneas, junto com o estrato arbóreo e arbustivo, com cobertura lenhosa variando de 10% a 60% (Eiten, 1994). A área possui solo do tipo Latossolo Vermelho sendo bem drenado, profundo, com pH ácido, elevada quantidade de óxidos de ferro e alumínio, porém limitado em nutrientes como o fósforo (EMBRAPA, 2006).

1.3.2 EXPERIMENTO DE ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO

O projeto fertilização teve início no ano de 1998 (Kozovits et al., 2007), com aplicações bianuais de nutrientes no solo até 2006, sendo retomada em novembro de 2017 e aplicação posterior em março de 2018. A aplicação de fertilizantes se deu da seguinte forma: Tratamento nitrogênio (N): adição de 100 kg/ha anuais de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄); tratamento fósforo (P): adição 100 kg/ha anuais de superfosfato simples 20% - Ca (H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; tratamento nitrogênio e fósforo (NP): adição de sulfato de amônio e superfosfato simples 20%;

tratamento calagem (Ca): adição de 4 t/ha ao ano, na forma de 60% de calcário dolomítico (CaO+MgO) + 40% de gesso agrícola (CaSO₄.2H₂O) e controle (C) onde não houve adição de nutrientes. A aplicação dos fertilizantes foi feita a lanço sobre a camada de serapilheira e sem revolvimento do solo. A adição de cálcio foi feita apenas no início da estação chuvosa pois, antes da retomada da adição de nutrientes em 2017, foi realizada uma análise do solo e ainda havia efeito residual da última calagem feita em 2006. Cada um dos cinco tratamentos estão representados em quatro parcelas de 15 x 15 m distribuídas de forma aleatória e com distância mínima entre elas de 10 metros (Jacobson, 2009; Kozovits et al., 2007).

Antes do início do experimento em 1998, as parcelas não diferiam em termos de química do solo e estrutura da vegetação (Kozovits et al., 2007). Em 2015, após 9 anos sem adições de nutrientes, as parcelas fertilizadas apresentaram diferenças no pH e maior fósforo residual nos tratamentos NP e P. Maiores concentrações de Ca²⁺ e Mg²⁺ trocáveis e baixas concentrações de Al³⁺ foram observadas no tratamento calagem (Mello, 2019). Esses dados mostram o efeito residual das adições de nutrientes, que podem manter as diferenças no solo mesmo depois de quase uma década sem novas adições. Em 2018, quando a fertilização foi retomada, as diferenças anteriormente observadas foram exacerbadas. O pH do solo foi menor em todos os tratamentos em relação ao controle, exceto no tratamento com calagem, que apresentou pH mais elevado. A concentração de fósforo disponível no solo foi maior nos tratamentos NP e P (Silveira et al., 2021b). Em 2021, após 3 anos sem novas adições de nutrientes, as diferenças encontradas anteriormente foram mantidas (dados não publicados) (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades do solo (0-10 cm) em diferentes tratamentos e três anos de amostragem (2015, 2018 e 2021), coletados na área do projeto fertilização na Reserva Ecológica do IBGE, Brasil central. Os resultados são expressos como valores médios \pm desvio padrão. Para 2018 e 2021, as diferenças significativas são representadas por letras diferentes ($p < 0,05$). Tratamentos: Controle, calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio e fósforo (NP) e fósforo (P). CTC = capacidade de troca catiônica. Dados obtidos de: Mello, 2019 e Silveira et al., 2021b

Ano	Tratamento	P disponível (mg/dm ³)	K (mg/dm ³)	Ca ²⁺ (cmolc/dm ³)	Mg ²⁺ (cmolc/dm ³)	Al ³⁺ (cmolc/dm ³)	pH	CTC (cmolc/dm ³)
2015	Controle	0,78 \pm 0,17	28,25 \pm 7,32	0,11 \pm 0,04	0,07 \pm 0,01	1,03 \pm 0,36	4,94 \pm 0,16	-
2015	Ca	1,93 \pm 0,91	12,75 \pm 1,71	5,01 \pm 1,00	3,22 \pm 0,77	0,00 \pm 0,00	6,56 \pm 0,26	-
2015	N	0,83 \pm 0,17	22,25 \pm 4,57	0,13 \pm 0,04	0,07 \pm 0,01	1,53 \pm 0,26	4,61 \pm 0,10	-
2015	NP	11,05 \pm 0,97	22,75 \pm 7,41	0,12 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	1,48 \pm 0,15	4,59 \pm 0,06	-
2015	P	13,75 \pm 6,77	28,50 \pm 3,00	0,24 \pm 0,07	0,09 \pm 0,02	1,28 \pm 0,25	5,00 \pm 0,09	-
2018	Controle	1,77 \pm 0,40 ^a	31,67 \pm 2,52 ^a	0,21 \pm 0,01 ^{ac}	0,12 \pm 0,01 ^a	0,97 \pm 0,20 ^a	4,73 \pm 0,20 ^a	1,38 \pm 0,19 ^a
2018	Ca	0,73 \pm 0,35 ^a	10,67 \pm 2,31 ^b	4,62 \pm 0,18 ^b	2,77 \pm 0,15 ^b	0,00 \pm 0,00 ^b	6,24 \pm 0,11 ^b	7,42 \pm 0,27 ^b
2018	N	1,23 \pm 0,12 ^a	22,67 \pm 4,16 ^c	0,15 \pm 0,03 ^c	0,08 \pm 0,02 ^a	1,35 \pm 0,17 ^{ac}	3,74 \pm 0,07 ^c	1,64 \pm 0,22 ^{ac}
2018	NP	7,53 \pm 3,23 ^b	27,67 \pm 3,51 ^{ac}	0,46 \pm 0,15 ^a	0,14 \pm 0,09 ^a	1,46 \pm 0,17 ^c	3,72 \pm 0,13 ^c	2,12 \pm 0,12 ^c
2018	P	6,93 \pm 3,17 ^b	26,67 \pm 3,06 ^{ac}	0,28 \pm 0,07 ^{ac}	0,10 \pm 0,03 ^a	1,13 \pm 0,25 ^{ac}	4,10 \pm 0,08 ^d	1,58 \pm 0,27 ^{ac}
2021	Controle	0,13 \pm 0,15 ^a	19,75 \pm 5,91 ^a	0,02 \pm 0,02 ^a	0,05 \pm 0,02 ^a	1,17 \pm 0,21 ^a	5,07 \pm 0,16 ^a	1,29 \pm 0,26 ^a
2021	Ca	0,73 \pm 0,22 ^a	8,5 \pm 1,00 ^b	4,68 \pm 0,69 ^b	2,92 \pm 0,29 ^b	0 \pm 0,00 ^b	6,65 \pm 0,31 ^b	7,62 \pm 0,87 ^b
2021	N	0,15 \pm 0,17 ^a	17 \pm 1,41 ^a	0,02 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,00 ^a	1,65 \pm 0,07 ^c	4,61 \pm 0,13 ^c	1,75 \pm 0,08 ^a
2021	NP	11,15 \pm 3,88 ^b	14 \pm 1,15 ^a	0,02 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a	1,5 \pm 0,17 ^{ac}	4,22 \pm 0,18 ^d	1,59 \pm 0,21 ^a
2021	P	13,65 \pm 9,90 ^b	16,25 \pm 4,57 ^a	0,06 \pm 0,04 ^a	0,04 \pm 0,02 ^a	1,29 \pm 0,22 ^{ac}	4,69 \pm 0,14 ^{ac}	1,43 \pm 0,27 ^a

1.3.3 ESPÉCIES SELECIONADAS

A partir dos dados do levantamento florístico do estrato arbustivo-arbóreo, feito na área em outubro de 2017 (dados não publicados), duas espécies dentre as mais abundantes foram selecionadas: *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Baill. (Ochnaceae) (representando 3,23% do total de indivíduos) e *Styrax ferrugineus* Nees & Mart (Styracaceae) (representando 4,71% do total de indivíduos), como espécies sempre-verdes de crescimento sazonal (Oliveira, 2005). Ambas foram escolhidas por serem espécies de fenologia sempre-verde, possibilitando coletas na estação seca; por possuírem, pelo menos, cinco indivíduos em cada um dos cinco tratamentos de adição de nutrientes; e por serem espécies conhecidas por sua associação com fungos (dos Reis et al., 2023; Guatimosim et al., 2015), sendo possível visualizar diferentes colônias que ocupam a filosfera. Para cada espécie foram selecionados, quando possível, indivíduos com circunferência do caule (à altura do solo) e altura semelhantes (Tabela Suplementar 1).

1.3.4 ÁREA DE COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As coletas foram feitas nos dias 29 e 30 de setembro de 2022, com 6 e 7 dias sem chuva. Considerando que a chuva influencia temporariamente a composição e atividade da comunidade filosférica (Jackson et al., 2006), as coletas devem ocorrer em períodos com pelo menos 5 dias sem chuva para garantir a estabilidade da comunidade.

Para cada uma das espécies foram amostrados cinco indivíduos por tratamento (n= 50), onde folhas maduras e completamente expandidas foram removidas aleatoriamente, buscando fazer uma amostra representativa de toda a copa das árvores. As folhas foram removidas utilizando luvas cirúrgicas estéreis (troçadas após cada amostragem) e imediatamente colocadas em sacos plásticos estéreis e armazenadas em caixa térmica com gelo, por até 12 horas até o processamento das amostras. Em laboratório, 6 folhas de cada indivíduo foram digitalizadas (Epson Perfection V700 photo, 600 dpi) (n= 300), 10g de folhas de cada amostra foram utilizadas na remoção dos microrganismos filosféricos e todas as folhas coletadas foram secas em estufa a 40 °C até atingir peso constante e utilizadas posteriormente para análise de nutrientes foliares e obtenção de extratos (capítulo 2).

1.3.5 ANÁLISES MOLECULARES

1.3.5.1 REMOÇÃO E EXTRAÇÃO DE DNA

As folhas utilizadas para a remoção da microbiota foram tratadas em até 12 horas após a coleta, seguindo a metodologia descrita por Yang et al., (2001) com modificações. Resumidamente, 10g de folhas de cada indivíduo (n=50) foram colocados em tubos Falcon estéreis (50ml), submergidas em uma solução tampão PBS (1X, pH 7,4) e sonicadas por 10 minutos em um banho ultrassônico para que os microrganismos se desprendessem das folhas. Após a sonicação, as folhas foram removidas e a solução tampão com os microrganismos foi centrifugada a 3.600 RPM por 15 minutos. O pellet gerado na centrifugação foi ressuscitado utilizando o kit DNeasy Blood & Tissue™ e utilizado para a extração do eDNA (*environmental DNA*) contido na superfície das folhas. O eDNA extraído foi avaliado por eletroforese a 60V por 40 minutos em gel de agarose 1%, corado com Gelred™ e visualizado em luz ultravioleta, posteriormente foi feita a quantificação do material extraído utilizando um Espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Scientific™).

1.3.5.2 AMPLIFICAÇÃO POR PCR E SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

A etapa de amplificação foi realizada para selecionar as amostras a serem enviadas para o sequenciamento, a fim de garantir que essas amostras estavam sendo amplificadas com sucesso na região de interesse, uma vez que: a quantidade de DNA que se obtém da filosfera é naturalmente baixa; e a amplificação do ITS de amostras de DNA ambiental podem ser complexas de amplificar (Lambais, 2022).

Para a seleção das amostras, foi realizada a amplificação da região ITS1-5.8S-ITS2 utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR, na sigla em inglês), com o uso dos

primers 2234C (*Forward* 5'GTTTCCGTAGGTGAACCTGC'3) e 3126T (*Reverse* 5'ATATGCTTAAGTTCAGCGGGT'3) (Sequerria et al., 1997). A reação de PCR foi realizada em volume de 25 µL contendo 12,5 µL de MyTaq Mix (Bioline), 0,6 µL de cada primer (10 µM), 1 µL do eDNA extraído e 10,3 µL de água deionizada ultrapura. A amplificação se inicia com a desnaturação a 95 °C por 2 minutos, seguida de 33 ciclos com desnaturação a 95 °C por 1 minuto, anelamento a 56,7 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 1 minuto, com extensão final a 72 °C por 5 minutos. As amplificações foram realizadas para todas as amostras, de ambas as espécies (n= 50). Foi incluído um controle negativo (amostra sem eDNA) no processo de amplificação para validar os resultados e garantir que não havia contaminação em nenhum dos reagentes.

Ao término das amplificações, 3 µL dos produtos de PCR foram corados com 3 µL de Gelred™, aplicados em gel de agarose 1%, submetidos a eletroforese a 90 V por 35 minutos e visualizados sob luz ultravioleta. A presença de fragmentos maiores que 500 pb foi determinada por biomarcador de 1kb. Os resultados foram utilizados para determinar as 3 amostras por tratamento a serem enviadas para o sequenciamento, com base no sucesso da amplificação da região de interesse e quantidade de material vegetal para a produção de extratos (capítulo 2).

1.3.5.3 SEQUENCIAMENTO

Trinta amostras de eDNA foram enviadas para sequenciamento pela empresa Macrogen Inc. (Seoul, South Korea), sendo 3 amostras para cada tratamento de fertilização do solo, para ambas as espécies lenhosas. Para a preparação das bibliotecas um teste de controle de qualidade foi realizado pela empresa, para garantir que as amostras estavam aptas a serem sequenciadas. As bibliotecas foram construídas a partir da amplificação da região alvo ITS1 utilizando os primers ITS1 (*Forward* 5'CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA'3) e ITS2 (*Reverse* 5'GCTGCGTTCTTCATCGATGC'3) (White et al., 1990), usados comumente para estudar comunidades fúngicas a partir de amostras de eDNA, com ITS1 amplificando mais Basidiomycota e ITS2 (seu complementar) direcionado a amplificar Ascomycota (Bellemain et al., 2010). O sequenciamento foi realizado na plataforma *Illumina Next Generation Sequencer* MiSeq PE300.

Todo o processamento dos dados brutos foi realizado no pacote DADA2 (versão 1.28.0), do programa estatístico R (Callahan et al., 2016). Devido a grande variação nos comprimentos das sequências geradas na amplificação da região ITS1 (Yang et al., 2018), o primeiro passo foi a remoção dos primers dos dados de sequenciamento com o uso da ferramenta *cutadapt*. Em seguida, as amostras foram filtradas pela qualidade da sequência Phred > 20%, número de “erros

esperados” em uma leitura (Bokulich et al., 2013) e tamanho mínimo de 50pb, para eliminar sequências falsas de comprimento muito baixo. As sequências *forward* e *reverse* foram emparelhadas em uma única leitura e foi gerada uma tabela com ASVs (*amplicon sequence variants*), uma versão de mais alta resolução da tabela de Unidade Taxonômica Operacional (OTU, na sigla em inglês), capaz de diferir sequências com um único nucleotídeo de diferença (Callahan et al., 2016). Em seguida, foi feita a remoção das *chimeras* e, a partir da tabela de ASVs, foi gerada uma tabela de OTUs para a atribuição taxonômica utilizando o banco de dados UNITE, através do método *assignTaxonomy* (Abarenkov et al., 2022) com grau de similaridade > 70%.

1.3.6 ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA E ANÁLISE DE NUTRIENTES FOLIARES

As imagens das folhas digitalizadas logo após as coletas foram processadas no programa R (https://github.com/ThiagoRBM/Corte_calculo_area_foliar), com um script que binariza e corta cada folha presente na imagem digitalizada para calcular a área foliar. Após a secagem na estufa, estas mesmas folhas foram pesadas para determinar o valor da área foliar específica (AFE) (área foliar/massa foliar seca).

Para as análises de nutrientes foliares, as folhas secas foram pulverizadas e parte do material foi enviado ao laboratório de Análise de solo, tecido vegetal e fertilizante da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Um processo de digestão nítrico perclórica foi realizada para avaliação dos teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al) e enxofre (S), seguido da quantificação utilizando um espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP- OES; Perkin Elmer Modelo Optima 8300 DV). Os teores de nitrogênio (N) foram avaliados por digestão sulfúrica e quantificação pelo método de Kjeldahl.

1.3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram feitas no programa estatístico R (versão 4.3.1). Para testar a normalidade dos dados foi feito um teste Shapiro-Wilk. Para avaliar como os tratamentos afetaram a concentração de nutrientes foliares e a AFE, em relação ao controle, foi realizada uma ANOVA-one way e um pós teste de Tukey HSD. Uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada para verificar como os tratamentos se distribuem em função das concentrações de nutrientes foliares e AFE.

Os dados de abundância relativa dos fungos filosféricos, em diferentes níveis taxonômicos e seus respectivos gráficos, foram feitos a partir dos pacotes *phyloseq* (versão 1.44.0) (McMurdie & Holmes, 2013), *microbiome* (versão 1.22.0) (Lahti & Shetty, 2012-2019)

e ggplot2 (versão 3.4.2). As análises de diversidade alfa foram feitas utilizando o pacote *vegan* (versão 2.6.4) para o cálculo da riqueza observada, índice de diversidade de Shannon e equitabilidade de Pielou. A partir dos resultados de cada análise foram realizadas 5.000 permutações e, em seguida, os dados de cada tratamento foram comparados em relação ao controle, considerando o intervalo de confiança de 95% (Ho et al., 2018). Para as análises de beta diversidade, as amostras foram inicialmente filtradas pela sua abundância e prevalência, foram mantidas apenas OTUs com pelo menos 5 contagens e que estavam presentes em ao menos duas amostras. Assim, dados espúrios provenientes de variáveis de baixa qualidade ou não informativas foram removidos e mantidos aqueles com real efeito na comunidade (McMurdie & Holmes, 2013; Tijss et al., 2020). Após a filtragem dos dados, as leituras foram normalizadas através da normalização pela soma total. Para avaliar a distribuição das comunidades filosféricas entre os tratamentos, para ambas as espécies hospedeiras, foi realizada uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis, seguida de uma PERMANOVA. Uma análise Canônica de coordenadas principais (CAP) baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, foi realizada para avaliar quais variáveis foram responsáveis pela separação das comunidades filosféricas entre os tratamentos, seguida de uma ANOVA permutacional com 999 permutações para calcular a significância dos resultados ($p < 0,05$).

O pacote *microeco* (versão 0.20.0) (Liu et al., 2021) foi utilizado para avaliar a distribuição das OTUs através de um diagrama de Venn, com o número de OTUs únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes. Para a abundância diferencial, foi realizada uma análise de espécies indicadoras com 9.999 permutações, utilizando o pacote *indicspecies* (versão 1.7.14) para identificar gêneros diferencialmente abundantes associados a um tratamento. A abordagem sugerida por De Cáceres et al. (2010) traz o conceito de espécie indicadora associada a um valor indicador (IndVal), que prediz o quanto cada espécie está associada a um grupo/tratamento ou a combinação destes. Para a atribuição dos grupos funcionais dos gêneros de fungos encontrados, para ambas as espécies hospedeiras, foi utilizado o banco de dados *FungalTraits* (Pöhlme et al., 2020). Através dos dados disponibilizados, utilizando a categoria *Primary lifestyle*, foram feitas as designações de grupos funcionais e gráficos de distribuição destes grupos para cada tratamento de adição de nutrientes.

1.4 RESULTADOS

1.4.1 NUTRIENTE FOLIAR E ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA

A concentração de nutrientes foliares e AFE de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* estão ilustradas na Tabela 2. As concentrações foliares de N, K e Al, junto com a AFE, não diferiram significativamente entre o controle e os tratamentos, para ambas as espécies. A concentração foliar de S aumentou em todos os tratamentos quando comparados ao controle. Para *O. hexasperma*, a concentração de P foliar não diferiu em nenhum tratamento, enquanto para *S. ferrugineus* houve um aumento significativo nos tratamentos NP e P. Assim como a concentração de Ca foliar, que aumentou nos tratamentos calagem, NP e P, para ambas as espécies. A concentração de Mg foliar diminuiu significativamente nos tratamentos NP e P em *O. hexasperma* e aumentou no tratamento calagem para ambas as espécies.

Tabela 2. Valores de nutrientes foliares e área foliar específica (AFE), de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* para os tratamentos controle, calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Valores médios \pm desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre os tratamentos. One-way ANOVA ($p < 0,05$).

Tratamento	N (g/Kg)	P (g/Kg)	K (g/Kg)	Ca (g/Kg)	Mg (g/Kg)	S (g/Kg)	Al (mg/Kg)	AFE (cm ² /g)
<i>Ouratea hexasperma</i>								
Controle	11,32 \pm 1,31 ^a	0,50 \pm 0,05 ^a	2,93 \pm 0,60 ^a	6,84 \pm 1,42 ^a	1,95 \pm 0,35 ^c	0,70 \pm 0,11 ^b	102,40 \pm 29,30 ^a	67,32 \pm 8,22 ^a
Ca	12,02 \pm 1,68 ^a	0,64 \pm 0,12 ^a	3,52 \pm 1,15 ^a	7,31 \pm 1,61 ^a ^b	4,0 \pm 0,80 ^a	1,65 \pm 0,46 ^a	152,85 \pm 195,10 ^a	79,30 \pm 9,33 ^a
N	11,32 \pm 2,24 ^a	0,50 \pm 0,06 ^a	3,51 \pm 0,73 ^a	6,40 \pm 0,68 ^a	1,87 \pm 0,5 ^{bc}	1,41 \pm 0,41 ^a	90,62 \pm 24,69 ^a	68,98 \pm 9,14 ^a
NP	12,10 \pm 0,98 ^a	0,68 \pm 0,15 ^a	4,21 \pm 1,13 ^a	11,33 \pm 2,75 ^b	1,03 \pm 0,24 ^{bd}	1,64 \pm 0,31 ^a	90,28 \pm 22,20 ^a	77,40 \pm 9,48 ^a
P	11,26 \pm 1,70 ^a	0,71 \pm 0,29 ^a	3,84 \pm 1,03 ^a	11,19 \pm 3,24 ^b	0,7 \pm 0,30 ^d	1,67 \pm 0,11 ^a	93,72 \pm 47 ^a	70,35 \pm 6,11 ^a
<i>Styrax ferrugineus</i>								
Controle	11,71 \pm 1,83 ^a	0,6 \pm 0,09 ^a	2,82 \pm 0,68 ^a	4,9 \pm 0,37 ^b	1,46 \pm 0,14 ^b	0,73 \pm 0,10 ^b	312,18 \pm 236,40 ^a	49,47 \pm 4,20 ^a
Ca	10,06 \pm 0,98 ^a	0,55 \pm 0,05 ^a	1,91 \pm 0,42 ^a	10,52 \pm 2,39 ^a	7,56 \pm 1,76 ^a	1,78 \pm 0,43 ^a	186,60 \pm 42,79 ^a	57,23 \pm 10,76 ^a
N	10,32 \pm 0,97 ^a	0,54 \pm 0,02 ^a	2,33 \pm 0,37 ^a	4,50 \pm 0,47 ^b	1,97 \pm 0,38 ^b	1,67 \pm 0,50 ^a	214,34 \pm 24,00 ^a	51,16 \pm 5,67 ^a
NP	11,93 \pm 1,14 ^a	0,77 \pm 0,07 ^b	2,38 \pm 0,38 ^a	13,59 \pm 4,64 ^a	1,89 \pm 0,62 ^b	2,58 \pm 0,89 ^a	232,18 \pm 50,01 ^a	55,89 \pm 5,67 ^a
P	11,26 \pm 0,61 ^a	0,79 \pm 0,08 ^b	2,49 \pm 0,56 ^a	10,33 \pm 2,78 ^a	1,42 \pm 0,48 ^b	1,94 \pm 0,42 ^a	510,99 \pm 683,23 ^a	58,92 \pm 7,61 ^a

A concentração dos diferentes nutrientes foliares e AFE, para cada uma das espécies, foi analisada por uma PCA. Para *O. hexasperma* a porcentagem de explicação dos eixos é de 63%. O tratamento controle apresenta uma sobreposição com o tratamento N, onde ambos se relacionam com o Al foliar. Há uma evidente sobreposição dos tratamentos NP e P, onde estes se correlacionam com a concentração de Ca, K, Mn e P foliar. O tratamento com calagem é o mais distante dos demais, se correlacionando com a concentração de Mg foliar (Figura 2).

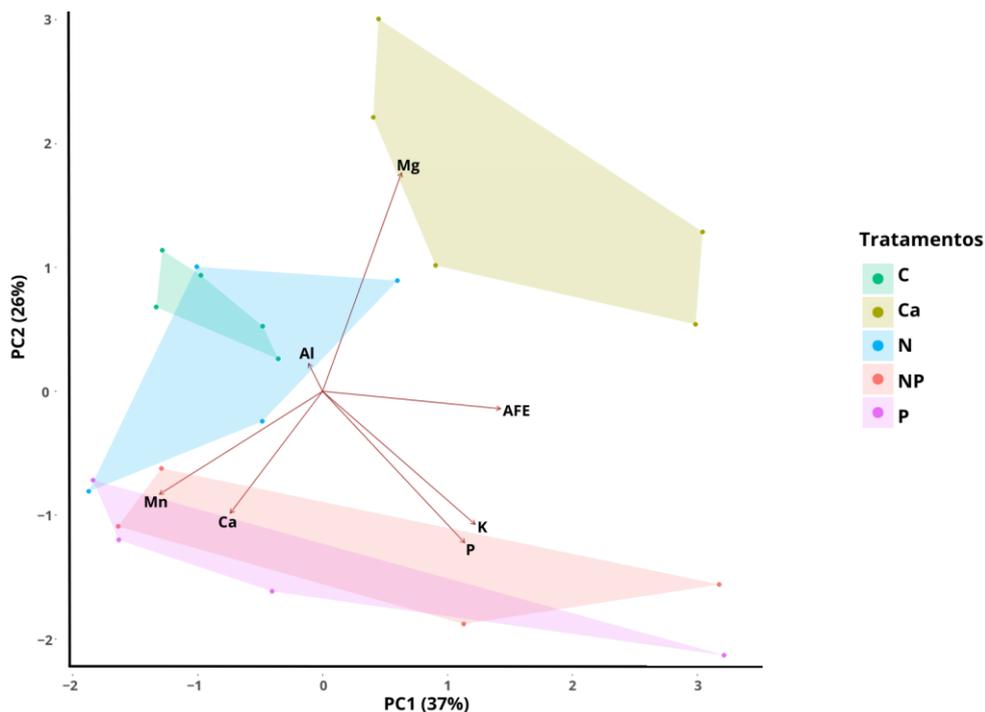


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) para concentração de nutrientes foliares e área foliar específica de *Oureatea hexasperma* nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 63% do total da variação. AFE: área foliar específica, Al: alumínio, Ca: cálcio, K: potássio, Mg: magnésio, Mn: manganês, P: fósforo. N e S foliar foram removidos da figura pois estavam correlacionados com P e Al foliar, respectivamente.

Para *S. ferrugineus* a explicação dos eixos chegou a 62%. Os tratamentos controle e N estão próximos, no mesmo quadrante, mas sem sobreposição e correlação com alguma variável foliar. Assim como para *O. hexasperma*, os tratamentos NP e P estão sobrepostos e se correlacionam com as concentrações de N, P, Mn foliar e AFE. O tratamento calagem também se correlacionou com Mg foliar e está em um quadrante diferente dos demais tratamentos (Figura 3).

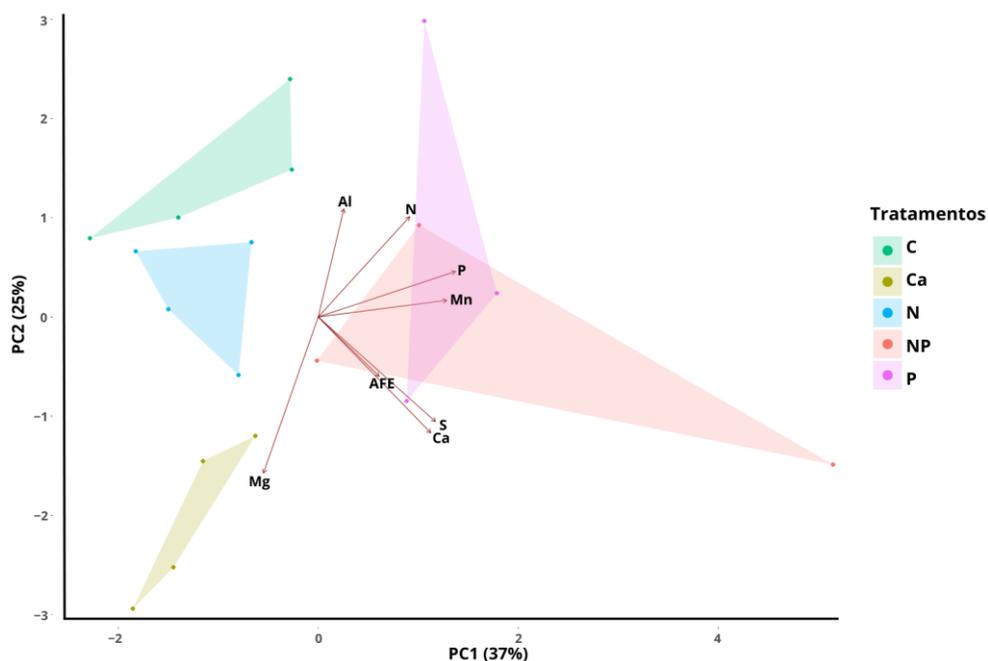


Figura 3. Análise de componentes principais (PCA) para concentração de nutrientes foliares e área foliar específica de *Styrox ferrugineus* nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 62% do total da variação. AFE: área foliar específica, Al: alumínio, Ca: cálcio, Mg: magnésio, Mn: manganês, N: nitrogênio, P: fósforo, S: enxofre. K foliar foi removido da figura pois estava correlacionado com Al foliar.

1.4.2 SEQUENCIAMENTO ITS1

A partir do sequenciamento da região ITS1 do eDNA de fungos filosféricos de ambas as espécies hospedeiras, em todos os tratamentos de adição de nutrientes e no controle, foram obtidas 1.796.048 sequências após a filtragem inicial dos dados. Dessas 54,87% (985.568) são sequências referentes aos fungos identificados em *O. hexasperma* e 45,13% (810.480) são sequências referentes aos fungos hospedados em *S. ferrugineus*.

Apesar do grande número de sequências, é importante salientar que nem todas as réplicas enviadas para sequenciamento puderam ser analisadas, devido a não detecção de produtos de PCR após a amplificação, realizada pela empresa Macrogen. Foram enviadas 3 amostras de cada tratamento e espécie hospedeira (n= 30), contudo, só foi possível realizar o sequenciamento de 23 dessas amostras (Tabela Suplementar 2). Para evitar comprometer a análise estatística do trabalho, para o tratamento NP de *O. hexasperma* (n= 1) foi realizada apenas a descrição dos fungos filosféricos com os dados de abundância relativa.

Após a etapa de atribuição taxonômica, foram encontradas 3.079 OTUs para *O. hexasperma*, com 2.569 OTUs classificadas pelo menos ao nível de filo. Estas OTUs estão divididas em 7 filos, 27 classes, 83 ordens, 218 famílias e 391 gêneros entre o total de amostras (n= 11). Ao nível de espécie, 805 OTUs foram classificadas. Para *S. ferrugineus* foram

encontradas 2.415 OTUs, sendo 2.128 OTUs classificadas com atribuição taxonômica pelo menos ao nível de filo. Estas OTUs estão divididas em 4 filios, 23 classes, 78 ordens, 166 famílias e 293 gêneros entre o total de amostras (n= 12); 627 OTUs foram classificadas ao nível de espécie.

1.4.3 CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE FILOSFÉRICA E ABUNDÂNCIA RELATIVA

O filo Ascomycota foi dominante em todos os tratamentos, para ambas as espécies hospedeiras, com valores de abundância acima de 89% (Figura 4; Figura 5). No tratamento controle a abundância relativa de Ascomycota foi de 97,3% para *O. hexasperma* e 98,4% para *S. ferrugineus*. Basidiomycota foi o segundo filo mais abundante para ambas as espécies, representando 10,6% de abundância relativa no tratamento N de *O. hexasperma*, mas com abundância relativa bem menos expressiva em *S. ferrugineus*, chegando a 3% no tratamento P. Embora outros filios tenham sido encontrados, sua abundância não chegou a 1% quando agrupados.

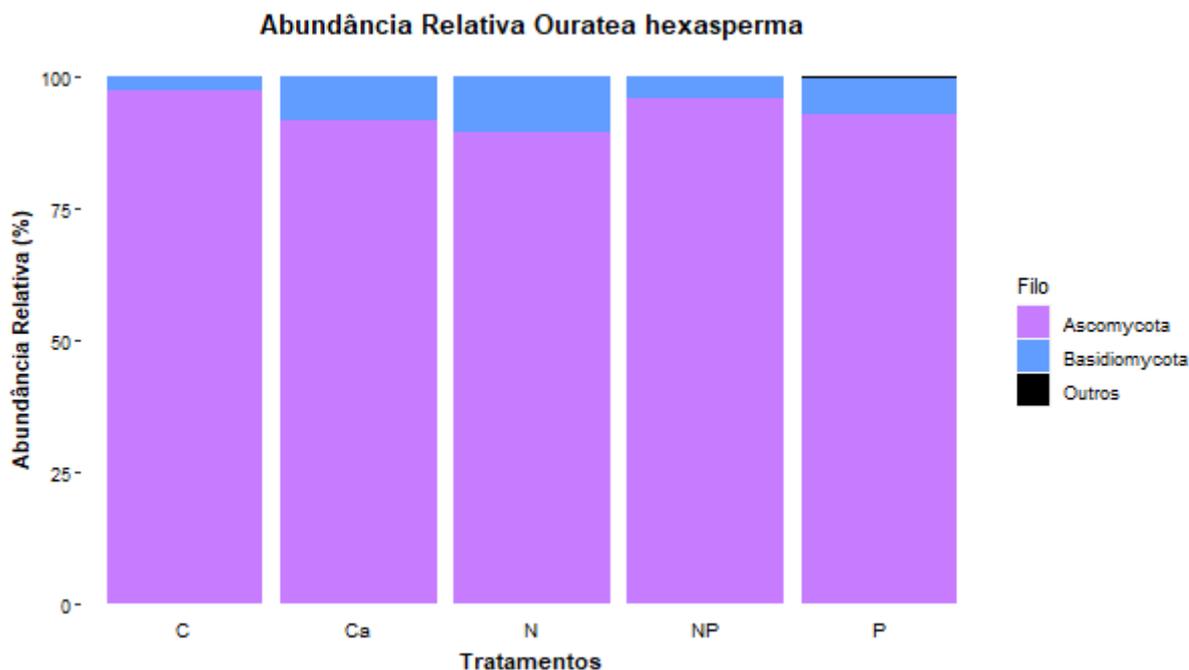


Figura 4. Abundância relativa dos Filios de fungos filosféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Filios com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

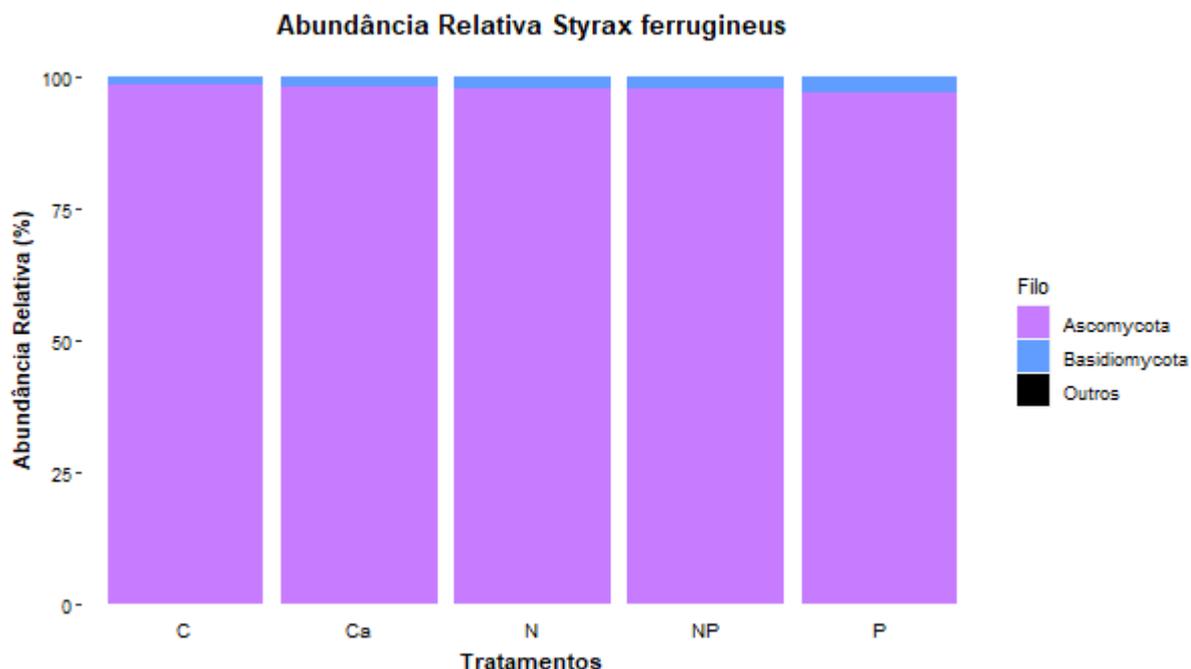


Figura 5. Abundância relativa dos Filos de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Filos com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

Dothideomycetes (91,3%), Eurotiomycetes (3,7%) e Sordariomycetes (1,9%) foram as classes de fungos filosféricos mais abundantes no tratamento controle de *O. hexasperma* (Figura 6). Nos demais tratamentos, outras classes apresentaram aumento na abundância relativa, como Tremellomycetes (5,3%), Cystobasidiomycetes (3,9%) e Agaricomycetes (1,5%) na calagem. No tratamento N, Dothideomycetes (80%), Tremellomycetes (10,1%), Sordariomycetes (3,4%) e Eurotiomycetes (2,5%) foram as classes mais abundantes. Nos tratamentos NP e P, as classes mais abundantes foram Dothideomycetes (> 80%), Eurotiomycetes, Tremellomycetes e Sordariomycetes.

Apesar da predominância de fungos filosféricos pertencentes ao filo Ascomycota, as classes Tremellomycetes, Cystobasidiomycetes e Agaricomycetes, que estão entre as mais abundantes nos tratamentos fertilizados, pertencem ao filo Basidiomycota.

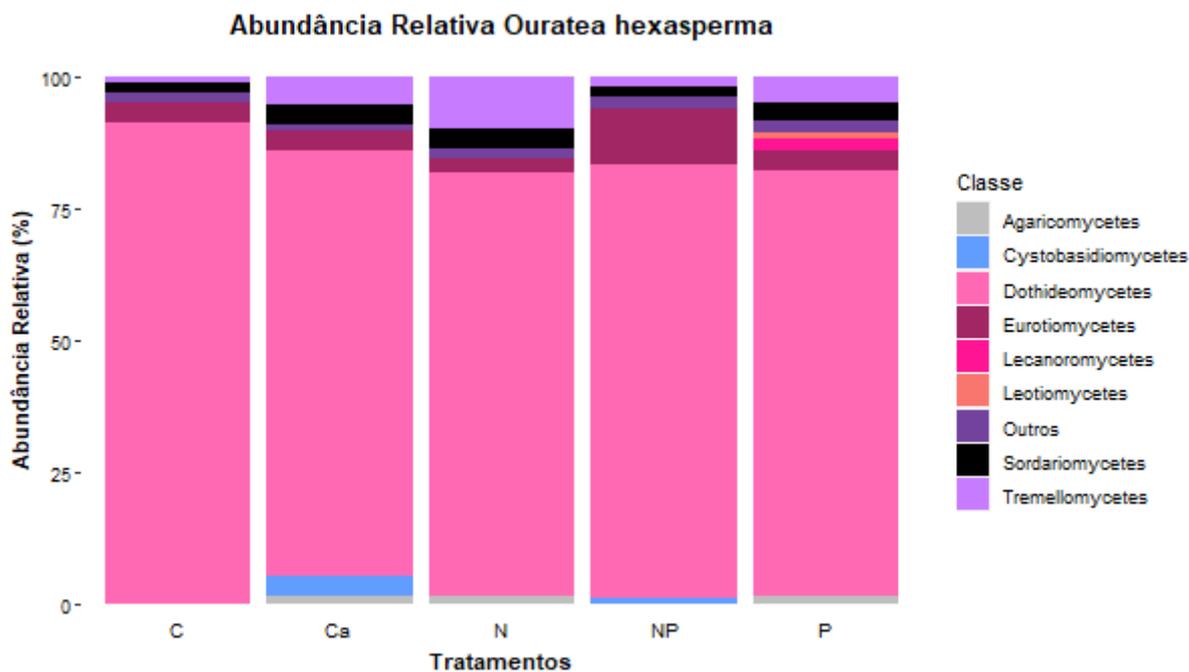


Figura 6. Abundância relativa das Classes de fungos filoféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Classes com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

Para os fungos filoféricos hospedados em *S. ferrugineus*, Eurotiomycetes (44,4%), Dothideomycetes (29%) e Sordariomycetes (20,4%) foram as classes mais abundantes no controle (Figura 7). Nos demais tratamentos Dothideomycetes foi a classe mais abundante (> 43,7%), seguido de Eurotiomycetes, com exceção do tratamento calagem. Sordariomycetes foi a segunda classe mais abundante na calagem (26,6%). Nos tratamentos NP e P a abundância relativa de Sordariomycetes diminuiu quase duas (11,1%) a três (7,7%) vezes, respectivamente, do valor encontrado no tratamento controle.

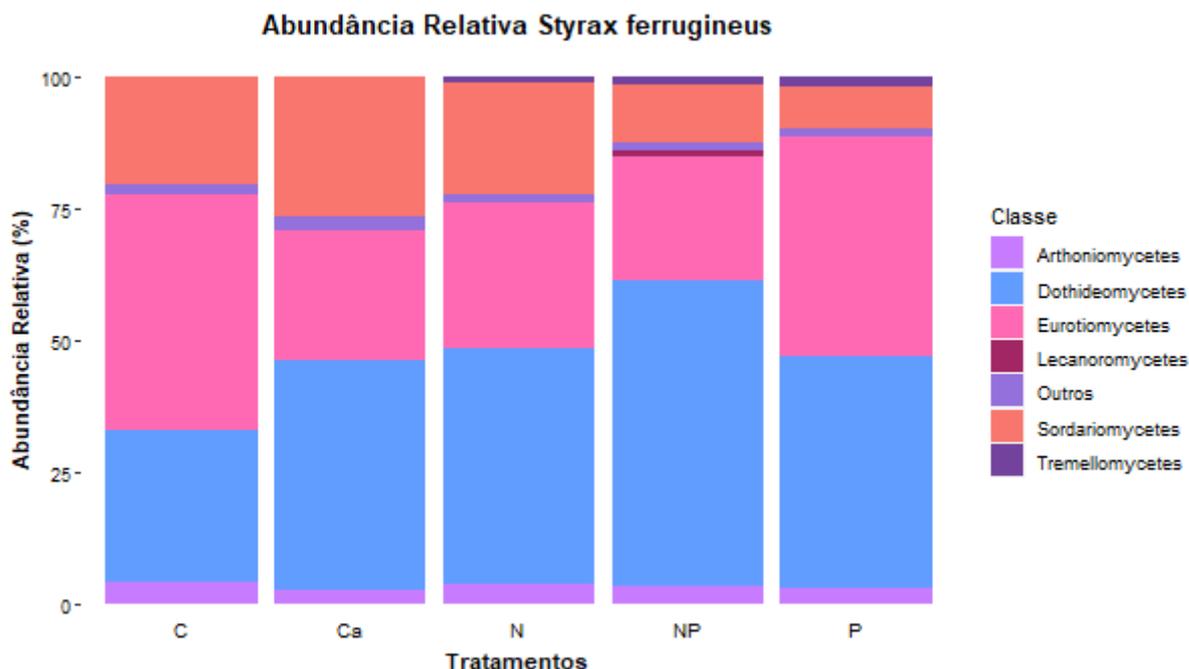


Figura 7. Abundância relativa das Classes de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Classes com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

Dentre as ordens identificadas para *O. hexasperma*, Capnodiales foi a mais abundante em quatro dos cinco tratamentos (Figura 8), com abundância relativa de 52,3% no controle, 36,9% no tratamento N, 39,6% no tratamento NP e 33,5% no tratamento P. Apenas na calagem, a ordem com maior abundância relativa foi Pleosporales (29,4%). Em seguida, Mycosphaerellales foi a ordem de segunda maior abundância relativa em todos os tratamentos (> 19%), seguida de Pleosporales (7,5%), Chaetothyriales (4%) e Tremellales (1,3%) no controle.

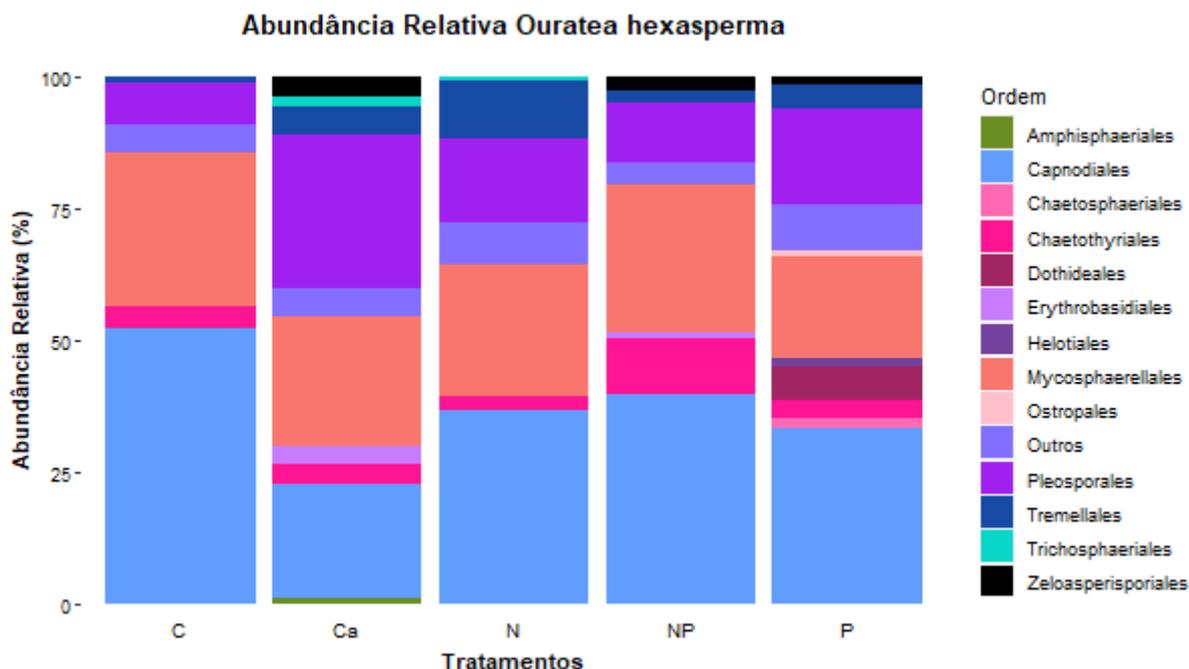


Figura 8. Abundância relativa das Ordens de fungos filoféricos presentes em *Oureate hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Ordens com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

Para *S. ferrugineus*, as ordens mais abundantes no tratamento controle foram Chaetothyriales (46%), Mycosphaerellales (16,8%) e Sordariales (15,3%) (Figura 9). No tratamento calagem, as ordens mais abundantes apresentam proporções bem semelhantes entre si: Mycosphaerellales (28,9%), Hypocreales (25,9%) e Chaetothyriales (25%). Nos tratamentos N e NP a ordem mais abundante foi Mycosphaerellales, com abundância relativa de 31,4% e 45%, respectivamente. No tratamento P a ordem mais abundante foi Chaetothyriales (42,6%), seguida de Mycosphaerellales (25%) e Capnodiales (8,7%).

