



UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL E SUDESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
FACULDADE DE QUÍMICA

BRUNA FERREIRA DE SOUSA

**EXTRATOS FÚNGICOS COMO FERRAMENTA ALTERNATIVA AO USO DE
AGROTÓXICOS**

MARABÁ

2023

BRUNA FERREIRA DE SOUSA

**EXTRATOS FÚNGICOS COMO FERRAMENTA ALTERNATIVA AO USO DE
AGROTÓXICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química – Instituto de ciências exatas da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciatura plena em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Marilene Nunes Oliveira.

MARABÁ

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Biblioteca Setorial II da UNIFESSPA

S725e Sousa, Bruna Ferreira de
 Extratos fúngicos como ferramenta alternativa ao uso de
 agrotóxicos / Bruna Ferreira de Sousa. — 2023.
 39 f.: il. (algumas color).
 Orientador (a): Marilene Nunes Oliveira.
 Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal do Sul e Sudeste do Pará, Instituto de Ciências Exatas,
Faculdade de Química, Curso de Licenciatura Plena em Química,
Marabá, 2023.

1. Fungos. 2. Fungos - Cultura e meios de cultura. 3.
Bioherbicida. 4. Biodiversidade. I. Oliveira, Marilene Nunes
Oliveira, orient. II. Título.

CDD: 22. ed.: 579.5

BRUNA FERREIRA DE SOUSA

**EXTRATOS FÚNGICOS COMO FERRAMENTA ALTERNATIVA AO USO DE
AGROTÓXICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química – Instituto de ciências exatas da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciatura plena em Química.

Data de aprovação: 31 de março de 2023

Conceito: Excelente.

Banca examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Marilene Nunes Oliveira
Orientadora - FAQUIM/UNIFESSPA

Prof^ª. Dr^ª. Simone Yasue Simote Silva
FAQUIM/UNIFESSPA

Prof. Dr. Sebastião da Cruz Silva
FAQUIM/UNIFESSPA

AGRADECIMENTOS

A Deus por me abençoar com saúde e sabedoria para percorrer todo o caminho até aqui.

A Nossa Senhora de Aparecida e seu filho Jesus Cristo, que dá sentido à caminhada, até aqui me sustentou, nos dias de luta me amparou e com seu amor sagrado, quando precisei me ajudou.

A minha querida e amada mãe Maria Antonia, pelo apoio emocional e pelo cuidado nos meus dias difíceis enquanto graduanda, pelo incentivo e pela empatia em todos os momentos.

Ao meu pai Weliton, por ser exemplo de honestidade, e por fazer o que pôde pra me ajudar.

Aos Meus irmãos: Bruno, Werlison, Eduarda e Wevele, que além de apoio, tornaram meus tensos dias de graduação, em partes, agradáveis e graciosos. Especialmente a Eduarda que sempre me fez companhia, nunca deixou com que me sentisse sozinha, e por todas as vezes que procurei apoio foi além de irmã, uma amiga.

Ao meu namorado Enderson, pelo afeto, carinho e admiração. Aos amigos, que encontrei no caminho da vida, Israel, Rodrigo, Olicio, Hangison, Gabriela, Elisângela, obrigada pela amizade, auxílio e encorajamento.

Aos amigos que criei laços na faculdade, Maria Vitória, Paulo, Brena, Deise, Fernanda (pela enorme ajuda na pesquisa, disponibilidade e compreensão para comigo), Wendel, Elivelton, Rafael, as garotas da química, Alciene, Mayara e Shirlene, obrigada pelo incentivo, pelo apoio e pelas inúmeras conversas e risadas durante esta trajetória. Admiro vocês. Quero poder estar sempre perto de cada um.

Às pessoas que direta e indiretamente me ajudaram, Zeca e Valter, aos queridos Jhemison e dona Edna, que foram o máximo nessa reta final, e que sem perceber foram de grande importância na execução deste trabalho.

A minha maravilhosa orientadora Profª. Dra. Marilene, pela orientação, os puxões de orelha, a amizade, pelas incontáveis conversas e ensinamentos. Além de professora, uma amiga, verdadeiramente tive uma grande educadora que pude contar neste período que contribuiu muito para minha formação. Obrigada pela oportunidade de participar desse grupo querido que é o dos fungos endofíticos.

Aos meus queridos professores e ao ICE, pelos ensinamentos e aprendizados, pela atenção e tempo. Agradeço em especial os educadores, Prof. Dr. Sebastião e Prof. Dr. Geiso

Rafael, que foram exemplo de honestidade, e que acima de qualquer circunstância foram humanos e totalmente dedicados em incentivar e nos tornar melhores do que somos, serei eternamente grata.

Aos membros da banca examinadora, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar desta etapa final deste trabalho.

À Universidade Federal do Sul e Sudeste, por ser um lugar de excelência para estudar, trocar valores e ideias, desenvolver-se profissionalmente e abrir portas para a minha almejada graduação.

A todos aqueles que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para a realização deste sonho.

Meu muitíssimo obrigada!

RESUMO

Com o elevado crescimento populacional em meio ao desenvolvimento tecnológico, também tem sido crescente uma série de demandas para que essa evolução ocorra de forma sustentável. Entre essas, é possível destacar a busca por novas substâncias passíveis de aplicação nos mais variados setores, como farmacêutico, agroquímico, indústria de alimentos entre outros. Nesse cenário os recursos naturais microbianos têm se apresentado como alternativa promissora. Na perspectiva de contribuir com as demandas de uma sociedade moderna, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial bioherbicida de extratos orgânicos obtidos a partir de processos de fermentação utilizando fungos. Para a produção dos extratos, os fungos *Daldinia schscholtzii* (FB2C2) e *Lasiodiplodia pontae* (L18) foram cultivados em meio sólido (arroz) por um período de 30 dias. Pós cultivo, os extratos foram obtidos utilizando metanol. Após concentração em evaporador rotativo sob vácuo, os extratos metanólicos foram submetidos aos testes bioherbicidas para avaliar o potencial de inibir a germinação de sementes de capimannoni, bem como o desenvolvimento de plântulas. Os extratos