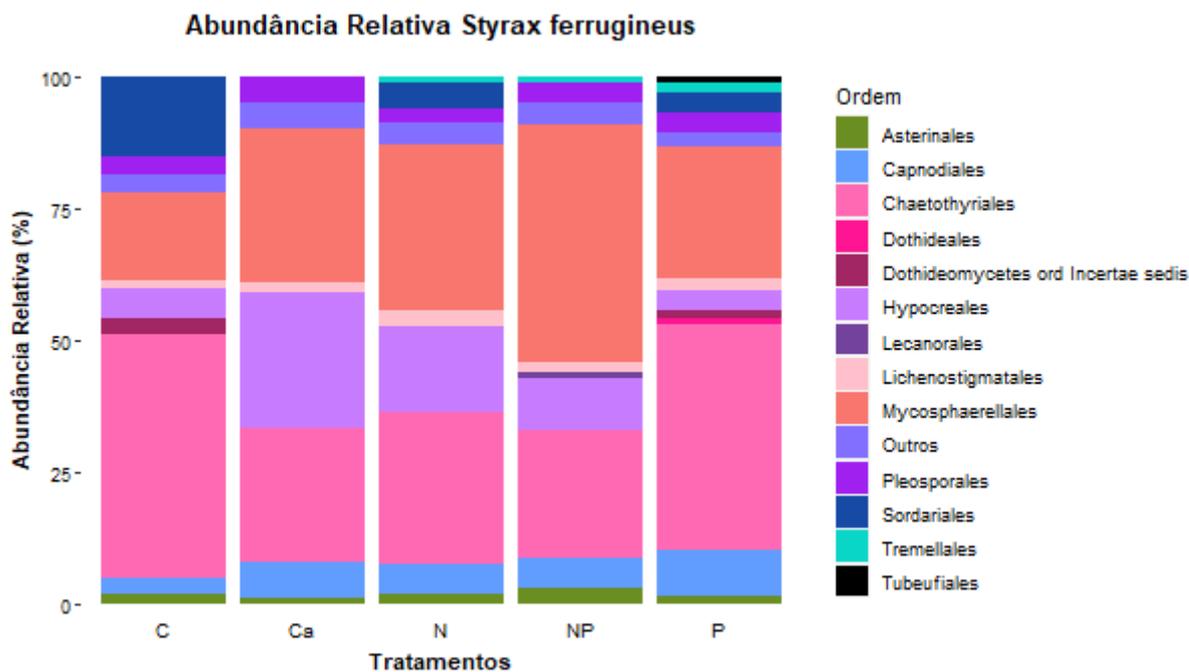


Figura 9. Abundância relativa das Ordens de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Ordens com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

A família mais abundante de fungos filosféricos hospedados em *O. hexasperma*, em quatro dos cinco tratamentos, foi Cladosporiaceae (Figura 10). Com abundância relativa de 53,4% no controle, 37,5% no tratamento N, 40,2% no tratamento NP e 35,4% no tratamento P. Teratosphaeriaceae foi a segunda família mais abundante nos tratamentos controle (22,6%), NP (19,1%) e P (13,4%). Na calagem, a família mais abundante foi Didymellaceae (23,8%) seguida de Cladosporiaceae (22,1%).

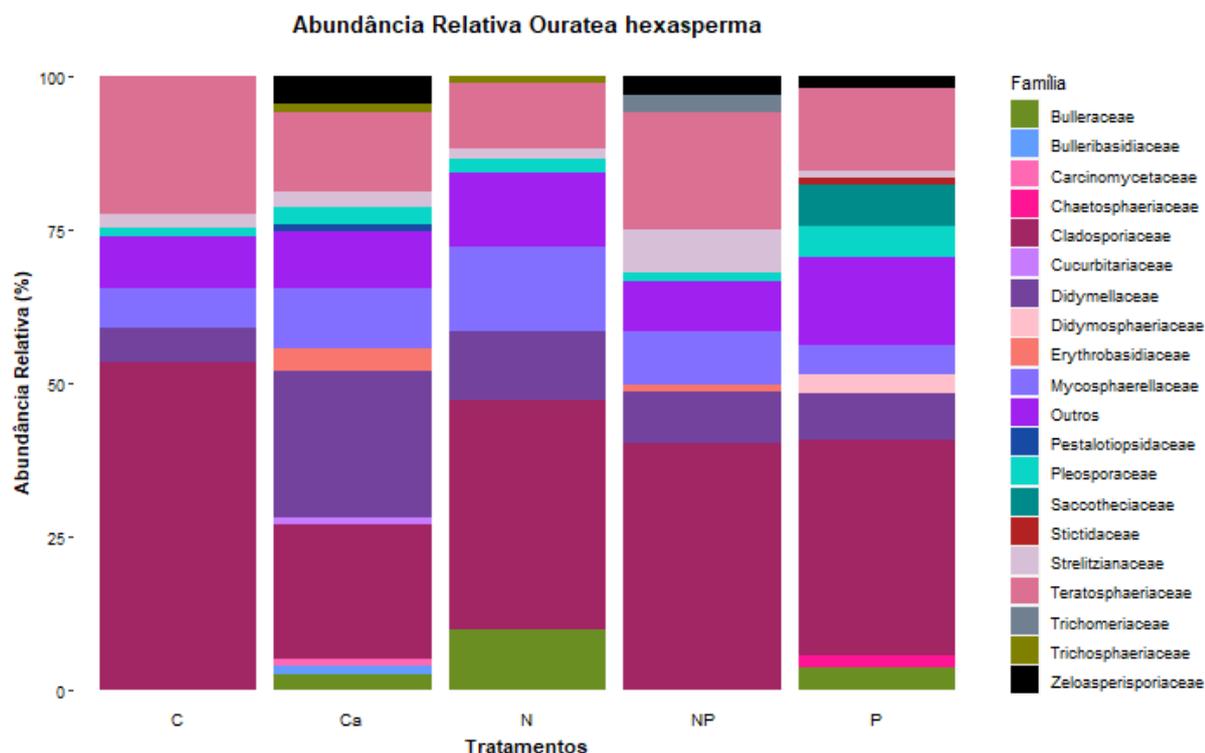


Figura 10. Abundância relativa das Famílias de fungos filosféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Famílias com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

Strelitzianaceae foi a família de fungos filosféricos mais abundante em *S. ferrugineus* em três tratamentos: no controle (43,4%) e nos tratamentos N (25,5%) e P (39%) (Figura 11). No tratamento calagem a família mais abundante foi Nectriaceae (26,2%), seguida de Strelitzianaceae (23%). No tratamento NP, a família mais abundante foi Mycosphaerellaceae com abundância relativa de 36,4%.

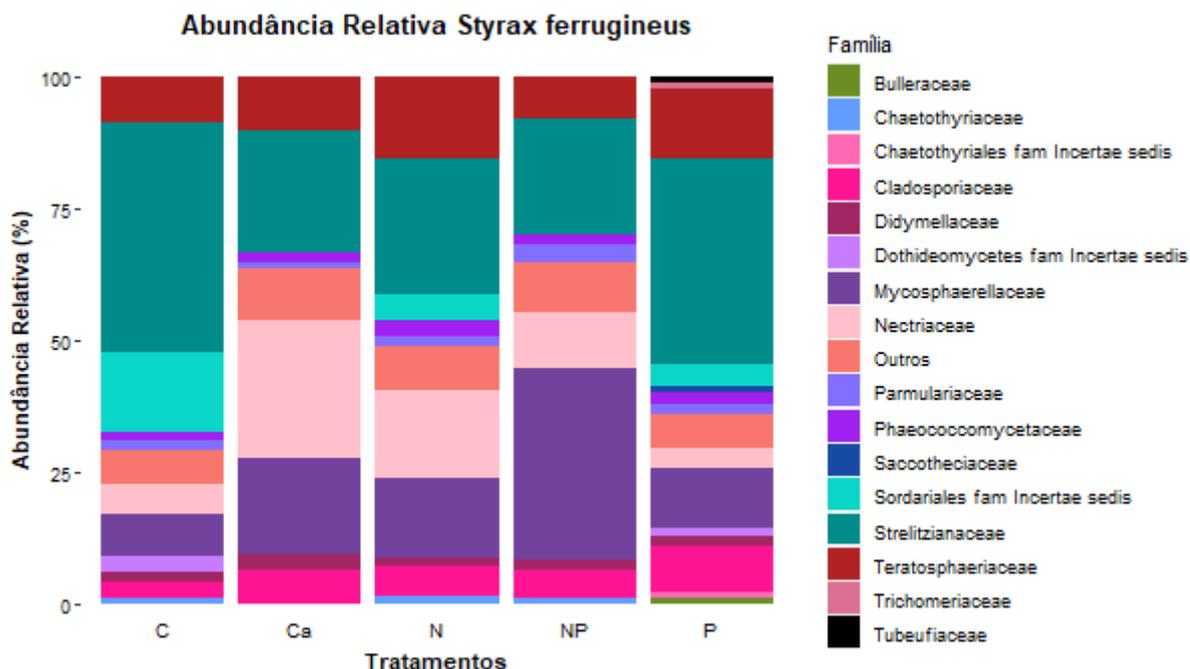


Figura 11. Abundância relativa das Famílias de fungos filoféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Famílias com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

O gênero mais abundante na filosfera de *O. hexasperma* foi *Cladosporium*, com abundância relativa de 68,2% no controle, 49,8% no tratamento NP e 43,7% no tratamento P (Figura 12). No tratamento calagem *Cladosporium* foi o segundo gênero mais abundante (24,9%), sendo superado por *Epicoccum*, que apresenta abundância relativa de 25,8%. No tratamento N os gêneros de maior abundância relativa são *Cladosporium* (41%), *Epicoccum* (11,6%) e *Bullera* (10,2%), sendo este último pertencente ao filo Basidiomycota.

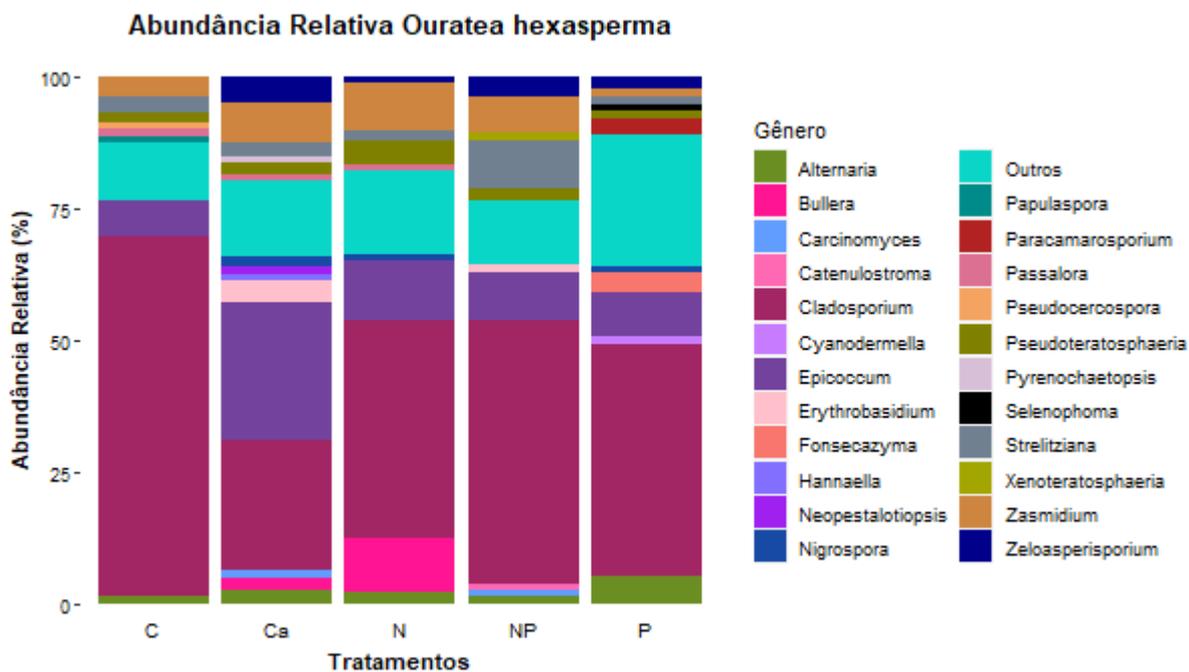


Figura 12. Abundância relativa dos gêneros de fungos filoféricos presentes em *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Gêneros com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

Em *S. ferrugineus*, com exceção da calagem, o gênero mais abundante em todos os tratamentos foi *Strelitziana* (Figura 13), com abundância relativa de 49,3% no controle, 32,7% no tratamento N, 25,9% no tratamento NP e 47,3% no tratamento P. Na calagem, os dois gêneros mais abundantes são *Phialoseptomonium* com abundância relativa de 31,8% e *Strelitziana* com abundância de 27,9%.

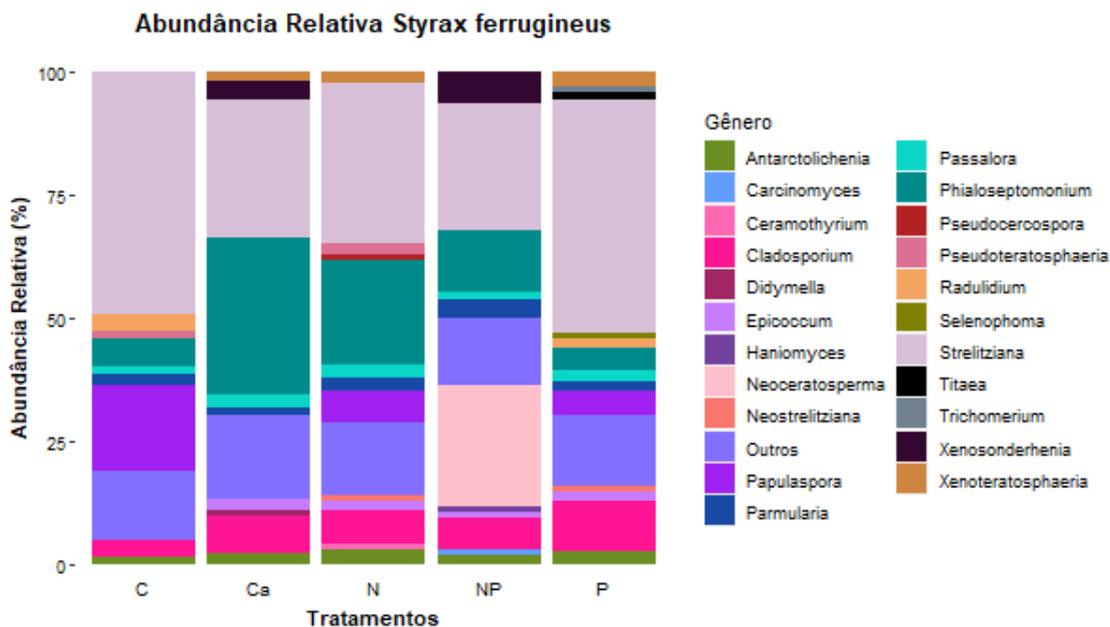


Figura 13. Abundância relativa dos gêneros de fungos filosféricos presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Gêneros com abundância relativa < 1% foram agrupados na categoria “Outros”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

Os dados completos de riqueza e abundância relativa das OTUs identificadas a partir do nível taxonômico de Filo, em *O. hexasperma* e *S. ferrugineus*, estão disponíveis no material suplementar (Tabela Suplementar 3 e 4, respectivamente).

1.4.4 DIVERSIDADE ALFA

A diversidade alfa da filosfera de *O. hexasperma* não apresentou grande variação entre os tratamentos de adição de nutrientes (Figura 14). A partir da análise de permutação, houve um aumento no índice de Shannon e equitabilidade de Pielou apenas no tratamento P, quando comparado com o controle. Já para a filosfera de *S. ferrugineus*, foram observadas mais diferenças (Figura 15). A partir do resultado das permutações, houve um aumento da riqueza nos tratamentos calagem e N, o índice de Shannon também foi maior no tratamento N e no tratamento P, já a equitabilidade de Pielou aumentou nos tratamentos NP e P (Tabela Suplementar 5).

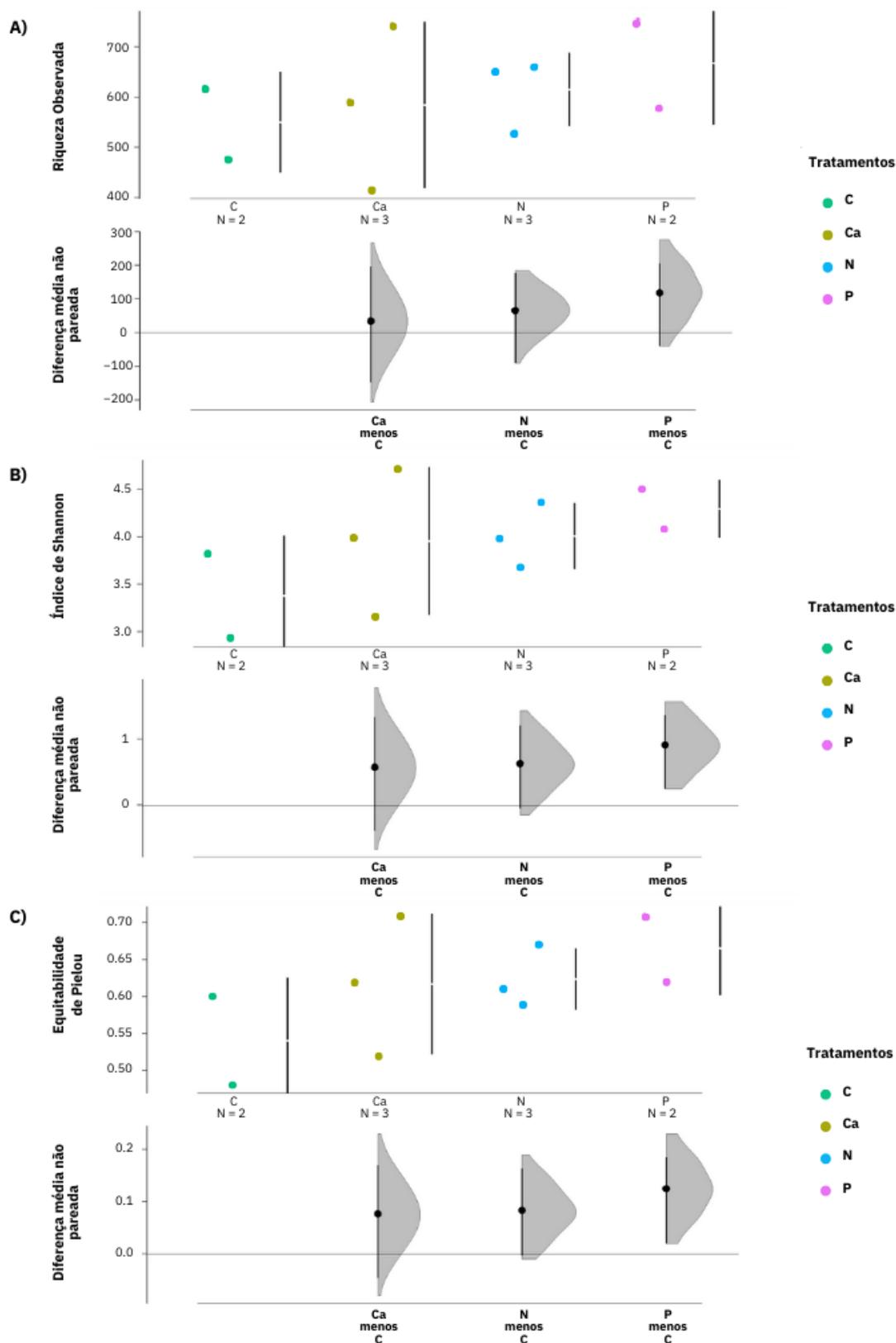


Figura 14. Diferença entre os valores dos índices de diversidade alfa da comunidade filofórica fúngica de *Ouratea hexasperma* nos tratamentos calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P), comparados ao controle (C). Em 'A' Riqueza Observada, em 'B' Índice de Shannon e em 'C' Equitabilidade de Pielou. Figura gerada a partir de 5.000 permutações e intervalo de confiança de 95%, barras verticais indicam esse intervalo.

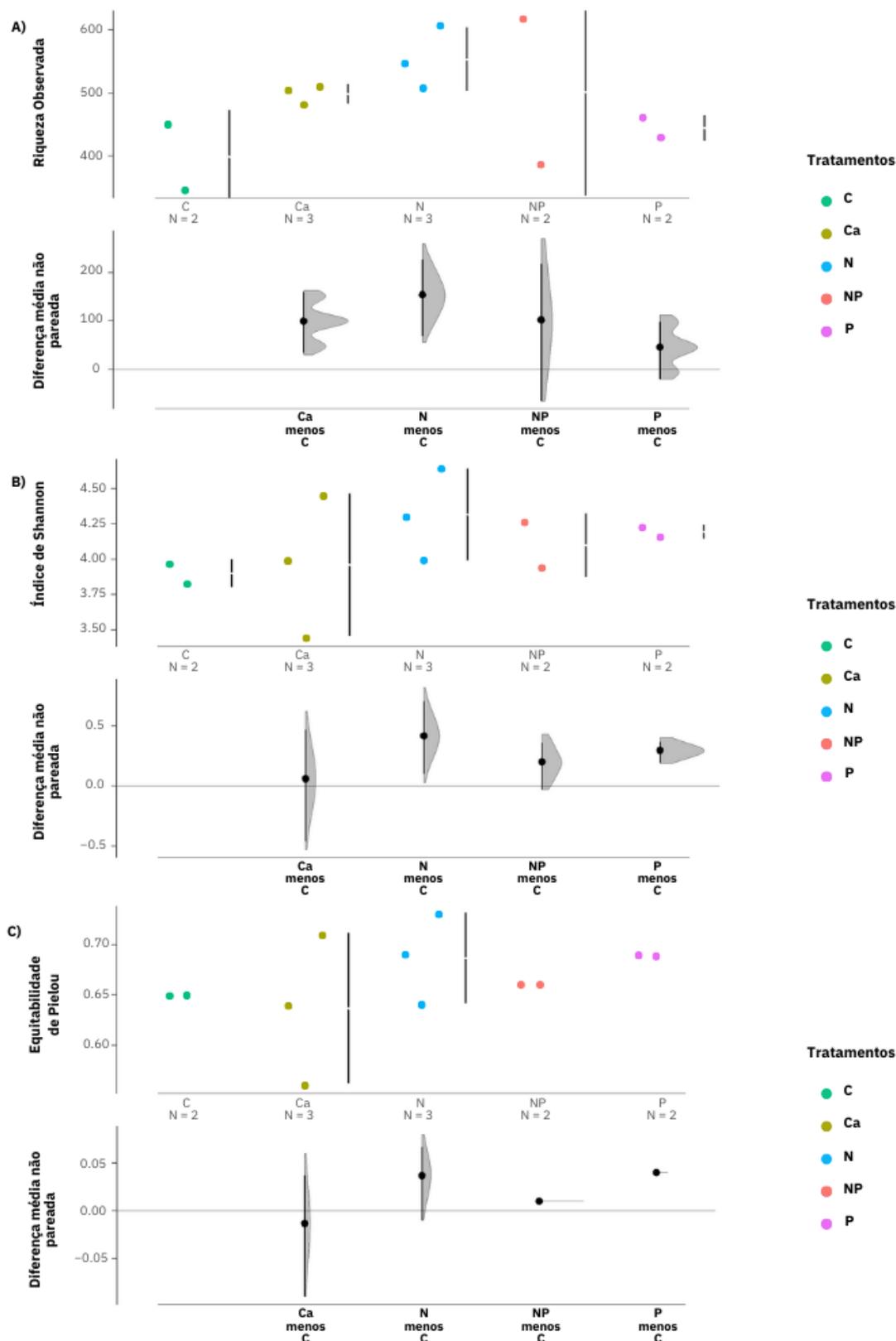


Figura 15. Diferença entre os valores dos índices de diversidade alfa da comunidade filosférica fúngica de *Styrax ferrugineus* nos tratamentos calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P), comparados ao controle (C). Em 'A' Riqueza Observada, em 'B' Índice de Shannon e em 'C' Equitabilidade de Pielou. Figura gerada a partir de 5.000 permutações e intervalo de confiança de 95%, barras verticais indicam esse intervalo.

1.4.5 DIVERSIDADE BETA

A filtragem dos dados referentes ao número de leituras e OTUs identificadas na filosfera de *O. hexasperma* resultou na remoção de 83% das OTUs; contudo, menos de 14,5% das leituras foram removidas. Para *S. ferrugineus* foram removidas 65% das OTUs e menos de 6,5% das leituras. Em ambos os casos, a filtragem resulta em dados com menos ruídos e menor probabilidade de correlações espúrias.

A comunidade filosférica fúngica presente em *O. hexasperma* não difere na sua composição entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. A análise de coordenadas, PCoA, não mostrou uma evidente separação entre os tratamentos, resultado evidenciado pela PERMANOVA ($F = 1,23$; $R^2 = 0,38$; $p = 0,189$) (Figura 16).

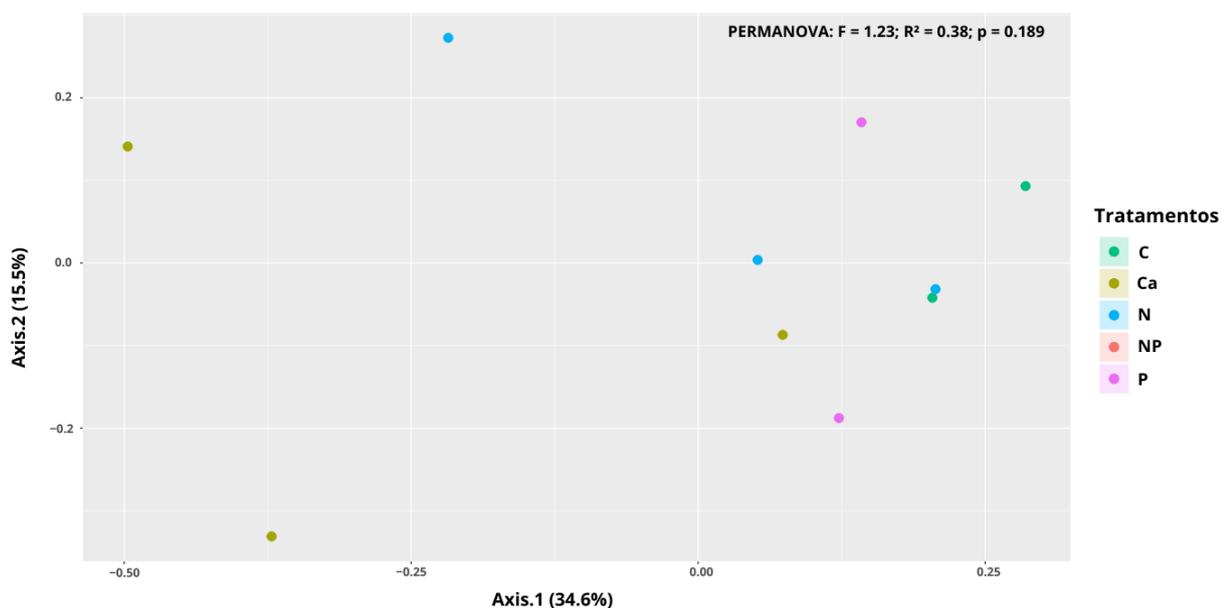


Figura 16. Análise de Coordenadas Principais (PCoA), pela distância de Bray-Curtis, da comunidade fúngica filosférica associada a *Ouratea hexasperma*. Porcentagem de explicação dos eixos 50,1%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3) e fósforo (P) (n=2).

Em *S. ferrugineus* a composição da comunidade de fungos filosféricos difere entre os tratamentos. A PCoA mostrou uma leve separação dos grupos, especialmente do controle que se encontra afastado dos demais tratamentos (Figura 17), com eixos somando uma explicação de 45,4% da variação encontrada e diferença significativa na análise de PERMANOVA ($F = 1,46$; $R^2 = 0,46$; $p = 0,032$). Após a PCoA, foi realizada uma CAP baseada em RDA, para avaliar quais variáveis foram responsáveis pela separação das comunidades filosféricas (Figura 18). Embora os tratamentos diferenciem as comunidades ($p = 0,03$), formando grupos distintos e sem sobreposição, nenhuma das variáveis relacionadas à concentração de nutrientes foliares e AFE teve resultado significativo para a separação encontrada (Tabela Suplementar 6).

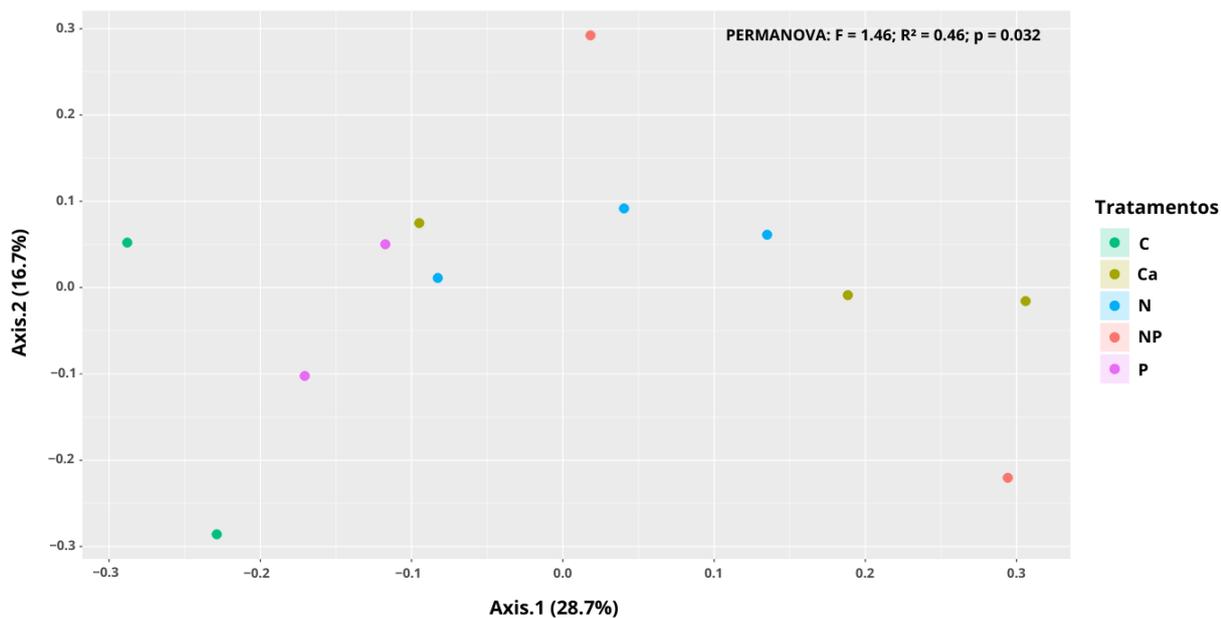


Figura 17. Análise de Coordenadas Principais (PCoA), pela distância de Bray-Curtis, da comunidade fúngica filosférica associada a *Styrax ferrugineus*. Porcentagem de explicação dos eixos 45,4%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3), nitrogênio + fósforo (NP) (n=2) e fósforo (P) (n=2).

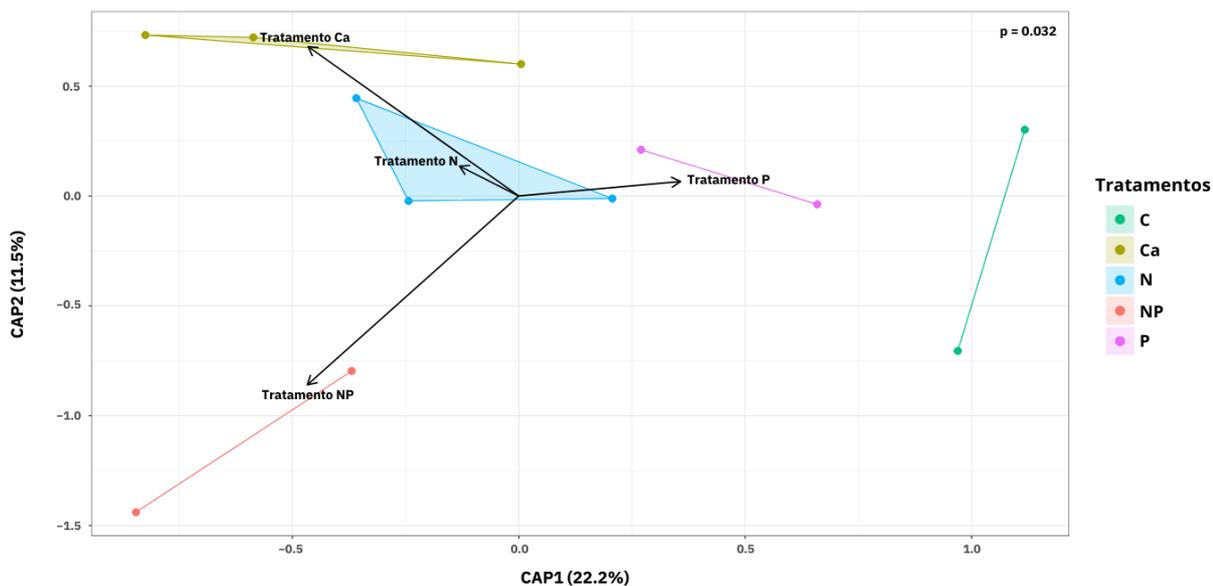


Figura 18. Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP), baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, entre a comunidade fúngica filosférica associada a *Styrax ferrugineus* e as diferentes variáveis que influenciam a separação das comunidades ($p < 0,05$). Porcentagem de explicação dos eixos 33,7%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3), nitrogênio + fósforo (NP) (n=2) e fósforo (P) (n=2).

1.4.6 DIAGRAMA DE VENN

Após a filtragem dos dados restaram apenas 516 OTUs sequenciadas da filosfera de *Ouratea hexasperma*. A partir dessas OTUs, foi gerado um diagrama de Venn para observar quantas são as OTUs únicas e compartilhadas entre cada um dos tratamentos de adição de nutrientes no solo (Figura 19). Em três dos quatro tratamentos avaliados não foram encontradas OTUs exclusivas, apenas na calagem há a presença de 3 OTUs únicas desse tratamento. A maior parte das OTUs (237) são compartilhadas entre os quatro tratamentos, seguida da intersecção entre N, C e Ca (67 OTUs), P, N e Ca (62 OTUs) e C, P, N (47 OTUs) (Tabela Suplementar 7).

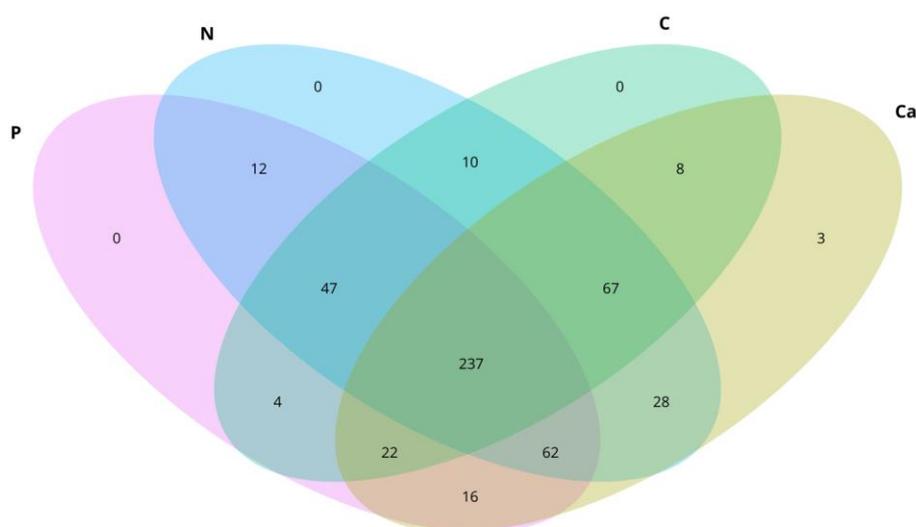


Figura 19. Diagrama de Venn com 516 OTUs presentes na filosfera de *Ouratea hexasperma*, únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P).

Após a filtragem das sequências de *Styrax ferrugineus* restaram 742 OTUs, das quais 184 foram compartilhadas entre todos os tratamentos de adição de nutrientes e o controle (Figura 20). As OTUs exclusivas foram encontradas em maior quantidade nos tratamentos N e calagem, com 20 e 19 OTUs, respectivamente. As intersecções com maior número de OTUs compartilhadas foram Ca, N, NP e P (47 OTUs) e Ca e N (46 OTUs) (Tabela Suplementar 8).

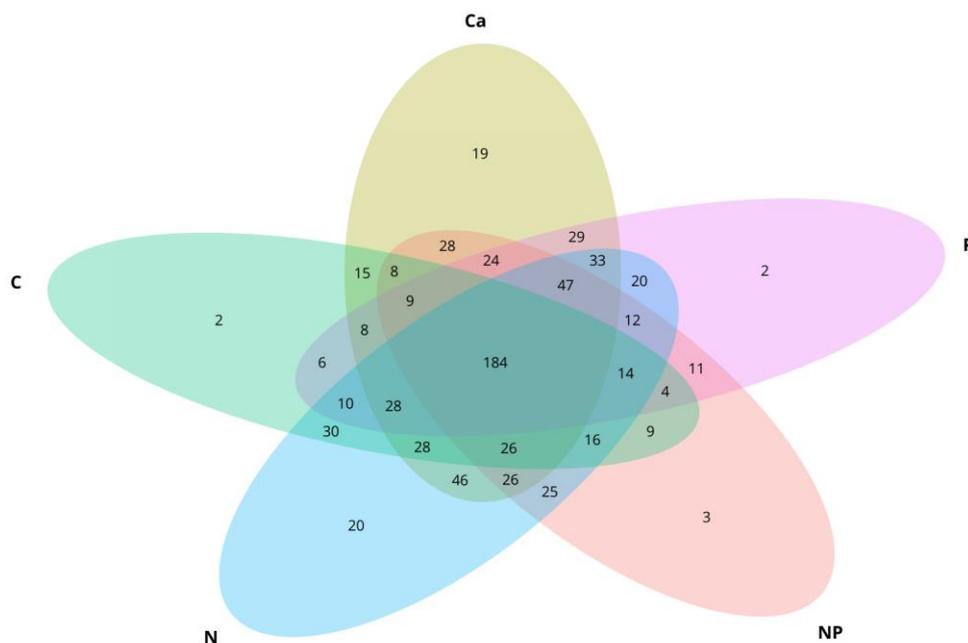


Figura 20. Diagrama de Venn com 742 OTUs presentes na filosfera de *Styrax ferrugineus*, únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

1.4.7 ABUNDÂNCIA DIFERENCIAL

A análise de espécies indicadoras revelou seis gêneros de fungos diferencialmente abundantes entre os tratamentos, o que explica a dissimilaridade encontrada nas comunidades filosféricas de *S. ferrugineus* ($p < 0,05$) (Tabela 3). Para cada um dos gêneros há o valor ‘Indval statistic’ (Stat), que diz respeito a quanto cada um deles está associado ao tratamento, quanto mais próximo de 1 mais fortemente associado (Figura 21). *Strelitziana* é o gênero mais abundante, estando associado ao controle e ao tratamento P com abundância relativa acima de 40% e valor Stat de 0,858. O segundo gênero diferencialmente abundante é *Penidiellomyces*, com abundância relativa acima de 0,50% nos tratamentos calagem e P e valor do Stat de 0,851. O gênero com maior valor Stat é *Aplosporella* (0,929) estando associado ao controle e à calagem. *Parmotrema*, *Fusarium* e *Xenosonderhenioides* não estão presentes no controle, aparecendo apenas nos tratamentos com adição de nutrientes.

Tabela 3. Gêneros de fungos filoféricos indicadores, hospedados em *Styrax ferrugineus*, diferencialmente abundantes e associados aos tratamentos de fertilização do solo. *Indval statistic* (Stat) mais alto indica maior relação do gênero com o tratamento, seu valor máximo é 1. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). $p < 0,05$.

Gênero	Tratamento Associado	Indval statistic (Stat)	Valor de p
<i>Parmotrema</i>	NP	0,774	0,0135
<i>Aplosporella</i>	C; Ca	0,929	0,0092
<i>Strelitziana</i>	C; P	0,858	0,009
<i>Fusarium</i>	Ca; N	0,834	0,0106
<i>Penidiellomyces</i>	Ca; P	0,851	0,0123
<i>Xenosonderhenioides</i>	N; P	0,796	0,0385

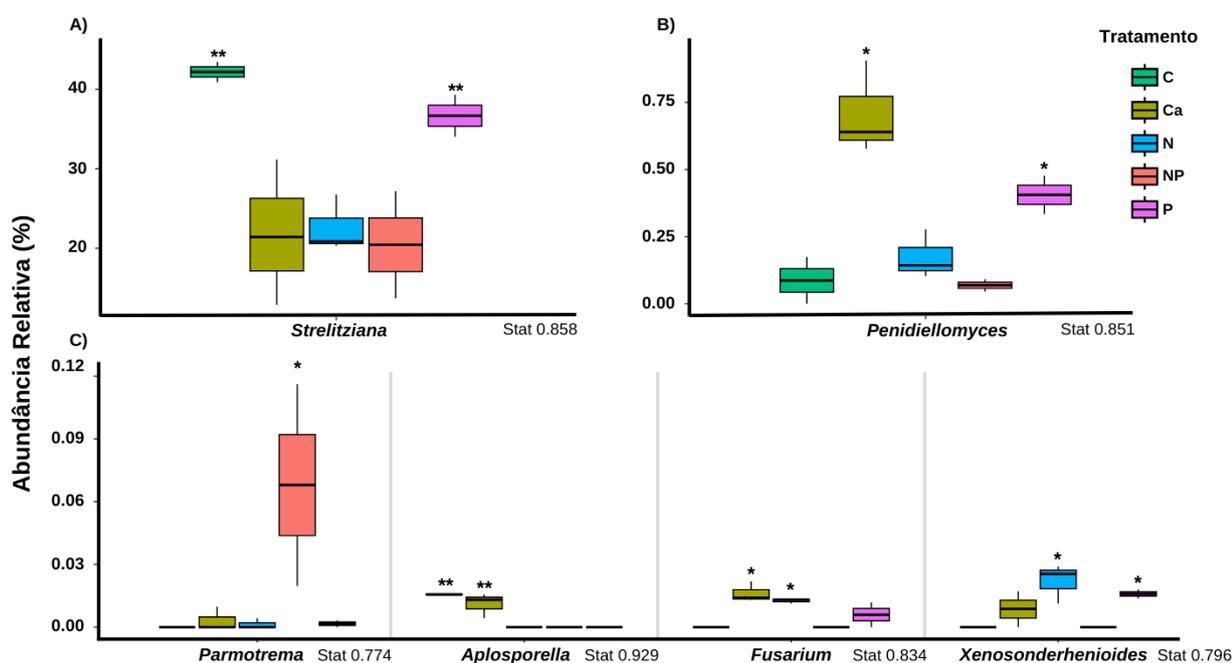


Figura 21. Abundância relativa dos gêneros de fungos filoféricos indicadores, hospedados em *Styrax ferrugineus*, diferencialmente abundantes e associados aos tratamentos de fertilização do solo. A) Abundância Relativa de *Strelitziana*; B) Abundância Relativa de *Penidiellomyces*; C) Abundância Relativa de *Parmotrema*, *Aplosporella*, *Fusarium* e *Xenosonderhenioides*. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Valor de Stat mais alto indica maior relação do gênero com o tratamento, seu valor máximo é 1. Asteriscos indicam diferenças significativas $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **.

1.4.8 GRUPOS FUNCIONAIS

Através do banco de dados *FungalTraits*, foram feitas atribuições de grupos funcionais (ao nível de gênero) dos fungos filoféricos encontrados em *O. hexasperma* e *S. ferrugineus*. Após a filtragem dos dados, 132 gêneros foram encontrados na filofera de *O. hexasperma* e atribuídos a 13 grupos funcionais (Tabela Suplementar 9). O grupo funcional mais abundante foi

‘Saprófito de Serapilheira’, representando mais da metade da abundância relativa nos tratamentos controle (71,5%) e P (51,2%). Outro grupo abundante foi ‘Patógeno de Planta’, que apresentou aumento expressivo da abundância no tratamento calagem (53,9%) quando comparado ao controle (23%). Outros grupos chamaram atenção pelo aumento de abundância no tratamento calagem em relação ao controle, sendo representados por ‘Endofítico Foliar’, ‘Micoparasita’ e ‘Saprófito Não Especificado’. Fungos epifíticos foram pouco representativos em todos os tratamentos, com abundância relativa menor que 1,5% (Figura 22; Tabela Suplementar 10).

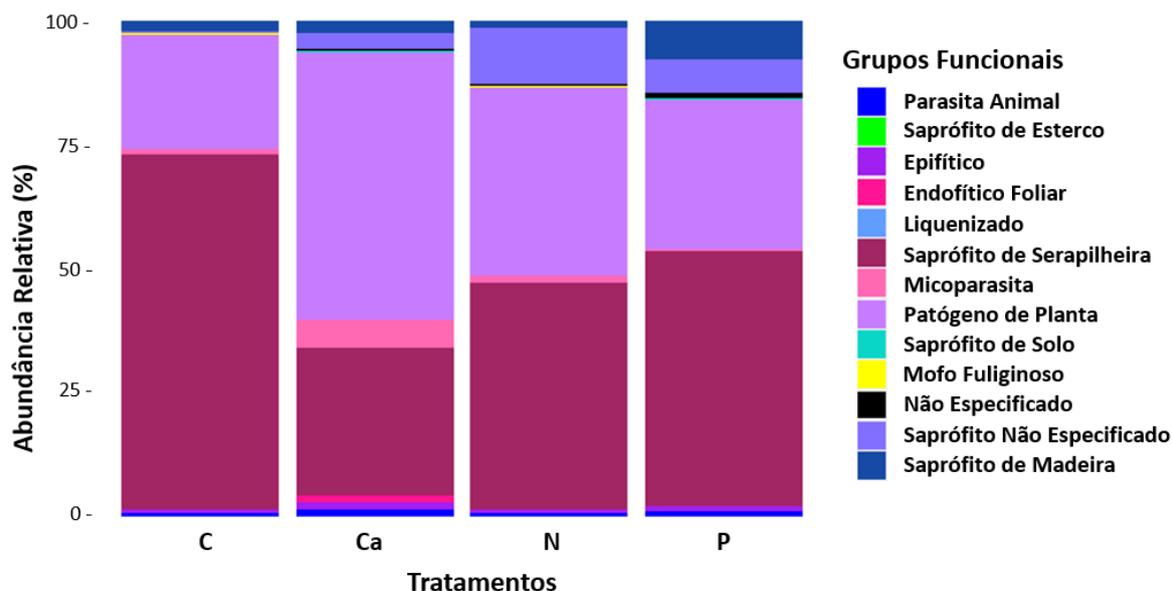


Figura 22. Abundância relativa dos grupos funcionais de fungos filoféricos hospedeiros de *Ouratea hexasperma* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P).

Em *S. ferrugineus*, os 135 gêneros de fungos restantes após a filtragem dos dados foram classificados em 13 grupos funcionais (Tabela Suplementar 11). O grupo funcional de ‘Fungos Epifíticos’ apresentou baixa proporção em todos os tratamentos, variando de 4% no controle a 6,9% no tratamento NP. O grupo mais abundante foi ‘Patógeno de planta’ (> 34,5%), seguido de ‘Saprófito de Serapilheira’, especialmente no tratamento NP (38,8%). O grupo ‘Não especificado’ também foi relevante, principalmente nos tratamentos calagem (33,4%), N (22,2%) e NP (14,1%); essa classificação se refere aos gêneros pouco conhecidos e para os quais ainda não há uma atribuição funcional (Figura 23; Tabela Suplementar 12).

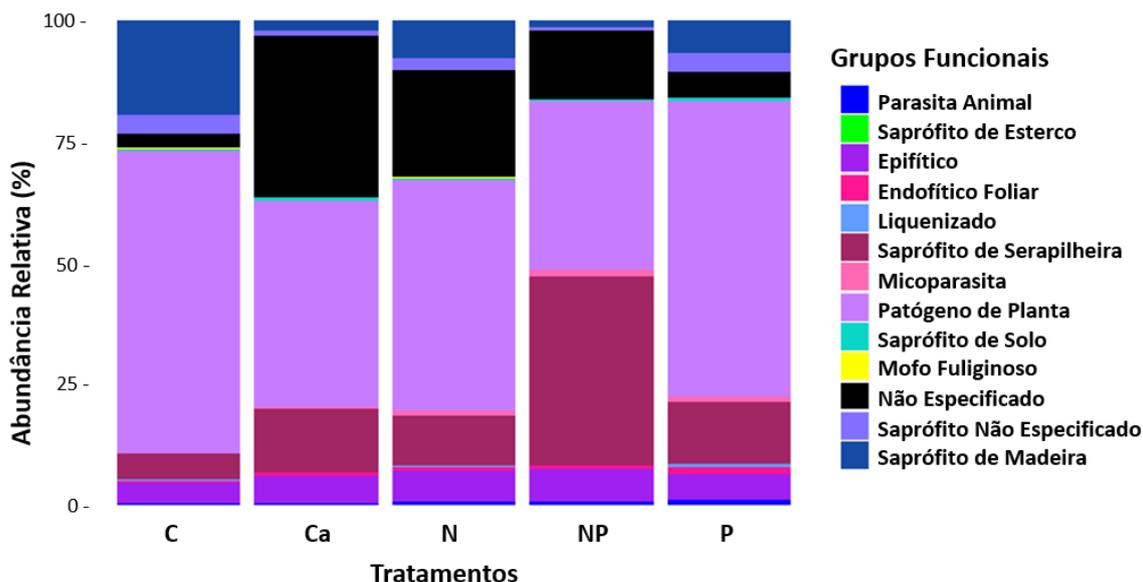


Figura 23. Abundância relativa dos grupos funcionais de fungos filosféricos hospedeiros de *Styrox ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

1.5 DISCUSSÃO

1.5.1 COMPOSIÇÃO DA FILOSFERA

Ao descrever os táxons que ocorrem na filosfera de *Ouratea hexasperma* e *Styrox ferrugineus*, a partir da análise do eDNA, estamos contribuindo com um dos primeiros trabalhos sobre comunidades filosféricas do Cerrado e comunidades filosféricas fúngicas do Brasil (Fonseca et al., 2022). Visto a importância desse microbioma na regulação da decomposição em sistemas naturais (Osono, 2006), no recrutamento de novas plantas (Perea et al., 2020) e seu papel na saúde do hospedeiro e proteção da planta contra mudanças ambientais (Gong & Xin, 2021; Jia et al., 2020), há uma urgência em descrever e investigar quais fatores atuam no estabelecimento dessas relações e como mudanças relacionadas à antropização irão afetar a comunidade filosférica fúngica.

Ascomycota foi o filo mais abundante em todos os tratamentos, para ambas as espécies hospedeiras (Figura 4; Figura 5). Esse resultado era esperado, embora a abundância encontrada nesse trabalho seja ainda maior do que o relatado em outros estudos (> 89%) (Izuno et al., 2016; Kembel & Mueller, 2014; Li et al., 2022). O padrão de dominância dos fungos que habitam a filosfera em sistemas tropicais, semiáridos, temperados e boreais sugere que esse é o principal filo que caracteriza a filosfera (Davey et al., 2012; Izuno et al., 2016; Jumpponen & Jones, 2009; Zhu et al., 2023). Possuindo muitos representantes saprófitos (Jia et al., 2018), há uma

sobreposição da microbiota presente na serapilheira, associada ao processo inicial de decomposição, e habitando a superfície das folhas (Osono, 2006; Zhan et al., 2021), demonstrando a importância dos grupos presentes na filosfera na ciclagem de nutrientes e na produtividade dos ecossistemas (Bashir et al., 2022).

A superfície foliar é um ambiente bastante desafiador, impondo vários filtros para que as espécies de microrganismos possam se fixar e se estabelecer (Koskella, 2020). A exposição à radiação solar, a ação do vento, a perda de água e a escassez de nutrientes são algumas dessas barreiras (Bringel & Couée, 2015), com a sazonalidade também interferindo na composição dos fungos que habitam as folhas (Gomes et al., 2018). Diferentes estratégias, como a produção de compostos melanizados, são adotadas pelos microrganismos para resistir a tais condições.

Ao nível de classe, Dothideomycetes, Eurotiomycetes e Sordariomycetes foram as mais comuns em ambas as hospedeiras. Dothideomycetes foi a mais abundante em todos os tratamentos de *O. hexasperma* (com abundância acima de 80%) e em indivíduos de *S. ferrugineus* nos tratamentos fertilizados. Essa classe é a mais vasta e ecologicamente diversa do Reino Fungi, com histórias de vida que incluem patógenos, sapróbios e fungos liquenizados (Kirk et al., 2008). Possuindo várias ordens com espécies melanizadas, como Capnodiales e Pleosporales, são adaptadas à alta exposição à radiação UV, dessecação e estresse nutricional (Pem et al., 2021; Ruibal et al., 2009; Schoch et al., 2009), o que pode explicar sua alta predominância na filosfera de *O. hexasperma*, uma vez que essa espécie possui folhas glabras (Silva Júnior, 2012) e, portanto, oferece menor proteção contra a radiação e perda de água.

Assim como Dothideomycetes, Eurotiomycetes também possui representantes melanizados conhecidos como 'leveduras pretas'. Essas leveduras melanizadas, como as pertencentes a ordem Chaetothyriales, são poli-tolerantes extremas (Gostinčar et al., 2010; Gueidan et al., 2008) e graças à sua parede celular espessa de múltiplas camadas e produção de exopolissacarídeos, que lhe conferem maior proteção e habilidade de sobrevivência, são capazes de explorar ambientes hostis expostos a radiação solar e estresse hídrico como a superfície de rochas, o solo Antártico e a filosfera de uma grande diversidade de hospedeiras (Canini et al., 2021; Gorbushina et al., 2008; Li et al., 2022; Selbmann et al., 2015).

A abundância de ambas as classes e sua dominância em relação às demais, especialmente de Dothideomycetes em *O. hexasperma*, indica que a superfície foliar favorece classes de fungos resistentes às condições adversas e que a resistência às condições climáticas às quais a filosfera é submetida, é um forte seletor para o estabelecimento dos grupos que irão dominar a superfície das folhas (Gomes et al., 2018). A resistência à radiação UV, como sugerido por Kembel & Mueller (2014), pode ser importante para os fungos filosféricos. Além disso, a

tolerância à dessecação também pode contribuir para a composição da filosfera, especialmente em espécies sempre-verdes de regiões como o Cerrado, que possuem folhas de vida mais longa e estão mais expostas a altos níveis de radiação UV (que pode atingir até $6,25 \times 10^{-2} \text{ W cm}^{-2}$) e um limitado período do ano com elevada umidade relativa do ar (Kisselle et al., 2002).

Sordariomycetes também foi relevante e, embora tenhamos menos informações sobre sua ecologia, muitos de seus representantes são patógenos de plantas ou saprófitos, podendo ser encontrados como endofíticos e epifíticos (James et al., 2006; Rodriguez et al., 2009). Fungos endofíticos foliares tem origem a partir da filosfera de sua hospedeira, penetrando nas folhas através dos estômatos e iniciando uma associação endofítica (Cordier et al., 2012). Uma vez dentro do tecido foliar, eventualmente alguns desses fungos podem passar ao caráter patogênico (Porrás-Alfaro & Bayman, 2011). A presença por si só desses fungos não é indicativa de que a planta está passando por algum processo infeccioso, muitas vezes é necessário um fator que desencadeie a patogenicidade (Johnson & Oelmüller, 2009).

Tremellomycetes (Basidiomycota) chamou atenção pelo aumento da abundância em todos os tratamentos fertilizados de *O. hexasperma* e abundância > 1% nos tratamentos N, NP e P de *S. ferrugineus*. Os fungos pertencentes a essa classe possuem hábitos nutricionais que incluem saprófitos, parasitas de animais, micoparasitas e fungos liquenizados (Millanes et al., 2011) e parecem ser influenciados pelos tratamentos de fertilização. Embora sejam necessários mais estudos para compreender melhor sua ecologia na filosfera e quais fatores podem ter favorecido sua maior abundância nos tratamentos, alguns desses fungos possuem uma gama de defesas antagônicas contra outros fungos (Prior et al., 2017), defesas estas que podem ter sido estimuladas com a adição de nutrientes no solo e favorecido seu crescimento.

1.5.2 CARACTERÍSTICAS FOLIARES E DIVERSIDADE FÚNGICA

As ordens dominantes na filosfera de *O. hexasperma* foram Capnodiales e Mycosphaerellales, enquanto na filosfera de *S. ferrugineus* foram Chaetothyriales, Mycosphaerellales e Sordariales. A primeira hipótese previa que as comunidades filosféricas de ambas as espécies hospedeiras no tratamento controle teriam os mesmos grupos de fungos, em nível de ordem, dominando a filosfera (abundância > 70%). Portanto, a primeira hipótese foi parcialmente corroborada, sendo Mycosphaerellales a única ordem dentre as mais abundantes compartilhadas entre as duas comunidades.

Um dos fatores que regulam as comunidades filosféricas é o espectro de economia foliar das espécies hospedeiras (Bashir et al., 2022; Kembel & Mueller, 2014). *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* são espécies sempre-verdes, apresentando folhas com espectro mais

conservativo, resultando em folhas de vida longa, com menor concentração de nutrientes e maior investimento de massa por área foliar (Franco et al., 2005; Wright et al., 2004). Embora ambas compartilhem tais semelhanças, essas características não foram suficientes para que as mesmas ordens fúngicas fossem favorecidas nas duas comunidades filosféricas.

Espécies decíduas e sempre-verdes apresentam diferenças na sua composição filosférica; comunidades de fungos de espécies decíduas tendem a ser mais semelhantes entre si do que quando comparadas às comunidades de espécies sempre-verdes (Pajares-Murgó et al., 2023). Espécies sempre-verdes permitem uma comunidade mais diversa, atingindo estágios sucessionais estacionários, pois fornecem maior diversidade de nichos para as espécies de fungos devido ao tempo de vida da folha mais longo e ausência de restrições sazonais como a perda das folhas (Flessa et al., 2012; Pajares-Murgó et al., 2023).

Além de espécies sempre-verdes possuírem comunidades mais distintas entre si, Pajares-Murgó et al. (2023) argumentam que embora a montagem da comunidade fúngica filosférica seja fundamentada em uma resposta comum a certas características foliares, outros fatores como a química e a morfologia da folha tem um efeito particular na colonização dos fungos. *Styrax ferrugineus* possui folhas com tricomas e uma epiderme abaxial bastante rugosa, enquanto *O. hexasperma* possui folhas glabras e epiderme lisa (Costa et al., 2021; Silva Júnior, 2012), o que pode explicar a diferença encontrada entre as ordens dominantes na filosfera. A presença de tricomas e epiderme rugosa forma um ambiente mais favorável para a colonização microbiana, que tende a ocupar as regiões da epiderme menos expostas à radiação UV e ao vento e que apresentam maior umidade e acúmulo de nutrientes (Kirschner, 2018). Devido às condições ambientais mais amenas associadas às estruturas físicas das folhas, uma maior diversificação dos grupos que ocupam a filosfera pode ser encontrada (Kim, 2019; Yadav et al., 2005).

Ao observar os índices de diversidade alfa, as comunidades filosféricas não apresentaram grandes variações. Para *O. hexasperma* houve aumento do índice de diversidade de Shannon e equitabilidade de Pielou no tratamento P, mas não foram observadas mudanças na riqueza, o que indica uma variação não no número de espécies, mas na abundância e distribuição dos indivíduos. Esse resultado se assemelha ao encontrado no trabalho de dos Reis (2022), que investigou a comunidade de fungos endofíticos de *O. hexasperma* sob os mesmos tratamentos de adição de nutrientes no solo e não encontrou grandes variações na diversidade alfa das comunidades.

A segunda hipótese afirmava que os tratamentos em que as plantas hospedeiras apresentassem menor concentração de Al foliar, seriam aqueles com maior diversidade de espécies. A diversidade alfa e beta de *S. ferrugineus* teve maior variação, com aumento da riqueza

nos tratamentos Ca e N, índice de Shannon maior nos tratamentos N e P e maior equitabilidade nos tratamentos NP e P, quando comparados ao controle. Embora existam diferenças entre as comunidades e os tratamentos se diferenciem ($p= 0,03$), não houve diferença significativa da concentração de Al foliar entre os tratamentos nas duas espécies hospedeiras. Portanto, a segunda hipótese foi rejeitada.

Os solos do Cerrado são conhecidos por sua alta concentração de Al e Fe, elementos que em grandes quantidades são fitotóxicos e tornam o fósforo presente no solo indisponível para a metabolização pelas plantas e microrganismos (Reatto et al., 2008; Seguel et al., 2013; Shen et al., 2011). Em um estudo com fungos filosféricos de uma floresta tropical, foi observada a correlação entre o teor de Al foliar e a diversidade de fungos na superfície das folhas, aonde esse elemento agia como filtro ambiental selecionando espécies que fossem resistentes e/ou tolerantes a maiores concentrações de Al (Kembel & Mueller, 2014). Estudos mostraram uma diminuição na concentração de Al foliar em *S. ferrugineus* no tratamento calagem e aumento da concentração no tratamento NP de *O. hexasperma* (dos Reis, 2022; Martins, 2019), o que não foi observado nesse trabalho.

A identidade da planta hospedeira é descrita como o fator que mais fortemente atua na montagem das comunidades filosféricas, tanto de fungos quanto de bactérias (Lambais et al., 2014; Li et al., 2022) e mesmo plantas espacialmente próximas umas das outras, apresentam diferenças significativas na sua composição filosférica (Lambais et al., 2006). Em essência, os tratamentos de fertilização que levam à perda de espécies vegetais podem diminuir a diversidade da filosfera no sistema.

Para além da identidade da planta hospedeira, outro fator importante para a montagem da comunidade filosférica é a concentração de alguns elementos nas folhas como N, K e Al (Darlison et al., 2019; Kembel & Mueller, 2014). A concentração de P foliar em *S. ferrugineus* e Ca, Mg e S em ambas as hospedeiras, variou em relação ao controle, porém nenhum desses elementos influenciou a diversidade beta de *O. hexasperma* ou foi capaz de explicar as diferenças encontradas na diversidade beta de *S. ferrugineus*.

Em trabalhos com diferentes períodos de coleta pós-fertilização (recém fertilizado e anos após a última adição de nutrientes), diversos padrões foram encontrados ao se comparar a concentração dos nutrientes foliares de *O. hexasperma* e *S. ferrugineus* nas parcelas controle e fertilizadas (Costa, 2019; dos Reis, 2022; Jacobson, 2009; Martins, 2019). A maior parte dos nutrientes suplementados não está sendo acumulado nas folhas, mas sendo usado na construção de mais órgãos fotossintéticos (Bucci et al., 2006) e reprodutivos através do aumento da floração de algumas espécies (Mello, 2019). Contudo, o principal investimento foi observado na

modificação do sistema hidráulico (Costa et al., 2021), uma vez que a suplementação de nutrientes limitantes pode aumentar o estresse hídrico das espécies vegetais (Zhang et al., 2018).

Sabe-se que a morfologia e anatomia das folhas tem grande influência no estabelecimento das comunidades filosféricas (Kim, 2019); a ausência de cera epicuticular, presença de tricomas e células secretoras ativas são características anatômicas que auxiliam o crescimento das comunidades filosféricas (Thapa & Prasana, 2018). Essas características são importantes pois fornecem maior suprimento de nutrientes para a filosfera, através da excreção de compostos orgânicos pelas folhas (Leveau & Lindow, 2001).

Costa et al. (2021) demonstraram que a adição de nutrientes no solo leva à alteração anatômica das folhas de *S. ferrugineus*, que pode ser resultado de um efeito residual das adições de nutrientes a longo prazo, reduzindo a espessura da epiderme abaxial em todos os tratamentos fertilizados em relação ao controle. Folhas com epiderme mais espessa são menos colonizadas por bactérias, provavelmente devido a maior dificuldade de transporte e liberação de compostos necessários para o desenvolvimento da comunidade microbiana (Yadav et al., 2005). Assim como ocorre com as bactérias que ocupam a filosfera, a diminuição da espessura da epiderme de *S. ferrugineus* pode favorecer a comunidade fúngica, tornando mais fácil o acesso aos recursos providos pelas folhas. Com o aumento de recursos, alguns grupos de fungos serão favorecidos, enquanto há um aumento da competição e antibiose entre fungos e bactérias (Kirschner & Chen, 2010), levando à modificação das comunidades que ocupam a filosfera nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes e explicando, ao menos parcialmente, a alteração encontrada na diversidade beta de *S. ferrugineus*. Para *O. hexasperma*, que demonstra ter uma comunidade filosférica menos responsiva à adição de nutrientes, não houve alteração na anatomia foliar (Costa et al. 2021).

1.5.3 ABUNDÂNCIA DIFERENCIAL

A calagem é uma prática de manejo comum em áreas agricultáveis do Cerrado e tem como objetivo elevar o pH do solo, tornar os cátions e elementos como o fósforo mais disponíveis para as plantas de cultivo e eliminar a presença de elementos tóxicos como o ferro e o alumínio (Miranda et al., 2007). Essa prática tem efeitos a longo prazo e mesmo após a sua interrupção é possível observar alterações no sistema. Os estudos anteriores realizados na área do projeto de fertilização indicaram que o tratamento com calagem resultou nas diferenças mais marcantes em relação ao controle e outros tratamentos, incluindo mudanças drásticas na composição dos microrganismos do solo, mudanças nas comunidades arbustivas-herbáceas com perda de diversidade e aumento nas taxas de decomposição, invasão biológica de espécies exóticas e

alterações no perfil metabolômico de espécies lenhosas (Martins 2019; Mello 2019; Silveira et al. 2021a). Silveira et al. (2021b) compararam a diversidade de bactérias e genes ligados ao ciclo do nitrogênio, entre o tratamento controle e calagem e encontraram uma redução significativa na multifuncionalidade do solo. Em razão das diferenças profundas observadas na calagem, em diferentes objetos de estudos, era esperado que a filosfera também respondesse de maneira mais proeminente no tratamento calagem.

Devido à preferência de nicho, espécies indicadoras podem ser utilizadas como indicadores ecológicos de condições de habitat ou relacionados a mudanças ambientais (Carignan & Villard, 2002). Em estudos que investigaram a composição da filosfera, o uso de espécies indicadoras foi importante para identificar quais táxons estavam mais fortemente correlacionados a um grupo de amostras (Miura et al., 2019; Mogouong et al., 2021; Rogers et al., 2018). Em relação aos grupos que se diferenciam entre os tratamentos, a terceira hipótese previa que ambas as espécies hospedeiras submetidas à calagem teriam uma maior frequência de gêneros diferencialmente abundantes, em relação ao controle e demais tratamentos. Essa hipótese foi parcialmente corroborada, com indivíduos de *S. ferrugineus* nos tratamentos calagem e P apresentando o maior número de gêneros diferencialmente abundantes.

O gênero mais abundante em *S. ferrugineus* foi *Strelitziana*; relacionado aos tratamentos controle e P, possui hábito de vida endofítico e patógeno de planta (Crous et al., 2015). Contudo, em um estudo que avaliou a importância dos fungos filosféricos para a tolerância à seca de árvores neotropicais, *Strelitziana* foi um dos gêneros com potencial efeito positivo na resistência à seca (Cambon et al., 2022).

Penidiellomyces, *Aplosporella* e *Fusarium* foram os três gêneros associados ao tratamento calagem, com IndVal de 0,851, 0,929 e 0,834, respectivamente. *Penidiellomyces* é descrito como fungo epifítico e saprófito de serapilheira, porém carece de mais dados sobre sua ecologia (Duarte et al., 2017). *Aplosporella* é um fungo patógeno de planta, frequentemente associada ao cancro e morte de espécies lenhosas (Zhu et al., 2018), embora *A. javeedii* também seja um endofítico de plantas saudáveis (Jami et al., 2014) e produza metabólitos secundários com ação antifúngica (Gao et al., 2020). *Fusarium* é o gênero mais estudado dentre os seis diferencialmente abundantes. Encontrado em associação com diferentes tecidos vegetais, possui espécies muito benéficas como agentes de controle biológico, mas é conhecido principalmente por sua patogenicidade em plantas (Karlsson et al., 2021). Além disso, é responsável por infectar diferentes espécies vegetais em sistemas naturais e de plantio, produzindo também micotoxinas e modificando a produção de metabólitos da planta hospedeira durante o processo de infecção (Ma et al., 2013).

Embora seja possível apontar os gêneros mais associados com cada tratamento, a maior parte dos estudos com esses gêneros são focados na sua taxonomia e filogenia (Crous et al., 2015; Duarte et al., 2017; Videira et al., 2017; Wijayawardene et al., 2018). A ausência de estudos anatômicos sobre as folhas das espécies hospedeiras no tratamento calagem e a falta de informações relacionadas à ecologia dos gêneros fúngicos dificulta qualquer inferência do motivo da alteração da abundância nos diferentes tratamentos. São necessários estudos mais aprofundados para compreender como ocorre a relação hospedeira-fungo e quais fatores atuam no estabelecimento dessa relação.

1.5.4 GRUPOS FUNCIONAIS

Embora tenham sido coletados e sequenciados fungos essencialmente filosféricos, esse grupo funcional foi minoritário na filosfera de ambas as hospedeiras. Muitos fungos classificados como endofíticos iniciam seu ciclo de vida na filosfera, adentrando o tecido foliar através dos estômatos, hidatódios ou cortes feitos nas folhas (Cordier et al., 2012). Existe uma gama de fungos com estilos de vida intermediários entre fungos com crescimento principalmente interno e crescimento exclusivamente na filosfera (Kirschner, 2018). A classificação utilizada pode considerar outras formas de vida como predominante dentro dos gêneros observados e talvez por isso a proporção de fungos filosféricos e endofíticos tenha se mostrado tão baixa.

Fungos costumam ter características ecológicas conservadas ao nível de gênero (Zanne et al., 2020) porém, diferentes estratégias tróficas, que levariam a diferentes grupos funcionais, podem ocorrer no mesmo gênero e há casos em que a mesma espécie possui diversas funções (Selosse et al., 2018). Assim, ao estudar esses grupos e tirar inferências ecológicas, é importante considerar que há uma variação entre as possíveis classificações que um gênero pode receber.

O grupo funcional Patógeno de Planta foi relevante na filosfera de ambas as hospedeiras, o que não necessariamente implica que as plantas estejam passando por um processo infeccioso. Por exemplo, os gêneros *Strelitziana* e *Fusarium* são descritos como patógenos, mas ambos já foram encontrados como endófitos de folhas sem causar nenhum sintoma da doença (Hardoim et al., 2015; Shetty et al., 2016). Diferentes trabalhos mostram evidências de que fungos descritos como fitopatógenos podem ser isolados de tecidos vegetais saudáveis, aonde exercem uma associação como endofíticos (Rodriguez et al., 2009). A mudança de hábito endofítico para patógeno normalmente acontece quando as espécies hospedeiras são submetidas a algum estresse (Slippers & Wingfield, 2007). A fertilização com nitrogênio tem sido associada ao aumento da suscetibilidade a doenças fúngicas em plantas cultivadas e nativas (Veresoglou et al., 2013), o que não parece ocorrer com as duas espécies hospedeiras investigadas.

Os grupos de saprófitos de serapilheira e saprófitos de madeira também foram abundantes na filosfera de *O. hexasperma* e *S. ferrugineus*, respectivamente. Os microrganismos filosféricos, especialmente os fungos, podem ser considerados como os primeiros decompositores das folhas já que são responsáveis pelo processo inicial de ciclagem de nutrientes, decompondo as folhas ainda vivas e permanecendo até a fase inicial da decomposição da serapilheira, quando são substituídos por fungos decompositores do solo (Kirschner, 2018). A elevada abundância de grupos saprófitos reflete sua relevância para a composição da comunidade filosférica de ambas as espécies hospedeiras, independente do tratamento de fertilização do solo.

1.6 CONCLUSÃO

Este é o primeiro estudo a investigar comunidades filosféricas em áreas naturais do Cerrado e os efeitos da adição de nutrientes ao solo na composição dessas comunidades. Nenhuma variável relacionada à concentração de nutrientes foliares explicou a variação encontrada entre os tratamentos, o que parece ser explicado por fatores estruturais das folhas. As alterações observadas na filosfera de *S. ferrugineus* parecem estar mais relacionadas às alterações anatômicas nas folhas e requerem investigação adicional para avaliar o real efeito de cada característica estrutural na montagem da comunidade fúngica filosférica. Embora a adição de nutrientes tenha efeito sobre diversas variáveis, conforme relatado em estudos anteriores, a identidade da hospedeira desempenha um papel significativo na estruturação da comunidade filosférica de *O. hexasperma*.

CAPÍTULO 2 – EFEITO DA ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO NA METABOLÔMICA FOLIAR DE *STYRAX FERRUGINEUS* E SUA INFLUÊNCIA NA FILOSFERA

2.1 INTRODUÇÃO

As plantas produzem uma série de compostos químicos denominados metabólitos primários e secundários (Taiz et al., 2017). Os metabólitos primários estão mais associados à síntese de aminoácidos e hormônios, desempenhando diferentes funções no crescimento e desenvolvimento das espécies vegetais (Ferne & Pichersky, 2015). Enquanto metabólitos secundários são mais associados à produção de compostos de defesa, pigmentos e sinalização entre plantas e outros organismos, atuando no estabelecimento das relações interespecíficas e respostas a fatores abióticos (Erb & Kliebenstein, 2020; Hartmann, 2007; Herms & Mattson, 1992).

A partir da sua via de biossíntese, os metabólitos secundários são divididos em grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (Kabera et al., 2014; Zhao et al., 2023a). Os terpenos são formados por moléculas de carbono ligadas formando cadeias de isopreno; são compostos menos dispendiosos de serem produzidos e, em geral, são voláteis (Tholl, 2015). Os compostos fenólicos são reconhecidos pela presença de um anel aromático hidroxilado, e muitos apresentam propriedades antioxidante e antimicrobiana (Panche et al., 2016; Yakhlef et al., 2018). Alcaloides possuem um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico, o que os tornam dispendiosos de serem produzidos, uma vez que muitas espécies de plantas estão em ambientes limitados por nitrogênio (Elser et al., 2007; Taiz et al., 2017; Vitousek et al., 2010).

Desempenhando um papel fundamental na resposta a estímulos ambientais, diferentes fatores irão atuar na produção desses compostos (Akula & Ravishankar, 2011; Figueiredo et al., 2008). Por exemplo, a herbivoria por insetos pode estimular a produção e emissão de metabólitos secundários relacionados à defesa, produzindo compostos voláteis que atraem os predadores dos seus herbívoros (Clavijo McCormick et al., 2014), o excesso de radiação UVB promove a produção e acúmulo de moléculas fotoprotetoras como flavonoides, que são capazes de absorver a radiação e proteger os fotossistemas das plantas (Banerjee & Roychoudhury, 2016; Silva et al., 2014).

As condições edáficas interferem fortemente na produção de metabólitos secundários (Yang et al., 2018), que podem atuar como um estressor abiótico para as plantas (Verma &

Shukla, 2015). Solos com alta salinidade, maiores concentrações de elementos tóxicos e pouca disponibilidade de água, induzem a planta a produzir metabólitos secundários em resposta a fatores estressantes, sendo comum o acúmulo de antocianinas e flavonoides (Akula & Ravishankar, 2011; Borges et al., 2017). A fertilização do solo com N, P e K altera uma série de metabólitos produzidos por espécies cultivadas (Heimler et al., 2017), com diminuição significativa na concentração de flavonoides para diversas plantas (Stefanelli et al., 2010). A adição de N aumenta a concentração de alcaloides em até 17% em *Lupinus angustifolius*, enquanto sua limitação, juntamente com P, levam à uma maior concentração de quercetina, kaempferol e isorhamnetina em *Arabidopsis* e tomate (Barlóg, 2002; Stewart et al., 2001).

Mudanças no pH e disponibilidade de nutrientes no solo também alteram a metabolômica foliar de espécies nativas, que irão responder de maneiras distintas à entrada de nutrientes no sistema (Martins, 2019). Ao avaliar espécies do dossel e sub-dossel de uma floresta tropical, em diversos regimes de fertilização, Gargallo-Garriga et al. (2017) reportaram que diferentes nutrientes limitam diferentes espécies de diferentes maneiras e que as mudanças observadas no metaboloma variam de acordo com o nicho que a planta ocupa e sua adaptação a longo prazo às mudanças edáficas.

Além do solo, alguns microrganismos podem modular a produção de metabólitos secundários das plantas que, por outro lado, podem influenciar na composição do microbioma vegetal (Mastan et al., 2019). As interações planta-microrganismo, seja na rizosfera ou na filosfera, são moldadas por um ambiente químico onde o metaboloma da planta hospedeira e o microbioma se influenciam mutuamente (Firáková et al., 2007; Gaube et al., 2023; Pavarini et al., 2012). Na rizosfera, alguns flavonoides são produzidos para a atração de fungos e bactérias simbiotes, através da quimiotaxia (Hassan & Mathesius, 2012). Após o estabelecimento desta relação já foi relatada a produção de compostos de defesa e moléculas indutoras de crescimento nas plantas (Glick et al., 2007; Hazzoumi et al., 2015).

Microrganismos filoféricos produzem uma série de metabólitos com ação antimicrobiana, sendo capazes de impedir a proliferação de fitopatógenos (Müller et al., 2016). Um exemplo desses metabólitos são os compostos orgânicos voláteis (VOCs, na sigla em inglês) produzidos por fungos filoféricos que podem inibir o crescimento de outras espécies de fungos (Al-Maawali et al., 2021), demonstrando seu potencial como agentes de controle biológico (Strobel et al., 2011). A presença de fungos filoféricos também afeta a produção de VOCs pelas plantas, tanto nas folhas (Saunier et al., 2020), como no néctar produzido pelas flores, sendo capazes de alterar a preferência dos polinizadores (Rering et al., 2018).

Para identificar a influência dos microrganismos no metaboloma da sua hospedeira, um estudo de supressão da comunidade epifítica foi realizado com *Sambucus nigra* (Gargallo-Garriga et al., 2016). Os resultados mostram um impacto significativo da ausência dos microrganismos filosféricos na metabolômica das folhas e flores, revelando uma mudança especialmente em metabólitos epifíticos como terpenoides e fenólicos (Gargallo-Garriga et al., 2016). Estudos como esse, sobre a influência dos microrganismos da filosfera na produção de metabólitos secundários de seus hospedeiros, são mais recentes e muitos dos mecanismos que estão envolvidos nessa relação ainda são desconhecidos (Bacon & White, 2016; Gaube et al., 2023). Um maior foco nas interações metabólicas de plantas lenhosas e respectivos microrganismos filosféricos garante uma melhor compreensão de como essas relações são estabelecidas e quais fatores irão influenciá-las (Bacon & White, 2016; Trivedi et al., 2020).

A metabolômica é uma abordagem que pode ajudar na elucidação dos processos e interações envolvendo planta-filosfera (Zhang et al., 2023). O uso de técnicas de espectrometria de massa em estudos de ecologia química está crescendo nos últimos anos, fornecendo novas abordagens para responder questões ecológicas e se mostrando uma técnica promissora para a detecção de mudanças que às vezes não são expressas no fenótipo das espécies (Peñuelas & Sardans, 2009; Peters et al., 2018; Poulin & Pohnert, 2019).

Plantas nativas do Cerrado produzem uma variedade de compostos, especialmente fenólicos, conferindo à muitas delas propriedades medicinais (de Giffoni de Carvalho et al., 2019; Guarim Neto & Morais, 2003). Contudo, apesar da elevada riqueza de moléculas produzidas e complexas interações bioquímicas neste sistema, estudos de ecologia química no Cerrado são pouco abrangentes (Novaes et al., 2013), especialmente quando se trata de interação planta-microrganismo.

Compreender como a produção de metabólitos de uma espécie é modificada em função das alterações edáficas e como isso se relaciona com a comunidade microbiana associada, é importante para esclarecer como as interações ocorrem em sistemas naturais e quais as possíveis consequências que atividades antrópicas (como maior deposição de nutrientes ao solo) podem trazer para a interação microrganismo-planta e interações em sistemas terrestres (Hong et al., 2016; Liu et al., 2020; Park et al., 2014).

2.2 OBJETIVOS E HIPÓTESES

2.2.1 OBJETIVO GERAL E HIPÓTESES

A fertilização do solo em áreas naturais leva à uma mudança na produção dos metabólitos das espécies vegetais (Gargallo-Garriga et al., 2017; Martins, 2019) e essas mudanças podem dificultar a simbiose microrganismo-planta (Wang et al., 2022), porém pouco se sabe sobre como a filosfera é impactada por essas alterações no perfil metabólico da planta. Assim, o objetivo deste estudo foi compreender os efeitos da adição de nutrientes no solo na metabolômica foliar de uma espécie lenhosa do Cerrado e se há correlação com as mudanças encontradas na comunidade filosférica fúngica.

As condições edáficas podem modificar o metaboloma das espécies vegetais (Karimi et al., 2020; Yuan et al., 2020). A prática da calagem em solos naturais do Cerrado leva à drásticas mudanças no pH, disponibilidade de nutrientes no solo e redução da presença de elementos fitotóxicos como o Al (Jacobson, 2009; Mello, 2019). Dentre todos os tratamentos do projeto de fertilização, a calagem é o que apresenta maior efeito na metabolômica foliar de espécies lenhosas (Martins, 2019). Dessa forma, a primeira hipótese a ser testada é que: **(I)** o tratamento calagem é o que apresenta a metabolômica foliar mais distinta em comparação ao tratamento controle.

O perfil metabólico das espécies hospedeiras exerce influência nas comunidades filosféricas (Xu et al., 2022), especialmente na comunidade bacteriana, que pode ser favorecida pela produção e excreção de alguns metabólitos por parte das plantas (Gaube et al., 2023). Estudos com a comunidade fúngica são mais escassos, porém esses organismos também são afetados pela produção de metabólitos de suas hospedeiras (Huang et al., 2023). Assim, a segunda hipótese é que: **(II)** as comunidades filosféricas de *Styrax ferrugineus* (ao nível de ordem) terão correlação com os metabólitos secundários produzidos nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo.

2.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar como a produção de metabólitos foliares muda em relação aos tratamentos de adição de nutrientes no solo;
- Determinar a correlação entre a produção de metabólitos e mudanças na comunidade filosférica fúngica de *Styrax ferrugineus*, sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 ÁREA DE ESTUDO

As coletas foram feitas em uma área de cerrado *stricto sensu*, localizada na Reserva Ecológica do Roncador do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR/IBGE), no Brasil central (15° 56' S; 47° 53' N). Esta reserva se encontra na Área de Proteção Ambiental (APA) Gama e Cabeça de Veado, possuindo mais de 10.000 hectares de proteção ambiental contínua. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é tropical com inverno seco (Aw), com uma distribuição sazonal da chuva (Alvares et al., 2013). A estação seca ocorre de abril a setembro e a estação chuvosa ocorre nos meses de outubro a março, com precipitação média anual em torno de 1.450 mm, temperatura média de 22 °C e umidade relativa do ar variando entre estações, podendo chegar a 80% nos meses de chuva e abaixo dos 20% no auge da estação seca (Cavararo, 2004).

O cerrado *stricto sensu* é caracterizado pela presença contínua de gramíneas, junto com o estrato arbóreo e arbustivo, com cobertura lenhosa variando de 10% a 60% (Eiten, 1994). A área possui solo do tipo Latossolo Vermelho sendo bem drenado, profundo, com pH ácido, elevada quantidade de óxidos de ferro e alumínio, porém limitado em nutrientes como o fósforo (EMBRAPA, 2006).

2.3.2 EXPERIMENTO DE ADIÇÃO DE NUTRIENTES NO SOLO

O projeto fertilização teve início no ano de 1998 (Kozovits et al., 2007), com aplicações bianuais de nutrientes no solo até 2006, sendo retomada em novembro de 2017 e aplicação posterior em março de 2018. A aplicação de fertilizantes se deu da seguinte forma: Tratamento nitrogênio (N): adição de 100 kg/ha anuais de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄); tratamento fósforo (P): adição 100 kg/ha anuais de superfosfato simples 20% - Ca (H₂PO₄)₂ + CaSO₄.2H₂O; tratamento nitrogênio e fósforo (NP): adição de sulfato de amônio e superfosfato simples 20%; tratamento calagem (Ca): adição de 4 t/ha ao ano, na forma de 60% de calcário dolomítico (CaO+MgO) + 40% de gesso agrícola (CaSO₄.2H₂O) e controle (C) onde não houve adição de nutrientes. A aplicação dos fertilizantes foi feita a lanço sobre a camada de serapilheira e sem revolvimento do solo. A adição de cálcio foi feita apenas no início da estação chuvosa pois, antes da retomada da adição de nutrientes em 2017, foi realizada uma análise do solo e ainda havia efeito residual da última calagem feita em 2006. Cada um dos cinco tratamentos estão representados em quatro parcelas de 15 x 15 m distribuídas de forma aleatória e com distância mínima entre elas de 10 metros (Kozovits et al., 2007; Jacobson, 2009). As propriedades do solo

medidas nos anos de 2015, 2018 e 2021, em cada um dos cinco tratamentos são apresentadas na tabela 1 (capítulo 1).

2.3.3 ESPÉCIE SELECIONADA

Com base nos resultados do capítulo anterior, *Styrax ferrugineus* foi selecionada para investigação da metabolômica foliar e sua relação com as mudanças observadas na comunidade filosférica.

2.3.4 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

A coleta foi realizada no dia 30 de setembro de 2022, concomitantemente com a coleta do capítulo anterior. Foram amostrados cinco indivíduos por tratamento (n= 25), onde folhas maduras e completamente expandidas foram removidas aleatoriamente, buscando fazer uma amostra representativa de toda a copa das árvores. As folhas foram removidas utilizando luvas cirúrgicas estéreis (troçadas após cada amostragem) e imediatamente colocadas em sacos plásticos estéreis e armazenadas em caixa térmica com gelo, por até 12 horas até o processamento das amostras. Todo o material vegetal coletado foi seco em estufa 40 °C até atingir peso constante e posteriormente foi pulverizado com o uso de um moinho para posterior obtenção dos extratos foliares.

2.3.5 OBTENÇÃO DE EXTRATOS

Os extratos foram produzidos utilizando acetato de etila como solvente extrator em um extrator acelerado por solvente ASE-150 (Dionex™ ASE™ 150 *Accelerated Solvent Extractor*). Para cada uma das amostras, folhas trituradas foram adicionadas na cela do ASE-150 e os seguintes parâmetros foram designados: temperatura de extração em 50 °C, com tempo de extração de 3 minutos por ciclo, com a execução de 2 ciclos estáticos, lavagem de 60% do volume da cela, e 100 segundos de tempo de purga. As extrações resultantes destes processos foram concentradas em um evaporador rotativo (Buchi-150), transferidas para frascos de vidro de 20 mL pesados anteriormente e mantidos em capela química sob exaustão até peso constante.

2.3.6 ESPECTROMETRIA DE MASSA

As análises de espectrometria de massas foram realizadas em dois equipamentos distintos, gerando dois grupos de dados: de alta resolução e de baixa resolução. De modo simplificado, a resolução de massa é a diferença de massa mínima entre dois picos espectrais (Xian et al., 2012). Equipamentos de alta resolução (ex: Orbitrap) possuem medições de massas mais exatas, em até quatro casas decimais, enquanto equipamentos de baixa resolução (ex: IonTrap) apresentam uma precisão de “massa inteira”, sendo menos precisos na diferenciação

dos íons (Junot et al., 2014).

As análises em baixa resolução foram feitas em triplicata, o que permitiu a análise metabolômica e anotações dos metabólitos presentes em *Styrax ferrugineus*. Devido à pouca disponibilidade de equipamento, as análises em alta resolução foram feitas com um *pool* de amostras, permitindo apenas a anotação dos metabólitos de *S. ferrugineus*.

2.3.6.1 ESPECTROMETRIA DE MASSA DE BAIXA RESOLUÇÃO

Os indivíduos selecionados foram os mesmos enviados para o sequenciamento da região ITS1 (capítulo 1), sendo 3 indivíduos para cada um dos tratamentos de adição de nutrientes no solo (n= 15). Inicialmente, para cada uma das amostras, 3 mg de extrato bruto foram solubilizados em 3 mL de metanol de modo a obter uma concentração final de 1 mg/mL. Posteriormente, as soluções foram homogeneizadas em um vórtex durante 30 segundos, seguido de banho ultrassônico por 5 minutos. Alíquotas de 1 mL foram coletadas de cada uma das amostras com auxílio de seringa, filtradas através de membrana de 0,22 µm e posteriormente analisadas em HPLC-MS/MS (HPLC Shimadzu IonTrap amaZon Speed – Bruker) no modo de ionização positivo. A coluna utilizada foi Phenomenex Gemini C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm de tamanho de partícula), com um fluxo de 1 mL/min, injetando 20 µL de amostra, uma fase A (H₂O, 0,1 % ácido fórmico) e fase B (metanol, 0,1 % ácido fórmico) em um gradiente B de 5% a 100% - 30min, seguido de 13 minutos para lavagem e estabilização da coluna. Toda a análise foi realizada no Laboratório Multiusuário de Espectrometria de Massas - LMEM, da Universidade de São Paulo – USP.

2.3.6.2 ESPECTROMETRIA DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO

A partir dos extratos brutos dos mesmos indivíduos da análise anterior, foi feito um *pool* de amostras para cada um dos tratamentos de adição de nutrientes no solo (n= 5). Para isso, foram pesados 3 mg de cada um dos três indivíduos de um mesmo tratamento (totalizando 9 mg de extrato bruto por tratamento) e solubilizados em 9 mL de metanol de modo a obter uma concentração final de 1 mg/mL. As amostras foram homogeneizadas em um vórtex durante 30 segundos, seguido de banho ultrassônico por 5 minutos. Uma alíquota de 1 mL foi transferida para um tubo do tipo eppendorf e centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado (800 µL) em um vial, o padrão interno foi adicionado (p-fluoro-DL-fenilalanina, concentração final de 2 µg/mL), homogeneizado em vórtex por 10 segundos e analisado em UHPLC Dionex Ultimate 3000 acoplado a espectrômetro de massas Orbitrap Q Exactive Plus

(Thermo Fisher Scientific, USA) com fonte de ionização por electrospray, no modo de ionização positivo e negativo. Foi utilizada uma coluna Acquity UPLC BEH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm de diâmetro de partícula), com fluxo de 0,350 mL/min, injetando 5 µL de amostra, uma fase A (95% H₂O e 5% metanol com 0,1% de ácido fórmico) e fase B (95% metanol e 5% H₂O com 0,1% de ácido fórmico), com um gradiente linear de 35% a 100% de B em 6 minutos, 100% de B isocrático por 13 minutos, gradiente linear de 100% a 35% de B em 0,1 minuto e por fim 35% de B isocrático por 3 minutos. Toda a análise foi realizada no Laboratório de apoio ao desenvolvimento tecnológico da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

2.3.7 ANOTAÇÃO DE METABÓLITOS E ANÁLISE METABOLÔMICA

Os arquivos com os dados gerados nos itens 2.3.6.1 e 2.3.6.2, foram convertidos para o formato ‘.mzXML’ através do *software MsConvert*. Em seguida, duas abordagens distintas foram realizadas: 1) os dados brutos foram utilizados para anotação de metabólitos presentes em *S. ferrugineus* sem nenhuma mineração dos dados ou filtragem de íons por prevalência. Essa abordagem foi utilizada para reportar o maior número de metabólitos presente em *S. ferrugineus*, sem excluir aqueles que estavam presentes em poucas amostras. 2) Em uma fase posterior, apenas os dados de baixa resolução (descritos no item 2.3.6.1) foram processados no *software MZmine* e utilizados para análise metabolômica.

2.3.7.1 CONSTRUÇÃO DE REDES MOLECULARES E ANOTAÇÃO DE METABÓLITOS

Para a construção de redes moleculares e anotações dos metabólitos presentes em *Styrax ferrugineus*, os dados de baixa e alta resolução foram carregados, separadamente, na plataforma *Global Natural Products Social Molecular Networking* (GNPS). As anotações dos metabólitos foram feitas a partir da comparação dos espectros de fragmentação dos íons (MS/MS) com as bibliotecas espectrais do GNPS (Wang et al., 2016). Para ambos os dados, os parâmetros utilizados foram os padrões sugeridos pela plataforma, com uma tolerância à massa do íon precursor definida em 2,0 Da e uma tolerância ao íon do fragmento MS/MS de 0,5 Da para os dados de baixa resolução e 0,05 Da para os dados de alta resolução. Os espectros das redes moleculares foram pesquisados nas bibliotecas espectrais, onde as correspondências mantidas entre os espectros de rede e os espectros da biblioteca deveriam ter uma pontuação acima de 0,7 e pelo menos 6 picos correspondentes.

Após a análise no GNPS, foi construída uma tabela com os metabólitos sugeridos através da comparação dos dados MS/MS com as bibliotecas espectrais. Foram reportados os valores para *m/z* precursor, nome do metabólito e sistema simplificado de introdução de dados

moleculares em linha (*Smile*, na sigla em inglês) fornecidos pelo GNPS. Também foi reportado a fórmula molecular, obtida na plataforma *ChemSpider* (ChemSpider, 2023) e a classificação química de cada metabólito (via metabólica, superclasse e classe) está de acordo com o banco de dados *NP Classifier* (Kim et al., 2021). Por fim, foi realizada uma busca na literatura de trabalhos que reportam funções já descritas - para cada um dos metabólitos sugeridos - seja em relação à planta com o meio ambiente ou outros organismos, ou uso humano das substâncias isoladas.

2.3.7.2 PROCESSAMENTO DE DADOS PARA ANÁLISE METABOLÔMICA

Os dados de baixa resolução, no formato ‘.mzXML’, foram processados no *software MZmine* considerando os dados MS1, utilizando os módulos de detecção de massa (RT 2,4-43 min, centróide), construtor de cromatograma (MS nível 1; altura mínima $5,0 \times 10^5$; tempo mínimo 0,1 min; m/z tolerância 0,5 m/z), deconvolução dos espectros (*Noise amplitude*), agrupador de picos isotópicos (m/z tolerância 0,5 m/z ; RT tolerância 1 min), alinhamento de dados (*Join aligner*; m/z tolerância 0,5 m/z ; RT tolerância 0,5 min) e *gap-filing* (intensidade tolerância 20%; m/z tolerância 0,5 m/z ; RT tolerância 0,5 min). Após o processamento dos dados, foi gerado uma tabela no formato ‘.csv’ com valor m/z e tempo de retenção (RT, na sigla em inglês), identificação da amostra, tratamento e intensidade do pico.

2.3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises estatísticas consideraram o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e foram feitas no programa estatístico R, exceto para a filtragem dos dados.

Para evitar a variabilidade técnica encontrada em dados metabolômicos, os dados gerados a partir do processamento realizado no *MZmine*, foram inicialmente filtrados por desvios padrões relativos (RDS) (Wu & Li, 2016), utilizando um filtro de 10% na plataforma *MetaboAnalyst* (Xia & Wishart, 2016). Em seguida, para ajustar a distribuição dos dados e aproxima-la de uma distribuição Gaussiana, as amostras foram normalizadas por \log_{10} e pelo grupo de referência (PQN) utilizando o tratamento controle (Li et al., 2016).

Para verificar como os tratamentos de adição de nutrientes no solo se distribuem em função do conjunto de íons detectados, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA). Para avaliar a variação dos íons entre os tratamentos, foi realizado o teste ANOVA one-way seguido de um pós teste de Tukey. Os íons que apresentaram diferenças significativas entre tratamentos foram usados em uma segunda PCA, para obter uma melhor compreensão de como esses íons se comportaram com os tratamentos.

Utilizando os dados da comunidade filosférica de *S. ferrugineus*, filtrados por

abundância e prevalência, gerados no capítulo anterior, as seguintes análises foram realizadas: análise Canônica de coordenadas principais (CAP) baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, para avaliar quais íons foram significativos na separação das comunidades filosféricas entre os tratamentos, seguida de uma ANOVA permutacional com 999 permutações para calcular a significância dos resultados. Um gráfico de abundância relativa das ordens de fungos entre tratamentos foi gerado utilizando o pacote 'ggplot2'. Para o teste de correlação entre íons e fungos filosféricos (ao nível de ordem) foram realizadas correlações de ordem de classificação de Spearman, através da função 'rcorr' no pacote *Hmisc*, seguido de correção de Benjamini-Hochberg para ajustar o valor de p e eliminar eventuais falsas correlações (Benjamini & Hochberg, 1995). As relações significativas foram visualizadas no *software Cytoscape* versão 3.10.1 (Shannon et al., 2003).

2.4 RESULTADOS

2.4.1 ANOTAÇÃO DE METABÓLITOS

Diferentes metabólitos foram anotados através da comparação dos espectros MS/MS com as bibliotecas espectrais do GNPS. A análise dos dados de baixa resolução sugeriram a presença de 35 metabólitos, enquanto a análise dos dados de alta resolução sugeriram a presença de 45 metabólitos. Eliminando os metabólitos em comum entre as análises, foi sugerida a presença de 62 metabólitos em *S. ferrugineus* (Tabela 4).

Dos metabólitos sugeridos, de acordo com a classificação química recebida, a maior parte deles são flavonoides (14), seguido dos terpenoides (9) e ácidos graxos (7), além de carboidratos (4), ácidos fenólicos (3), lignanas (3), esteroides (1) e fenilpropanoide (1). Embora apenas um metabólito tenha sido classificado como alcaloide, outros cinco compostos nitrogenados foram sugeridos.

Dentre as funções descritas para esses metabólitos, a maioria apresenta ação anti-inflamatória e/ou antioxidante e suas pesquisas tem como foco o uso na saúde humana. Foram reportados 17 metabólitos com algum tipo de ação antimicrobiana, dos quais nove apresentam ação antibacteriana. Phytosphingosine, 9,10-DiHOME, alpha,alpha-Trehalose, Loliolide, Catechin e 13-Keto-9Z,11E-octadecadienoic acid são metabólitos que atuam na interação da planta com outros organismos. Baccatin III e Sarmenoside B são reportados sendo produzidos tanto por plantas quanto por microrganismos. Também foi sugerida a presença de Citreoviridin, uma micotoxina encontrada no gênero *Penicillium*, 13-Docosenamida, (Z)- sendo produzido por *Diaporthe schini* e Haematommic acid que é produzido por fungos liquenizados.

Tabela 4. Metabólitos anotados para *Styrax ferrugineus* a partir da comparação dos espectros MS/MS de alta e baixa resolução com as bibliotecas espectrais do GNPS. Para cada um dos 62 metabólitos, são reportados o precursor *m/z* informado pelo GNPS, nome do metabólito, fórmula molecular, identificador Smile, classificação química e propriedades descritas. As informações sobre classificação química (Via metabólica / Superclasse / Classe química) estão de acordo com o banco de dados *NP Classifier* (<https://npclassifier.ucsd.edu/>). As propriedades descritas indicam funções reportadas na literatura para cada um dos metabólitos.

Precursor <i>m/z</i>	Metabólito	Fórmula Molecular	Smile	Via metabólica / Superclasse / Classe química	Propriedades descritas
371.33	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	<chem>CCCCCC(CC)COC(=O)CCCCCC(=O)OCC(CC)CCCC</chem>	Ácidos graxos / Ésteres graxos / Diésteres de cera Monoésteres de cera	Propriedade antifúngica (Hernández-Ceja et al., 2021)
449.117	Astragalín; Kaempferol-3-O-glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O[C@@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@H]([C@H](O4)CO)O)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	Propriedades antioxidante, anti- inflamatória, anticâncer, neuroprotetiva e cardioprotetiva (Riaz et al., 2018)
313.272	1-Hexadecanoyl-sn-glycerol; 1-palmitoyl-sn-glycerol	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OC[C@H](CO)O</chem>	Ácidos graxos / Glicerolípídios / Monoacilgliceróis	Propriedade anticâncer (Ngo et al., 2020)
286.2	Piperine	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	<chem>O=C(C=CC=Cc2cc(O3)c(O3)c2)N(C1)CCCC1</chem>	Alcaloides / Alcaloides de lisina / Alcaloides de piperidina	Propriedades antialérgica, anti- inflamatória, anticancerígena (Haq et al., 2020)
315.253	9,10-Dihydroxy-12Z-octadecenoic acid; 9,10-DiHOME	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	<chem>CCCCCC/C=C\CC(C(CCCCCC(=O)O)O)O</chem>	Ácidos graxos / Octadecanoides / Outros octadecanoides	Regula a interação planta-fungo; promove a virulência de fungos fitopatogênicos (Battilani et al., 2018)

387.1	Moluccanin	C ₂₀ H ₁₈ O ₈	<chem>O=C1OC=2C=C3OC(C4=CC(OC)=C(O)C(OC)=C4)C(OC3=CC2C=C1)CO</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Cumarinas Lignanas / Cumarinolignanas Cumarinas simples	Propriedade antibacteriana (Alimboyoguen et al., 2014)
195.029	Haematommic acid	C ₉ H ₇ O ₅	<chem>Cc1cc(c(c(c1C(=O)O)O)C=O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Ácidos fenólicos (C6-C1)/ Ácidos fenólicos simples	Sintetizado por fungos do gênero <i>Parmotrema</i> (Torres-Benítez et al., 2017)
471.0	Glycyrrhetinate; Enoxolone; Glycyrrhetic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	<chem>C(C1(C)C(O)=O)C(C=52)([H])C(CCC2(C(C3([H])C(=O)C5)(C)CCC(C(C)(C)4)([H])C(C)3C(C(O)4)C)(C)CC1</chem>	Terpenoides / Triterpenoides / Triterpenoides oleananos	Propriedades antiviral e antibacteriana (Huang et al., 2016; Zhao et al., 2014)
469.132	Methyl 2-[[6-O-(beta-D-xylopyranosyl)-beta-D-glucopyranosyl]oxy]benzoate; Gaultherin	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₂	<chem>COC(=O)C1=C(O[C@@H]2O[C@@H](CO[C@@H]3OC[C@@H](O)[C@H](O)[C@H]3O)[C@@H](O)[C@H](O)[C@H]2O)C=CC=C1</chem>	-	Propriedade anti-inflamatória (Zhang et al., 2006)
291.0	trans-Resveratrol	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	<chem>C1=CC(=CC=C1/C=C/C2=CC(=CC(=C2)O)O)O</chem>	-	Propriedades anti-inflamatória e anticancerígena (Wenzel & Somoza, 2005)

501.1	Isorhamnetin 3-galactoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	-	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	Proteção contra UV-B (Santin et al., 2018)
291.086	(-)-Epicatechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	<chem>C1[C@H]([C@H](OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavan-3-ols	Propriedades antibacteriana, anti-inflamatória e antioxidante (Prakash et al., 2019)
177.04	D-Glucuronic acid	C ₆ H ₁₀ O ₇	<chem>[C@@H]1([C@@H]([C@H](OC([C@@H]1O)O)C(=O)O)O)O</chem>	Carboidratos / Sacarídeos / Monossacarídeos	Propriedades antibacteriana, anti-inflamatória (Shahbazi et al., 2018)
365.105	Melibiose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	-	Carboidratos / Sacarídeos / Dissacarídeos Polissacarídeos	Produção de glicose (Eloh et al., 2016)
601.089	Procyanidin B2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	<chem>O[C@@H]([C@@H](C1=CC=C(O)C(O)=C1)O2)CC3=C2C([C@@H]4[C@@H](O)[C@@H](C5=CC=C(O)C(O)=C5)OC6=C4C(O)=CC(O)=C6)C(O)C=C3O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Proantocianinas	Propriedades anti-inflamatória e antibacteriana (Huang et al., 2022; Martinez-Micaelo et al., 2015)

473.363	Corosolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	<chem>C[C@@H]1CC[C@@]2(CC[C@@]3(C)C(=CC[C@@H]4[C@@]5(C)C[C@@H](O)[C@H](O)C(C)C)[C@@H]5CC[C@@]34C)[C@@H]2[C@H]1C(O)=O</chem>	Terpenoides / Triterpenoides / Triterpenoides Ursane e Taraxastane	Propriedades antidiabética, anti-inflamatória e antitumorais (Qian et al., 2021)
277.216	Pinolenic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	<chem>CCCCC/C=C\C/C=C\C/C=C\C/CCCC(=O)O</chem>	Ácidos graxos / Ácidos Graxos e Conjugados / Ácidos graxos insaturados	Propriedades anti-inflamatória e antiterogênica (Takala et al., 2022)
439.357	Oleanolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	<chem>C[C@]12CC[C@@H](C([C@@H]1CC[C@@]3([C@@H]2C=C4[C@]3(CC[C@@]5([C@@H]4CC(CC5)(C)C(=O)O)C)(C)C)O</chem>	-	Propriedades antiviral, antimicrobiana, antidiabética, anti-inflamatória, hepatoprotetora, gastroprotetora (Castellano et al., 2022)
149.06	Cinnamic acid	C ₉ H ₈ O ₂	-	Chiquimatos e fenilpropanoides / Fenilpropanoides (C6-C3) / Ácidos cinâmicos e derivados	Propriedades antioxidantes e antimicrobiana (Sova, 2012)
395.053	Derrusin; 3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4,5,7-trimethoxy-2H-chromen-2-one	C ₁₉ H ₁₆ O ₇	<chem>COc1cc(OC)c2c(OC)c(-c3ccc4c(c3)OCO4)c(=O)oc2c1</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Cumarinas / Cumarinas simples	-
443.388	Betulin	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	-	-	Propriedades antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígenas (Kaur et al., 2022)

429.26	Ingenol-3,4-5,20-diacetonide	C ₂₆ H ₃₆ O ₅	<chem>O=C1C2C=C3COC(OC3C45O C(OC5C(=CC14C(C)CC6C2C6(C)C)C)(C)C)(C)C</chem>	Terpenoides / Diterpenoides / Diterpenoides Ingenanos Diterpenoides tetracíclicos	-
633.143	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	<chem>C[C@H]1[C@@H]([C@H]([C@H]([C@@H]([C@@H](O1)OC[C@@H]2[C@H]([C@@H]([C@H]([C@@H]([C@@H](O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	Propriedade anticancerígena (Satari et al., 2021)
465.103	Spiraeoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)[C@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@@H]([C@@H](O4)CO)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	Propriedades antioxidante, anticolinérgica, antidiabética e antiglaucomatosa (Durmaz et al., 2023)
479.12	Isorhamnetin-3-glucoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)[C@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@@H]([C@@H](O4)CO)O)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	Propriedade anti-inflamatória (Ahn et al., 2020)
689.214	Stachyose	C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁	<chem>C(C1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O2)OCC3C(C(C(C(O3)OC4(C(C(C(O4)CO)O)O)CO)O)O)O)O)O)O)O)O)O</chem>	Carboidratos / Sacarídeos / Polissacarídeos	Modula a composição do microbioma intestinal de mamíferos (Zhao et al., 2021)

318.3	Phytosphingosine	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	CCCCCCCCCCCC[C@H]([C@H]([C@H](CO)N)O)O	-	Regula o crescimento microbiano e tem ação antimicrobiana (Glenz et al., 2022)
591.168	NCGC00380545-01; 3-{(E)-2-[4-(beta-D-Glucopyranosyloxy)-2-hydroxyphenyl]vinyl}-5-hydroxyphenyl beta-D-glucopyranoside	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₄	OCC1OC(OC2=CC(=C(C=C2)\C=C\C3=CC(=CC(=C3)OC4OC(CO)C(O)C(O)C4O)O)C(O)C(O)C1O	Chiquimatos e fenilpropanoides / Estilbenóides / Estilbenos monoméricos	-
533.163	(1S,4aS,5R,7S)-1-(beta-D-Glucopyranosyloxy)-4a,5-dihydroxy-7-methyl-1,4a,5,6,7,7a-hexahydrocyclopenta[c]pyran-7-yl (2E)-3-(4-hydroxyphenyl)acrylate	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₂	C[C@@]1(C[C@@H](O)[C@]2(O)\C=C/O[C@@H](O[C@@H]3O[C@H](CO)[C@@H](O)[C@H](O)[C@H]3O)C12)OC(=O)\C=C\C4=CC=C(O)C=C4	Terpenoides / Monoterpenoides / Monoterpenoides iridóides	-
561.158	Cyclopenta[c]pyran-4-carboxylic acid, 6-(acetyloxy)-5-(benzoyloxy)-1-(hexopyranosyloxy)-1,4a,5,6,7,7a-hexahydro-7-methyl-	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₃	CC1C(OC(C)=O)C(OC(=O)C2=CC=CC=C2)C\3C1C(O\C=C3C(O)=O)OC4OC(CO)C(O)C(O)C4O	Terpenoides / Monoterpenoides / Monoterpenoides iridóides	-
277.23	9S-Hydroxy-10E,12Z,15Z-octadecatrienoic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	CC/C=C\C/C=C\C=C\[C@H](CCCCCCCC(=O)O)O	Ácidos Graxos / Octadecanóides / Outros octadecanóides	Propriedade antifúngica (Christopher et al., 2023)
431.24	NCGC00169628-03; 1-Naphthaleneheptanoic acid, 1,2,6,7,8,8a-hexahydro-beta,delta-dihydroxy-2-methyl-8-(2-methyl-1-oxobutoxy)-, (betaR,deltaR,1S,2S,8S,8aR)-	C ₂₃ H ₃₆ O ₆	CCC(C)C(=O)O[C@H]1CC\C=C2\C=C/[C@H](C)[C@H](C[C@H](O)C[C@H](O)C(CO)=O)[C@@H]12	Policetídeos / Policetídeos cíclicos / Monacolínas e derivados de Monacolina	-

454.293	PE(16:0/0:0); 1-Palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-PE	C ₂₁ H ₄₄ NO ₇ P	-	-	-
496.34	PC(0:0/16:0); 2-palmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	C ₂₄ H ₅₀ NO ₇ P	-	-	Componente da membrana celular
335.22	11. β.-Prostaglandin E2	C ₂₀ H ₃₂ O ₅	-	-	Atua na permeabilidade da membrana celular, floração e crescimento das plantas (Groenewald & Van Der Westhuizen, 2005)
609.231	Baccatin III	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₁	CC(=O)O[C@H]1C(=O)[C@]2(C)[C@@H](O)C[C@H]3OC[C@@]3(OC(C)=O)[C@H]2[C@H](OC(=O)c2cccc2)[C@]2(O)C[C@H](O)C(C)=C1C2(C)C	Terpenoides / Diterpenoides / Diterpenoides taxanos Diterpenoides tetracíclicos	Precursor de taxol, produzido por plantas e fungos, com ação anticancerígena (Chakravarthi et al., 2013)
339.099	Angoletin	C ₁₈ H ₂₀ O ₄	COc1c(C)c(O)c(C)c(O)c1C(=O)CCc1cccc1	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Chalconas	Atividade inibitória contra transcriptase reversa do HIV (Chinsembu, 2019)
409.382	Epilupeol	C ₃₀ H ₅₀ O	CC(=C)[C@@H]1CC[C@]2(C)CC[C@]3(C)[C@H](CC[C@@H]4[C@@]5(C)CC[C@@H](O)C(C)(C)[C@@H]5CC[C@@]34C)[C@@H]12	Terpenoides / Triterpenoides / Triterpenoides lupano	Pouca atividade contra células tumorais (Puapairoj et al., 2005)

465.103	Hyperoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	<chem>C1=CC(=C(C=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O[C@@H]4[C@@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H](O4)CO)O)O)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	Propriedades antibacteriana, anti-inflamatória e antitumoral (Wang et al., 2022)
519.187	(-)-Pinoresinol glucoside	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)[C@H]2[C@@H]3CO[C@H]([C@@H]3CO2)C4=CC(=C(C=C4)O[C@H]5[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@H](O5)CO)O)O)O)OC)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Lignanas / Lignanas furofuranoïdes	Provável efeito anabólico em doenças ósseas (Park et al., 2020)
404.207	Eudesmin	C ₂₂ H ₂₆ O ₆	<chem>COc1ccc([C@H]2OC[C@@H]3[C@@H](c4ccc(OC)c(OC)c4)OC[C@H]23)cc1OC</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Lignanas / Lignanas furofuranoïdes	Propriedades antibacteriana, anti-inflamatória e efeito sedativo (Patel & Patel, 2022)
593.13	Tribuloside; kaempferol-3-O-(6-p-coumaroyl)-glucoside	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	<chem>C1=CC(=CC=C1C=CC(=O)OC2C(C(C(C(O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)C5=C(C=C(C=C5)O)O)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	Molécula promissora para inibição da infecção por SARS-CoV-2 (Mishra et al., 2021)
197.117	Loliolide	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	<chem>CC1(CC(CC2(C1=CC(=O)O2)C)O)C</chem>	Terpenoides / Apocarotenoides / Apocarotenoides	Media a resposta de defesa de tomate e <i>Arabidopsis</i> contra herbívoros (Murata et al., 2019)
871.593	Pheophytin A	C ₅₅ H ₇₂ N ₄ O ₅	<chem>CCc1c(C)c2cc3[nH]c(cc4nc(C(CCC(=O)OC\C=C(/C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C4C)c4C(C(=O)OC)C(=O)c5c(C)c(cc1n2)[nH]c45)c(C)c3C=C</chem>	-	Propriedade contra o vírus da hepatite C (Wang et al., 2009)

431.38	Tocopherol	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	<chem>CC1=C(C2=C(CC[C@@](O2)(C)CCC[C@H](C)CCC[C@H](C)CCCC(C)C)C(=C1O)C)C</chem>	-	Vitamina E com propriedade antioxidante (Engin, 2009)
535.048	3,4-di-O-galloylquinic acid	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₄	<chem>O=C(O[C@@H]1C[C@](O)(C(=O)O)[C@H](O)[C@H]1OC(=O)c1cc(O)c(O)c1)c1cc(O)c(O)c(O)c1</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Ácidos fenólicos (C6-C1)/ Galotaninos Ácidos fenólicos simples	Potencial agente antifúngico (Sannomiya et al., 2022)
577.135	Procyanidin B1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	<chem>C1C(C(OC2=C1C(=CC(=C2)C3C(C(OC4=CC(=CC(=C34)O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O)C6=CC(=C(C=C6)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Proantocianinas	Propriedade anticancerígena (Lei et al., 2023)
865.201	Procyanidin trimer	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	-	-	Propriedades antioxidante e regulação da fluidez da membrana celular (Verstraeten et al., 2005)
291.086	Catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C2)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavan-3-ols	Atua na defesa da planta contra herbívoros mastigadores (Li et al., 2022)
447.202	Citreoviridin	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	<chem>COc1cc(=O)oc(C=CC=CC=C(C)=CC2(C)OC(C)C(C)(O)C2O)c1C</chem>	Policetídeos / Policetídeos lineares / Polienos lineares	Micotoxina encontrada em <i>Penicillium</i> (Shiratori et al., 2017)

275.2	9-OxoOTrE	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	<chem>CC/C=C\C/C=C\C=C\C(=O)C CCCCC(=O)O</chem>	Ácidos graxos / Octadecanoides / Outros octadecanoides	Propriedade antimicrobiana (Tang et al., 2020)
295.227	13-Keto-9Z,11E-octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	<chem>CCCCC(=O)/C=C/C=C\CCC CCCC(=O)O</chem>	-	Atua na resposta da planta contra infecções fúngicas (Feng et al., 2007)
739.209	Kaempferol-3-O-galactoside-6''-rhamnoside-3'''-rha	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	<chem>CC1OC(OC2C(O)C(C)OC(OC C3OC(OC4=C(OC5=CC(O)=C C(O)=C5C4=O)C4=CC=C(O)C =C4)C(O)C(O)C3O)C2O)C(O) C(O)C1O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Flavonoides / Flavonóis	-
287.113	Salicin	C ₁₃ H ₁₈ O ₇	<chem>OCc1cccc1O[C@@H]1O[C@ H](CO)[C@@H](O)[C@H](O) [C@H]1O</chem>	Chiquimatos e fenilpropanoides / Ácidos fenólicos (C6-C1)/ Ácidos fenólicos simples	Convertido em salicilaldeído por insetos herbívoros especializados (Boeckler et al., 2011)
675.674	13-Docosenamide, (Z)-	C ₂₂ H ₄₃ NO	-	-	Atividade antimicrobiana, sintetizado por fungos do gênero <i>Diaporthe</i> (dos Reis et al., 2019)
547.16	Hypocrellin A	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	<chem>COc1c(O)c2c(=O)cc(OC)c3c4c (OC)cc(O)c5c(=O)c(OC)c6c(c c1C(C(C)=O)C(C)(O)C6)c23)c 54</chem>	Policetídeos / Policetídeos aromáticos policíclicos	Potencial antibacteriano (Su et al., 2011)

2.4.2 METABOLÔMICA

A mineração dos dados metabolômicos de *S. ferrugineus* no *MZmine*, seguido da filtragem RDS, resultou em 236 íons (nomeados como ‘metabolite_’ e um número sequencial atribuído ainda nos dados brutos). Utilizando uma PCA para observar como os tratamentos de adição de nutrientes no solo se distribuem em função desses íons, com 48% de explicação dos eixos, é possível observar algumas alterações de acordo com os tratamentos (Figura 24). O tratamento NP não se sobrepõe ao controle, mas se sobrepõe ao tratamento N, enquanto a calagem, o tratamento P e o controle estão mais relacionados.

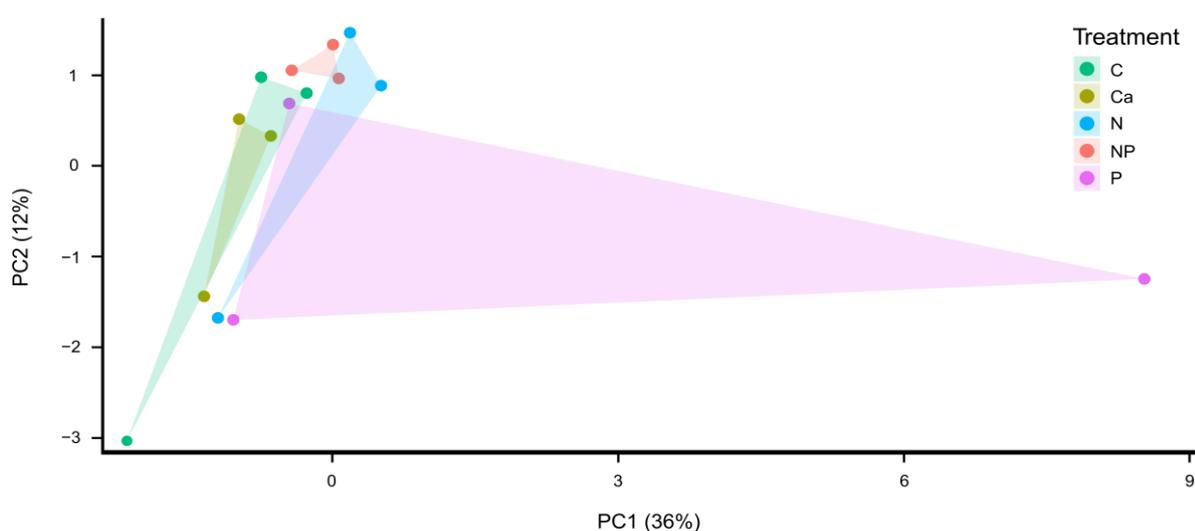


Figura 24. Análise de componentes principais (PCA) dos 236 íons detectados através da análise metabolômica de *Styrax ferrugineus* nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 48% do total da variação.

Dos 236 íons detectados após a mineração dos dados, apenas nove apresentam diferenças significativas entre os tratamentos, representando 3,81% do total de íons (Tabela 5). Os tratamentos que mais diferem são a calagem e o P com 6 e 7 íons, respectivamente, variando em relação a pelo menos um dos demais tratamentos. Já em relação ao controle, pouca variação foi encontrada, apenas os metabolite_150, metabolite_41 e metabolite_253 apresentaram variação entre o controle e ao menos um dos tratamentos.

Nenhum dos íons que apresentam diferenças significativas estavam entre os metabólitos sugeridos através da análise realizada nas bibliotecas espectrais do GNPS, portanto, suas identidades não puderam ser esclarecidas.

Tabela 5. Íons de *Styrax ferrugineus* que diferiram significativamente entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre os tratamentos, $p < 0,05$. Anova One-way.

ID íon	Precursor (m/z)	RT (min)	p value	C	Ca	N	NP	P
metabolite_150	465	33,31	0,000	a	a	b	b	b
metabolite_26	351	3,15	0,013	ab	a	b	ab	b
metabolite_41	517	31,69	0,011	b	ab	ab	a	a
metabolite_51	186	3,15	0,008	ab	a	b	ab	b
metabolite_23	445	15,71	0,023	ab	ab	a	b	ab
metabolite_32	370	32,13	0,025	ab	ab	ab	a	b
metabolite_34	465	34,12	0,026	ab	a	ab	ab	b
metabolite_253	409	15,45	0,032	b	a	ab	ab	ab
metabolite_151	381	31,97	0,037	ab	a	ab	ab	b

Embora o metaboloma não apresente grande variação em relação aos tratamentos de adição de nutrientes ao solo, ao observar a PCA apenas com os íons que diferiram é possível notar que os tratamentos são diferentes entre si, com exceção dos tratamentos N e P (Figura 25). Com uma porcentagem de 74% de explicação dos eixos, a calagem se mostra isolada dos demais tratamentos, enquanto o controle e o NP também não apresentam sobreposições.

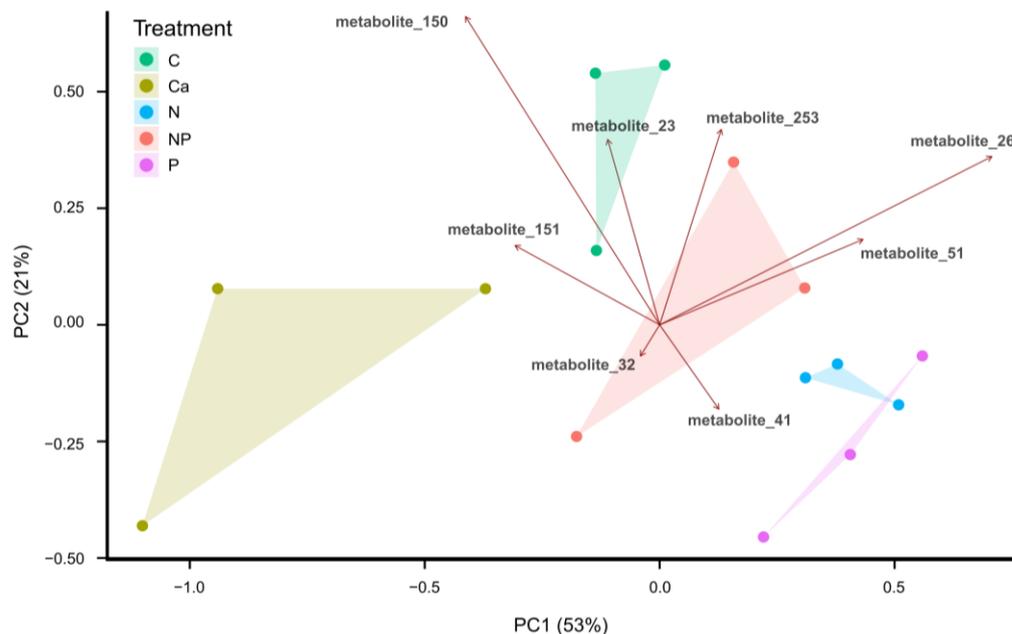


Figura 25. Análise de componentes principais (PCA) dos 9 íons de *Styrax ferrugineus* que apresentam diferenças significativas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Eixos com explicação de 74% do total da variação. Metabolite_34 não foi plotado por sua alta correlação com metabolite_151.

2.4.3 METABOLÔMICA E COMUNIDADES FILOSFÉRICAS

Uma CAP baseada em RDA, foi realizada para avaliar quais dos 9 íons foram significativos na separação das comunidades filosféricas de *S. ferrugineus*. A ANOVA permutacional mostra que a separação das comunidades entre os tratamentos é significativa ($p=0,004$), apenas com uma pequena sobreposição entre a calagem e o tratamento NP (Figura 26). Seis dos íons foram significativos na separação dos tratamentos (Tabela 6).

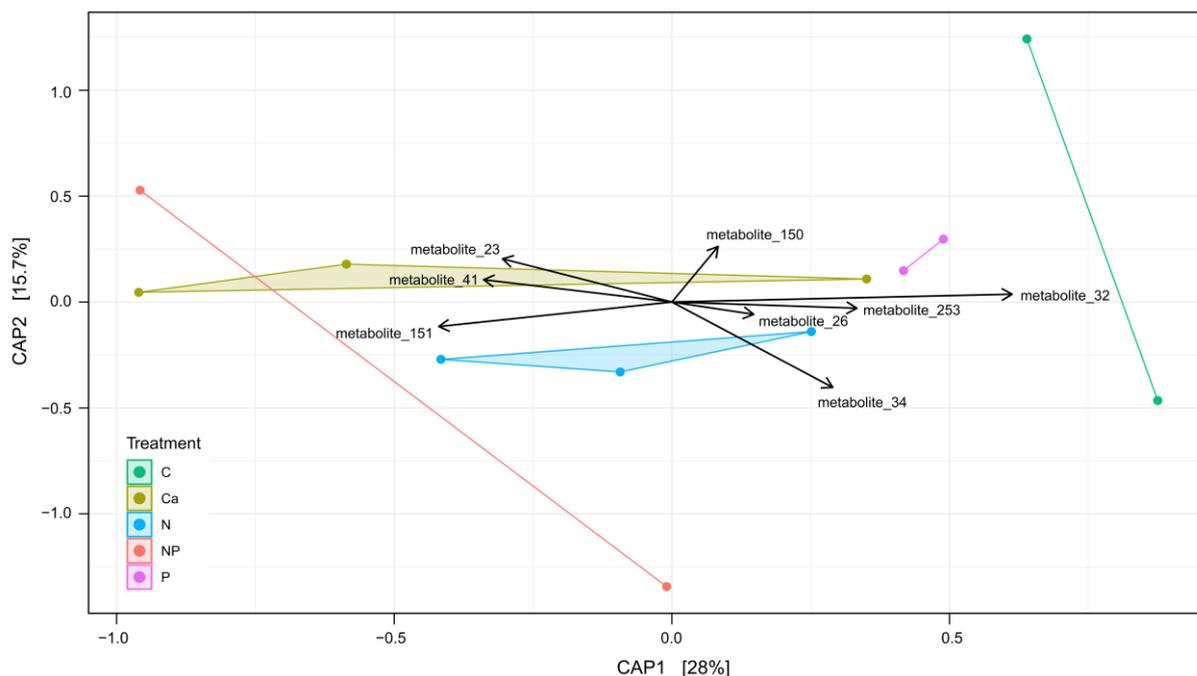


Figura 26. Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP), baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, entre a comunidade filosférica associada a *Styrax ferrugineus* e os íons que influenciam a separação das comunidades ($p < 0,05$). Porcentagem de explicação dos eixos 43,7%. Tratamentos: controle (C) (n=2), calagem (Ca) (n=3), nitrogênio (N) (n=3), nitrogênio + fósforo (NP) (n=2) e fósforo (P) (n=2). Metabolite_51 não foi plotado por sua correlação com metabolite_26.

Tabela 6. Resultados da ANOVA com 999 permutações. Realizada após a análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) baseada em RDA e distância de Bray-Curtis dos íons de *Styrax ferrugineus* e sua explicação da diferença entre as comunidades filosféricas ($p < 0,05$). Asteriscos indicam diferenças significativas $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ ** e $p < 0,001$ ***

ID íon	Pr (> r)
Metabolite_150	0,221
Metabolite_26	0,024*
Metabolite_41	0,007**
Metabolite_51	0,098
Metabolite_23	0,001***
Metabolite_32	0,014*
Metabolite_34	0,033*
Metabolite_253	0,002**
Metabolite_151	0,211

A partir dos dados filtrados por prevalência e abundância, foi gerado um gráfico com a abundância relativa das ordens de fungos presentes na filosfera de *S. ferrugineus* (Figura 27). As ordens mais abundantes no controle foram Chaetothyriales (48,5%), Mycosphaerellales (17,5%) e Sordariales (16,6%). O tratamento calagem, não apresentou dominância de apenas uma ordem, sendo as mais abundantes Mycosphaerellales (29,3%), Chaetothyriales (26,6%) e Hypocreales (24,1%). No tratamento N as ordens mais abundantes também foram Mycosphaerellales (31%), Chaetothyriales (28,8%) e Hypocreales (17,3%). Assim como no tratamento NP, onde as ordens mais abundantes foram Mycosphaerellales (42,4%), Chaetothyriales (25%) e Hypocreales (11,4%). O tratamento P teve como ordens mais abundantes Chaetothyriales (44%), Mycosphaerellales (25%) e Capnodiales (8,7%).

Sordariales diminuiu em abundância nos tratamentos fertilizados em relação ao controle (16,6%), variando de 4,9% no tratamento N a 0,6% no tratamento NP. Ao contrário de Tremellales, que aumentou em abundância nos tratamentos com adição de nutrientes, com abundância relativa de 0,45% no controle e chegando a 1,8% no tratamento P. Hypocreales também teve maior abundância nos tratamentos fertilizados, no controle representa 1,9% da abundância relativa, enquanto nos tratamentos calagem, N e NP representa 24,1%, 17,3% e 11,4%, respectivamente. As demais ordens também variaram em abundância entre os tratamentos e suas porcentagens são apresentadas no material suplementar (Tabela Suplementar 13).

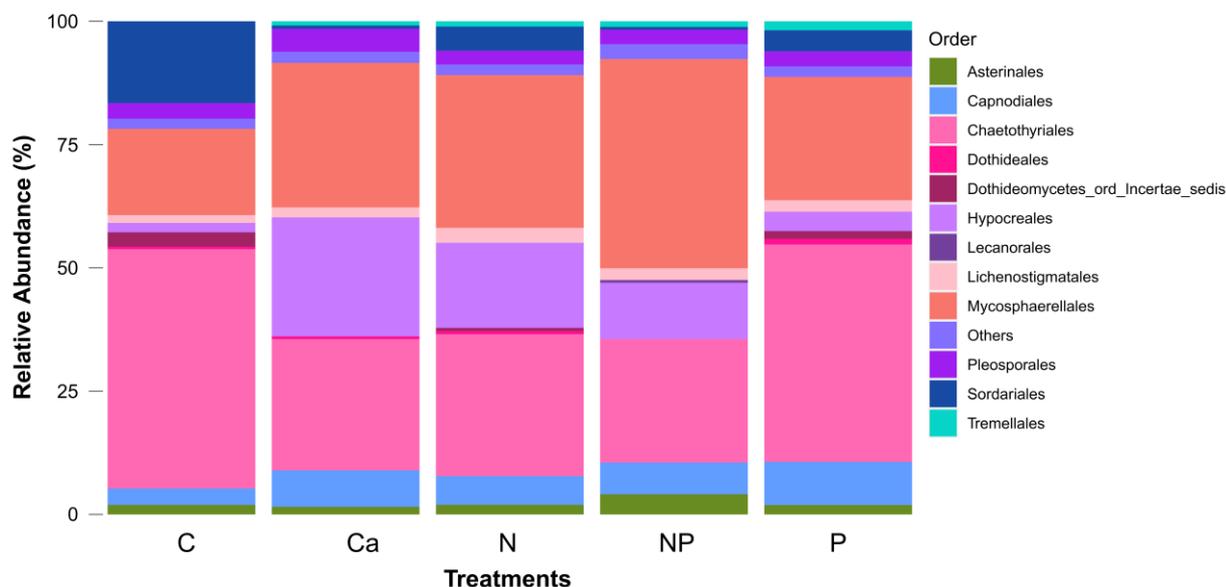


Figura 27. Abundância relativa das Ordens de fungos filosféricos, filtrados por abundância e prevalência, presentes em *Styrax ferrugineus* sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Ordens com abundância relativa < 0,5% foram agrupados na categoria “Others”. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

2.4.4 CORRELAÇÃO: FUNGOS E ÍONS

Buscando encontrar correlações e reconhecer padrões entre as diferentes ordens de fungos filosféricos e os íons de *S. ferrugineus*, foi realizada uma análise de correlação de Spearman. Os padrões gerais encontrados demonstram que os íons metabolite_26, metabolite_41, metabolite_150, metabolite_51 e metabolite_32 possuem um maior número de correlações, das quais a maioria são positivas para os íons metabolite_26, metabolite_41 e metabolite_51. Os metabolite_253 e metabolite_34 são os íons com menor número de correlações, sendo a maioria correlações negativas (Figura 28).

Alguns padrões são encontrados em relação às diferentes classes de fungos. Ao observar as classes mais diversas nesse conjunto de dados (Dothideomycetes e Sordariomycetes), em geral, são estabelecidas correlações negativas com os íons. As classes observadas do lado esquerdo do gráfico demonstram uma prevalência de correlações positivas, variando no mesmo sentido que os íons. Porém, a resposta dentro de cada ordem é individual; algumas ordens se correlacionam com quase todos os íons, enquanto outras como Capnodiales, Dothideales, Asterinales, Trichosphaeriales, Sordariales e Glomerellales se correlacionam com um ou poucos íons (Tabela Suplementar 14).

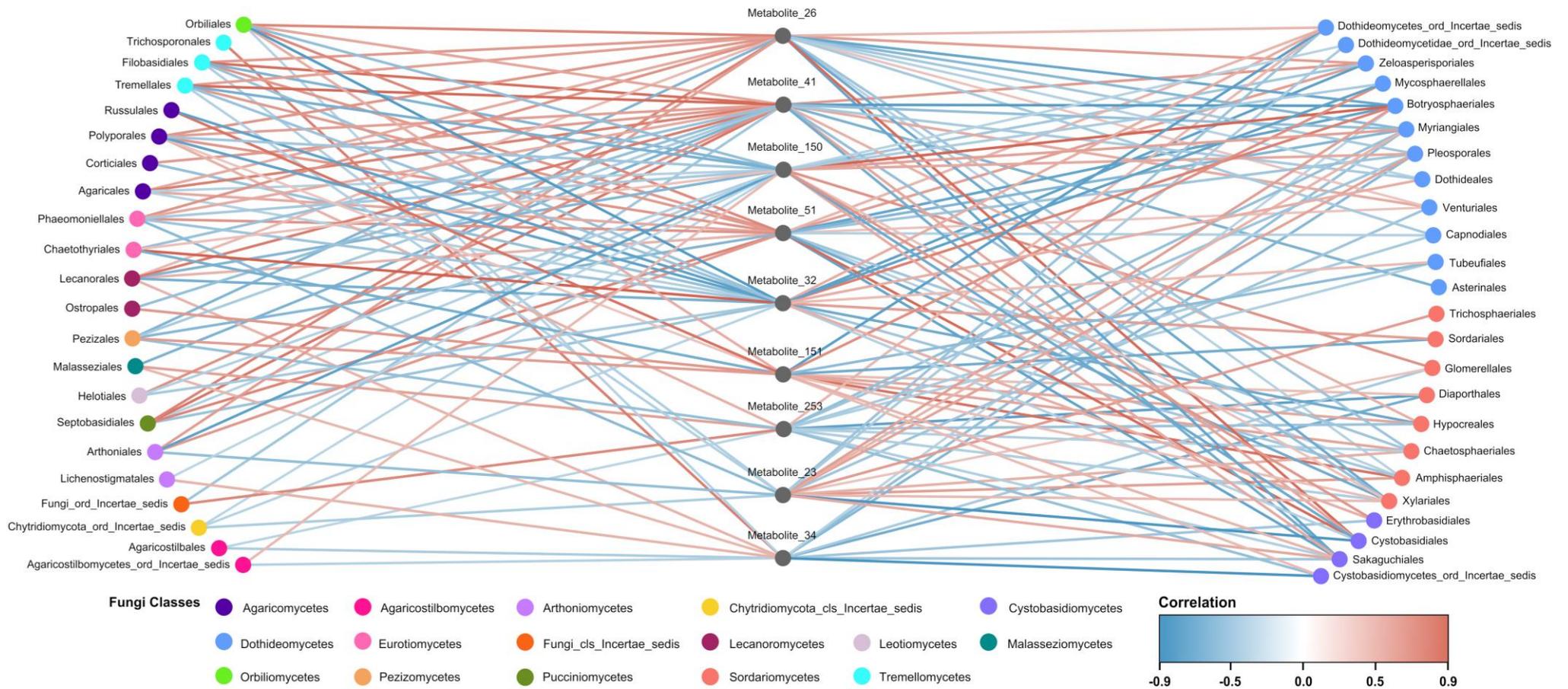


Figura 28. Rede de correlações significativas entre os íons e as ordens de fungos filoféricos de *Styrax ferrugineus*. Cada ordem está nomeada e a cor do preenchimento representa a respectiva Classe taxonômica à qual a ordem pertence. Os coeficientes de correlação de Spearman indicam se a correlação é positiva (linhas vermelhas) ou negativas (linhas azuis) e os valores de p ajustado indicam a força da correlação. Os valores de p foram ajustados para testes múltiplos com correção de Benjamini-Hochberg.

2.5 DISCUSSÃO

2.5.1 METABÓLITOS DE *STYRAX FERRUGINEUS*

A anotação de 62 metabólitos presentes nas folhas de *Styrax ferrugineus* revela a diversidade de moléculas que essa espécie é capaz de produzir. Estudos relataram a presença de terpenos e especialmente lignanas (Pauletti et al., 2000; Xia et al., 2023), que também foram sugeridos neste estudo, além da presença de um alcaloide e outros metabólitos reportados pela primeira vez para essa espécie. Técnicas de espectrometria de massas, aliadas a ferramentas como o GNPS, são importantes na compreensão do metaboloma vegetal. O uso dessas técnicas combinadas permite uma anotação mais rápida de metabólitos e podem ser usadas como uma primeira abordagem no estudo de diversidade química e, posteriormente, guiar trabalhos de isolamento e elucidação de novas moléculas (Wang et al., 2016).

Apesar da baixa abundância dos gêneros *Penicillium* (0,01%), *Diaporthe* (0,01%) e *Parmotrema* (0,1%) (capítulo 1), foi sugerida a presença de Citreoviridin, 13-Docosenamida, (Z)- e Haematommic acid, metabólitos produzidos tipicamente por esses fungos (Pitt & David Miller, 2017; Prasher & Manju, 2019; Torres-Benítez et al., 2017). Sua presença pode ser um indicativo de que esses metabólitos estão sendo produzidos em quantidades significativas, uma vez que o método utilizado para a fragmentação de íons (MS2) considerava apenas os três mais intensos de cada *scan* (Zuo et al., 2021).

Além dos metabólitos produzidos por fungos, também foi sugerida a presença de Baccatin III e Sarmenoside B. Ambos já foram descritos tanto em plantas quanto em microrganismos (Chakravarthi et al., 2013; Wibowo et al., 2019), tornando difícil diferenciar se os metabólitos são de origem vegetal, um desafio recorrente em análises metabolômicas com foco na interação planta-microrganismo (Castro-Moretti et al., 2020). Outros desafios são: 1) elucidar se a presença de inúmeros compostos descritos como antimicrobianos, interferem na colonização de diferentes espécies na filósfera e 2) compreender os processos fisiológicos e bioquímicos das plantas na produção desses metabólitos (Chen et al., 2019).

Complementar a esses exemplos, Phytosphingosine e 9,10-DiHOME são descritos como reguladores da interação planta-microrganismo, possuindo ação antimicrobiana e moldando a composição das espécies presentes na planta hospedeira (Battilani et al., 2018; Glenz et al., 2022). Embora estudos em casa de vegetação e cultivo de fungos filósfericos seja uma abordagem importante, é difícil reproduzir esses estudos com plantas nativas (Peters et al., 2018). O desenvolvimento de futuros trabalhos multiômicos, integrando metabolômica, genômica e

proteômica, serão importantes para a elucidação de como essas interações são estabelecidas (Chen et al., 2019).

2.5.2 METABOLÔMICA

A análise metabolômica das folhas de *S. ferrugineus* mostra que, mesmo sob condições edáficas distintas, as diferenças observadas entre tratamentos não levaram a uma mudança total do perfil metabólico (figura 24). Do total de íons detectados, 3,8% variaram significativamente com os tratamentos de adição de nutrientes no solo, enquanto um trabalho realizado na mesma área com *Blepharocalyx salicifolius* revelou uma mudança de 12% dos íons (Martins, 2019), embora as análises de PCA e PLS também não demonstrem uma mudança total do metaboloma (dados não publicados).

Mudanças drásticas no perfil metabolômico não eram esperadas pois muitos metabólitos secundários comuns desempenham papéis fisiológicos fundamentais - como a regulação de metabólitos primários - que não estão diretamente relacionados com a resposta a fatores externos (Raguso et al., 2015). Além da própria constituição genética da planta, sua história evolutiva é importante para compreender como serão as respostas à adição de nutrientes no sistema. *Styrax ferrugineus* é uma espécie bastante adaptada ao cerrado *sensu stricto*, região de solos predominantemente oligotróficos, portanto, possivelmente apresenta menor adaptabilidade a maior disponibilidade de nutrientes (da Veiga & Habermann, 2013; Habermann & Bressan, 2011).

A maior parte dos trabalhos que avaliaram os efeitos da adição de nutrientes no solo na metabolômica foliar de espécies vegetais tem como foco plantas de cultivo (Alseekh et al., 2018; Kusano et al., 2011; Zhao et al., 2023b). Os estudos realizados com espécies nativas demonstram que as respostas metabólicas à entrada de nutrientes se dá de acordo com a adaptação de longo prazo ao uso diferencial dos recursos que a espécie desenvolve (Gargallo-Garriga et al., 2017). Ou seja, as respostas são espécie dependente, variando de acordo com a estratégia ecológica e nutrientes adicionados (Bardy et al., 2023), o que poderia explicar as poucas alterações encontradas em *S. ferrugineus*.

Ao avaliar apenas os íons que apresentaram mudanças significativas, é possível observar que os tratamentos P e calagem são os que mais diferem dos demais tratamentos de adição de nutrientes (Tabela 5). Com esse resultado, é possível investigar onde *S. ferrugineus* tem maior plasticidade e quais compostos vão estar efetivamente respondendo a maior disponibilidade de nutrientes no solo. A primeira hipótese predizia que o tratamento calagem é o que apresenta a

metabolômica foliar mais distinta em comparação ao controle. Contudo, os tratamentos P e NP foram os que mais se diferenciaram do controle, rejeitando a primeira hipótese deste estudo.

A adição de P no solo está relacionada com o aumento da produção de compostos fenólicos em espécies que estão sob alta exposição solar, o que poderia estar relacionado com maior poder antioxidante necessário nessas condições (Csepregi & Hideg, 2018; Gargallo-Garriga et al., 2017). Porém, em um estudo realizado anteriormente na área do projeto fertilização, não foram encontradas variações significativas na concentração de fenólicos totais em *S. ferrugineus* (Jacobson & Bustamante, 2019). A fertilização com P, em algumas espécies, também está associada ao aumento da concentração de P foliar, que se correlaciona à uma maior produção de metabólitos de base de purina (Gargallo-Garriga et al., 2017; Mayor et al., 2014). *Styrax ferrugineus* apresenta um aumento na concentração de P foliar nos tratamentos NP e P (capítulo 1; Castro, 2023) e talvez o aumento da concentração de metabólitos de base purina também possa estar ocorrendo nessa espécie. Embora seja uma indicação de que esse grupo de metabólitos possa estar sendo alterado, mais estudos são necessários para elucidar com precisão quais compostos estão variando entre tratamentos.

2.5.3 METABOLÔMICA FOLIAR E FUNGOS FILOSFÉRICOS

A segunda hipótese desse capítulo predizia que as comunidades filosféricas de *S. ferrugineus* (ao nível de ordem) teriam correlação com ao menos um grupo de metabólitos secundários produzidos nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Ao observar os resultados da correlação é possível observar a interação entre a comunidade de fungos e alguns íons, corroborando a segunda hipótese.

No capítulo anterior, ao avaliar como a comunidade filosférica se relaciona com a composição elementar das folhas, não foi encontrada nenhuma resposta significativa, enquanto os íons tiveram uma resposta na separação das comunidades por tratamento. Os metabólitos produzidos pelas plantas podem afetar não só a composição da sua comunidade filosférica (Xu et al., 2022), mas também impactar outras interações como a de herbívoros foliares (Kariñho-Betancourt, 2018). Os resultados deste trabalho são uma primeira indicação de que há uma mudança na química foliar que interage com a comunidade filosférica, e demandam análises posteriores para elucidar quem está mudando e se os efeitos se restringem apenas à associação planta-fungo.

As correlações entre as ordens de fungos e íons revelam a complexidade dessa interação, com ordens respondendo a um íon específico, enquanto outras são influenciadas mutuamente por mais de um íon. Entender quais correlações ocorrem é um primeiro passo para a descoberta de

causa e efeito (Peters et al., 2018), pois existe uma dualidade entre quem está influenciando e quem é influenciado. A planta pode estar produzindo metabólitos e afetando as comunidades filosféricas, mas os fungos também podem produzir metabólitos que alteram a resposta metabólica da planta (Gargallo-Garriga et al., 2016; Zhang et al., 2023).

Estudos de adição de nutrientes a longo prazo são fundamentais para compreender como os sistemas naturais serão afetados pelas mudanças antrópicas causadas pela lixiviação de fertilizantes para áreas naturais ou a maior deposição de nutrientes por via atmosférica (Liu et al., 2023; Shibata et al., 2015). No Cerrado, diferentes trabalhos demonstram os impactos das alterações edáficas em diversas escalas de observação, desde ciclagem de nutrientes e funcionamento do ecossistema, até mudanças intraespecíficas de características morfológicas de espécies lenhosas (Castro, 2023; Jacobson et al., 2011; Kozovits et al., 2007).

Uma das mudanças mais proeminentes são aquelas que ocorrem na comunidade de espécies do estrato lenhoso e herbáceo-arbustivo, onde é observada não só a perda de espécies, mas também a invasão de gramíneas exóticas, especialmente nos tratamentos NP, P e calagem (Lannes et al., 2016; Mello, 2019). Trabalhos anteriores observaram que algumas espécies tem uma diminuição na abundância, enquanto outras aumentam (Castro, 2023; Jacobson, 2009). Alterações na comunidade microbiana do solo também foram estudadas e há uma drástica mudança na abundância dos grupos das parcelas fertilizadas (Silva, 2012; Silveira, 2020).

O processo de eutrofização do solo traz consequências também para aquelas espécies que conseguem permanecer no sistema. As respostas das plantas a esse processo é multifatorial, por exemplo, foram observadas mudanças na anatomia foliar, anatomia da madeira e em diferentes atributos das folhas, assim como estratégias de uso de nutrientes (Bucci et al., 2006; Castro, 2023; Costa et al., 2021). A química foliar e produção de metabólitos também foram alterada com os diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo (Jacobson & Bustamante, 2019), o que pode levar a alterações nas interações que ocorrem tanto acima quanto abaixo do solo (Martins, 2019).

Ao observar as relações entre plantas e fungos endofíticos, não foi encontrada grande variação da comunidade fúngica em *O. hexasperma* e *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) (dos Reis, 2022). Resultado parcialmente discordante ao encontrado nesse trabalho, onde as comunidades filosféricas de *S. ferrugineus* variaram significativamente, especialmente quando relacionadas aos íons, enquanto em *O. hexasperma* não houve variação.

Um perfil metabolômico ou redes de interações por si só não trazem uma compreensão completa das interações que estão ocorrendo; integrar dados multiômicos pode trazer uma visão mais holística da regulação dos microrganismos associados à filosfera e sua relação com o

metaboloma de sua hospedeira (Peters et al., 2018; Tang et al., 2023). Observar as correlações dos íons com os grupos mais abundantes e representativos de fungos (por exemplo, Dothideomycetes e Sordariomycetes) pode ser um caminho a ser seguido em trabalhos futuros, uma vez que a resposta desses grupos é muito determinante para o sistema.

2.6 CONCLUSÃO

Neste capítulo foram investigados os efeitos da adição de nutrientes no solo na metabolômica foliar de *S. ferrugineus* e sua correlação com fungos filosféricos. O metaboloma das folhas não sofreu drásticas mudanças, com apenas 3,81% dos íons variando entre os tratamentos, indicando que *S. ferrugineus* pode ser uma espécie menos responsiva à maior disponibilidade de nutrientes. Estudos anteriores realizados na área demonstram diferentes efeitos da eutrofização do solo, que vão desde a perda de espécies, até mudanças na ciclagem de nutrientes. Dentre as espécies que persistem no sistema, as correlações observadas entre as diferentes ordens de fungos e a metabolômica foliar de *S. ferrugineus* são um indicativo de que as interações também são afetadas, podendo ter impacto em longo prazo afetando links importantes para a manutenção da diversidade de interações e espécies na filosfera. Estudos posteriores são necessários para elucidar quais são os metabólitos que estão variando e se eles interferem apenas na relação planta-fungo ou também podem interferir em outras interações, por exemplo entre plantas e herbívoros.

CAPÍTULO 3 – ENSAIO BIOLÓGICO DE EXTRATOS DE FOLHAS CONTRA FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

3.1 INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de produtos antifúngicos de origem sintética, denominados como agrotóxicos, tem levado à resistência de inúmeros patógenos (Zhao et al., 2021), que com o passar do tempo se tornam mais difíceis de serem controlados pelos produtos atualmente disponíveis (Brauer et al., 2019; Cowen, 2008). O descobrimento e uso de moléculas naturais com princípios bioativos vem ganhando interesse pelo seu impacto reduzido no meio ambiente, sendo moléculas biodegradáveis que não persistem no sistema e evitam danos à outras espécies não-alvo (Castillo et al., 2012; Nega, 2014).

Um dos grandes mercados mundiais que se beneficia diretamente pelo descobrimento de novas moléculas é a agricultura (Fisher et al., 2018), que perde milhões de dólares por ano em plantações ou mercadoria pós-colheita que foram contaminadas por algum fitopatógeno (Fones et al., 2020; Tripathi & Dubey, 2004). A contaminação por doenças de origem fúngica é especialmente preocupante devido à resistência natural desses microrganismos e tempo prolongado de tratamento para total controle da doença nas culturas afetadas (Hahn, 2014).

A descoberta de novos fungicidas a partir de espécies vegetais se mostra bastante promissora para a agricultura (Sparks et al., 2017) e, embora poucos fungicidas de origem botânica sejam registrados e comercializados, inúmeros trabalhos reportaram o isolamento e caracterização de isolados de plantas com propriedades antifúngicas (Yoon et al., 2013). O Brasil representa um grande potencial na descoberta de produtos com ação antimicrobiana (Póvoa Violante et al., 2012; Silva et al., 2009), especialmente pelo grande número de espécies de plantas e o potencial de novas moléculas a serem descritas (Beech et al., 2017; Khameneh et al., 2019; Myers et al., 2000).

Um levantamento sobre plantas medicinais que ocorrem no Brasil avaliou 98 espécies, das quais 78 são nativas do Brasil, 20 são endêmicas do país e apenas 6 dessas espécies não ocorrem no Cerrado, revelando a importância do bioma não só para a conservação da biodiversidade, mas também para a descoberta de novas moléculas bioativas (de Queiroz et al., 2023). Diferentes trabalhos realizados com extratos, frações ou substâncias isoladas dessas plantas medicinais demonstram seu potencial antifúngico contra 40 espécies de fungos (de Queiroz et al., 2023). Além disso, o Brasil é o mercado mais atrativo do mundo para bioinsumos

devido ao Programa Nacional de Bioinsumos, que incentiva o uso e registro de produtos oriundos do patrimônio genético nacional (Togni et al., 2019).

Dentre os fungos de importância econômica, *Fusarium* se destaca pela gama de espécies de plantas que é capaz de infectar (por exemplo, algodão, soja, tomate, feijão, arroz) e pela produção de micotoxinas como tricotecenos e fumonisinas que tornam os alimentos impróprios para consumo (Ma et al., 2013). Os gêneros *Botrytis* e *Colletotrichum* são responsáveis principalmente pelas perdas pós colheita; quando infectam plantios de morangos podem causar a perda de 80% e 50% da produção anual, respectivamente (Luminare, 2022). A infecção por *Corynespora* pode acometer cultivos como soja e tomate e um dos sintomas produzidos é a perda das folhas e consequente diminuição da produtividade em até 50% (Godoy et al., 2016). A descoberta de moléculas de origem vegetal, capazes de controlar o crescimento desses fungos, é fundamental para a produção agrícola e constitui uma alternativa menos danosa aos ecossistemas.

3.2 OBJETIVOS E HIPÓTESE

3.2.1 OBJETIVO GERAL E HIPÓTESE

Diferentes estudos relatam o potencial antimicrobiano de metabólitos produzidos por espécies vegetais (Achilonu & Udensi, 2022; Vaou et al., 2021) e como o Cerrado pode ser fundamental na descoberta dessas moléculas (De Toledo et al., 2011; Novaes et al., 2013; Póvoa Violante et al., 2012). Assim, o objetivo deste estudo foi analisar a atividade antimicrobiana dos extratos de folhas de uma espécie lenhosa do Cerrado, submetida à diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo, contra 4 gêneros de fungos fitopatogênicos.

Styrax ferrugineus, e outras espécies do gênero, apresentam resultados promissores na produção de moléculas antifúngicas (Jaradat, 2020; Pauletti et al., 2006), assim a hipótese deste estudo (I) foi que o extrato de folhas de *S. ferrugineus*, no tratamento controle, apresenta atividade antifúngica moderada a alta em pelo menos um gênero de fungo testado.

3.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a atividade antimicrobiana de extratos de folhas de uma espécie lenhosa do Cerrado em 4 gêneros de fungos fitopatogênicos;
- Investigar se a atividade antimicrobiana é alterada com os diferentes tratamentos de adição de nutrientes ao solo;

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos utilizados foram obtidos a partir do método descrito no capítulo 2, item 2.3.5. Foram testados cinco indivíduos de *Styrax ferrugineus* por tratamento (n= 25).

3.3.2 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E CULTIVO

Para os ensaios biológicos foram selecionados 4 gêneros de fungos de importância econômica na região do Distrito Federal, responsáveis por danos nos cultivos de morango, algodão e soja: *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Corynespora* e *Fusarium* (Dean et al., 2012; Luminare, 2022; Rondon & Lawrence, 2021). Os fungos foram cedidos pelo Departamento de Fitopatologia, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília. Isolados de todos os gêneros foram cultivados em meio sólido batata-dextrose ágar (BDA) e armazenados em ambiente controlado a 25 °C e fotoperíodo 12:12.

3.3.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Para cada amostra, 3 mg do extrato bruto foram pesados e ressuspensos em 300 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), obtendo uma concentração final de 10 mg/mL (Noriler et al., 2018). Como controle positivo foi utilizado o fungicida Cercobin à uma concentração de 1 ppm, para todos os gêneros de fungos. O controle negativo foi feito apenas com DMSO. Os testes foram realizados em placas de petri 49 X 12 mm com meio de cultura BDA, o extrato foi filtrado utilizando um filtro 0,22 µm e 100 µL foram adicionados na superfície da placa e espalhados com o auxílio de uma alça de Drigalski. Em seguida, um disco de micélio (5 mm) foi adicionado no centro da placa.

As leituras para medir a porcentagem de inibição foram realizadas quando, pelo menos uma amostra, atingia o tamanho total da placa de petri. As leituras de *Botrytis* sp. e *Fusarium* sp. ocorreram 4 dias após o teste, as leituras de *Corynespora* sp. ocorreram 5 dias após o teste e as leituras de *Colletotrichum* sp. ocorreram 14 dias após o teste. O experimento foi conduzido em quintuplicata e se repete duas vezes. Os diâmetros das colônias dos fitopatógenos foram medidos e convertidos em porcentagem de inibição através da seguinte fórmula:

$$\text{Porcentagem de inibição (\%)} = [(C_c - C_t)/C_c] \times 100$$

onde C_c é o crescimento micelial do fitopatógeno na placa do controle negativo (apenas DMSO) e C_t é o crescimento micelial do fitopatógeno na placa testada (fungicida e 5 tratamentos

de adição de nutrientes) (Ruangwong et al., 2021). De acordo com a porcentagem de inibição a atividade antifúngica foi classificada como baixa (50-59%), moderada (60-69%) e alta ($\geq 70\%$) (Noriler et al., 2018).

3.3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados da inibição fúngica foram analisados através de uma ANOVA one-way. Diferenças estatisticamente significativas entre as amostras tratadas foram determinadas pelo teste de Tukey, com nível de probabilidade de 95% ($p < 0,05$).

3.4 RESULTADOS

Cinco extratos de folhas de *S. ferrugineus*, obtidos de indivíduos sob diferentes tratamentos de adição de nutrientes ao solo, foram testados contra quatro gêneros de fungos fitopatogênicos. Dentre os gêneros avaliados, *Botrytis* foi o único em que os extratos apresentaram porcentagens de inibição maiores do que o observado no tratamento com Cercobin e atividade antifúngica alta (Figura 29). As amostras de *Botrytis* testadas com Cercobin tiveram uma porcentagem de inibição de 32,3%, sendo maior que o extrato do tratamento controle (22,2%), enquanto os extratos dos tratamentos N (48,8%), NP (57,6%), P (54,1%) e calagem (72,3%) apresentaram porcentagem de inibição significativamente maiores quando comparadas ao antifúngico. O extrato do tratamento calagem foi o único com alta atividade antifúngica.

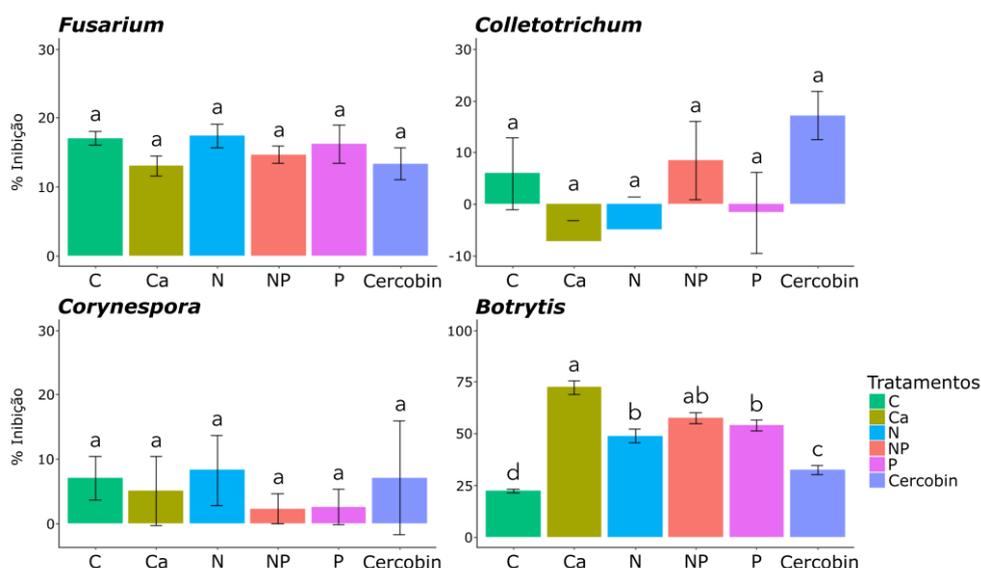


Figura 29. Média de inibição do crescimento (em %) dos patógenos *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Corynespora* e *Botrytis* na presença de 100 μ l de extratos de folhas de *Styrax ferrugineus* coletadas sob diferentes tratamentos de adições de nutrientes ao solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP), fósforo (P) e fungicida Cercobin. Letras diferentes representam diferenças estatísticas, $p < 0,05$ e as barras representam o desvio padrão. Anova One-way.

Para as demais espécies, não foram encontradas grandes porcentagens de inibição e diferenças entre o Cercobin e os extratos dos tratamentos (Tabela Suplementar 15). A porcentagem de inibição de *Fusarium* chegou a 17,4% no tratamento N, para *Corynespora* a inibição máxima foi de 8,33% também no tratamento N, enquanto *Colletotrichum* possui os resultados mais variáveis, de 7,27% de inibição no tratamento calagem até 8,51% e 17,2% nos tratamentos NP e Cercobin, respectivamente. Para todos os gêneros de fungos, os extratos do tratamento controle tiveram uma inibição equivalente ao antifúngico Cercobin.

3.5 DISCUSSÃO

Todos os gêneros de fungos avaliados são de importância agrícola para a região do Distrito Federal (DF), pois infectam culturas relevantes para a produção local. A soja é o maior setor agrícola do DF e no ano de 2022 teve um valor bruto da produção (VBP) de R\$1,23 bilhões (EMATER-DF, 2023a), sendo responsável por 36,33% de toda a produção de grandes culturas do DF (EMATER-DF, 2023b). As culturas de tomate e morango no DF representam 16,45% e 3,11%, respectivamente, da produção de olerícolas e correspondem a um VBP de mais de R\$110.000.000, cada (EMATER-DF, 2023b).

No Brasil, durante a safra de 2003/2004 a produção de soja foi afetada em larga escala por um fungo e os prejuízos chegaram a US\$2 bilhões, tanto pelo plantio que não foi colhido, como pelos gastos feitos para o controle químico do fitopatógeno (MAPA, 2022). Perdas como essa são significativas e a busca por moléculas que podem diminuir o impacto de doenças fúngicas nas espécies de cultivo é de demasiada urgência.

Além de sua importância para o DF, a espécie *Botrytis cinerea*, duas espécies do gênero *Fusarium* (*F. graminearum* e *F. oxysporum*) e *Colletotrichum* spp. são listados como os patógenos fúngicos de maior relevância econômica e científica (Dean et al., 2012), devido aos danos causados em diversas hospedeiras que levam à prejuízos econômicos.

A hipótese deste capítulo prediz que o extrato de folhas de *S. ferrugineus*, no tratamento controle, apresenta atividade antifúngica moderada à alta em pelo menos um gênero de fungo testado. Embora os extratos de *S. ferrugineus* tenham inibido o crescimento de *Botrytis*, com atividade antifúngica baixa (50-59%) nos tratamentos NP e P e alta ($\geq 70\%$) no tratamento calagem, não foi encontrada atividade antifúngica dos extratos de folhas do tratamento controle para nenhum gênero de fungo. Assim, a hipótese foi rejeitada.

Os extratos do tratamento controle apresentarem uma taxa de inibição contra todas as espécies de fungos avaliadas, com porcentagens abaixo de 20% e iguais às médias observadas

para o fungicida. Testes biológicos com fungos consideraram as moléculas promissoras com porcentagem de inibição de crescimento acima de 40% (Iantas et al., 2021; Quiroga et al., 2001), portanto, os extratos do controle de *S. ferrugineus* não apresentaram atividade antifúngica contra os fungos avaliados.

Trabalhos reportaram que o extrato bruto e, principalmente, moléculas nor-lignóides e lignanas isoladas das folhas de *S. ferrugineus*, apresentam atividade antifúngica (Pauletti et al., 2000), o que não foi observado nesse trabalho. O uso de substâncias isoladas e extratos brutos se diferem, pois é difícil analisar a atividade biológica e elucidar todas as interações e mecanismos de ação entre os metabólitos que compõem os extratos brutos (Vaou et al., 2021). Extratos brutos são uma mistura complexa de inúmeros metabólitos primários e secundários que podem apresentar antagonismo ou sinergismo entre si (Radulovi et al., 2013; Vaou et al., 2021), podendo reduzir ou potencializar, respectivamente, sua ação antifúngica.

Fusarium é um fungo bastante difícil de ser controlado, com alguns tipos de fungicidas sendo moderadamente eficazes, o melhor método para reduzir as infecções por esses fungos é a implementação do cultivo rotativo e arar a terra (Dean et al., 2012). *Colletotrichum* foi o gênero com respostas menos padronizadas, o que pode ser um reflexo da sua tolerância ao extrato utilizado. Em sistemas de plantio há uma dificuldade em controlar a antracnose, uma doença vegetal causada por espécies de *Colletotrichum*, pois esses fungos desenvolveram resistência contra muitas classes de antifúngicos (Cortaga et al., 2023). *Corynespora* também se mostrou pouco responsiva aos extratos. Algumas espécies pertencentes a esse gênero são responsáveis por doenças da soja e do algodão, trazendo prejuízos para os sistemas de cultivo no Brasil e causando preocupação pela sua resistência recente aos fungicidas disponíveis (Rondon; Lawrence, 2021).

Os extratos de *S. ferrugineus* oriundos dos tratamentos de adição de nutrientes apresentaram ação antifúngica considerável (> 45%) contra *Botrytis*, o que pode indicar que as mudanças metabolômicas encontradas no capítulo anterior podem afetar os metabólitos bioativos da planta. Trabalhos futuros devem ser feitos para elucidar qual ou quais moléculas são responsáveis por essa alta porcentagem de inibição encontrada no tratamento calagem. O fracionamento do extrato bruto e análises em alta resolução são estratégias que podem ser utilizadas para o isolamento e confirmação das moléculas responsáveis por inibir o crescimento de *Botrytis* (Eugster et al., 2011).

O Cerrado é um importante detentor de novas moléculas com capacidade de inibição de diferentes patógenos (Rocha et al., 2022; Valli et al., 2018), inúmeros trabalhos foram realizados com espécies arbóreas que apresentam capacidade antifúngica, antimicrobiana, larvicida e

antileishmania (da Cruz et al., 2022; Morais et al., 2020; Silva et al., 2020). A investigação dos extratos de folhas de *S. ferrugineus* nos diferentes tratamentos de adição de nutrientes, contra uma gama maior de fungos, pode resultar no descobrimento de um antifúngico que pode ser utilizado para diminuir o impacto de fitopatógenos em sistemas agrícolas. Esses resultados também destacam a importância de estudos ecológicos mais aprofundados para compreender se a mudança no potencial antimicrobiano dos extratos brutos também vão interferir na sua interação com microrganismos que habitam a superfície e o interior das folhas.

3.6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram testados 5 extratos brutos de folhas de *Styrax ferrugineus* contra quatro gêneros de fungos fitopatogênicos. As porcentagens de inibição dos extratos foram baixas e apenas *Botrytis*, em todos os tratamentos de adição de nutrientes e calagem, apresentou inibição maior que 40%. Mudanças metabólicas podem afetar os metabólitos bioativos de *S. ferrugineus*, resultando em maior inibição dos extratos dos tratamentos fertilizados. Os resultados encontrados destacam a importância do Cerrado para a descoberta de novas moléculas que podem ser utilizadas como antifúngicos e demandam trabalhos futuros para o isolamento da(s) substância(s) e elucidação do seu mecanismo de ação.

4. CONCLUSÃO GERAL

A adição de nutrientes no solo altera a comunidade filosférica fúngica, a metabolômica foliar e potenciais extratos com ação antimicrobiana de uma espécie lenhosa do Cerrado. A comunidade filosférica de *Ouratea hexasperma* não responde aos tratamentos de adição de nutrientes e está muito relacionada a identidade do hospedeiro, revelando a importância de cada espécie de planta na diversidade de fungos do sistema, sustentando comunidades próprias com diferentes fungos presentes. A comunidade filosférica fúngica de *Styrax ferrugineus* foi alterada de acordo com os tratamentos de adição de nutrientes e mudanças na anatomia foliar, que vem de um efeito residual da fertilização a longo prazo. A metabolômica foliar de *S. ferrugineus* também foi alterada em função dos tratamentos e foi observada uma correlação entre a abundância dos fungos filosféricos (ao nível de ordem) e os íons detectados, sendo um primeiro indicativo que as interações entre a filosfera e sua hospedeira são impactadas por mudanças nas condições edáficas. Por fim, a alteração do metaboloma de *S. ferrugineus* tem efeito no potencial antimicrobiano dos seus extratos foliares, onde os extratos dos tratamentos fertilizados inibiram consideravelmente o crescimento de *Botrytis*, um gênero de fungo de importância econômica para a agricultura. Portanto, a adição de nutrientes em solos do Cerrado impacta não só as espécies que permanecem no sistema, mas também as interações que estas estabelecem, podendo ter consequências a longo prazo na comunidade local e suas funções ecossistêmicas.

5. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela Suplementar 1. Altura e circunferência (a altura do solo) dos indivíduos de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* amostrados em cada parcela e seus respectivos tratamentos. Controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Espécie	Tratamento	Parcela	Indivíduo	Altura (m)	Circunferência (cm)
<i>Ouratea hexasperma</i>	C	1 C	159	1	16
<i>Ouratea hexasperma</i>	C	11 C	1078	1	15
<i>Ouratea hexasperma</i>	C	5 C	1702	1,2	12
<i>Ouratea hexasperma</i>	C	1 C	33	1,1	17
<i>Ouratea hexasperma</i>	C	5 C	1741	1,5	17
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	20 Ca	2774	0,9	10
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	20 Ca	2841	1,1	13
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	20 Ca	2850	1,2	18
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	12 Ca	464	1,9	43
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	17 Ca	932	0,9	13
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	2 N	1333	1	13
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	10 N	2479	1,1	16
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	10 N	2611	1,2	13
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	14 N	790	4,3	10
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	14 N	734	1,5	15
<i>Ouratea hexasperma</i>	NP	13 NP	618	1,2	16
<i>Ouratea hexasperma</i>	NP	13 NP	684	1	17
<i>Ouratea hexasperma</i>	NP	6 NP	1832	0,9	10
<i>Ouratea hexasperma</i>	NP	13 NP	576	1	29
<i>Ouratea hexasperma</i>	NP	13 NP	627	1,3	11
<i>Ouratea hexasperma</i>	P	15 P	303	0,8	30
<i>Ouratea hexasperma</i>	P	9 P	2156	1,6	27
<i>Ouratea hexasperma</i>	P	19 P	2697	2,7	36
<i>Ouratea hexasperma</i>	P	4 P	1182	1,5	16
<i>Ouratea hexasperma</i>	P	15 P	283	0,9	14
<i>Styrax ferrugineus</i>	C	21 C	3500	3	22
<i>Styrax ferrugineus</i>	C	21 C	3501	3	22
<i>Styrax ferrugineus</i>	C	21 C	3502	3	22
<i>Styrax ferrugineus</i>	C	1 C	163	1,7	20
<i>Styrax ferrugineus</i>	C	1 C	28	2,3	19
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	12 Ca	510	2,9	23
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	3 Ca	1590	1,9	19
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	20 Ca	2828	2	22
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	3 Ca	1474	1,6	16
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	3 Ca	1553	2,2	23
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	14 N	771	3	26
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	14 N	818	1,6	19
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	10 N	2486	2,7	24
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	14 N	718	2,1	20
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	7 N	2067	2,8	28

<i>Styrax ferrugineus</i>	NP	16 NP	3601	3	20
<i>Styrax ferrugineus</i>	NP	13 NP	660	2,6	16
<i>Styrax ferrugineus</i>	NP	8 NP	2381	2,3	20
<i>Styrax ferrugineus</i>	NP	16 NP	433	3,9	15
<i>Styrax ferrugineus</i>	NP	8 NP	3700	1,2	18
<i>Styrax ferrugineus</i>	P	15 P	253	3,5	41
<i>Styrax ferrugineus</i>	P	4 P	1264	1,7	14
<i>Styrax ferrugineus</i>	P	9 P	2145	2	12
<i>Styrax ferrugineus</i>	P	4 P	1298	1,6	12
<i>Styrax ferrugineus</i>	P	4 P	1309	1,5	11

Tabela Suplementar 2. Indivíduos de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* que tiveram eDNA da superfície das folhas sequenciado na região ITS1, pela empresa MacroGen Inc. (Seoul, South Korea). Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Espécie	Tratamento	Indivíduo
<i>Ouratea hexasperma</i>	C	33
<i>Ouratea hexasperma</i>	C	1741
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	464
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	2841
<i>Ouratea hexasperma</i>	Ca	2850
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	1333
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	790
<i>Ouratea hexasperma</i>	N	2479
<i>Ouratea hexasperma</i>	NP	684
<i>Ouratea hexasperma</i>	P	1182
<i>Ouratea hexasperma</i>	P	2156
<i>Styrax ferrugineus</i>	C	3501
<i>Styrax ferrugineus</i>	C	3502
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	2828
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	510
<i>Styrax ferrugineus</i>	Ca	1590
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	2486
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	771
<i>Styrax ferrugineus</i>	N	818
<i>Styrax ferrugineus</i>	NP	2381
<i>Styrax ferrugineus</i>	NP	3601
<i>Styrax ferrugineus</i>	P	2145
<i>Styrax ferrugineus</i>	P	253

Tabela Suplementar 3. Atribuição taxonômica de sequências ITS1 fúngicas obtidas da filosfera de *Ouratea hexasperma* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada sequência são informadas a abundância por amostra. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Link de acesso

https://docs.google.com/spreadsheets/d/15-Fxnbbw-a_S1aUICA6lzYG2T4XYCbWbl_VxTkeWlC/edit?usp=sharing

Tabela Suplementar 4. Atribuição taxonômica de sequências ITS1 fúngicas obtidas da filosfera de *Styrax ferrugineus* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada sequência são informadas a abundância por amostra. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Link de acesso

<https://docs.google.com/spreadsheets/d/1bJbOsTqXXJTnceZQyf2LHdIftfQeb6QV-EF0IHQ1hCs/edit?usp=sharing>

Tabela Suplementar 5. Índices de diversidade de *Ouratea hexasperma* e *Styrax ferrugineus* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Tratamento	Riqueza	Índice de Shannon	Equitabilidade de Pielou
<i>Ouratea hexasperma</i>			
Controle	550 ± 100	3,38 ± 0,64	0,54 ± 0,08
Ca	584 ± 166	3,96 ± 0,78	0,62 ± 0,10
N	615 ± 73	4,01 ± 0,35	0,62 ± 0,04
P	668 ± 123	4,3 ± 0,30	0,67 ± 0,06
<i>Styrax ferrugineus</i>			
Controle	399 ± 74	3,90 ± 0,10	0,65 ± 0,00
Ca	498 ± 15	3,96 ± 0,51	0,64 ± 0,08
N	553 ± 50	4,32 ± 0,33	0,69 ± 0,05
NP	501 ± 164	4,10 ± 0,23	0,66 ± 0,00
P	445 ± 21	4,20 ± 0,05	0,69 ± 0,00

Tabela Suplementar 6. Resultados da ANOVA com 999 permutações, realizada após Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) baseada em RDA e distância de Bray-Curtis, das variáveis relacionadas à concentração de nutrientes foliares e área foliar específica (AFE) de *Styrax ferrugineus* e sua explicação da diferença entre as comunidades filosféricas dos tratamentos de adição de nutrientes no solo ($p < 0,05$)

Variáveis	r ²	Pr (> r)
P (g/kg)	0,1334	0,527
Ca (g/kg)	0,4356	0,077
Mg (g/kg)	0,3635	0,133
S (g/kg)	0,4176	0,092
Al (mg/kg)	0,3011	0,180
SLA (cm ² /g)	0,0882	0,633

Tabela Suplementar 7. Contagem de OTUs presentes na filosfera de *Ouratea hexasperma*, únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Dados obtidos após a filtragem das amostras por abundância e prevalência. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P)

Tratamentos	Número de OTUs	Abundância
P	0	0
N	0	0
C	0	0
Ca	3	122
P&N	12	2040
P&C	4	309
P&Ca	16	11028
N&C	10	3422
N&Ca	28	17333
C&Ca	8	1300
P&N&C	47	41917
P&N&Ca	62	49552
P&C&Ca	22	5567
N&C&Ca	67	33069
P&N&C&Ca	237	609377

Tabela Suplementar 8. Contagem de OTUs presentes na filosfera de *Styrax ferrugineus*, únicas e compartilhadas entre os tratamentos de adição de nutrientes no solo. Dados obtidos após a filtragem das amostras por abundância e prevalência. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Tratamentos	Número de OTUs	Abundância
C	2	100
Ca	19	1033
N	20	1460
NP	3	557
P	2	124
Ca&C	15	3655
Ca&N	46	7360
Ca&NP	28	3383
Ca&P	29	3369
N&C	30	3234
NP&C	9	836
NP&N	25	1807
P&C	6	2037
P&N	20	1264
P&NP	11	1781
Ca&N&C	28	4787
Ca&NP&C	8	1413
Ca&NP&N	26	22922

Ca&P&C	8	2579
Ca&P&N	33	11968
Ca&P&NP	24	6193
P&N&C	10	1719
NP&N&C	16	1678
P&NP&C	4	223
P&NP&N	12	964
Ca&NP&N&C	26	7794
Ca&P&N&C	28	7699
Ca&P&NP&C	9	1749
Ca&P&NP&N	47	12553
P&NP&N&C	14	5022
Ca&P&NP&N&C	184	637690

Tabela Suplementar 9. Grupos funcionais atribuídos aos gêneros de fungos filosféricos de *Ouratea hexasperma* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada gênero é informado o valor da abundância relativa em cada um dos tratamentos. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P)

Gênero	Grupo Funcional	Tratamentos			
		C	Ca	N	P
<i>Acrodontium</i>	Patógeno de Planta	0,02	0,01	0,09	0,00
<i>Aequabiliella</i>	Patógeno de Planta	0,00	0,00	0,02	0,09
<i>Aleurodiscus</i>	Saprófito de Madeira	0,02	0,08	0,00	0,04
<i>Alternaria</i>	Patógeno de Planta	1,61	3,05	2,51	6,11
<i>Antarctolichenia</i>	Epifítico	0,03	0,04	0,02	0,05
<i>Atrocalyx</i>	Saprófito de Madeira	0,00	0,02	0,00	0,01
<i>Aureobasidium</i>	Mofo Fuliginoso	0,31	0,02	0,05	0,17
<i>Australosphaerella</i>	Patógeno de Planta	0,01	0,00	0,05	0,01
<i>Bipolaris</i>	Patógeno de Planta	0,06	0,16	0,08	0,61
<i>Brycekendrickomyces</i>	Patógeno de Planta	0,01	0,00	0,05	0,08
<i>Bullera</i>	Saprófito não especificado	0,01	2,40	10,73	0,95
<i>Camptophora</i>	Epifítico	0,00	0,00	0,00	0,12
<i>Capnodiales_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,02	0,22	0,16	0,12
<i>Carcinomyces</i>	Micoparásita	0,74	1,41	0,50	0,40
<i>Catenulostroma</i>	Patógeno de Planta	0,64	0,54	0,63	1,01
<i>Ceramothyrium</i>	Saprófito de Serapilheira	0,04	0,02	0,09	0,16
<i>Chaetothyrina</i>	Epifítico	0,00	0,01	0,03	0,07
<i>Chytridiomycota_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,02	0,01	0,00	0,04
<i>Cippumomyces</i>	Não especificado	0,01	0,00	0,02	0,08
<i>Cladophialophora</i>	Saprófito de Solo	0,02	0,03	0,09	0,01
<i>Cladosporium</i>	Saprófito de Serapilheira	70,24	27,03	44,04	48,97
<i>Corioloopsis</i>	Saprófito de Madeira	0,04	0,10	0,06	0,07
<i>Crassiparies</i>	Saprófito de Serapilheira	0,04	0,05	0,01	0,10
<i>Curvularia</i>	Patógeno de Planta	0,04	0,18	0,05	0,17
<i>Cutaneotrichosporon</i>	Parásita Animal	0,05	0,11	0,04	0,22

<i>Cyanodermella</i>	Saprófito de Madeira	0,13	0,04	0,18	1,60
<i>Daedalea</i>	Saprófito de Madeira	0,08	0,04	0,07	0,06
<i>Dendryphiella</i>	Patógeno de Planta	0,00	0,00	0,01	0,02
<i>Diaporthe</i>	Patógeno de Planta	0,00	0,00	0,03	0,02
<i>Didymella</i>	Patógeno de Planta	0,16	0,08	0,24	0,95
<i>Digitodochium</i>	Saprófito de Madeira	0,02	0,00	0,01	0,00
<i>Dimennazyma</i>	Epifítico	0,03	0,03	0,01	0,00
<i>Dinemasporium</i>	Saprófito de Serapilheira	0,01	0,00	0,02	0,04
<i>Elsinoaceae_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,00	0,00	0,01	0,03
<i>Epicoccum</i>	Patógeno de Planta	6,72	27,99	12,44	9,51
<i>Erythrobasidiales_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,00	0,03	0,02	0,01
<i>Erythrobasidium</i>	Micoparasita	0,12	3,96	0,31	0,18
<i>Euteratosphaeria</i>	Patógeno de Planta	0,03	0,03	0,00	0,02
<i>Exopassalora</i>	Patógeno de Planta	0,10	0,16	0,21	0,42
<i>Filobasidium</i>	Saprófito não especificado	0,01	0,16	0,04	0,81
<i>Fonsecazyma</i>	Saprófito não especificado	0,02	0,32	0,35	3,51
<i>Fungi_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,05	0,02	0,03	0,67
<i>Fusarium</i>	Patógeno de Planta	0,01	0,20	0,05	0,08
<i>Genolevuria</i>	Saprófito não especificado	0,04	0,12	0,06	0,12
<i>Gyrographa</i>	Liquenizado	0,01	0,07	0,01	0,01
<i>Haniomyces</i>	Saprófito de Madeira	0,07	0,12	0,00	0,02
<i>Hannaella</i>	Parasita Animal	0,42	1,15	0,40	0,25
<i>Hymenopleella</i>	Saprófito de Madeira	0,01	0,02	0,00	0,05
<i>Kalmusia</i>	Saprófito de Madeira	0,07	0,17	0,02	0,20
<i>Kockovaella</i>	Epifítico	0,03	0,02	0,00	0,18
<i>Kurtzmanomyces</i>	Saprófito não especificado	0,00	0,02	0,01	0,01
<i>Lacrymaria</i>	Saprófito de Serapilheira	0,00	0,05	0,03	0,00
<i>Lapidomyces</i>	Saprófito não especificado	0,02	0,22	0,16	0,41
<i>Leptosillia</i>	Patógeno de Planta	0,05	0,00	0,00	0,05
<i>Libertella</i>	Patógeno de Planta	0,12	0,09	0,69	0,00
<i>Malassezia</i>	Saprófito de Solo	0,01	0,01	0,01	0,04
<i>Malasseziaceae_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,01	0,02	0,01	0,03
<i>Montagnula</i>	Saprófito de Madeira	0,00	0,20	0,08	0,01
<i>Myriangium</i>	Parasita Animal	0,09	0,04	0,12	0,13
<i>Neoceratosperma</i>	Saprófito de Serapilheira	0,05	0,09	0,11	0,15
<i>Neochaetothyria</i>	Saprófito não especificado	0,00	0,00	0,01	0,31
<i>Neodevriesia</i>	Patógeno de Planta	0,02	0,02	0,01	0,01
<i>Neokalmusia</i>	Saprófito de Madeira	0,02	0,02	0,03	0,01
<i>Neopestalotiopsis</i>	Patógeno de Planta	0,15	1,51	0,67	0,42
<i>Neophaeomoniella</i>	Patógeno de Planta	0,00	0,03	0,00	0,09
<i>Neostrelitziana</i>	Patógeno de Planta	0,08	0,13	0,05	0,00
<i>Neovaginatispota</i>	Saprófito de Madeira	0,04	0,05	0,06	0,02
<i>Nigrospora</i>	Saprófito de Serapilheira	0,80	2,04	1,23	0,94
<i>Orbilia</i>	Saprófito de Madeira	0,01	0,01	0,01	0,02
<i>Papiliotrema</i>	Micoparasita	0,10	0,21	0,13	0,02
<i>Papulaspora</i>	Saprófito de Madeira	0,92	0,21	0,08	0,02

<i>Paracamarosporium</i>	Saprófito de Madeira	0,01	0,00	0,01	3,53
<i>Paraconiothyrium</i>	Saprófito de Madeira	0,03	0,05	0,09	0,07
<i>Paradictyoarthrinium</i>	Saprófito de Madeira	0,00	0,01	0,02	0,00
<i>Paramycosphaerella</i>	Patógeno de Planta	0,03	0,04	0,22	0,08
<i>Paraphaeosphaeria</i>	Saprófito de Madeira	0,15	0,30	0,14	0,03
<i>Parapyrenochaeta</i>	Saprófito de Madeira	0,01	0,01	0,02	0,06
<i>Passalora</i>	Patógeno de Planta	1,42	1,18	1,52	0,44
<i>Peltaster</i>	Patógeno de Planta	0,02	0,00	0,04	0,04
<i>Penidiellomyces</i>	Epifítico	0,19	0,49	0,21	0,19
<i>Penidiellopsis</i>	Parasita Animal	0,38	0,11	0,21	0,24
<i>Peniophora</i>	Saprófito de Madeira	0,06	0,03	0,03	0,04
<i>Periconia</i>	Patógeno de Planta	0,27	0,48	0,35	0,16
<i>Pestalotiopsis</i>	Patógeno de Planta	0,02	0,01	0,09	0,04
<i>Phaeococcomyces</i>	Saprófito não especificado	0,16	0,03	0,08	0,31
<i>Phaeococcomycetaceae_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,01	0,00	0,00	0,05
<i>Phaeodothis</i>	Saprófito de Madeira	0,02	0,04	0,04	0,00
<i>Phaeomoniellales_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,00	0,02	0,10	0,00
<i>Phaeosclera</i>	Saprófito de Serapilheira	0,06	0,00	0,01	0,06
<i>Phaeosphaeria</i>	Saprófito de Serapilheira	0,09	0,26	0,09	0,03
<i>Phanerodontia</i>	Saprófito de Madeira	0,00	0,00	0,01	0,01
<i>Phlebiopsis</i>	Saprófito de Madeira	0,03	0,06	0,03	0,00
<i>Phloeospora</i>	Patógeno de Planta	0,01	0,21	0,22	0,29
<i>Preussia</i>	Saprófito de Esterco	0,00	0,09	0,02	0,00
<i>Pseudocercospora</i>	Patógeno de Planta	1,30	0,02	0,01	0,45
<i>Pseudochaetosphaeronema</i>	Saprófito de Serapilheira	0,08	0,13	0,07	0,68
<i>Pseudocladosporium</i>	Patógeno de Planta	0,00	0,04	0,00	0,02
<i>Pseudopithomyces</i>	Patógeno de Planta	0,06	0,15	0,18	0,40
<i>Pseudoramichloridium</i>	Saprófito de Solo	0,02	0,02	0,04	0,01
<i>Pseudoteratosphaeria</i>	Patógeno de Planta	1,75	2,48	4,83	1,70
<i>Punctulariopsis</i>	Saprófito de Madeira	0,21	0,64	0,26	0,76
<i>Pyrenochaetopsis</i>	Endofítico Foliar	0,01	1,39	0,01	0,00
<i>Pyronema</i>	Saprófito de Solo	0,01	0,05	0,03	0,33
<i>Quixadomyces</i>	Epifítico	0,01	0,00	0,01	0,07
<i>Rhodosporidiobolus</i>	Saprófito não especificado	0,01	0,00	0,00	0,01
<i>Schizophyllum</i>	Saprófito de Madeira	0,00	0,05	0,01	0,00
<i>Selenophoma</i>	Saprófito de Madeira	0,10	0,06	0,09	1,13
<i>Septobasidium</i>	Parasita Animal	0,02	0,03	0,01	0,06
<i>Simplicillium</i>	Parasita Animal	0,01	0,01	0,01	0,13
<i>Spegazzinia</i>	Saprófito de Madeira	0,01	0,06	0,03	0,01
<i>Sporobolomyces</i>	Micoparasita	0,00	0,01	0,04	0,03
<i>Stagonosporopsis</i>	Patógeno de Planta	0,11	0,20	0,13	0,01
<i>Stemphylium</i>	Patógeno de Planta	0,00	0,04	0,00	0,01
<i>Stomiopeltis</i>	Epifítico	0,01	0,05	0,02	0,33
<i>Strelitziana</i>	Patógeno de Planta	2,86	2,46	1,48	1,54
<i>Symmetrospora</i>	Epifítico	0,23	0,83	0,39	0,20
<i>Talaromyces</i>	Saprófito não especificado	0,01	0,01	0,01	0,15

<i>Teratosphaericola</i>	Patógeno de Planta	0,01	0,00	0,03	0,01
<i>Teratosphaeriopsis</i>	Patógeno de Planta	0,01	0,00	0,01	0,08
<i>Toxicocladosporium</i>	Patógeno de Planta	0,70	0,40	0,43	0,36
<i>Tremella</i>	Micoparasita	0,01	0,02	0,13	0,03
<i>Trichomerium</i>	Endofítico Foliar	0,04	0,00	0,02	0,05
<i>Vishniacozyma</i>	Saprófito de Solo	0,04	0,05	0,03	0,06
<i>Vuilleminiaceae_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,01	0,04	0,00	0,00
<i>Xenocamarosporium</i>	Saprófito de Madeira	0,03	0,03	0,04	0,04
<i>Xenocylindrosporium</i>	Patógeno de Planta	0,02	0,00	0,02	0,10
<i>Xenodevriesia</i>	Patógeno de Planta	0,03	0,01	0,00	0,01
<i>Xenopenidiella</i>	Saprófito de Serapilheira	0,13	0,12	0,09	0,04
<i>Xenosonderhenia</i>	Saprófito de Serapilheira	0,00	0,03	0,07	0,00
<i>Xenoteratosphaeria</i>	Patógeno de Planta	0,30	0,11	0,35	0,40
<i>Zasmidium</i>	Patógeno de Planta	3,37	6,84	9,59	1,37
<i>Zeloasperisporium</i>	Patógeno de Planta	0,89	5,00	0,59	2,62
Soma das Abundâncias		100	100	100	100

Tabela Suplementar 10. Abundância Relativa dos grupos funcionais de fungos filosféricos de *Ouratea hexasperma*, em cada um dos tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N) e fósforo (P)

Grupo Funcional	Tratamentos			
	C	Ca	N	P
Parasita Animal	0,96	1,43	0,79	1,02
Saprófito de Esterco	0,00	0,09	0,02	0,00
Epifítico	0,54	1,47	0,69	1,21
Endofítico Foliar	0,04	1,39	0,03	0,05
Liquenizado	0,01	0,07	0,01	0,01
Saprófito de Serapilheira	71,53	29,83	45,85	51,18
Micoparasita	0,96	5,60	1,13	0,66
Patógeno de Planta	23,04	53,88	37,99	29,81
Saprófito de Solo	0,11	0,16	0,19	0,46
Mofa Fuliginoso	0,31	0,02	0,05	0,17
Não Especificado	0,12	0,36	0,37	1,03
Saprófito Não Especificado	0,29	3,28	11,45	6,60
Saprófito de Madeira	2,08	2,42	1,43	7,80
Soma	100	100	100	100

Tabela Suplementar 11. Grupos funcionais atribuídos aos gêneros de fungos filosféricos de *Styrax ferrugineus* em diferentes tratamentos de adição de nutrientes no solo. Para cada gênero é informado o valor da abundância relativa em cada um dos tratamentos. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Gênero	Grupo Funcional	Tratamentos				
		C	Ca	N	NP	P
<i>Acrodontium</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,000	0,006	0,049	0,006
<i>Aequabiliella</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,004	0,010	0,000	0,004
<i>Agaricostilbomyces_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,091	0,102	0,021	0,082	0,192
<i>Alternaria</i>	Patógeno de Planta	0,299	0,540	0,466	0,338	0,424
<i>Antarctolichenia</i>	Epifítico	1,538	2,097	2,921	2,270	2,733
<i>Aplosporella</i>	Patógeno de Planta	0,019	0,014	0,000	0,000	0,000
<i>Arthonia</i>	Liquenizado	0,000	0,002	0,162	0,000	0,080
<i>Atrocalyx</i>	Saprófito de Madeira	0,003	0,025	0,004	0,000	0,012
<i>Aureobasidium</i>	Mofa Fuliginoso	0,072	0,086	0,261	0,047	0,053
<i>Australosphaerella</i>	Patógeno de Planta	0,041	0,016	0,044	0,060	0,017
<i>Austroafricana</i>	Saprófito de Serapilheira	0,014	0,009	0,000	0,000	0,000
<i>Batcheloromyces</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,010	0,008	0,009	0,000
<i>Bipolaris</i>	Patógeno de Planta	0,019	0,070	0,025	0,036	0,035
<i>Boekhoutia</i>	Epifítico	0,030	0,001	0,015	0,000	0,000
<i>Brycekendrickomyces</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,000	0,006	0,000	0,007
<i>Camptophora</i>	Epifítico	0,056	0,633	0,018	0,023	0,043
<i>Canoparmelia</i>	Liquenizado	0,000	0,005	0,000	0,045	0,031
<i>Capnodiales_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,109	0,075	0,000	0,036	0,072
<i>Carcinomyces</i>	Micoparásita	0,203	0,173	0,637	1,099	0,428
<i>Catenulostroma</i>	Patógeno de Planta	0,453	0,744	0,945	0,256	0,716
<i>Ceramothyrium</i>	Saprófito de Serapilheira	0,743	0,102	1,327	0,122	0,743
<i>Chytridiomycota_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,005	0,034	0,064	0,054	0,005
<i>Cladophialophora</i>	Saprófito de Solo	0,172	0,255	0,043	0,170	0,579
<i>Cladosporium</i>	Saprófito de Serapilheira	3,544	7,777	6,990	7,069	10,632
<i>Colletogloeum</i>	Saprófito de Serapilheira	0,419	0,005	0,004	0,005	0,000
<i>Colletotrichum</i>	Patógeno de Planta	0,095	0,029	0,000	0,000	0,000
<i>Crassiparies</i>	Saprófito de Serapilheira	0,003	0,013	0,002	0,005	0,008
<i>Curvularia</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,018	0,000	0,005	0,011
<i>Cutaneotrichosporon</i>	Parásita Animal	0,046	0,032	0,097	0,191	0,078
<i>Cyanodermella</i>	Saprófito de Madeira	0,000	0,000	0,011	0,000	0,000
<i>Cyphellophora</i>	Saprófito de Serapilheira	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000
<i>Daedalea</i>	Saprófito de Madeira	0,000	0,000	0,007	0,015	0,000
<i>Dendryphiella</i>	Patógeno de Planta	0,019	0,003	0,003	0,006	0,008
<i>Didymella</i>	Patógeno de Planta	0,914	1,227	0,057	0,528	0,061
<i>Elsinoaceae_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,128	0,081	0,123	0,025	0,084
<i>Epicoccum</i>	Patógeno de Planta	0,958	2,317	1,686	1,447	1,975
<i>Erythrobasidium</i>	Micoparásita	0,334	0,360	0,296	0,136	0,316
<i>Eudimeriolum</i>	Patógeno de Planta	0,019	0,082	0,133	0,015	0,032

<i>Euteratosphaeria</i>	Patógeno de Planta	0,258	0,775	0,696	0,192	0,431
<i>Fellomyces</i>	Saprófito não especificado	0,000	0,005	0,000	0,018	0,000
<i>Filobasidium</i>	Saprófito não especificado	0,014	0,014	0,034	0,087	0,032
<i>Fonsecazyma</i>	Saprófito não especificado	0,097	0,141	0,237	0,060	0,943
Fungi_gen_Incertae_sedis	Não especificado	0,016	0,003	0,012	0,000	0,000
<i>Fusarium</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,022	0,018	0,000	0,007
<i>Genolevuria</i>	Saprófito não especificado	0,123	0,428	0,310	0,106	0,628
<i>Gnomoniopsis</i>	Endofítico Foliar	0,000	0,008	0,005	0,000	0,000
<i>Hannaella</i>	Parasita Animal	0,037	0,100	0,060	0,037	0,119
<i>Hermetothecium</i>	Não especificado	0,400	0,197	0,515	0,236	0,228
<i>Hymenopleella</i>	Saprófito de Madeira	0,000	0,004	0,000	0,018	0,000
<i>Kalmusia</i>	Saprófito de Madeira	0,006	0,048	0,004	0,000	0,013
<i>Kockovaella</i>	Epifítico	0,000	0,040	0,006	0,071	0,011
<i>Kurtzmanomyces</i>	Saprófito não especificado	0,070	0,063	0,059	0,021	0,055
<i>Lacrymaria</i>	Saprófito de Serapilheira	0,032	0,027	0,036	0,058	0,208
<i>Lapidomyces</i>	Saprófito não especificado	0,046	0,160	0,057	0,028	0,053
<i>Lecophagus</i>	Parasita Animal	0,000	0,003	0,005	0,000	0,010
<i>Lophiostoma</i>	Saprófito de Madeira	0,006	0,000	0,009	0,012	0,023
<i>Lophiotrema</i>	Saprófito de Madeira	0,000	0,072	0,000	0,010	0,000
<i>Magnibotryascoma</i>	Saprófito de Serapilheira	0,000	0,045	0,000	0,000	0,002
<i>Malassezia</i>	Saprófito de Solo	0,096	0,016	0,025	0,321	0,013
Malasseziaceae_gen_Incertae_sedis	Não especificado	0,021	0,007	0,006	0,015	0,005
<i>Montagnula</i>	Saprófito de Madeira	0,000	0,033	0,014	0,017	0,000
<i>Myriangium</i>	Parasita Animal	0,019	0,129	0,218	0,177	0,088
<i>Neoceratosperma</i>	Saprófito de Serapilheira	0,112	0,406	0,726	23,676	0,288
<i>Neocoleroa</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,003	0,009	0,000	0,036
<i>Neodevriesia</i>	Patógeno de Planta	0,052	0,149	0,059	0,018	0,109
<i>Neopestalotiopsis</i>	Patógeno de Planta	0,028	0,419	0,039	0,450	0,094
<i>Neophaeomoniella</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,004	0,020	0,000	0,000
<i>Neostrelitziana</i>	Patógeno de Planta	0,889	0,501	1,261	0,539	1,418
<i>Neovaginatisspora</i>	Saprófito de Madeira	0,057	0,070	0,118	0,036	0,104
<i>Nigrospora</i>	Saprófito de Serapilheira	0,177	0,195	0,198	0,291	0,202
<i>Occultifur</i>	Micoparasita	0,000	0,000	0,025	0,000	0,012
<i>Orbilina</i>	Saprófito de Madeira	0,086	0,239	0,606	0,338	0,129
<i>Papiliotrema</i>	Micoparasita	0,000	0,044	0,015	0,116	0,060
<i>Papulaspora</i>	Saprófito de Madeira	18,744	0,815	6,389	0,631	4,955
<i>Paraconiothyrium</i>	Saprófito de Madeira	0,025	0,033	0,036	0,000	0,033
<i>Paramycosphaerella</i>	Patógeno de Planta	0,005	0,002	0,024	0,012	0,000
<i>Parapendiella</i>	Patógeno de Planta	0,042	0,000	0,008	0,049	0,000
<i>Paraphaeosphaeria</i>	Saprófito de Madeira	0,032	0,066	0,078	0,014	0,035
<i>Parapyrenochaeta</i>	Saprófito de Madeira	0,000	0,021	0,010	0,000	0,000

<i>Parmelinella</i>	Liquenizado	0,003	0,034	0,013	0,162	0,264
<i>Parmotrema</i>	Liquenizado	0,000	0,005	0,002	0,098	0,002
<i>Parmularia</i>	Epifítico	2,301	1,692	2,578	4,350	2,192
<i>Passalora</i>	Patógeno de Planta	1,790	2,713	2,705	1,672	2,141
<i>Penidiella</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,013	0,000	0,047	0,026
<i>Penidiellomyces</i>	Epifítico	0,104	0,944	0,250	0,095	0,550
<i>Penidiellopsis</i>	Parasita Animal	0,175	0,284	0,464	0,156	0,422
<i>Periconia</i>	Patógeno de Planta	0,088	0,121	0,138	0,159	0,103
<i>Pestalotiopsis</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,038	0,062	0,127	0,000
<i>Phaeococcomyces</i>	Saprófito não especificado	0,258	0,138	0,749	0,193	0,082
Phaeococcomycetaceae_gen_Incertae_sedis	Não especificado	0,000	0,035	0,056	0,038	0,000
<i>Phaeodothis</i>	Saprófito de Madeira	0,008	0,000	0,000	0,014	0,039
<i>Phaeophleospora</i>	Patógeno de Planta	0,022	0,000	0,018	0,007	0,000
<i>Phaeosclera</i>	Saprófito de Serapilheira	0,000	0,003	0,022	0,010	0,006
<i>Phaeosphaeria</i>	Saprófito de Serapilheira	0,125	0,105	0,122	0,041	0,100
<i>Phialoseptomium</i>	Não especificado	2,187	32,790	21,894	13,604	4,650
<i>Phloeospora</i>	Patógeno de Planta	0,120	0,009	0,000	0,020	0,011
<i>Preussia</i>	Saprófito de Esterco	0,000	0,000	0,006	0,021	0,013
<i>Pseudocercospora</i>	Patógeno de Planta	0,228	0,828	1,294	0,807	0,227
<i>Pseudochaetosphaeronema</i>	Saprófito de Serapilheira	0,008	0,048	0,069	0,095	0,031
<i>Pseudocladosporium</i>	Patógeno de Planta	0,045	0,039	0,007	0,047	0,002
<i>Pseudopithomyces</i>	Patógeno de Planta	0,056	0,095	0,105	0,079	0,080
<i>Pseudoramichloridium</i>	Saprófito de Solo	0,022	0,334	0,129	0,071	0,084
<i>Pseudoteratosphaeria</i>	Patógeno de Planta	1,336	0,958	2,149	0,728	0,940
<i>Punctulariopsis</i>	Saprófito de Madeira	0,000	0,014	0,018	0,020	0,005
<i>Pyronema</i>	Saprófito de Solo	0,002	0,025	0,010	0,006	0,010
<i>Quixadomyces</i>	Epifítico	0,013	0,022	0,037	0,049	0,005
<i>Radulidium</i>	Saprófito não especificado	3,378	0,021	0,838	0,002	2,017
<i>Ruinenia</i>	Epifítico	0,006	0,024	0,013	0,026	0,027
<i>Selenophoma</i>	Saprófito de Madeira	0,411	0,581	0,565	0,409	1,430
<i>Septobasidium</i>	Parasita Animal	0,023	0,020	0,077	0,118	0,061
<i>Setophoma</i>	Patógeno de Planta	0,524	0,581	0,137	0,146	0,196
Stachybotriaceae_gen_Incertae_sedis	Não especificado	0,000	0,000	0,014	0,007	0,000
<i>Stagonosporopsis</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,008	0,031	0,000	0,016
<i>Stomiopeltis</i>	Epifítico	0,000	0,006	0,008	0,000	0,000
<i>Strelitziana</i>	Patógeno de Planta	52,689	28,030	32,786	25,591	48,547
<i>Symmetrospora</i>	Epifítico	0,005	0,023	0,016	0,009	0,004
<i>Teichospora</i>	Saprófito de Serapilheira	0,000	0,021	0,004	0,199	0,000
<i>Teratosphaericola</i>	Patógeno de Planta	0,072	0,030	0,125	0,057	0,051
<i>Titaea</i>	Saprófito não especificado	0,014	0,066	0,000	0,000	0,000
<i>Toxicocladosporium</i>	Patógeno de Planta	0,080	0,136	0,064	0,054	0,070
<i>Tremella</i>	Micoparasita	0,024	0,064	0,085	0,012	0,064

<i>Tremellaceae_gen_Incertae_sedis</i>	Não especificado	0,000	0,000	0,007	0,000	0,008
<i>Trichomerium</i>	Endofítico Foliar	0,571	0,754	0,602	0,488	1,465
<i>Trimorphomyces</i>	Micoparasita	0,000	0,004	0,003	0,018	0,000
<i>Veronaea</i>	Patógeno de Planta	0,110	0,013	0,013	0,028	0,000
<i>Verrucocum</i>	Liquenizado	0,158	0,002	0,000	0,004	0,011
<i>Vishniacozyma</i>	Não especificado	0,017	0,072	0,016	0,000	0,018
<i>Xenocamarosporium</i>	Saprófito de Madeira	0,014	0,014	0,011	0,004	0,019
<i>Xenodevriesia</i>	Patógeno de Planta	0,017	0,061	0,060	0,048	0,054
<i>Xenopenidiella</i>	Saprófito de Serapilheira	0,073	0,082	0,117	0,042	0,103
<i>Xenosonderhenia</i>	Saprófito de Serapilheira	0,126	4,032	0,751	7,193	0,973
<i>Xenosonderhenioides</i>	Saprófito de Serapilheira	0,000	0,010	0,032	0,000	0,021
<i>Xenoteratosphaeria</i>	Patógeno de Planta	0,836	1,755	2,233	0,920	3,090
<i>Zasmidium</i>	Patógeno de Planta	0,120	0,036	0,153	0,101	0,048
<i>Zeloasperisporium</i>	Patógeno de Planta	0,000	0,000	0,004	0,012	0,000
Soma das Abundâncias		100	100	100	100	100

Tabela Suplementar 12. Abundância Relativa dos grupos funcionais de fungos filosféricos de *Styrax ferrugineus*, em cada um dos tratamentos de adição de nutrientes no solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Grupo Funcional	Tratamentos				
	C	Ca	N	NP	P
Parasita Animal	0,50	0,57	0,92	0,68	0,99
Saprófito de Esterco	0,00	0,00	0,01	0,02	0,01
Epifítico	4,05	5,48	6,38	6,89	5,56
Endofítico Foliar	0,57	0,76	0,61	0,49	1,47
Liquenizado	0,16	0,05	0,18	0,31	0,39
Saprófito de Serapilheira	5,38	12,90	10,40	38,81	13,11
Micoparasita	0,02	0,64	1,06	1,38	0,88
Patógeno de Planta	62,25	42,42	47,61	34,66	60,99
Saprófito de Solo	0,63	0,63	0,21	0,57	0,68
Mofo Fuliginoso	0,07	0,09	0,26	0,05	0,05
Não Especificado	2,97	33,40	22,21	14,10	5,26
Saprófito Não Especificado	4,00	1,04	2,28	0,52	3,81
Saprófito de Madeira	19,39	2,03	7,88	1,54	6,80
Soma	100	100	100	100	100

Tabela Suplementar 13. Ordens encontradas na filosfera de *Styrax ferrugineus*, após a filtragem das amostras por abundância e prevalência, em diferentes tratamentos de adição de nutrientes ao solo. Para cada ordem é mostrado o valor de sua abundância relativa por tratamento. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)

Ordem	C	Ca	N	NP	P
Chaetothyriales	48,51	26,60	28,79	25,03	44,08
Mycosphaerellales	17,50	29,28	30,96	42,41	24,99
Sordariales	16,59	0,64	4,89	0,55	4,24
Capnodiales	3,34	7,38	5,78	6,43	8,73
Pleosporales	3,17	4,74	2,81	2,95	3,07
Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis	2,91	0,02	0,64	0,00	1,57
Asterinales	1,95	1,56	1,98	4,10	1,92
Hypocreales	1,89	24,12	17,26	11,41	3,93
Lichenostigmatales	1,58	2,03	3,02	2,39	2,33
Dothideales	0,51	0,56	0,65	0,40	1,16
Tremellales	0,45	0,88	1,08	1,15	1,84
Erythrobasidiales	0,41	0,36	0,24	0,11	0,29
Myriangiales	0,29	0,33	0,29	0,37	0,15
Trichosphaeriales	0,15	0,16	0,15	0,24	0,16
Malasseziales	0,10	0,02	0,02	0,32	0,02
Agaricostilbales	0,09	0,07	0,07	0,04	0,07
Glomerellales	0,09	0,02	0,00	0,00	0,00
Agaricostilbomycetes_ord_Incertae_sedis	0,08	0,09	0,02	0,06	0,17
Tubeufiales	0,08	0,11	0,08	0,03	0,26
Orbiliales	0,08	0,20	0,48	0,25	0,12
Trichosporonales	0,04	0,03	0,07	0,18	0,06
Ostropales	0,03	0,05	0,08	0,14	0,01
Agaricales	0,03	0,02	0,03	0,04	0,16
Amphisphaeriales	0,02	0,41	0,08	0,43	0,08
Septobasidiales	0,02	0,01	0,06	0,09	0,05
Russulales	0,02	0,03	0,03	0,05	0,01
Botryosphaeriales	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
Dothideomycetidae_ord_Incertae_sedis	0,02	0,08	0,10	0,01	0,03
Fungi_ord_Incertae_sedis	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00
Filobasidiales	0,01	0,01	0,03	0,07	0,03
Lecanorales	0,01	0,04	0,04	0,54	0,34
Cystobasidiomycetes_ord_Incertae_sedis	0,00	0,02	0,01	0,01	0,00
Chytridiomycota_ord_Incertae_sedis	0,00	0,02	0,05	0,05	0,00
Pezizales	0,00	0,02	0,01	0,01	0,01
Arthoniales	0,00	0,00	0,12	0,00	0,06
Chaetosphaeriales	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00
Corticiales	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00
Cystobasidiales	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01
Diaporthales	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
Helotiales	0,00	0,00	0,00	0,05	0,01
Phaeomoniellales	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00
Polyporales	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00

Sakaguchiales	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
Venturiales	0,00	0,00	0,01	0,00	0,03
Xylariales	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Zeloasperisporiales	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00

Tabela Suplementar 14. Ordem dos fungos filosféricos de *Styrax ferrugineus* e sua correlação com íons. Os valores de correlação indicam se a correlação é positiva ou negativa. O termo '*p_adjust*' refere-se ao valor p corrigido pelo método Benjamini-Hochberg ($p < 0,05$)

	Correlação	p_adjust
Tremellales (interage com) metabolite_23	-0,346	0,023
Tremellales (interage com) metabolite_150	-0,632	0,000
Tremellales (interage com) metabolite_51	0,548	0,000
Tremellales (interage com) metabolite_26	0,523	0,000
Tremellales (interage com) metabolite_32	-0,465	0,001
Tremellales (interage com) metabolite_41	0,835	0,000
Dothideomycetidae_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_150	-0,320	0,037
Dothideomycetidae_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_23	-0,391	0,009
Capnodiales (interage com) metabolite_51	-0,348	0,022
Capnodiales (interage com) metabolite_253	-0,393	0,009
Capnodiales (interage com) metabolite_26	-0,401	0,007
Agaricostilbomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_34	-0,342	0,025
Agaricostilbomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_150	0,364	0,016
Agaricostilbales (interage com) metabolite_253	-0,310	0,045
Agaricostilbales (interage com) metabolite_34	-0,372	0,014
Septobasidiales (interage com) metabolite_41	0,762	0,000
Septobasidiales (interage com) metabolite_32	-0,455	0,002
Septobasidiales (interage com) metabolite_51	0,669	0,000
Septobasidiales (interage com) metabolite_150	-0,336	0,028
Septobasidiales (interage com) metabolite_26	0,681	0,000
Malasseziales (interage com) metabolite_253	0,501	0,000
Malasseziales (interage com) metabolite_34	0,380	0,011
Malasseziales (interage com) metabolite_41	-0,606	0,000
Asterinales (interage com) metabolite_41	-0,608	0,000
Zeloasperisporiales (interage com) metabolite_51	0,530	0,000
Zeloasperisporiales (interage com) metabolite_41	0,558	0,000
Zeloasperisporiales (interage com) metabolite_32	-0,759	0,000
Zeloasperisporiales (interage com) metabolite_150	-0,418	0,005
Zeloasperisporiales (interage com) metabolite_26	0,538	0,000
Filobasidiales (interage com) metabolite_150	-0,592	0,000
Filobasidiales (interage com) metabolite_41	0,815	0,000
Filobasidiales (interage com) metabolite_51	0,575	0,000
Filobasidiales (interage com) metabolite_26	0,560	0,000
Filobasidiales (interage com) metabolite_32	-0,472	0,001
Filobasidiales (interage com) metabolite_23	-0,360	0,017
Corticiales (interage com) metabolite_32	-0,491	0,001
Corticiales (interage com) metabolite_41	0,554	0,000

Trichosporonales (interage com) metabolite_34	0,721	0,000
Venturiales (interage com) metabolite_51	0,310	0,045
Venturiales (interage com) metabolite_23	-0,440	0,003
Venturiales (interage com) metabolite_41	0,453	0,002
Venturiales (interage com) metabolite_26	0,309	0,046
Agaricales (interage com) metabolite_51	0,459	0,002
Agaricales (interage com) metabolite_32	-0,341	0,026
Agaricales (interage com) metabolite_26	0,456	0,002
Agaricales (interage com) metabolite_41	0,715	0,000
Agaricales (interage com) metabolite_150	-0,337	0,028
Sordariales (interage com) metabolite_32	0,516	0,000
Sordariales (interage com) metabolite_151	-0,673	0,000
Lecanorales (interage com) metabolite_34	0,400	0,007
Lecanorales (interage com) metabolite_26	0,363	0,016
Lecanorales (interage com) metabolite_32	-0,641	0,000
Lecanorales (interage com) metabolite_41	0,728	0,000
Lecanorales (interage com) metabolite_150	-0,577	0,000
Lecanorales (interage com) metabolite_51	0,398	0,008
Phaeomoniellales (interage com) metabolite_150	-0,406	0,006
Phaeomoniellales (interage com) metabolite_26	0,588	0,000
Phaeomoniellales (interage com) metabolite_32	-0,442	0,003
Phaeomoniellales (interage com) metabolite_41	0,450	0,002
Phaeomoniellales (interage com) metabolite_51	0,586	0,000
Phaeomoniellales (interage com) metabolite_23	-0,542	0,000
Pleosporales (interage com) metabolite_150	0,468	0,001
Pleosporales (interage com) metabolite_23	0,496	0,001
Pleosporales (interage com) metabolite_34	-0,564	0,000
Pleosporales (interage com) metabolite_26	-0,408	0,006
Pleosporales (interage com) metabolite_253	-0,443	0,002
Pleosporales (interage com) metabolite_51	-0,442	0,003
Botryosphaerales (interage com) metabolite_34	-0,318	0,039
Botryosphaerales (interage com) metabolite_41	-0,812	0,000
Botryosphaerales (interage com) metabolite_32	0,698	0,000
Botryosphaerales (interage com) metabolite_150	0,869	0,000
Botryosphaerales (interage com) metabolite_26	-0,711	0,000
Botryosphaerales (interage com) metabolite_23	0,519	0,000
Botryosphaerales (interage com) metabolite_51	-0,742	0,000
Chaetothyriales (interage com) metabolite_41	-0,467	0,001
Chaetothyriales (interage com) metabolite_150	0,324	0,035
Chaetothyriales (interage com) metabolite_32	0,889	0,000
Chaetothyriales (interage com) metabolite_151	-0,640	0,000
Tubeufiales (interage com) metabolite_151	-0,526	0,000
Tubeufiales (interage com) metabolite_32	0,350	0,021
Tubeufiales (interage com) metabolite_253	-0,359	0,018
Lichenostigmatales (interage com) metabolite_34	0,403	0,007
Lichenostigmatales (interage com) metabolite_150	-0,306	0,048

Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_151	-0,775	0,000
Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_26	0,381	0,011
Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_253	0,378	0,012
Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_32	0,436	0,003
Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_23	-0,458	0,002
Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_51	0,392	0,009
Helotiales (interage com) metabolite_41	0,598	0,000
Helotiales (interage com) metabolite_32	-0,406	0,006
Helotiales (interage com) metabolite_150	-0,346	0,023
Polyporales (interage com) metabolite_151	0,305	0,049
Polyporales (interage com) metabolite_150	-0,435	0,003
Polyporales (interage com) metabolite_51	0,578	0,000
Polyporales (interage com) metabolite_32	-0,753	0,000
Polyporales (interage com) metabolite_253	0,411	0,006
Polyporales (interage com) metabolite_26	0,582	0,000
Polyporales (interage com) metabolite_41	0,516	0,000
Cystobasidiales (interage com) metabolite_32	-0,336	0,028
Cystobasidiales (interage com) metabolite_23	-0,855	0,000
Cystobasidiales (interage com) metabolite_51	0,831	0,000
Cystobasidiales (interage com) metabolite_41	0,475	0,001
Cystobasidiales (interage com) metabolite_150	-0,680	0,000
Cystobasidiales (interage com) metabolite_26	0,822	0,000
Sakaguchiales (interage com) metabolite_26	-0,731	0,000
Sakaguchiales (interage com) metabolite_41	-0,661	0,000
Sakaguchiales (interage com) metabolite_51	-0,737	0,000
Sakaguchiales (interage com) metabolite_23	0,459	0,002
Sakaguchiales (interage com) metabolite_253	-0,356	0,019
Sakaguchiales (interage com) metabolite_150	0,450	0,002
Sakaguchiales (interage com) metabolite_151	0,397	0,008
Sakaguchiales (interage com) metabolite_34	-0,443	0,002
Russulales (interage com) metabolite_151	0,786	0,000
Russulales (interage com) metabolite_32	-0,759	0,000
Cystobasidiomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_151	0,352	0,020
Cystobasidiomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_34	-0,867	0,000
Cystobasidiomycetes_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_253	-0,490	0,001
Erythrobasidiales (interage com) metabolite_150	0,564	0,000
Erythrobasidiales (interage com) metabolite_32	0,422	0,004
Erythrobasidiales (interage com) metabolite_34	-0,434	0,003
Myriangiales (interage com) metabolite_34	-0,501	0,000
Myriangiales (interage com) metabolite_150	0,510	0,000
Myriangiales (interage com) metabolite_23	0,397	0,008
Myriangiales (interage com) metabolite_41	-0,501	0,000
Myriangiales (interage com) metabolite_26	-0,551	0,000
Myriangiales (interage com) metabolite_253	-0,488	0,001
Myriangiales (interage com) metabolite_51	-0,583	0,000
Orbiliales (interage com) metabolite_151	0,436	0,003

Orbiliales (interage com) metabolite_34	-0,332	0,030
Orbiliales (interage com) metabolite_41	0,475	0,001
Orbiliales (interage com) metabolite_150	-0,502	0,000
Orbiliales (interage com) metabolite_51	0,658	0,000
Orbiliales (interage com) metabolite_26	0,678	0,000
Orbiliales (interage com) metabolite_32	-0,818	0,000
Dothideales (interage com) metabolite_41	-0,401	0,007
Dothideales (interage com) metabolite_32	0,430	0,003
Dothideales (interage com) metabolite_26	-0,330	0,031
Arthoniales (interage com) metabolite_51	0,559	0,000
Arthoniales (interage com) metabolite_26	0,528	0,000
Arthoniales (interage com) metabolite_150	-0,760	0,000
Arthoniales (interage com) metabolite_23	-0,506	0,000
Pezizales (interage com) metabolite_41	-0,389	0,009
Pezizales (interage com) metabolite_51	-0,566	0,000
Pezizales (interage com) metabolite_26	-0,584	0,000
Pezizales (interage com) metabolite_253	-0,491	0,001
Pezizales (interage com) metabolite_151	0,534	0,000
Ostropales (interage com) metabolite_151	0,565	0,000
Ostropales (interage com) metabolite_41	-0,489	0,001
Chytridiomycota_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_150	-0,310	0,045
Chytridiomycota_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_32	-0,324	0,035
Chytridiomycota_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_23	-0,374	0,013
Fungi_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_253	0,652	0,000
Fungi_ord_Incertae_sedis (interage com) metabolite_41	-0,437	0,003
Diaporthales (interage com) metabolite_151	0,343	0,025
Diaporthales (interage com) metabolite_253	-0,762	0,000
Diaporthales (interage com) metabolite_34	-0,644	0,000
Amphisphaeriales (interage com) metabolite_23	0,526	0,000
Amphisphaeriales (interage com) metabolite_26	-0,331	0,031
Amphisphaeriales (interage com) metabolite_151	0,788	0,000
Amphisphaeriales (interage com) metabolite_51	-0,325	0,034
Amphisphaeriales (interage com) metabolite_32	-0,426	0,004
Glomerellales (interage com) metabolite_23	0,309	0,045
Glomerellales (interage com) metabolite_34	-0,387	0,010
Glomerellales (interage com) metabolite_150	0,593	0,000
Hypocreales (interage com) metabolite_253	-0,465	0,001
Hypocreales (interage com) metabolite_32	-0,688	0,000
Hypocreales (interage com) metabolite_41	0,414	0,005
Hypocreales (interage com) metabolite_151	0,466	0,001
Chaetosphaeriales (interage com) metabolite_51	-0,439	0,003
Chaetosphaeriales (interage com) metabolite_26	-0,441	0,003
Chaetosphaeriales (interage com) metabolite_253	-0,346	0,023
Chaetosphaeriales (interage com) metabolite_151	0,482	0,001
Chaetosphaeriales (interage com) metabolite_23	0,418	0,005
Xylariales (interage com) metabolite_151	0,329	0,031

Xylariales (interage com) metabolite_51	-0,677	0,000
Xylariales (interage com) metabolite_253	-0,360	0,017
Xylariales (interage com) metabolite_26	-0,685	0,000
Xylariales (interage com) metabolite_41	-0,494	0,001
Xylariales (interage com) metabolite_23	0,360	0,018
Xylariales (interage com) metabolite_150	0,320	0,037
Trichosphaeriales (interage com) metabolite_23	0,544	0,000
Mycosphaerellales (interage com) metabolite_151	0,615	0,000
Mycosphaerellales (interage com) metabolite_32	-0,750	0,000
Mycosphaerellales (interage com) metabolite_150	-0,379	0,012

Tabela Suplementar 15. Valores médios e desvio padrão da porcentagem de inibição dos patógenos *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Corynespora* e *Botrytis* na presença de 100 µl de extratos de folhas de *Styrax ferrugineus* coletadas sob diferentes adições de nutrientes ao solo. Tratamentos: controle (C), calagem (Ca), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP), fósforo (P) e fungicida Cercobin. Letras diferentes representam diferenças estatísticas, $p < 0,05$. Anova One-way.

Tratamento	<i>Fusarium</i> (%)	<i>Colletotrichum</i> (%)	<i>Corynespora</i> (%)	<i>Botrytis</i> (%)
Controle	17,0 ± 0,98 ^a	5,91 ± 6,93 ^a	7,05 ± 3,36 ^a	22,2 ± 1,05 ^d
Ca	13,1 ± 1,50 ^a	- 7,27 ± 4,06 ^a	5,12 ± 5,30 ^a	72,3 ± 3,11 ^a
N	17,4 ± 1,69 ^a	- 4,95 ± 6,43 ^a	8,33 ± 5,44 ^a	48,8 ± 3,33 ^b
NP	14,7 ± 1,23 ^a	8,51 ± 7,57 ^a	2,32 ± 2,31 ^a	57,6 ± 2,60 ^{ab}
P	16,2 ± 2,76 ^a	- 1,63 ± 7,83 ^a	2,60 ± 2,75 ^a	54,1 ± 2,70 ^b
Cercobin	13,4 ± 2,36 ^a	17,2 ± 4,60 ^a	7,16 ± 8,86 ^a	32,3 ± 2,28 ^c

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarenkov, K., Zirk, A., Piirmann, T., Pöhönen, R., Ivanov, F., Nilsson, R. H., & Kõljalg, U. (2022). *UNITE general FASTA release for Fungi 2. Version 16.10.2022*. UNITE Community. <https://doi.org/https://doi.org/10.15156/BIO/2483912>
- Abdelfattah, A., Giulia, M., Destri, L., Cacciola, S. O., & Droby, S. (2015). Metabarcoding Analysis of Fungal Diversity in the Phyllosphere and Carposphere of Olive (*Olea europaea*). *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131069>
- Achilonu, C. C., & Udensi, O. U. (2022). *Systematic review of antimicrobial activities of medicinal plants against bacterial and fungal microbes: A research trend in Africa from 1980 to 2019*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1529001/v1>
- Ahn, H. J., You, H. J., Park, M. S., Li, Z., Choe, D., Johnston, T. V., Ku, S., & Ji, G. E. (2020). Microbial biocatalysis of quercetin-3-glucoside and isorhamnetin-3-glucoside in: *Salicornia herbacea* and their contribution to improved anti-inflammatory activity. *RSC Advances*, *10*(9). <https://doi.org/10.1039/c9ra08059g>
- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior*, *6*. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>
- Alimboyoguen, A. B., De Castro-Cruz, K. A., Shen, C.-C., Li, W.-T., & Ragasa, C. Y. (2014). Chemical constituents of the bark of *Aleurites moluccana* L. Willd. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, *6*(5). www.jocpr.com
- Al-Maawali, S. S., Al-Sadi, A. M., Ali Khalifa Alsheriqi, S., Nasser Al-Sabahi, J., & Velazhahan, R. (2021). The potential of antagonistic yeasts and bacteria from tomato phyllosphere and fructoplane in the control of *Alternaria* fruit rot of tomato. *All Life*, *14*(1). <https://doi.org/10.1080/26895293.2020.1858975>
- Alseekh, S., Bermudez, L., de Haro, L. A., Fernie, A. R., & Carrari, F. (2018). Crop metabolomics: from diagnostics to assisted breeding. *Metabolomics*, *14*(11). <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1446-5>
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., De Moraes Gonçalves, J. L., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, *22*. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

- Amann, R. I., Ludwig, W., & Schleifer, K.-H. (1995). Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. In *MICROBIOLOGICAL REVIEWS* (Vol. 59, Issue 1).
- Anderson, I. C., & Cairney, J. W. G. (2004). Diversity and ecology of soil fungal communities: Increased understanding through the application of molecular techniques. In *Environmental Microbiology* (Vol. 6, Issue 8, pp. 769–779). <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00675.x>
- Andrews, J. H., & Harris, R. F. (2000). The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology*, 38.
- Armando, E. A. de S. (2014). *FUNGOS EPIFÍTICOS E FITOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS A PLANTAS DO CERRADO*. Universidade de Brasília.
- Arnold, A. E. (2007). Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biology Reviews*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.05.003>
- Arnold, A. E., & Lutzoni, F. (2007). DIVERSITY AND HOST RANGE OF FOLIAR FUNGAL ENDOPHYTES: ARE TROPICAL LEAVES BIODIVERSITY HOTSPOTS? In *Ecology* (Vol. 88, Issue 3). <http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateSi>
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kyllö, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., & Herre, E. A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100.
- Aziz, P., Muhammad, N., Intisar, A., Abid, M. A., Din, M. I., Yaseen, M., Kousar, R., Aamir, A., Quratulain, & Ejaz, R. (2021). Constituents and antibacterial activity of leaf essential oil of *Plectranthus scutellarioides*. *Plant Biosystems*, 155(6). <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1837279>
- Bacon, C. W., & White, J. F. (2016). Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis*, 68(1–3), 87–98. <https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2>
- Balogh, B., Nga, N. T. T., & Jones, J. B. (2018). Relative level of bacteriophage multiplication in vitro or in phyllosphere may not predict in planta efficacy for controlling bacterial leaf spot on tomato caused by *Xanthomonas perforans*. *Frontiers in Microbiology*, 9(SEP). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02176>
- Banerjee, A., & Roychoudhury, A. (2016). Plant Responses to Light Stress: Oxidative Damages, Photoprotection, and Role of Phytohormones. In Springer (Ed.), *Plant hormones under*

challenging environmental factors (pp. 181–213). <https://doi.org/10.1007/978-981-13-2140-5>

- Bardy, L. R., Debiasi, T. V., Sanada, K., Rondina, A. B. L., Torezan, J. M. D., Stolf-Moreira, R., Bianchini, E., Pimenta, J. A., & Oliveira, H. C. (2023). Effect of Nitrogen Addition to the Soil on Atlantic Forest Tree Seedlings. *Forests*, *14*(6). <https://doi.org/10.3390/f14061111>
- Barlóg, P. (2002). Effect of magnesium and nitrogenous fertilisers on the growth and alkaloid content in *Lupinus angustifolius* L. *Australian Journal of Agricultural Research*, *53*(6). <https://doi.org/10.1071/AR00111>
- Bashir, I., War, A. F., Rafiq, I., Reshi, Z. A., Rashid, I., & Shouche, Y. S. (2022). Phyllosphere microbiome: Diversity and functions. In *Microbiological Research* (Vol. 254). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126888>
- Battilani, P., Lanubile, A., Scala, V., Reverberi, M., Gregori, R., Falavigna, C., Dall'asta, C., Park, Y. S., Bennett, J., Borrego, E. J., & Kolomiets, M. V. (2018). Oxylipins from both pathogen and host antagonize jasmonic acid-mediated defence via the 9-lipoxygenase pathway in *Fusarium verticillioides* infection of maize. *Molecular Plant Pathology*, *19*(9). <https://doi.org/10.1111/mpp.12690>
- Bazzaz, B. S. F., Khameneh, B., Reza, M., Ostad, Z., & Hosseinzadeh, H. (2018). In vitro evaluation of antibacterial activity of verbascoside, lemon verbena extract and caffeine in combination with gentamicin against drug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* clinical isolates Eradication of bacterial resistance by combination therapy. *Original Research Article AJP*, *8*(3).
- Bazzaz, B. S. F., Sarabandi, S., Khameneh, B., & Hosseinzadeh, H. (2016). Effect of catechins, green tea extract and methylxanthines in combination with gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*-Combination therapy against resistant bacteria. *Journal of Pharmacopuncture*, *19*(4), 312–318. <https://doi.org/10.3831/KPI.2016.19.032>
- Beattie, G. A. (2011). Water relations in the interaction of foliar bacterial pathogens with plants. In *Annual Review of Phytopathology* (Vol. 49, pp. 533–555). <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114436>
- Beech, E., Rivers, M., Oldfield, S., & Smith, P. P. (2017). GlobalTreeSearch: The first complete global database of tree species and country distributions. *Journal of Sustainable Forestry*, *36*(5). <https://doi.org/10.1080/10549811.2017.1310049>
- Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P., & Kausserud, H. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. In *BMC Microbiology* (Vol. 10). <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/189>

- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 57(1).
- Boeckler, G. A., Gershenzon, J., & Unsicker, S. B. (2011). Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. *Phytochemistry*, 72(13). <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.038>
- Bokulich, N. A., Subramanian, S., Faith, J. J., Gevers, D., Gordon, J. I., Knight, R., Mills, D. A., & Caporaso, J. G. (2013). Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature Methods*, 10(1), 57–59. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2276>
- Bonfante, P., & Anca, I.-A. (2009). Plants, Mycorrhizal Fungi, and Bacteria: A Network of Interactions. *Annual Review of Microbiology*, 63, 363–383. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073504>
- Borges, C. V., Minatel, I. O., Gomez-Gomez, H. A., & Lima, G. P. P. (2017). Medicinal plants: Influence of environmental factors on the content of secondary metabolites. In Springer (Ed.), *Medicinal Plants and Environmental Challenges* (pp. 259–277). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-68717-9>
- Brauer, V. S., Rezende, C. P., Pessoni, A. M., De Paula, R. G., Rangappa, K. S., Nayaka, S. C., Gupta, V. K., & Almeida, F. (2019). Antifungal agents in agriculture: Friends and foes of public health. *Biomolecules*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/biom9100521>
- Bresolin, J. D., Bustamante, M. M. C., Krüger, R. H., Silva, M. R. S. S., & Perez, K. S. (2010). Structure and composition of bacterial and fungal community in soil under soybean monoculture in the Brazilian cerrado. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(2), 391–403. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000200021>
- Bringel, F., & Couée, I. (2015). Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics. *Frontiers in Microbiology*, 6(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00486>
- Bucci, S. J., Scholz, F. G., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Franco, A. C., Campanello, P. I., Villalobos-vega, R., Bustamante, M., & Miralles-wilhelm, F. (2006). Nutrient availability constrains the hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant, Cell and Environment*, 29, 2153–2167. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01591.x>
- Bustamante, M. M. C., Brito, D. Q. d., Kozovits, A. R., Luedemann, G., De Mello, T. R. B., Pinto, A. de S., Munhoz, C. B. R., & Takahashi, F. S. C. (2012). Effects of nutrient additions on

- plant biomass and diversity of the herbaceous-subshrub layer of a Brazilian savanna (Cerrado). *Plant Ecology*, 213, 795–808. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7939-6_16
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Cambon, M. C., Cartry, D., Chancerel, E., Ziegler, C., Levionnois, S., Coste, S., Stahl, C., Delzon, S., Buée, M., Burban, B., Cazal, J., Fort, T., Goret, J.-Y., Heuret, P., Léger, P., Louisanna, E., Ritter, Y., Bonal, D., Roy, M., ... Vacher, C. (2022). Drought Tolerance Traits in Neotropical Trees Correlate with the Composition of Phyllosphere Fungal Communities. *Phytobiomes Journal*. <https://doi.org/10.1094/pbiomes-04-22-0023-r>
- Canini, F., Geml, J., Buzzini, P., Turchetti, B., Onofri, S., Paolo D'acqui, L., Ripa, C., & Zucconi, L. (2021). Growth Forms and Functional Guilds Distribution of Soil Fungi in Coastal Versus Inland Sites of Victoria Land, Antarctica. *Biology*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/biology>
- Cardoso, E. J. B. N., Nogueira, M. A., & Zangaro, W. (2017). Importance of Mycorrhizae in Tropical Soils. In J. L. Azevedo & M. C. Quecine (Eds.), *Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics*. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-55804-2>
- Carignan, V., & Villard, M.-A. (2002). Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 78.
- Carvalho, C. R., Gonçalves, V. N., Pereira, C. B., Johann, S., Galliza, I. V., Alves, T. M. A., Rabello, A., Sobral, M. E. G., Zani, C. L., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2012). The diversity, antimicrobial and anticancer activity of endophytic fungi associated with the medicinal plant *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) from the Brazilian savannah. *Symbiosis*, 57(2), 95–107. <https://doi.org/10.1007/s13199-012-0182-2>
- Castellano, J. M., Ramos-Romero, S., & Perona, J. S. (2022). Oleanolic Acid: Extraction, Characterization and Biological Activity. *Nutrients*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/nu14030623>
- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2012). Antifungal Properties of Bioactive Compounds from Plants. *INTECH Open Access Publisher*.
- Castro, I. B. (2023). *Efeito da adição de nutrientes no solo sobre a diversidade e estrutura funcional de espécies lenhosas* [Master thesis]. University of Brasília.
- Castro-Moretti, F. R., Gentzel, I. N., Mackey, D., & Alonso, A. P. (2020). Metabolomics as an emerging tool for the study of plant–pathogen interactions. *Metabolites*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/metabo10020052>

- Cavararo, R. (2004). Reserva Ecológica do IBGE: Ambiente e plantas vasculares. *Estudos & Pesquisas. Informações Geográficas*, 3, 1–71.
- Chakravarthi, B. V. S. K., Sujay, R., Kuriakose, G. C., Karande, A. A., & Jayabaskaran, C. (2013). Inhibition of cancer cell proliferation and apoptosis-inducing activity of fungal taxol and its precursor baccatin III purified from endophytic *Fusarium solani*. *Cancer Cell International*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/1475-2867-13-105>
- ChemSpider. (2023). <https://www.chemspider.com/>. (Accessed December 2023).
- Chen, F., Ma, R., & Chen, X. L. (2019). Advances of metabolomics in fungal pathogen–plant interactions. *Metabolites*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/metabo9080169>
- Chinsembu, K. C. (2019). Chemical diversity and activity profiles of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors from plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(4). <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.10.006>
- Choudhury, D., Dobhal, P., Srivastava, S., Saha, S., & Kundu, S. (2018). Role Of Botanical Plant Extracts To Control Plant Pathogens-a Review. *Indian Journal of Agricultural Research*, 52(4). <https://doi.org/10.18805/IJARE.A-5005>
- Christenhusz, M. J. M., & Byng, J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. In *Phytotaxa* (Vol. 261, Issue 3, pp. 201–217). Magnolia Press. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.261.3.1>
- Christopher, F., Ndakidemi, P., Nyalala, S., & Mbega, E. (2023). Antifungal activity of *Leonotis nepetifolia* extracts against *Colletotrichum* species causing bean anthracnose and their phytochemical analysis using LC-MS. *Journal of Natural Pesticide Research*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2023.100057>
- Clavijo McCormick, A., Irmisch, S., Reinecke, A., Boeckler, G. A., Veit, D., Reichelt, M., Hansson, B. S., Gershenzon, J., Köllner, T. G., & Unsicker, S. B. (2014). Herbivore-induced volatile emission in black poplar: Regulation and role in attracting herbivore enemies. *Plant, Cell and Environment*, 37(8). <https://doi.org/10.1111/pce.12287>
- Coelho, L. G. F., Moreira, G. A. M., Bomfim, C. A., & do Vale, H. M. M. (2020). Yeast communities structure in fruits of different native plant species of brazilian Cerrado. *Journal of Neotropical Biology*, 17.
- Colli, G. R., Vieira, C. R., & Dianese, J. C. (2020). Biodiversity and conservation of the Cerrado: recent advances and old challenges. *Biodiversity and Conservation*, 29(5), 1465–1475. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-01967-x>

- Cordier, T., Vacher, C., & Griffith, G. W. (2012). Spatial variability of phyllosphere fungal assemblages: genetic distance predominates over geographic distance in a European beech stand (*Fagus sylvatica*). *Fungal Ecology*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.12.004>
- Cortaga, C. Q., Cordez, B. W. P., Dacones, L. S., Balendres, M. A. O., & Dela Cueva, F. M. (2023). Mutations associated with fungicide resistance in *Colletotrichum* species: A Review. *Phytoparasitica*, 51(3). <https://doi.org/10.1007/s12600-023-01063-0>
- Costa, L. S. (2019). *Mudanças na arquitetura hidráulica e anatomia de lenhosas de cerrado sentido restrito sob adição de nutrientes ao solo*. Universidade de Brasília.
- Costa, L. S., De Moura, C. O., Bucci, S. J., Sonsin-Oliveira, J., Gomes, S. M., & Da Cunha Bustamante, M. M. (2021). Nutrient enrichment changes water transport structures of savanna woody plants. *Environmental Research Letters*, 16(5). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abe6c5>
- Cowen, L. E. (2008). The evolution of fungal drug resistance: Modulating the trajectory from genotype to phenotype. *Nature Reviews Microbiology*, 6(3). <https://doi.org/10.1038/nrmicro1835>
- 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., ... Groenewald, J. Z. (2015). Fungal planet description sheets: 371–399. *Personia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 35(1). <https://doi.org/10.3767/003158515X690269>
- Csepregi, K., & Hideg, É. (2018). Phenolic Compound Diversity Explored in the Context of Photo-Oxidative Stress Protection. *Phytochemical Analysis*, 29(2). <https://doi.org/10.1002/pca.2720>
- Cuevas-Reyes, P., De Oliveira-Ker, F. T., Fernandes, G. W., & Bustamante, M. M. D. C. (2011). Abundance of gall-inducing insect species in sclerophyllous savanna: understanding the importance of soil fertility using an experimental approach. *Journal of Tropical Ecology*, 27. <https://doi.org/10.1017/S02>
- Daniel, J. F. D. S., De Carvalho, M. G., Cardoso, R. D. S., Agra, M. D. F., & Eberlin, M. N. (2005). Others flavonoids from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532005000400022>
- Darlison, J., Mogren, L., Rosberg, A. K., Grudén, M., Minet, A., Liné, C., Mieli, M., Bengtsson, T., Håkansson, Å., Uhlig, E., Becher, P. G., Karlsson, M., & Alsanius, B. W. (2019). Leaf mineral content govern microbial community structure in the phyllosphere of spinach

- (*Spinacia oleracea*) and rocket (*Diplotaxis tenuifolia*). *Science of the Total Environment*, 675. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.254>
- da Cruz, J. E. R., Saldanha, H. C., Freitas, G. R. O. e., & Morais, E. R. (2022). A review of medicinal plants used in the Brazilian Cerrado for the treatment of fungal and bacterial infections. *Journal of Herbal Medicine*, 31. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2021.100523>
- da Silva, M. (2012). *Micobiota folícola de Dimorphandra wilsonii, espécie arbórea brasileira ameaçada de extinção*.
- da Silva, T. F., Coelho, M. R. R., Vollú, R. E., De Vasconcelos Goulart, F. R., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Seldin, L. (2011). Bacterial community associated with the trunk latex of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) grown in the northeast of Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 99. <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9520-7>
- da Veiga, E. B., & Habermann, G. (2013). Instantaneously measured traits may detect non-plastic ecophysiological performances in response to drought, explaining distributions of *Styrax* species in the Cerrado. *Trees - Structure and Function*, 27(6). <https://doi.org/10.1007/s00468-013-0919-4>
- Davey, M. L., Heegaard, E., Halvorsen, R., Ohlson, M., & Kauserud, H. (2012). Seasonal trends in the biomass and structure of bryophyte-associated fungal communities explored by 454 pyrosequencing. *New Phytologist*, 195(4). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04215.x>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4). <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- de Araujo, A. S. F., Bezerra, W. M., dos Santos, V. M., Rocha, S. M. B., Carvalho, N. da S., de Lyra, M. do C. C. P., Figueiredo, M. do V. B., de Almeida Lopes, Â. C., & Melo, V. M. M. (2017). Distinct bacterial communities across a gradient of vegetation from a preserved Brazilian Cerrado. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0815-1>
- de Araújo, W. S., Ribeiro, B. A., & dos Santos, B. B. (2011). Abundance of gall-inducing insects in *Ouratea hexasperma*: response to vigor or escape from hypersensitivity? *Journal of Biodiversity and Ecological Sciences*.
- Debray, R., Socolar, Y., Kaulbach, G., Guzman, A., Hernandez, C. A., Curley, R., Dhond, A., Bowles, T., & Koskella, B. (2022). Water stress and disruption of mycorrhizas induce

parallel shifts in phyllosphere microbiome composition. *New Phytologist*, 234(6), 2018–2031. <https://doi.org/10.1111/nph.17817>

- De Cáceres, M., Legendre, P., & Moretti, M. (2010). Improving indicator species analysis by combining groups of sites. *Oikos*, 119(10). <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18334.x>
- De Carvalho, M. G., Suzart, L. R., Cavattia, L. C., & Kaplan, M. A. C. (2008). New flavonoids and other constituents from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19. <https://doi.org/10.1590/s0103-50532008000700029>
- De Castro, A. P., Da Silva, M. R. S. S., Quirino, B. F., Da Cunha Bustamante, M. M., & Krüger, R. H. (2016). Microbial diversity in cerrado biome (neotropical savanna) soils. *PLoS ONE*, 11(2), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148785>
- de Castro, M. T. (2012). *Pucciniales em plantas nativas do Cerrado brasileiro e em algumas exóticas*. Universidade de Brasília.
- de Giffoni de Carvalho, J. T., Da Silva Baldivia, D., Leite, D. F., De Araújo, L. C. A., De Toledo Espindola, P. P., Antunes, K. A., Rocha, P. S., De Picoli Souza, K., & Dos Santos, E. L. (2019). Medicinal plants from Brazilian Cerrado: Antioxidant and anticancer potential and protection against chemotherapy toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3685264>
- Delgado-Baquerizo, M., Grinyer, J., Reich, P. B., & Singh, B. K. (2016). Relative importance of soil properties and microbial community for soil functionality: insights from a microbial swap experiment. *Functional Ecology*, 30, 1862–1873. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12674>
- Dellagi, A., Quillere, I., & Hirel, B. (2020). Beneficial soil-borne bacteria and fungi: A promising way to improve plant nitrogen acquisition. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 71, Issue 15). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa112>
- De Mesquita, M. L., Desrivot, J., Bories, C., Fournet, A., De Paula, J. E., Grellier, P., & Espindola, L. S. (2005). Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(7), 783–787. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762005000700019>
- de Queiroz, J. C. E., Leite, J. R. S. A., & Vasconcelos, A. G. (2023). Prospecting Plant Extracts and Bioactive Molecules with Antimicrobial Activity in Brazilian Biomes: A Review. *Antibiotics*, 12(3), 427. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030427>
- de Souza, B. C. (2017). *Ascomicetos associados a plantas da reserva natural da Embrapa Cerrados, Distrito Federal*. Universidade de Brasília.

- de Souza, E. S. do C. (2016). *Morfotaxonomia e filogenia molecular de Pucciniales do Cerrado brasileiro*. Universidade de Brasília.
- De Toledo, C. E. M., Britta, E. A., Ceole, L. F., Silva, E. R., De Mello, J. C. P., Dias Filho, B. P., Nakamura, C. V., & Ueda-Nakamura, T. (2011). Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachaa as extractor liquid. *Journal of Ethnopharmacology*, 133. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.021>
- Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., Hacquard, S., Hervé, V., Labbé, J., Lastovetsky, O. A., Mieszkin, S., Millet, L. J., Vajna, B., Junier, P., Bonfante, P., Krom, B. P., Olsson, S., van Elsas, J. D., & Wick, L. Y. (2018). Bacterial-fungal interactions: Ecology, mechanisms and challenges. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(3), 335–352. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy008>
- Dianese, J. C. (2000). Micodiversidade associada a plantas nativas do Cerrado. In S. B. de Botânica/Embrapa-Cenargen (Ed.), *Tópicos Atuais em Botânica*.
- Dias, M., da Cruz Pedrozo Miguel, M. G., Duarte, W. F., Silva, C. F., & Schwan, R. F. (2015). Epiphytic bacteria biodiversity in Brazilian Cerrado fruit and their cellulolytic activity potential. *Annals of Microbiology*, 65(2), 851–864. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0927-7>
- Di Camillo Orfali, G., Duarte, A. C., Bonadio, V., Martinez, N. P., De Araújo, M. E. M. B., Priviero, F. B. M., Carvalho, P. O., & Priolli, D. G. (2016). Review of anticancer mechanisms of isoquercitin. *World Journal of Clinical Oncology*, 7(2). <https://doi.org/10.5306/wjco.v7.i2.189>
- Do Nascimento, P. G. G., Lemos, T. L. G., Bizerra, A. M. C., Arriaga, A. M. C., Ferreira, D. A., Santiago, G. M. P., Braz-Filho, R., & Costa, J. G. M. (2014). Antibacterial and antioxidant activities of ursolic acid and derivatives. *Molecules*, 19(1). <https://doi.org/10.3390/molecules19011317>
- dos Reis, C. M., da Rosa, B. V., da Rosa, G. P., do Carmo, G., Morandini, L. M. B., Ugalde, G. A., Kuhn, K. R., Morel, A. F., Jahn, S. L., & Kuhn, R. C. (2019). Antifungal and antibacterial activity of extracts produced from *Diaporthe schini*. *Journal of Biotechnology*, 294. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.01.022>
- dos Reis, J. B. A. (2022). *Micobiota endofítica de seis espécies lenhosas do Cerrado: Efeitos da planta hospedeira e da adição de nutrientes ao solo* [Master thesis]. University of Brasília.
- dos Reis, J. B. A., Pappas Junior, G. J., Lorenzi, A. S., Pinho, D. B., Costa, A. M., Bustamante, M. M. da C., & do Vale, H. M. M. (2023). How Deep Can the Endophytic Mycobiome Go? A Case Study on Six Woody Species from the Brazilian Cerrado. *Journal of Fungi*, 9(5).

- dos Santos, M. D. M., de Noronha Fonseca, M. E., Silva Boiteux, L., Câmara, P. E. A. S., & Dianese, J. C. (2016). ITS phylogeny and taxonomy of *Phyllachora* species on native Myrtaceae from the Brazilian Cerrado. *Mycologia*, *108*(6), 1141–1164. <https://doi.org/10.3852/16-025>
- Duarte, A. P. M., Attili-Angelis, D., Baron, N. C., Groenewald, J. Z., Crous, P. W., & Pagnocca, F. C. (2017). Riding with the ants. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, *38*. <https://doi.org/10.3767/003158517X693417>
- Durmaz, L., Kiziltas, H., Karagecili, H., Alwasel, S., & Gulcin, İ. (2023). Potential antioxidant, anticholinergic, antidiabetic and antiglaucoma activities and molecular docking of spiraeoside as a secondary metabolite of onion (*Allium cepa*). *Saudi Pharmaceutical Journal*, *31*(10). <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101760>
- Edwards, C. (2000). Problems Posed by Natural Environments for Monitoring Microorganisms. *Molecular Biotechnology*, *15*.
- Eiten, G. (1994). Vegetação do Cerrado. In *Cerrado: Caracterização, Ocupação e Perspectivas* (pp. 17–73). Editora Universidade de Brasília.
- Eloh, K., Sasanelli, N., Maxia, A., & Caboni, P. (2016). Untargeted Metabolomics of Tomato Plants after Root-Knot Nematode Infestation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(29). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02181>
- Elser, J. J., Bracken, M. E. S., Cleland, E. E., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hillebrand, H., Ngai, J. T., Seabloom, E. W., Shurin, J. B., & Smith, J. E. (2007). Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, *10*. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x>
- EMATER-DF. (2023a). *AGRO EMATER, Informação Técnica N° 1/2023*.
- EMATER-DF. (2023b). *Valor Bruto da Produção Agropecuária Distrito Federal - 2022*.
- EMBRAPA, E. B. D. P. Agropecuaria. (2006). Sistema brasileiro de classificação de solos. In *Rio de Janeiro: Embrapa Solos* (2nd ed.). <https://doi.org/ISBN 978-85-7035-198-2>
- Engin, K. N. (2009). Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. *Molecular Vision*, *15*. <http://www.molvis.org/molvis/v15/a88>
- Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. *Plant Physiology*, *184*(1). <https://doi.org/10.1104/PP.20.00433>
- Eugster, P. J., Guillarme, D., Rudaz, S., Veuthey, J.-L., Carrupt, P.-A., & Wolfender, J.-L. (2011). Ultra high pressure liquid chromatography for crude plant extract profiling. *Journal of AOAC International*, *94*(1). <https://academic.oup.com/jaoac/article/94/1/51/5655331>

- Fageria, N. K., & Baligar, V. C. (2008). Ameliorating soil acidity of tropical oxisols by liming for sustainable crop production. *Advances in Agronomy*, 345–399. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)00407-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)00407-0)
- Fan, F., Hamada, M. S., Li, N., Li, G. Q., & Luo, C. X. (2017). Multiple fungicide resistance in *Botrytis cinerea* from greenhouse strawberries in Hubei Province, China. *Plant Disease*, 101(4), 601–606. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1227-RE>
- Feng, S., Chin, L. S., Yuan, K. L., & Huang, D. (2007). Fungal-stressed germination of black soybeans leads to generation of oxooctadecadienoic acids in addition to glyceollins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21). <https://doi.org/10.1021/jf0716735>
- Fernanda Jiménez-reyes, M. A., Carrasco, H. B., Olea B, A. F., & Silva-moreno, E. A. (2019). Natural Compounds: a sustainable alternative to the phytopathogens control. In *J. Chil. Chem. Soc* (Vol. 64).
- Fernie, A. R., & Pichersky, E. (2015). Focus issue on metabolism: Metabolites, metabolites everywhere. *Plant Physiology*, 169. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01499>
- Ferreira, A. de S., Dos Santos, M. A., & Corrêa, G. F. (2013). Soil microbial response to glucose and phosphorus addition under agricultural systems in the Brazilian Cerrado. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 85(1), 395–403. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652013005000021>
- Fidelis, Q. C., Faraone, I., Russo, D., Aragão Catunda-Jr, F. E., Vignola, L., de Carvalho, M. G., de Tommasi, N., & Milella, L. (2019). Chemical and Biological insights of *Ouratea hexasperma* (A. St.-Hil.) Baill.: a source of bioactive compounds with multifunctional properties. *Natural Product Research*, 33. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1419227>
- Fidelis, Q. C., Ribeiro, T. A. N., Araújo, M. F., & de Carvalho, M. G. (2014). *Ouratea* genus: Chemical and pharmacological aspects. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 24. <https://doi.org/10.1590/0102-695X20142413361>
- Fiehn, O. (2002). Metabolomics - the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology*, 48, 155–171. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11860207>
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Firáková, S., Šturdíková, M., & Múčková, M. (2007). Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biologia*, 62(3), 251–257. <https://doi.org/10.2478/s11756-007-0044-1>

- Fisher, M. C., Hawkins, N. J., Sanglard, D., & Gurr, S. J. (2018). Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science*, *360*. <https://www.science.org>
- Flessa, F., Peršoh, D., & Rambold, G. (2012). Annuality of Central European deciduous tree leaves delimits community development of epifoliar pigmented fungi. *Fungal Ecology*, *5*(5). <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.12.005>
- Flues, S., Blokker, M., Dumack, K., & Bonkowski, M. (2018). Diversity of Cercomonad Species in the Phyllosphere and Rhizosphere of Different Plant Species with a Description of Neocercomonas epiphylla (Cercozoa, Rhizaria) a Leaf-Associated Protist. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *65*(5), 587–599. <https://doi.org/10.1111/jeu.12503>
- Fones, H. N., Bebbler, D. P., Chaloner, T. M., Kay, W. T., Steinberg, G., & Gurr, S. J. (2020). Threats to global food security from emerging fungal and oomycete crop pathogens. *Nature Food*, *1*(6). <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0075-0>
- Fonseca, P. L. C., Skaltsas, D., da Silva, F. F., Kato, R. B., de Castro, G. M., García, G. J. Y., Quintanilha-Peixoto, G., Mendes-Pereira, T., Do Carmo, A. O., Aguiar, E. R. G. R., de Carvalho, D. S., Costa-Rezende, D. H., Drechsler-Santos, E. R., Badotti, F., Ferreira-Silva, A., Oliveira, G., Chaverri, P., Vaz, A. B. M., & Góes-Neto, A. (2022). An Integrative View of the Phyllosphere Mycobiome of Native Rubber Trees in the Brazilian Amazon. *Journal of Fungi*, *8*(4). <https://doi.org/10.3390/jof8040373>
- Franco, A. C., Bustamante, M., Caldas, L. S., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Kozovits, A. R., Rundel, P., & Coradin, V. T. R. (2005). Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees - Structure and Function*, *19*. <https://doi.org/10.1007/s00468-004-0394-z>
- Fröhlich, J., & Hyde, K. D. (1999). Biodiversity of palm fungi in the tropics: are global fungal diversity estimates realistic? In *Biodiversity and Conservation* (Vol. 8).
- Gao, Y., Wang, L., Kalscheuer, R., Liu, Z., & Proksch, P. (2020). Antifungal polyketide derivatives from the endophytic fungus *Aplosporella javeedii*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *28*(10). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115456>
- Gargallo-Garriga, A., Sardans, J., Pérez-Trujillo, M., Guenther, A., Llusà, J., Rico, L., Terradas, J., Farré-Armengol, G., Filella, I., Parella, T., & Peñuelas, J. (2016). Shifts in plant foliar and floral metabolomes in response to the suppression of the associated microbiota. *BMC Plant Biology*, *16*. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0767-7>
- Gargallo-Garriga, A., Wright, S. J., Sardans, J., Pérez-Trujillo, M., Oravec, M., Vecerová, K., Urban, O., Fernández-Martínez, M., Parella, T., & Peñuelas, J. (2017). Long-term

fertilization determines different metabolomic profiles and responses in saplings of three rainforest tree species with different adult canopy position. *PLoS ONE*, *12*, e0177030. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177030>

Gaube, P., Marchenko, P., Müller, C., Schweiger, R., Tenhaken, R., Keller, A., & Junker, R. R. (2023). Inter- and intraspecific phytochemical variation correlate with epiphytic flower and leaf bacterial communities. *Environmental Microbiology*, *25*(9). <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16382>

Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M. N., van Tuinen, D., Redecker, D., & Wipf, D. (2010). Agroecology: The key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. In *Mycorrhiza* (Vol. 20). <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0333-3>

Glenz, R., Kaiping, A., Göpfert, D., Weber, H., Lambour, B., Sylvester, M., Fröschel, C., Mueller, M. J., Osman, M., & Waller, F. (2022). The major plant sphingolipid long chain base phytosphingosine inhibits growth of bacterial and fungal plant pathogens. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05083-4>

Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., & McConkey, B. (2007). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *26*(5–6), 227–242. <https://doi.org/10.1080/07352680701572966>

Glover, B. J., & Martin, C. (2012). Anthocyanins. *Current Biology*, *22*. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.01.021>

Godoy, C. V., Almeida, A. M. R., Costamilan, L. M., Meyer, M., Dias, W. P., Seixas, C. D. S., Soares, R. M., Henning, A. A., Yorinori, J. T., Ferreira, L. P., & Silva, J. F. V. (2016). doenças da soja. In L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamin Filho, & L. E. A. Camargo (Eds.), *Manual de Fitopatologia: v. 2. Doenças das plantas cultivadas* (5th ed., pp. 657–675).

Goh, V. S. L., Mok, C. K., & Chu, J. J. H. (2020). Antiviral natural products for arbovirus infections. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25122796>

Gomes, T., Pereira, J. A., Benhadi, J., Lino-Neto, T., & Baptista, P. (2018). Endophytic and Epiphytic Phyllosphere Fungal Communities Are Shaped by Different Environmental Factors in a Mediterranean Ecosystem. *Microbial Ecology*, *76*(3), 668–679. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1161-9>

Gong, T., & Xin, X. F. (2021). Phyllosphere microbiota: Community dynamics and its interaction with plant hosts. In *Journal of Integrative Plant Biology* (Vol. 63, Issue 2). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jipb.13060>

- Gorbushina, A. A., Kotlova, E. R., & Sherstneva, O. A. (2008). Cellular responses of microcolonial rock fungi to long-term desiccation and subsequent rehydration. *Studies in Mycology*, *61*, 91–97. <https://doi.org/10.3114/sim.2008.61.09>
- Gostinčar, C., Grube, M., De Hoog, S., Zalar, P., & Gunde-Cimerman, N. (2010). Extremotolerance in fungi: Evolution on the edge. In *FEMS Microbiology Ecology* (Vol. 71, Issue 1). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00794.x>
- Groenewald, E. G., & Van Der Westhuizen, A. J. (2005). The roles of prostaglandins and brassinosteroids as plant growth regulators. *South African Journal of Science*, *101*(1).
- Guarim Neto, G., & Morais, R. G. de. (2003). Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. *Acta Botanica Brasilica*, *17*. <https://doi.org/10.1590/s0102-33062003000400009>
- Guatimosim, E., Firmino, A. L., Bezerra, J. L., Pereira, O. L., Barreto, R. W., & Crous, P. W. (2015). Towards a phylogenetic reappraisal of Parmulariaceae and Asterinaceae (Dothideomycetes). *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, *35*(1), 230–241. <https://doi.org/10.3767/003158515X688046>
- Gueidan, C., Villaseñor, C. R., De Hoog, G. S., Gorbushina, A. A., Untereiner, W. A., & Lutzoni, F. (2008). A rock-inhabiting ancestor for mutualistic and pathogen-rich fungal lineages. *Studies in Mycology*, *61*(1). <https://doi.org/10.3114/sim.2008.61.11>
- Güsewell, S., & Gessner, M. O. (2009). N:P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. *Functional Ecology*, *1*, 211–219. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01478.x>
- Habermann, G., & Bressan, A. C. G. (2011). Root, shoot and leaf traits of the congeneric *Styrax* species may explain their distribution patterns in the cerrado sensu lato areas in Brazil. *Functional Plant Biology*, *38*(3). <https://doi.org/10.1071/FP10182>
- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: Botrytis as a case study. *Journal of Chemical Biology*, *7*(4). <https://doi.org/10.1007/s12154-014-0113-1>
- Haq, I. U., Imran, M., Nadeem, M., Tufail, T., Gondal, T. A., & Mubarak, M. S. (2020). Piperine: A review of its biological effects. *Phytotherapy Research*, *35*(2). <https://doi.org/10.1002/ptr.6855>
- Harbone, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, *55*.
- Hardoim, P. R., Overbeek, L. S. Van, Berg, G., Pirttilä, M., Compant, S., Campisano, A., & Döring, M. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary

Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>

Haro, R., & Benito, B. (2019). The role of soil fungi in k+ plant nutrition. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Issue 13). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20133169>

Hartman, K., van der Heijden, M. G. A., Wittwer, R. A., Banerjee, S., Walser, J. C., & Schlaeppi, K. (2018). Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0389-9>

Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. In *Phytochemistry* (Vol. 68, Issues 22–24). <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.017>

Hassan, S., & Mathesius, U. (2012). The role of flavonoids in root-rhizosphere signalling: Opportunities and challenges for improving plant-microbe interactions. *Journal of Experimental Botany*, 63, 3429–3444. <https://doi.org/10.1093/jxb/err430>

Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., hassan Elharchli, E., & Joutei, K. A. (2015). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L). *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/s40538-015-0035-3>

Heimler, D., Romani, A., & Ieri, F. (2017). Plant polyphenol content, soil fertilization and agricultural management: a review. *European Food Research and Technology*, 243(7). <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2826-6>

Henriques, R. P. B. (1999). Ecologia da polinização de *Ouratea hexasperma* (St. Hil.) Bail (Ochnaceae) em cerrado no Brasil central. *Boletim Do Herbário Ezechias Paulo Heringer*, 4.

Herms, D. A., & Mattson, W. J. (1992). The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67. <http://www.jstor.org/stable/2830650>

Hernández-Ceja, A., Loeza-Lara, P. D., Espinosa-García, F. J., García-Rodríguez, Y. M., Medina-Medrano, J. R., Gutiérrez-Hernández, G. F., & Ceja-Torres, L. F. (2021). In vitro antifungal activity of plant extracts on pathogenic fungi of blueberry (*Vaccinium* sp.). *Plants*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/plants10050852>

Hernández-Gutiérrez, A., Braun, U., & Dianese, J. C. (2014). Cercosporoid hyphomycetes on malpighiaceae hosts from the Brazilian Cerrado: Species of *Pseudocercospora* on hosts

belonging to Byrsonima. *Mycological Progress*, 13. <https://doi.org/10.1007/s11557-014-0971-5>

Hernández-Gutiérrez, A., Chaves, Z. M., Dornelo-Silva, D., & Dianese, J. C. (2015). Additions to the cercosporoid fungi from the Brazilian Cerrado: 1. New species on hosts belonging in family Fabaceae, and reallocations of four *Stenella* species into *Zasmidium*. *Mycobiota*, 5. <https://doi.org/10.12664/mycobiota.2015.05.06>

Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., ... Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509–547. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004>

Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature Reviews Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2259>

Hoang, M. H., Nguyen, T. A. T., Pham, N. K. T., Dang, V. S., & Vo, T. N. (2022). A new oleanane-skeleton triterpene isolated from *Coffea canephora*. *Natural Product Research*, 36(20). <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1921767>

Ho, J., Tumkaya, T., Aryal, S., Choi, H., & Claridge-Chang, A. (2018). Moving beyond P values: Everyday data analysis with estimation plots. *BioRxiv*, 1–15. <https://doi.org/10.1101/377978>

Hong, J., Yang, L., Zhang, D., & Shi, J. (2016). Plant metabolomics: An indispensable system biology tool for plant science. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 17, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms17060767>

Huang, L. R., Hao, X. J., Li, Q. J., Wang, D. P., Zhang, J. X., Luo, H., & Yang, X. S. (2016). 18 β -Glycyrrhetic Acid Derivatives Possessing a Trihydroxylated A Ring Are Potent Gram-Positive Antibacterial Agents. *Journal of Natural Products*, 79(4). <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00641>

Huang, L., Yang, K. P., Zhao, Q., Li, H. J., Wang, J. Y., & Wu, Y. C. (2022). Corrosion resistance and antibacterial activity of procyanidin B2 as a novel environment-friendly inhibitor for Q235 steel in 1 M HCl solution. *Bioelectrochemistry*, 143. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107969>

- Huang, W. F., Li, J., Huang, J. A., Liu, Z. H., & Xiong, L. G. (2023). Review: Research progress on seasonal succession of phyllosphere microorganisms. In *Plant Science* (Vol. 338). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111898>
- Hunke, P., Mueller, E. N., Schröder, B., & Zeilhofer, P. (2015). The Brazilian Cerrado: Assessment of water and soil degradation in catchments under intensive agricultural use. *Ecohydrology*, 8(6), 1154–1180. <https://doi.org/10.1002/eco.1573>
- Iantas, J., Savi, D. C., Schibelbein, R. da S., Noriler, S. A., Assad, B. M., Dilarri, G., Ferreira, H., Rohr, J., Thorson, J. S., Shaaban, K. A., & Glienke, C. (2021). Endophytes of Brazilian Medicinal Plants With Activity Against Phytopathogens. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.714750>
- IBGE, C. de R. N. I. (2019). *Biomass e sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1:250 000* (Vol. 45). Série Relatórios Metodológicos.
- Izuno, A., Kanzaki, M., Artchawakom, T., Wachrinrat, C., & Isagi, Y. (2016). Vertical structure of phyllosphere fungal communities in a tropical forest in Thailand uncovered by high-throughput sequencing. *PLoS ONE*, 11(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166669>
- Jackson, E. F., Echlin, H. L., & Jackson, C. R. (2006). Changes in the phyllosphere community of the resurrection fern, *Polypodium polypodioides*, associated with rainfall and wetting. *FEMS Microbiology Ecology*, 58. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00152.x>
- Jacobson, T. K. B. (2009). *Composição, estrutura e funcionamento de um cerrado sentido restrito submetido à adição de nutrientes em médio prazo*. Universidade de Brasília.
- Jacobson, T. K. B., & Bustamante, M. M. D. C. (2019). Effects of nutrient addition on polyphenol and nutrient concentrations in leaves of woody species of a savanna woodland in Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 6. <https://doi.org/10.1017/S0266467419000257>
- Jacobson, T. K. B., Bustamante, M. M. D. C., & Kozovits, A. R. (2011). Diversity of shrub tree layer, leaf litter decomposition and N release in a Brazilian Cerrado under N, P and N plus P additions. *Environmental Pollution*, 159. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.019>
- Jacoby, R., Peukert, M., Succurro, A., Koprivova, A., & Kopriva, S. (2017). The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition—current knowledge and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>
- James, T. Y., Kauff, F., Schoch, C. L., Matheny, P. B., Hofstetter, V., Cox, C. J., & Vilgalys, R. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, 443(7113).

- Jami, F., Slippers, B., Wingfield, M. J., & Gryzenhout, M. (2014). Botryosphaeriaceae species overlap on four unrelated, native South African hosts. *Fungal Biology*, *118*(2). <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.11.007>
- Janssens, F., Peeters, A., Tallowin, J. R. B., Bakker, J. P., Bekker, R. M., & Fillat, F. (1998). Relationship between soil chemical factors and grassland diversity. *Plant and Soil*, *202*. <http://download.springer.com/static/pdf/270/art%253A10.1023%252FA%253A1004389614865.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Flink.springer.com%2Farticle%2F10.1023%2FA%3A1004389614865&token2=exp=1437999950~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F270%2Fart%25253A10.1023%25252FA%25253A1004>
- Jaradat, N. (2020). Phytochemistry, traditional uses and biological effects of the desert plant *Styrax officinalis* L. *Journal of Arid Environments*, *182*(May), 104253. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104253>
- Jia, T., Yao, Y., Guo, T., Wang, R., & Chai, B. (2020). Effects of Plant and Soil Characteristics on Phyllosphere and Rhizosphere Fungal Communities During Plant Development in a Copper Tailings Dam. *Frontiers in Microbiology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.556002>
- Johnson, J. M., & Oelmüller, R. (2009). Mutualism or parasitism: life in an unstable continuum. What can we learn from the mutualistic interaction between *Piri-formospora indica* and *Arabidopsis thaliana*? -Review. *Endocytobiosis and Cell Research: Journal of the International Society of Endocytobiology*, *19*. <https://www.researchgate.net/publication/342925936>
- Jumpponen, A., & Jones, K. L. (2009). Massively parallel 454 sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere. *New Phytologist*, *184*(2). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02990.x>
- Jumpponen, A., & Jones, K. L. (2010). *Seasonally dynamic fungal communities in the Quercus macrocarpa phyllosphere differ between urban and nonurban environments*. 496–513.
- Junot, C., Fenaille, F., Colsch, B., & Bécher, F. (2014). High resolution mass spectrometry based techniques at the crossroads of metabolic pathways. *Mass Spectrometry Reviews*, *33*(6). <https://doi.org/10.1002/mas.21401>
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *2*, 377–392. <https://docplayer.net/21209475-Plant-secondary-metabolites-biosynthesis-classification-function-and-pharmacological-properties.html>

- Kanakidou, M., Myriokefalitakis, S., Daskalakis, N., Fanourgakis, A. G., Nenes, A., Baker, A. R., Tsigaridis, K., & Mihalopoulos, N. (2016). *Past, Present, and Future Atmospheric Nitrogen Deposition*. <https://doi.org/10.1175/JAS-D-15-0278.s1>
- Karamanoli, K., Kokalas, V., Koveos, D. S., Junker, R. R., & Farré-Armengol, G. (2020). Bacteria Affect Plant-Mite Interactions Via Altered Scent Emissions. *Journal of Chemical Ecology*, *46*(8), 782–792. <https://doi.org/10.1007/s10886-020-01147-9>
- Karamanoli, K., Menkissoglu-Spiroudi, U., Bosabalidis, A. M., Vokou, D., & Constantinidou, H. I. A. (2005). Bacterial colonization of the phyllosphere of nineteen plant species and antimicrobial activity of their leaf secondary metabolites against leaf associated bacteria. *Chemoecology*, *15*. <https://doi.org/10.1007/s00049-005-0297-5>
- Karimi, A., Krähmer, A., Herwig, N., Schulz, H., Hadian, J., & Meiners, T. (2020). Variation of Secondary Metabolite Profile of *Zataria multiflora* Boiss. Populations Linked to Geographic, Climatic, and Edaphic Factors. *Frontiers in Plant Science*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00969>
- Kariñho-Betancourt, E. (2018). Plant-herbivore interactions and secondary metabolites of plants: Ecological and evolutionary perspectives. *Botanical Sciences*, *96*(1), 35–51. <https://doi.org/10.17129/botsci.1860>
- Karlsson, I., Friberg, H., Kolseth, A. K., Steinberg, C., & Persson, P. (2017). Organic farming increases richness of fungal taxa in the wheat phyllosphere. *Molecular Ecology*, *26*(13), 3424–3436. <https://doi.org/10.1111/mec.14132>
- Karlsson, I., Persson, P., & Friberg, H. (2021). Fusarium Head Blight From a Microbiome Perspective. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628373>
- Kaur, P., Arora, S., & Singh, R. (2022). Isolation, characterization and biological activities of betulin from *Acacia nilotica* bark. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13338-3>
- Keen, N. T. (2000). A century of plant pathology: a retrospective view on understanding host-parasite interactions. *Annual Review of Phytopathology*, *38*.
- Kembel, S. W., & Mueller, R. C. (2014). Plant traits and taxonomy drive host associations in tropical Phyllosphere fungal communities. *Botany*, *92*(4). <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0194>
- Kembel, S. W., O'Connor, T. K., Arnold, H. K., Hubbell, S. P., Wright, S. J., & Green, J. L. (2014). Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *PNAS*, *111*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216057111>

- Kessler, A., & Kalske, A. (2018). Plant secondary metabolite diversity and species interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 49, 115–138. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062406>
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., & Fazly Bazzaz, B. S. (2019). Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. In *Antimicrobial Resistance and Infection Control* (Vol. 8, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>
- Khoiri, A. N., Cheevadhanarak, S., Jirakkakul, J., Dulsawat, S., Prommeenate, P., Tachaleat, A., Kusonmano, K., Wattanachaisaereekul, S., & Sutheeworapong, S. (2021). Comparative Metagenomics Reveals Microbial Signatures of Sugarcane Phyllosphere in Organic Management. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.623799>
- Kim, H. W., Wang, M., Leber, C. A., Nothias, L. F., Reher, R., Kang, K. Bin, Van Der Hooft, J. J. J., Dorrestein, P. C., Gerwick, W. H., & Cottrell, G. W. (2021). NPCClassifier: A Deep Neural Network-Based Structural Classification Tool for Natural Products. In *Journal of Natural Products* (Vol. 84, Issue 11, pp. 2795–2807). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00399>
- Kim, K. W. (2019). Plant trichomes as microbial habitats and infection sites. *European Journal of Plant Pathology*, 154(2). <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01656-0>
- Kirk, P. M. C. P., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. Cabi.
- Kirschner, R. (2018). Fungi on the leaf—a contribution towards a review of phyllosphere microbiology from the mycological perspective. *Ecol. Ser.*, 34. <https://www.researchgate.net/publication/325166686>
- Kirschner, R., & Chen, C. J. (2010). Periconiella species (anamorphic Mycosphaerellaceae) from Taiwan. *Fungal Diversity*, 44. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0054-0>
- Kisselle, K. W., Zepp, R. G., Burke, R. A., De Pinto, A. S., Bustamante, M. M. C., Opsahl, S., Varella, R. F., & Viana, L. T. (2002). Seasonal soil fluxes of carbon monoxide in burned and unburned Brazilian savannas. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 107(20). <https://doi.org/10.1029/2001JD000638>
- Klink, C. A., & Machado, R. B. (2005). Conservation of the Brazilian cerrado. *Conservation Biology*, 19.
- Kokoska, L., Kloucek, P., Leuner, O., & Novy, P. (2018). Plant-Derived Products as Antibacterial and Antifungal Agents in Human Health Care. *Current Medicinal Chemistry*, 26(29), 5501–5541. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180831144344>

- Koskella, B. (2020). The phyllosphere. *Current Biology*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.07.037>
- Kozovits, A. R., Bustamante, M. M. C., Garofalo, C. R., Bucci, S., Franco, A. C., Goldstein, G., & Meinzer, F. C. (2007). Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a Neotropical Savanna. *Functional Ecology*, 21, 1034–1043. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01325.x>
- Krug, D., & Müller, R. (2014). Secondary metabolomics: The impact of mass spectrometry-based approaches on the discovery and characterization of microbial natural products. *Natural Product Reports*, 31(6). <https://doi.org/10.1039/c3np70127a>
- Kumar, J., Singh, D., Ghosh, P., & Kumar, A. (2017). Endophytic and epiphytic modes of microbial interactions and benefits. In *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives* (Vol. 1, pp. 255–771). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5813-4_12
- Kusano, M., Fukushima, A., Redestig, H., & Saito, K. (2011). Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. *Journal of Experimental Botany*, 62(4). <https://doi.org/10.1093/jxb/erq417>
- Kwon, Y., Hye, J. L., Kim, S., Jeon, C., & Kwak, Y. (2017). Comparative tomato flower and pollinator hive microbial communities. *Journal of Plant Diseases and Protection*. <https://doi.org/10.1007/s41348-017-0090-z>
- Laforest-Lapointe, I., & Whitaker, B. K. (2019). Decrypting the phyllosphere microbiota: progress and challenges. *American Journal of Botany*, 106(2), 171–173. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1229>
- Lahti, L., & Shetty, S. (2012). *microbiome R package*.
- Lajoie, G., Maglione, R., & Kembel, S. W. (2020). Adaptive matching between phyllosphere bacteria and their tree hosts in a neotropical forest. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00844-7>
- Lambais, M. R. (2022, July 18). *Análise da comunidade filosférica [mensagem pessoal]*. Mensagem Recebida Por: <mlambais@usp.Br>.
- Lambais, M. R., Barrera, S. E., Santos, E. C., Crowley, D. E., & Jumpponen, A. (2017). Phyllosphere Metaproteomes of Trees from the Brazilian Atlantic Forest Show High Levels of Functional Redundancy. *Microbial Ecology*, 73(1). <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0878-6>

- Lambais, M. R., Crowley, D. E., Cury, J. C., Büll, R. C., & Rodrigues, R. R. (2006). Bacterial diversity in tree canopies of the Atlantic Forest. *Science*, *312*(5782). <https://doi.org/10.1126/science.1124696>
- Lambais, M. R., Lucheta, A. R., & Crowley, D. E. (2014). Bacterial Community Assemblages Associated with the Phyllosphere, Dermosphere, and Rhizosphere of Tree Species of the Atlantic Forest are Host Taxon Dependent. *Microbial Ecology*, *68*. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0433-2>
- Lannes, L. S., Bustamante, M. M. C., Edwards, P. J., & Olde Venterink, H. (2016). Native and alien herbaceous plants in the Brazilian Cerrado are (co-) limited by different nutrients. *Plant and Soil*, *400*, 231–243. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2725-9>
- Lauber, C. L., Hamady, M., Knight, R., & Fierer, N. (2009). Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*. <https://doi.org/10.1128/AEM.00335-09>
- Lei, Y., Deng, X., Zhang, Z., & Che, J. (2023). Natural product procyanidin B1 as an antitumor drug for effective therapy of colon cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *26*(5). <https://doi.org/10.3892/etm.2023.12205>
- Leveau, J. H. (2019). A brief from the leaf: latest research to inform our understanding of the phyllosphere microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, *49*. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.002>
- Leveau, J. H. J., & Lindow, S. E. (2001). Appetite of an epiphyte: Quantitative monitoring of bacterial sugar consumption in the phyllosphere. *PNAS*, *98*(6). www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.061629598
- Lewinsohn, T. M., & Prado, P. I. (2005). How many species are there in Brazil? *Conservation Biology*, *19*. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00680.x>
- Li, B., Tang, J., Yang, Q., Cui, X., Li, S., Chen, S., Cao, Q., Xue, W., Chen, N., & Zhu, F. (2016). Performance evaluation and online realization of data-driven normalization methods used in LC/MS based untargeted metabolomics analysis. *Scientific Reports*, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep38881>
- Li, M., Hong, L., Ye, W., Wang, Z., & Shen, H. (2022). Phyllosphere bacterial and fungal communities vary with host species identity, plant traits and seasonality in a subtropical forest. *Environmental Microbiomes*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-022-00423-3>
- Lindemann, J., & Upper, C. D. (1985). Aerial Dispersal of Epiphytic Bacteria over Bean Plants. In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 50). <http://aem.asm.org/>

- Lindow, S. E., & Brandl, M. T. (2003). Microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 69. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875>
- Liu, C., Cui, Y., Li, X., & Yao, M. (2021). Microeco: An R package for data mining in microbial community ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(2). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa255>
- Liu, H., Brettell, L. E., & Singh, B. (2020). Linking the Phyllosphere Microbiome to Plant Health. *Trends in Plant Science*. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.06.003>
- Liu, Y. R., van der Heijden, M. G. A., Riedo, J., Sanz-Lazaro, C., Eldridge, D. J., Bastida, F., Moreno-Jiménez, E., Zhou, X. Q., Hu, H. W., He, J. Z., Moreno, J. L., Abades, S., Alfaro, F., Bamigboye, A. R., Berdugo, M., Blanco-Pastor, J. L., de los Ríos, A., Duran, J., Grebenc, T., ... Delgado-Baquerizo, M. (2023). Soil contamination in nearby natural areas mirrors that in urban greenspaces worldwide. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37428-6>
- Li, X., Zhang, J., Lin, S., Xing, Y., Zhang, X., Ye, M., Chang, Y., Guo, H., & Sun, X. (2022). (+)-Catechin, epicatechin and epigallocatechin gallate are important inducible defensive compounds against *Ectropis grisescens* in tea plants. *Plant Cell and Environment*, 45(2). <https://doi.org/10.1111/pce.14216>
- Locey, K. J., & Lennon, J. T. (2016). *Scaling laws predict global microbial diversity*. 2016, 30–35. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521291113>
- Lorenzi, H. (2014). *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil* (Vol. 3). Instituto Plantarum de Estudos da Flora.
- Luminare, C. M. (2022). The main fungal diseases in strawberries crop-review. *Scientific Papers Series A. Agronomy*, LXV, 2. <https://www.researchgate.net/publication/372656611>
- Lunn, J. E., Delorge, I., Figueroa, C. M., Van Dijck, P., & Stitt, M. (2014). Trehalose metabolism in plants. *Plant Journal*, 79(4), 544–567. <https://doi.org/10.1111/tpj.12509>
- Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., & Kazan, K. (2013). Fusarium Pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, 67. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650>
- MAPA. (2022). *Histórico de perdas na agricultura brasileira: 2000-2021*.
- Marschner, P., Kandeler, E., & Marschner, B. (2003). Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(3), 453–461. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00297-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00297-3)
- Martinez-Micaelo, N., González-Abuín, N., Pinent, M., Ardévol, A., & Blay, M. (2015). Procyanidin B2 inhibits inflammasome-mediated IL-1 β production in lipopolysaccharide-

- stimulated macrophages. *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(2). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400370>
- Martins, A. (2019). *Efeito da adição de nutrientes em longo prazo nas interações acima e abaixo do solo de espécies lenhosas do Cerrado* [Master thesis]. University of Brasília.
- Mastan, A., Bharadwaj, R., Kushwaha, R. K., & Vivek Babu, C. S. (2019). Functional Fungal Endophytes in *Coleus forskohlii* Regulate Labdane Diterpene Biosynthesis for Elevated Forskolin Accumulation in Roots. *Microbial Ecology*, 78(4). <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01376-w>
- Mayor, J. R., Wright, S. J., & Turner, B. L. (2014). Species-specific responses of foliar nutrients to long-term nitrogen and phosphorus additions in a lowland tropical forest. *Journal of Ecology*, 102(1). <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12190>
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Mello, T. R. B. (2019). *Efeitos da adição de nutrientes na vegetação herbáceo-arbustiva e interações acima e abaixo do solo em um cerrado típico* [PhD dissertation]. University of Brasília.
- Melo, S. J., Sousa, J. P. B., Sá, M. G., Morais, L. S., Magalhães, N. M., Gouveia, F. N., Albernaz, L. C., & Espindola, L. S. (2020). Machaerium acutifolium compounds with larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.6163>
- Millanes, A. M., Diederich, P., Ekman, S., & Wedin, M. (2011). Phylogeny and character evolution in the jelly fungi (Tremellomycetes, Basidiomycota, Fungi). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61(1). <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.05.014>
- Miranda, L. N. de, Miranda, J. C. C. de, Rein, T. A., & Gomes, A. C. (2007). Manejo da calagem para culturas anuais no sistema de plantio direto e convencional. In *Resultados de pesquisa para o Cerrado: 2004-2005*. Embrapa Cerrados.
- Mishra, G. P., Bhadane, R. N., Panigrahi, D., Amawi, H. A., Asbhy, C. R., & Tiwari, A. K. (2021). The interaction of the bioflavonoids with five SARS-CoV-2 proteins targets: An in silico study. *Computers in Biology and Medicine*, 134. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104464>
- Mithöfer, A., & Boland, W. (2012). Plant defense against herbivores: Chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 431–450. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103854>

- Miura, T., Sánchez, R., Castañeda, L. E., Godoy, K., & Barbosa, O. (2019). Shared and unique features of bacterial communities in native forest and vineyard phyllosphere. *Ecology and Evolution*, 9(6). <https://doi.org/10.1002/ece3.4949>
- Mogouong, J., Constant, P., Legendre, P., & Guertin, C. (2021). The phyllosphere microbiome of host trees contributes more than leaf phytochemicals to variation in the *Agrilus planipennis* Fairmaire gut microbiome structure. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95146-9>
- Morais, L. S., Dusi, R. G., Demarque, D. P., Silva, R. L., Albernaz, L. C., Bao, S. N., Merten, C., Antinarelli, L. M. R., Coimbra, E. S., & Espindola, L. S. (2020). Antileishmanial compounds from *Connarus suberosus*: Metabolomics, isolation and mechanism of action. *PLoS ONE*, 15(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241855>
- Moreira, I. C., Sobrinho, D. C., de Carvalho, M. G., & Braz-Filho, R. (1994). Isoflavanone dimers hexaspermone A, B and C from *Ouratea Hexasperma*. *Phytochemistry*, 35.
- Morris, C. E., & Kinkel, L. L. (2002). Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contributions to research in related fields. *Phyllosphere microbiology*, 365-375.
- Müller, T., Behrendt, U., Ruppel, S., von der Waydbrink, G., & Müller, M. E. H. (2016). Fluorescent Pseudomonads in the Phyllosphere of Wheat: Potential Antagonists Against Fungal Phytopathogens. *Current Microbiology*, 72(4), 383–389. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0966-8>
- Murata, M., Nakai, Y., Kawazu, K., Ishizaka, M., Kajiwara, H., Ab, H., Takeuchi, K., Ichinose, Y., Mitsuhashi, I., Mochizuki, A., & Seo, S. (2019). Loliolide, a carotenoid metabolite, is a potential endogenous inducer of herbivore resistance. *Plant Physiology*, 179(4). <https://doi.org/10.1104/pp.18.00837>
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Nega, A. (2014). Review on Concepts in Biological Control of Plant Pathogens. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(27). www.iiste.org
- Ngo, T. N., Nguyen, N. D. P., Nguyen, N. T. L., Pham, N. K. T., Phan, N. M., Bui, T. D., Dang, V. S., Tran, C. L., Mai, D. T., & Nguyen, T. P. (2020). Markhasphingolipid A, new phytosphingolipid from the leaves of *Markhamia stipulata* var. *canaense* V.S. Dang. *Natural Product Research*, 34(13). <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1561686>

- Nongkhaw, F. M. W., & Joshi, S. R. (2014). Micrographical Assessment of Antifungal Effect of Endophytic Bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 86. <https://doi.org/10.1007/s40011-014-0321-z>
- Noriler, S. A., Savi, D. C., Aluizio, R., Palácio-Cortes, A. M., Possiede, Y. M., & Glienke, C. (2018). Bioprospecting and structure of fungal endophyte communities found in the Brazilian biomes, pantanal, and Cerrado. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01526>
- Novaes, P., Molinillo, J. M. G., Varela, R. M., & Macías, F. A. (2013). Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. *Phytochemistry Reviews*. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9315-3>
- Obeidat, M., Shatnawi, M., Al-alawi, M., Al-Zu'bi, E., Al-Dmoor, H., Al-Qudah, M., El-Qudah, J., & Otri, I. (2012). Antimicrobial activity of crude extracts of some plant leaves. *Research Journal of Microbiology*, 7(1).
- Oliveira, E. L. (2005). *Fenologia, Demografia Foliar e Características Foliares de Espécies Lenhosas em um Cerrado Sentido Restrito no Distrito Federal e suas Relações com as Condições Climáticas* [PhD thesis]. University of Brasília, Brasília, Brasil.
- Oliveira, M., Arenas, M., Lage, O., Cunha, M., & Amorim, M. I. (2018). Epiphytic fungal community in *Vitis vinifera* of the Portuguese wine regions. *Letters in Applied Microbiology*, 66. <https://doi.org/10.1111/lam.12826>
- Ombredane, A. S., Araujo, V. H. S., Borges, C. O., Costa, P. L., Landim, M. G., Pinheiro, A. C., Szlachetka, Í. O., Benedito, L. E. C., Espindola, L. S., Dias, D. J. S., Oliveira, D. M., Chaker, J. A., da Silva, S. W., de Azevedo, R. B., & Joanitti, G. A. (2020). Nanoemulsion-based systems as a promising approach for enhancing the antitumoral activity of pequi oil (*Caryocar brasiliense* Cambess.) in breast cancer cells. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 58. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101819>
- Osono, T. (2006). Role of phyllosphere fungi of forest trees in the development of decomposer fungal communities and decomposition processes of leaf litter. In *Canadian Journal of Microbiology* (Vol. 52, Issue 8). <https://doi.org/10.1139/W06-023>
- Osono, T., Bhatta, B. K., & Takeda, H. (2004). Phyllosphere fungi on living and decomposing leaves of giant dogwood. *Mycoscience*, 45(1), 35–41. <https://doi.org/10.1007/S10267-003-0155-7>
- Pajares-Murgó, M., Garrido, J. L., Perea, A. J., López-García, Á., & Alcántara, J. M. (2023). Biotic filters driving the differentiation of decomposer, epiphytic and pathogenic phyllosphere fungi across plant species. *Oikos*, 2023(5). <https://doi.org/10.1111/oik.09624>

- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Park, K. R., Kim, S., Cho, M., Kang, S. W., & Yun, H. M. (2020). Effects of pin on osteoblast differentiation and matrix mineralization through runt-related transcription factor. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24). <https://doi.org/10.3390/ijms21249579>
- Park, S., Seo, Y. S., & Hegeman, A. D. (2014). Plant metabolomics for plant chemical responses to belowground community change by climate change. In *Journal of Plant Biology* (Vol. 57, Issue 3, pp. 137–149). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s12374-014-0110-5>
- Parpinelli, B. A. S., Siqueira, K. A., Kellner Filho, L. C., Pimenta, L. P., Da Costa, R. M., Parreira, R. L. T., Veneziani, R. C. S., Andrade e Silva, M. L., Cunha, W. R., Pauletti, P. M., Soares, M. A., & Januario, A. H. (2017). Effect of endophytic fungal associations on the chemical profile of in vitro *Vochysia divergens* seedlings. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(12), 2375–2381. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170091>
- Patel, D. K., & Patel, K. (2022). Potential therapeutic applications of eudesmin in medicine: An overview on medicinal importance, pharmacological activities and analytical prospects. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2022.100175>
- Pauletti, P. M., Araújo, A. R., Young, M. C. M., Giesbrecht, A. M., & Da Silva Bolzani, V. (2000). nor-Lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity. *Phytochemistry*, 55. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00225-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00225-9)
- Pauletti, P. M., Teles, H. L., Silva, D. H. S., Araújo, Â. R., & Bolzani, V. S. (2006). The Styracaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16.
- Pavarini, D. P., Pavarini, S. P., Niehues, M., & Lopes, N. P. (2012). Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. *Animal Feed Science and Technology*, 176, 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.002>
- Pem, D., Jeewon, R., Chethana, K. W. T., Hongsanan, S., Doilom, M., Suwannarach, N., & Hyde, K. D. (2021). Species concepts of Dothideomycetes: classification, phylogenetic inconsistencies and taxonomic standardization. In *Fungal Diversity* (Vol. 109, Issue 1, pp. 283–319). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00485-7>
- Peng, L., Shan, X., Yang, Y., Wang, Y., Druzhinina, I. S., Pan, X., Jin, W., He, X., Wang, X., Zhang, X., Martin, F. M., & Yuan, Z. (2021). Facultative symbiosis with a saprotrophic soil

- fungus promotes potassium uptake in American sweetgum trees. *Plant Cell and Environment*, 44(8). <https://doi.org/10.1111/pce.14053>
- Peñuelas, J., & Sardans, J. (2009). Ecological metabolomics. *Chemistry and Ecology*, 25, 305–309. <https://doi.org/10.1080/02757540903062517>
- Perea, A. J., Garrido, J. L., Fedriani, J. M., Rey, P. J., & Alcántara, J. M. (2020). Pathogen life-cycle leaves footprint on the spatial distribution of recruitment of their host plants. *Fungal Ecology*, 47. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.100974>
- Peters, K., Worrlich, A., Weinhold, A., Alka, O., Balcke, G., Birkemeyer, C., Bruelheide, H., Calf, O. W., Dietz, S., Dührkop, K., Gaquerel, E., Heinig, U., Kücklich, M., Macel, M., Müller, C., Poeschl, Y., Pohnert, G., Ristok, C., Rodríguez, V. M., ... van Dam, N. M. (2018). Current challenges in plant Eco-Metabolomics. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1–38. <https://doi.org/10.3390/ijms19051385>
- Pham, D. Q., Pham, H. T., Han, J. W., Nguyen, T. H., Nguyen, H. T., Nguyen, T. D., Nguyen, T. T. T., Ho, C. T., Pham, H. M., Vu, H. D., Choi, G. J., & Le Dang, Q. (2021). Extracts and metabolites derived from the leaves of *Cassia alata* L. exhibit in vitro and in vivo antimicrobial activities against fungal and bacterial plant pathogens. *Industrial Crops and Products*, 166. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113465>
- Pires, T. L., Lange, D., & Del-Claro, K. (2020). Witches' brooms increases arthropod-plant interactions in *Ouratea hexasperma* (Baill.) (Ochnaceae). *Acta Oecologica*, 102. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2019.103508>
- Pitt, J. I., & David Miller, J. (2017). A Concise History of Mycotoxin Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(33). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04494>
- Pölme, S., Abarenkov, K., Henrik Nilsson, R., Lindahl, B. D., Clemmensen, K. E., Kauserud, H., Nguyen, N., Kjølner, R., Bates, S. T., Baldrian, P., Frøslev, T. G., Adojaan, K., Vizzini, A., Suija, A., Pfister, D., Baral, H. O., Järv, H., Madrid, H., Nordén, J., ... Tedersoo, L. (2020). FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity*, 105(1). <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>
- Porrás-Alfaro, A., & Bayman, P. (2011). Hidden fungi, emergent properties: Endophytes and microbiomes. In *Annual Review of Phytopathology* (Vol. 49, pp. 291–315). <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081831>
- Poulin, R. X., & Pohnert, G. (2019). Simplifying the complex: metabolomics approaches in chemical ecology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411, 13–19.

- Póvoa Violante, I. M., Hamerski, L., Silva Garcez, W., Batista, A. L., Rodrigues Chang, M., Pott, V. J., & Rodrigues Garcez, F. (2012). Antimicrobial activity of some medicinal plants from the Cerrado of the Central-Western region of Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*.
- Prakash, M., Basavaraj, B. V., & Chidambara Murthy, K. N. (2019). Biological functions of epicatechin: Plant cell to human cell health. *Journal of Functional Foods*, 52. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.021>
- Prasher, I. B., & Manju. (2019). Screening of *Peniophora nuda* (a white rot fungus) for the presence of commercially important bioactive metabolites. *Vegetos*, 32(3). <https://doi.org/10.1007/s42535-019-00038-z>
- Prior, R., Feige, A., & Begerow, D. (2017). Antagonistic activity of the phyllosphere fungal community. *Sydowia*, 69. <https://doi.org/10.12905/0380.sydowia69-2017-0183>
- Puapairoj, P., Naengchomng, W., Kijjoa, A., Pinto, M. M., Pedro, M., Nascimento, M. S. J., Silva, A. M. S., & Herz, W. (2005). Cytotoxic activity of lupane-type triterpenes from *Glochidion sphaerogynum* and *Glochidion eriocarpum* two of which induce apoptosis. *Planta Medica*, 71(3). <https://doi.org/10.1055/s-2005-837818>
- Qian, X. P., Zhang, X. H., Sun, L. N., Xing, W. F., Wang, Y., Sun, S. Y., Ma, M. Y., Cheng, Z. P., Wu, Z. D., Xing, C., Chen, B. N., & Wang, Y. Q. (2021). Corosolic acid and its structural analogs: A systematic review of their biological activities and underlying mechanism of action. *Phytomedicine*, 91. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153696>
- Quiroga, E. N., Sampietro, A. R., & Vattuone, M. A. (2001). Screening antifungal activities of selected medicinal plants. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 74). www.elsevier.com/locate/jethpharm
- Rachid, C. T. C. C., Santos, A. L., Piccolo, M. C., Balieiro, F. C., Coutinho, H. L. C., Peixoto, R. S., Tiedje, J. M., & Rosado, A. S. (2013). Effect of Sugarcane Burning or Green Harvest Methods on the Brazilian Cerrado Soil Bacterial Community Structure. *PLoS ONE*, 8(3), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059342>
- Radulovi, N. S., Blagojevi, P. D., Stojanovi-Radi, Z. Z., & Stojanovi, N. M. (2013). Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Current Medicinal Chemistry*, 20(7).
- Raguso, R. A., Agrawal, A. A., Douglas, A. E., Jander, G., Kessler, A., Poveda, K., & Thaler, J. S. (2015). The raison d'être of chemical ecology. *Ecology*, 96(3). <https://doi.org/10.1890/14-1474.1>
- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. In *Journal of*

- Natural Products* (Vol. 80, Issue 3, pp. 756–770). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Read, D. J., Leake, J. R., & Perez-moreno, J. (2004). Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes. *Canadian Journal of Botany*, 82. <https://doi.org/10.1139/B04-123>
- Reatto, A., Correia, J. R., Spera, S. T., & Martins, É. de S. (2008). Solos do bioma Cerrado: aspectos pedológicos. In S. M. Sano & S. P. Almeida (Eds.), *Cerrado: ecologia e flora*. Embrapa Cerrados.
- Remus-Emsermann, M. N. P., Tecon, R., Kowalchuk, G. A., & Leveau, J. H. J. (2012). Variation in local carrying capacity and the individual fate of bacterial colonizers in the phyllosphere. *ISME Journal*, 6(4). <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.209>
- Rering, C. C., Beck, J. J., Hall, G. W., McCartney, M. M., & Vannette, R. L. (2018). Nectar-inhabiting microorganisms influence nectar volatile composition and attractiveness to a generalist pollinator. *New Phytologist*, 220(3), 750–759. <https://doi.org/10.1111/nph.14809>
- Riaz, A., Rasul, A., Hussain, G., Zahoor, M. K., Jabeen, F., Subhani, Z., Younis, T., Ali, M., Sarfraz, I., & Selamoglu, Z. (2018). Astragalin: A Bioactive Phytochemical with Potential Therapeutic Activities. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9794625>
- Rigonato, J., Gonçalves, N., Andreote, A., Lambais, M. R., & Fiore, M. (2016). Estimating genetic structure and diversity of cyanobacterial communities in Atlantic forest phyllosphere. *Canadian Journal of Microbiology*.
- Ritpitakphong, U., Falquet, L., Vimoltust, A., Berger, A., Métraux, J.-P., & L'Haridon, F. (2016). The microbiome of the leaf surface of *Arabidopsis* protects against a fungal pathogen. *New Phytologist*, 210.
- Rocha, J. D., Carneiro, F. M., Fernandes, A. S., Morais, J. M., Borges, L. L., Chen-Chen, L., de Almeida, L. M., & Bailão, E. F. L. C. (2022). Toxic Potential of Cerrado Plants on Different Organisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7). <https://doi.org/10.3390/ijms23073413>
- Rochfort, S. (2005). Metabolomics reviewed: a new “omics” platform technology for systems biology and implications for natural products research. *Journal of natural products*, 68(12).
- Rodrigues, A. M. S., De Paula, J. E., Degallier, N., Molez, J. F., & Espíndola, L. S. (2006). Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(2), 314–317. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)22\[314:LAOSCP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)22[314:LAOSCP]2.0.CO;2)

- Rodriguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles: Tansley review. In *New Phytologist* (Vol. 182, Issue 2). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Rogers, T. J., Leppanen, C., Brown, V., Fordyce, J. A., LeBude, A., Ranney, T., Simberloff, D., & Cregger, M. A. (2018). Exploring variation in phyllosphere microbial communities across four hemlock species. *Ecosphere*, 9(12). <https://doi.org/10.1002/ecs2.2524>
- Rondon, M. N., & Lawrence, K. (2021). The fungal pathogen *Corynespora cassiicola*: A review and insights for target spot management on cotton and Soya bean. *Journal of Phytopathology*, 169(6). <https://doi.org/10.1111/jph.12992>
- Ruangwong, O.-U., Wonglom, P., Suwannarach, N., Kumla, J., Thaochan, N., Chomnunti, P., Pitija, K., & Sunpapao, A. (2021). Volatile Organic Compound from *Trichoderma asperelloides* TSU1: Impact on Plant Pathogenic Fungi. *J. Fungi*, 7, 187. <https://doi.org/10.3390/jof>
- Ruibal, C., Gueidan, C., Selbmann, L., Gorbushina, A. A., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., ... & De Hoog, G. S. (2009). Phylogeny of rock-inhabiting fungi related to Dothideomycetes. *Studies in Mycology*, 64(1).
- Samanta, A., Das, G., & Das, K. S. (2011). Roles of flavonoids in plants. *International Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 6, 12–35.
- Sannomiya, M., Rodrigues, C. M., Oliveira, G. C. A., Carvalho, J. C. S., da Costa, L. S., Spadari, C. de C., Ferreira, M. J. P., Vilegas, W., & Ishida, K. (2022). Galloylquinic acid derivatives from *Byrsonima fagifolia* leaf extract and potential antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 297. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115534>
- Santin, M., Neugart, S., Castagna, A., Barilari, M., Sarrocco, S., Vannacci, G., Schreiner, M., & Ranieri, A. (2018). UV-B pre-treatment alters phenolics response to monilinia fructicola infection in a structure-dependent way in peach skin. *Frontiers in Plant Science*, 871. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01598>
- Santner, A., & Estelle, M. (2009). Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature*, 459. <https://doi.org/10.1038/nature08122>
- Satari, A., Ghasemi, S., Habtemariam, S., Asgharian, S., & Lorigooini, Z. (2021). Rutin: A Flavonoid as an Effective Sensitizer for Anticancer Therapy; Insights into Multifaceted Mechanisms and Applicability for Combination Therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9913179>

- Saunier, A., Mpamah, P., Biasi, C., & Blande, J. D. (2020). Microorganisms in the phylloplane modulate the BVOC emissions of *Brassica nigra* leaves. *Plant Signaling and Behavior*, *15*(3). <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1728468>
- Schlechter, R. O., Miebach, M., & Remus-Emsermann, M. N. P. (2019). Driving factors of epiphytic bacterial communities: A review. In *Journal of Advanced Research* (Vol. 19, pp. 57–65). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.003>
- Schoch, C. L., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Boehm, E. W. A., Burgess, T. I., de Gruyter, J., de Hoog, G. S., Dixon, L. J., Grube, M., Gueidan, C., Harada, Y., Hatakeyama, S., Hirayama, K., Hosoya, T., Huhndorf, S. M., Hyde, K. D., Jones, E. B. G., Kohlmeyer, J., Kruijs, Å., ... Spatafora, J. W. (2009). A class-wide phylogenetic assessment of Dothideomycetes. *Studies in Mycology*, *64*. <https://doi.org/10.3114/sim.2009.64.01>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P. W., Miller, A. N., Wingfield, M. J., Aime, M. C., An, K. D., Bai, F. Y., Barreto, R. W., Begerow, D., Bergeron, M. J., Blackwell, M., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(16), 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Schreiber, L., Krimm, U., Knoll, D., Sayed, M., Auling, G., & Kroppenstedt, R. M. (2005). Plant-microbe interactions: Identification of epiphytic bacteria and their ability to alter leaf surface permeability. *New Phytologist*, *166*(2), 589–594. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01343.x>
- Seguel, A., Cumming, J. R., Klugh-Stewart, K., Cornejo, P., & Borie, F. (2013). The role of arbuscular mycorrhizas in decreasing aluminium phytotoxicity in acidic soils: A review. *Mycorrhiza*, *23*. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0479-x>
- Selbmann, L., Zucconi, L., Isola, D., & Onofri, S. (2015). Rock black fungi: excellence in the extremes, from the Antarctic to space. *Current Genetics*, *61*(3), 335–345. <https://doi.org/10.1007/s00294-014-0457-7>
- Selosse, M. A., Schneider-Maunoury, L., & Martos, F. (2018). Time to re-think fungal ecology? Fungal ecological niches are often prejudged. In *New Phytologist* (Vol. 217, Issue 3). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/nph.14983>
- Sequerra, J., Marmeisse, R., Valla, G., Normand, P., Capellano, A., & Moiroud, A. (1997). Taxonomic position and intraspecific variability of the nodule forming *Penicillium nodositatum* inferred from RFLP analysis of the ribosomal intergenic spacer and Random

Amplified Polymorphic DNA. *Mycological Research*, 101.
<https://doi.org/10.1017/S0953756296002857>

Shahbazi, H., Hashemi Gahrue, H., Golmakani, M. T., Eskandari, M. H., & Movahedi, M. (2018). Effect of medicinal plant type and concentration on physicochemical, antioxidant, antimicrobial, and sensorial properties of kombucha. *Food Science and Nutrition*, 6(8).
<https://doi.org/10.1002/fsn3.873>

Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., & Ideker, T. (2003). Cytoscape: A software Environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11).
<https://doi.org/10.1101/gr.1239303>

Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., Zhang, W., & Zhang, F. (2011). Phosphorus dynamics: From soil to plant. *Plant Physiology*, 156(3).
<https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>

Shetty, K. G., Rivadeneira, D. V., Jayachandran, K., & Walker, D. M. (2016). Isolation and molecular characterization of the fungal endophytic microbiome from conventionally and organically grown avocado trees in South Florida. *Mycological Progress*, 15(9).
<https://doi.org/10.1007/s11557-016-1219-3>

Shibata, H., Branquinho, C., McDowell, W. H., Mitchell, M. J., Monteith, D. T., Tang, J., Arvola, L., Cruz, C., Cusack, D. F., Halada, L., Kopáček, J., Máguas, C., Sajidu, S., Schubert, H., Tokuchi, N., & Záhora, J. (2015). Consequence of altered nitrogen cycles in the coupled human and ecological system under changing climate: The need for long-term and site-based research. *Ambio*, 44(3). <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0545-4>

Shiratori, N., Kobayashi, N., Tulayakul, P., Sugiura, Y., Takino, M., Endo, O., & Sugita-Konishi, Y. (2017). Occurrence of *Penicillium brocae* and *Penicillium citreonigrum*, which produce a mutagenic metabolite and a mycotoxin citreoviridin, respectively, in selected commercially available rice grains in Thailand. *Toxins*, 9(6).
<https://doi.org/10.3390/toxins9060194>

Silva, D. B., Turatti, I. C. C., Gouveia, D. R., Ernst, M., Teixeira, S. P., & Lopes, N. P. (2014). Mass spectrometry of flavonoid vicenin-2, based sunlight barriers in *Lychnophora* species. *Scientific Reports*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/srep04309>

Silva, F. M., De Paula, J. E., & Espindola, L. S. (2009). Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Mycoses*, 52. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2008.01647.x>

- Silva Júnior, M. da. (2012). *100 árvores do cerrado - sentido restrito: guia de campo*. Rede de Sementes do Cerrado.
- Silva, M. R. S. S. (2012). *Diversidade de comunidades bacterianas de solo de Cerrado em resposta a diferentes alterações dos ecossistemas*.
- Silva, M. V. S. G., Silva, S. A., Teixeira, T. L., De Oliveira, A., Morais, S. A. L., Da Silva, C. V., Espindola, L. S., & Sousa, R. M. F. (2020). Essential oil from leaves of *Eugenia calycina* Cambes: Natural larvicidal against *Aedes aegypti*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, July. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10732>
- Silva, R. L., Demarque, D. P., Dusi, R. G., Sousa, J. P. B., Albernaz, L. C., & Espindola, L. S. (2020). Residual Larvicidal Activity of Quinones against *Aedes aegypti*. *Molecules*, 25(17). <https://doi.org/10.3390/molecules25173978>
- Silva, T. de A., Polo, E. M., Henrique, C. Y., Alves, O. J. A., Nicolella, H. D., Gimenez, V. M. M., Araújo, A. R. B., Tavares, D. C., Andrade e Silva, M. L., Cunha, W. R., Januário, A. H., & Pauletti, P. M. (2016). *Styrax camporum* and *S. ferrugineus* fruits: Norneolignans, antioxidant and cytotoxic activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.601112>
- Silveira, R. S. (2020). *Respostas da comunidade microbiana do solo em área de cerrado sentido restrito a diferentes tratamentos de adição de nutrientes* [PhD dissertation]. University of Brasília.
- Silveira, R. S., Mello, T. R. B., Sartori, M. R. S., Alves, G. S. C., Fonseca, F. C. de A., Vizzotto, C. S., Krüger, R. H., & Bustamante, M. M. da C. (2021). Seasonal and long-term effects of nutrient additions and liming on the *nifH* gene in cerrado soils under native vegetation. *IScience*, 24(4). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102349>
- Silveira, R. S., Mello, T. R. B., Silva, M. R. S. S., Kruger, R. H., & Bustamante, M. M. C. (2021). Long-term liming promotes drastic changes in microbial assemblage structure in a tropical savanna soil. *Biology and Fertility of Soils*, 57.
- Silvério, M. R. S., Espindola, L. S., Lopes, N. P., & Vieira, P. C. (2020). Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*: The main vector of important arboviruses. *Molecules*, 25(15). <https://doi.org/10.3390/molecules25153484>
- Singh, P., Santoni, S., This, P., & Jean-pierre, P. (2018). Genotype-Environment Interaction Shapes the Microbial Assemblage in Grapevine's Phyllosphere and Carposphere: An NGS Approach. *Microorganisms*, 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6040096>
- Sinsabaugh, R. L., Lauber, C. L., Weintraub, M. N., Ahmed, B., Allison, S. D., Crenshaw, C., Contosta, A. R., Cusack, D., Frey, S., Gallo, M. E., Gartner, T. B., Hobbie, S. E., Holland,

- K., Keeler, B. L., Powers, J. S., Stursova, M., Takacs-Vesbach, C., Waldrop, M. P., Wallenstein, M. D., ... Zeglin, L. H. (2008). Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, *11*, 1252–1264. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01245.x>
- Skorić, M., Ćirić, A., Budimir, S., Janošević, D., Anđelković, B., Todosijević, M., Todorović, S., Soković, M., Glamočlija, J., Tešević, V., Gašić, U., Mišić, D., & Kanellis, A. K. (2022). Bioactivity-guided identification and isolation of a major antimicrobial compound in *Cistus creticus* subsp. *creticus* leaves and resin “ladano”. *Industrial Crops and Products*, *184*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114992>
- Slippers, B., & Wingfield, M. J. (2007). Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. In *Fungal Biology Reviews* (Vol. 21). <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.06.002>
- Sohrabi, R., Paasch, B. C., Liber, J. A., & Yang He, S. (2023). Annual Review of Plant Biology Phyllosphere Microbiome. *Annual Review of Plant Biology*, *74*. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102820>
- Souza, E. S. do C. (2011). *Alguns fungos presentes em plantas nativas e exóticas do Cerrado*. Universidade de Brasília.
- Sova, M. (2012). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Cinnamic Acid Derivatives. *Reviews in Medicinal Chemistry*, *12*.
- Sparks, T. C., Hahn, D. R., & Garizi, N. V. (2017). Natural products, their derivatives, mimics and synthetic equivalents: role in agrochemical discovery. *Pest Management Science*, *73*(4). <https://doi.org/10.1002/ps.4458>
- Stefanelli, D., Goodwin, I., & Jones, R. (2010). Minimal nitrogen and water use in horticulture: Effects on quality and content of selected nutrients. *Food Research International*, *43*(7). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.022>
- Stevenson, P. C., Nicolson, S. W., & Wright, G. A. (2017). Plant secondary metabolites in nectar: impacts on pollinators and ecological functions. *Functional Ecology*, *31*(1), 65–75. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12761>
- Stewart, A. J., Chapman, W., Jenkins, G. I., Graham, I., Martin, T., & Crozier, A. (2001). The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues. *Plant, Cell and Environment*, *24*(11). <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00768.x>
- Strack, D., Fester, T., Hause, B., Schliemann, W., & Walter, M. H. (2003). Arbuscular Mycorrhiza: Biological, Chemical, and Molecular Aspects. *Journal of Chemical Ecology*, *29*.

- Strobel, G., Singh, S. K., Riyaz-Ul-Hassan, S., Mitchell, A. M., Geary, B., & Sears, J. (2011). An endophytic/pathogenic *Phoma* sp. from creosote bush producing biologically active volatile compounds having fuel potential. *FEMS Microbiology Letters*, *320*(2). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02297.x>
- Su, Y., Sun, J., Rao, S., Cai, Y., & Yang, Y. (2011). Photodynamic antimicrobial activity of hypocrellin A. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *103*(1). <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2011.01.008>
- Suzart, L. R., De Carvalho, M. G., Cavatti, L. C., & Kaplan, M. A. C. (2012). Chemical constituents from the inflorescences of *Ouratea hexasperma*. *Chemistry of Natural Compounds*, *48*. <https://doi.org/10.1007/s10600-012-0278-1>
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. max, & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal* (Artemed, Ed.; 6th ed.).
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. In *Food Control* (Vol. 21, Issue 9, pp. 1199–1218). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003>
- Takaku, H., Kodaira, S., Kimoto, A., Nashimoto, M., & Takagi, M. (2006). Microbial communities in the garbage composting with rice hull as an amendment revealed by culture-dependent and -independent approaches. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *101*(1), 42–50. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.42>
- Takala, R., Ramji, D. P., Andrews, R., Zhou, Y., Farhat, M., Elmajee, M., Rundle, S., & Choy, E. (2022). Pinolenic acid exhibits anti-inflammatory and anti-atherogenic effects in peripheral blood-derived monocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12763-8>
- Tang, L., Shang, J., Song, C., Yang, R., Shang, X., Mao, W., Bao, D., & Tan, Q. (2020). Untargeted Metabolite Profiling of Antimicrobial Compounds in the Brown Film of *Lentinula edodes* Mycelium via LC-MS/MS Analysis. *ACS Omega*, *5*(13). <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00398>
- Tang, S., Ma, Q., Zhou, J., Pan, W., Chadwick, D. R., Gregory, A. S., Wu, L., & Jones, D. L. (2023). Use of untargeted metabolomics to analyse changes in extractable soil organic matter in response to long-term fertilisation. *Biology and Fertility of Soils*, *59*(3). <https://doi.org/10.1007/s00374-023-01706-8>
- Tapia-Torres, Y., Rodríguez-Torres, M. D., Elser, J. J., Islas, A., Souza, V., García-Oliva, F., & Olmedo-Álvarez, G. (2016). How To Live with Phosphorus Scarcity in Soil and Sediment:

Lessons from Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 82, 4652–4662. <https://doi.org/10.1128/aem.00160-16>

Thapa, S., & Prasanna, R. (2018). Prospecting the characteristics and significance of the phyllosphere microbiome. *Annals of Microbiology*, 68(5). <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1331-5>

Thind, T. S. (2022). New insights into fungicide resistance: a growing challenge in crop protection. In *Indian Phytopathology* (Vol. 75, Issue 4, pp. 927–939). Springer. <https://doi.org/10.1007/s42360-022-00550-4>

Tholl, D. (2015). Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. In *Biotechnology of isoprenoids* (pp. 63–103). Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/10>

Tijs, B., van der Kloet, F., & Galland, M. (2020). 'Microbiome-lesson.' Version 2020.04. <https://github.com/ScienceParkStudyGroup/Microbiome-Lesson>.

Togni, P. H. B., Venzon, M., Lagôa, A. C. G., & Sujii, E. R. (2019). Brazilian legislation leaning towards fast registration of biological control agents to benefit organic agriculture. *Neotropical entomology*, 48. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00675-8>

Torres-Benítez, A., Rivera-Montalvo, M., Sepúlveda, B., Castro, O. N., Nagles, E., Simirgiotis, M. J., Garcíá-Beltrán, O., & Areche, C. (2017). Metabolomic Analysis of Two Parmotrema Lichens: *P. robustum* (Degel.) Hale and *P. andinum* (Mull. rg.) Hale Using UHPLC-ESI-OT-MS-MS. *Molecules*, 22(11). <https://doi.org/10.3390/molecules22111861>

Tripathi, P., & Dubey, N. K. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 32(3). <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.11.005>

Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 18, Issue 11, pp. 607–621). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>

Vacher, C., Hampe, A., Porté, A. J., Sauer, U., Compant, S., & Morris, C. E. (2016). The Phyllosphere: Microbial Jungle at the Plant-Climate Interface. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-121415-032238>

Valli, M., Russo, H. M., & Bolzani, V. da S. (2018). The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 90. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170653>

- van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M. A., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytologist*, *205*, 1406–1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. In *Microorganisms* (Vol. 9, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>
- Vaz, A. B. M., Brandão, L. R., Vieira, M. L. A., Pimenta, R. S., Morais, P. B., Sobral, M. E. G., Rosa, L. H., & Rosa, C. A. (2012). Diversity and antimicrobial activity of fungal endophyte communities associated with plants of Brazilian savanna ecosystems. *African Journal of Microbiology Research*, *6*. <https://doi.org/10.5897/ajmr11.1359>
- Veresoglou, S. D., Barto, E. K., Menexes, G., & Rillig, M. C. (2013). Fertilization affects severity of disease caused by fungal plant pathogens. *Plant Pathology*, *62*(5). <https://doi.org/10.1111/ppa.12014>
- Verma, N., & Shukla, S. (2015). Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *2*, 105–113. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.09.002>
- Verstraeten, S. V., Hammerstone, J. F., Keen, C. L., Fraga, C. G., & Oteiza, P. I. (2005). Antioxidant and membrane effects of procyanidin dimers and trimers isolated from peanut and cocoa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(12). <https://doi.org/10.1021/jf058018m>
- Vieira, S. I. R., Groenewald, J. Z., Nakashima, C., Braun, U., Barreto, R. W., de Wit, P. J. G. M., & Crous, P. W. (2017). Mycosphaerellaceae – Chaos or clarity? *Studies in Mycology*, *87*, 257–421. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.09.003>
- Vieira, M. L. A., Johann, S., Hughes, F. M., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2014). The diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi associated with medicinal plant *Baccharis trimera* (Asteraceae) from the Brazilian savannah. *Canadian Journal of Microbiology*, *60*(12), 847–856. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0449>
- Vitousek, P. M., Porder, S., Houlton, B. Z., Oliver, A., Vitousek, P. M., Porder, S., Houlton, B. Z., & Chadwick, O. A. (2010). Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen — phosphorus interactions. *Ecological Applications*, *20*(1), 5–15.
- Vorholt, J. A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology*, *10*. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2910>

- Voriskova, J., & Baldrian, P. (2013). Fungal community on decomposing leaf litter undergoes rapid successional changes. *ISME Journal*, 7(3), 477–486. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.116>
- Wagg, C., Bender, S. F., Widmer, F., & Van Der Heijden, M. G. A. (2014). Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320054111>
- Walterson, A. M., & Stavrinos, J. (2015). *Pantoea*: Insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 39, Issue 6). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv027>
- Wang, J., Liao, L., Wang, G., Liu, H., Wu, Y., Liu, G., & Zhang, C. (2022). N-induced root exudates mediate the rhizosphere fungal assembly and affect species coexistence. *The Science of the Total Environment*, 804, 150148. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150148>
- Wang, M., Carver, J. J., Phelan, V. V., Sanchez, L. M., Garg, N., Peng, Y., Nguyen, D. D., Watrous, J., Kapon, C. A., Luzzatto-Knaan, T., Porto, C., Bouslimani, A., Melnik, A. V., Meehan, M. J., Liu, W. T., Crüsemann, M., Boudreau, P. D., Esquenazi, E., Sandoval-Calderón, M., ... Bandeira, N. (2016). Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. In *Nature Biotechnology* (Vol. 34, Issue 8). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nbt.3597>
- Wang, Q., Wei, H. C., Zhou, S. J., Li, Y., Zheng, T. T., Zhou, C. Z., & Wan, X. H. (2022). Hyperoside: A review on its sources, biological activities, and molecular mechanisms. *Phytotherapy Research*, 36(7). <https://doi.org/10.1002/ptr.7478>
- Wang, S. Y., Tseng, C. P., Tsai, K. C., Lin, C. F., Wen, C. Y., Tsay, H. S., Sakamoto, N., Tseng, C. H., & Cheng, J. C. (2009). Bioactivity-guided screening identifies pheophytin a as a potent anti-hepatitis C virus compound from *Lonicera hypoglauca* Miq. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 385(2). <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.05.043>
- Wenzel, E., & Somoza, V. (2005). Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49(5). <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500010>
- Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D., & Bending, G. D. (2008). Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology*, 105(6), 1744–1755. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03906.x>

- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*.
- Wibowo, J. T., Kellermann, M. Y., Versluis, D., Putra, M. Y., Murniasih, T., Mohr, K. I., Wink, J., Engelmann, M., Praditya, D. F., Steinmann, E., & Schupp, P. J. (2019). Biotechnological potential of bacteria isolated from the sea cucumber holothuria leucospilota and stichopus vastus from lampung, Indonesia. *Marine Drugs*, *17*(11). <https://doi.org/10.3390/md17110635>
- Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Lumbsch, H. T., Liu, J. K., Maharachchikumbura, S. S. N., Ekanayaka, A. H., Tian, Q., & Phookamsak, R. (2018). Outline of Ascomycota: 2017. *Fungal Diversity*, *88*(1). <https://doi.org/10.1007/s13225-018-0394-8>
- Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornellissen, J. H. C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P. K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B. B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., ... Villar, R. (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, *428*. <https://doi.org/10.1038/nature02403>
- Wu, Y., & Li, L. (2016). Sample normalization methods in quantitative metabolomics. *Journal of Chromatography A*, *1430*. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.12.007>
- Xia, J., & Wishart, D. S. (2016). Using MetaboAnalyst 3.0 for Comprehensive Metabolomics Data Analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, *55*, 14.10.1-14.10.91. <https://doi.org/10.1002/cpbi.11>
- Xian, F., Hendrickson, C. L., & Marshall, A. G. (2012). High resolution mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, *84*(2). <https://doi.org/10.1021/ac203191t>
- Xiang, Q., Chen, Q. L., Zhu, D., Yang, X. R., Qiao, M., Hu, H. W., & Zhu, Y. G. (2020). Microbial functional traits in phyllosphere are more sensitive to anthropogenic disturbance than in soil. *Environmental Pollution*, *265*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114954>
- Xu, H., Zhu, M., Li, S., Ruan, W., & Xie, C. (2020). Epiphytic fungi induced pathogen resistance of invasive plant *Ipomoea cairica* against *Colletotrichum gloeosporioides*. *PeerJ*, *8*, e8889. <https://doi.org/10.7717/peerj.8889>
- Xu, N., Zhao, Q., Zhang, Z., Zhang, Q., Wang, Y., Qin, G., Ke, M., Qiu, D., Peijnenburg, W. J. G. M., Lu, T., & Qian, H. (2022). Phyllosphere Microorganisms: Sources, Drivers, and Their Interactions with Plant Hosts. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 70, Issue 16, pp. 4860–4870). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c01113>

- Xu, X., Thornton, P. E., & Post, W. M. (2013). A global analysis of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, 22(6), 737–749. <https://doi.org/10.1111/geb.12029>
- Yadav, A. N., Sharma, D., Gulati, S., Singh, S., Dey, R., Pal, K. K., Kaushik, R., & Saxena, A. K. (2015). Haloarchaea Endowed with Phosphorus Solubilization Attribute Implicated in Phosphorus Cycle. *Scientific Reports*, 5, 12293. <https://doi.org/10.1038/srep12293>
- Yadav, R. K. P., Karamanoli, K., & Vokou, D. (2005). Bacterial colonization of the phyllosphere of mediterranean perennial species as influenced by leaf structural and chemical features. *Microbial Ecology*, 50(2). <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0171-y>
- Yakhlef, W., Arhab, R., Romero, C., Brenes, M., de Castro, A., & Medina, E. (2018). Phenolic composition and antimicrobial activity of Algerian olive products and by-products. *Food Science and Technology*, 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.044>
- Yang, C.-H., Crowley, D. E., Borneman, J., & Keen, N. T. (2001). Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. *PNAS*, 98(7). <https://doi.org/10.1073/pnas.051633898>
- Yang, D. shuang, Zhang, J., Li, M. xia, & Shi, L. xuan. (2017). Metabolomics Analysis Reveals the Salt-Tolerant Mechanism in Glycine soja. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(2). <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9654-6>
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Yang, R. H., Su, J. H., Shang, J. J., Wu, Y. Y., Li, Y., Bao, D. P., & Yao, Y. J. (2018). Evaluation of the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS), specifically ITS1 and ITS2, for the analysis of fungal diversity by deep sequencing. *PLoS ONE*, 13(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206428>
- Yao, H., Sun, X., He, C., Maitra, P., Li, X., & Guo, L. (2019). Phyllosphere epiphytic and endophytic fungal community and network structures differ in a tropical mangrove ecosystem. *Microbiome*, 7.
- Yoon, M. Y., Cha, B., & Kim, J. C. (2013). Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture. *Plant Pathology Journal*, 29(1). <https://doi.org/10.5423/PPJ.RW.05.2012.0072>
- Yuan, J., Sun, N., Du, H., Yin, S., Kang, H., Umair, M., & Liu, C. (2020). Roles of metabolic regulation in developing *Quercus variabilis* acorns at contrasting geologically-derived phosphorus sites in subtropical China. *BMC Plant Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02605-y>

- Yun, P., Xu, L., Wang, S. S., Shabala, L., Shabala, S., & Zhang, W. Y. (2018). Piriformospora indica improves salinity stress tolerance in Zea mays L. plants by regulating Na⁺ and K⁺ loading in root and allocating K⁺ in shoot. *Plant Growth Regulation*, 86(2). <https://doi.org/10.1007/s10725-018-0431-3>
- Yusof, H., Din, L. B., & Yaacob, W. A. (2014). Benzofuran glycosides from Styra benzoin. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 18(3), 676–682.
- Zambriano, S. M. V. (2016). *Taxonomia de fungos associados a plantas do Cerrado do Distrito Federal e Mato Grosso*. Universidade de Brasília.
- Zanne, A. E., Abarenkov, K., Afkhami, M. E., Aguilar-Trigueros, C. A., Bates, S., Bhatnagar, J. M., Busby, P. E., Christian, N., Cornwell, W. K., Crowther, T. W., Flores-Moreno, H., Floudas, D., Gazis, R., Hibbett, D., Kennedy, P., Lindner, D. L., Maynard, D. S., Milo, A. M., Nilsson, R. H., ... Treseder, K. K. (2020). Fungal functional ecology: bringing a trait-based approach to plant-associated fungi. *Biological Reviews*, 95(2). <https://doi.org/10.1111/brv.12570>
- Zhang, B., He, X. L., Ding, Y., & Du, G. H. (2006). Gaultherin, a natural salicylate derivative from Gaultheria yunnanensis: Towards a better non-steroidal anti-inflammatory drug. *European Journal of Pharmacology*, 530(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.11.030>
- Zhang, H., Li, W., Adams, H. D., Wang, A., Wu, J., Jin, C., Guan, D., & Yuan, F. (2018). Responses of woody plant functional traits to nitrogen addition: A meta-analysis of leaf economics, gas exchange, and hydraulic traits. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00683>
- Zhang, Y., Cao, B., Pan, Y., Tao, S., & Zhang, N. (2023). Metabolite-Mediated Responses of Phyllosphere Microbiota to Rust Infection in Two Malus Species. *Microbiology Spectrum*, 11(2). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03831-22>
- Zhan, P., Liu, Y., Wang, H., Wang, C., Xia, M., Wang, N., Cui, W., Xiao, D., & Wang, H. (2021). Plant litter decomposition in wetlands is closely associated with phyllospheric fungi as revealed by microbial community dynamics and co-occurrence network. *Science of the Total Environment*, 753. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142194>
- Zhao, B., He, D., & Wang, L. (2021). Advances in Fusarium drug resistance research. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.12.016>
- Zhao, C.-H., Xu, J., Zhang, Y.-Q., Zhao, L.-X., & Feng, B. (2014). Inhibition of Human Enterovirus 71 Replication by Pentacyclic Triterpenes and Their Novel Synthetic Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.*, 62(8).

- Zhao, G., Wu, K., An, T., Wen, L., Zi, S., Fan, Z., Zhou, F., Ouyang, C., Yang, Y., Wu, B., & Fullen, M. A. (2023b). Integrated analysis of changes in soil microbiota and metabolites following long-term fertilization in a subtropical maize-wheat agroecosystem. *Pedosphere*, 33(3). <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.06.055>
- Zhao, Y., Liu, G., Yang, F., Liang, Y., Gao, Q., Xiang, C., ... & Yang, S. (2023). Multilayered regulation of secondary metabolism in medicinal plants. *Molecular Horticulture*, 3(1).
- Zhao, Z., Liu, W., & Pi, X. (2021). In Vitro Effects of Stachyose on the Human Gut Microbiota. *Starch-Stärke*, 73(7–8). <https://doi.org/10.1002/star.202100029>
- Zhu, H., Li, S., Hu, Z., & Liu, G. (2018). Molecular characterization of eukaryotic algal communities in the tropical phyllosphere based on real-time sequencing of the 18S rDNA gene. *BMC Plant Biology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1588-7>
- Zhu, H. Y., Tian, C. M., & Fan, X. L. (2018). Studies of Botryosphaeriales fungi associated with canker and dieback of tree hosts in dongling mountain of China. *Phytotaxa*, 348(2). <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.348.2.1>
- Zhu, K., Zhu, W., Zhang, W., Liu, J., & Ding, C. (2023). Characteristics of Phyllosphere Microbial Communities Associated with Three Different Plants in the Semi-arid Areas of Northwest Liaoning. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(2). <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01162-1>
- Zhu, Y. G., Xiong, C., Wei, Z., Chen, Q. L., Ma, B., Zhou, S. Y. D., Tan, J., Zhang, L. M., Cui, H. L., & Duan, G. L. (2022). Impacts of global change on the phyllosphere microbiome. In *New Phytologist* (Vol. 234, Issue 6, pp. 1977–1986). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/nph.17928>
- Zuo, Z., Cao, L., Nothia, L. F., & Mohimani, H. (2021). MS2Planner: Improved fragmentation spectra coverage in untargeted mass spectrometry by iterative optimized data acquisition. *Bioinformatics*, 37(Supplement_1). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab279>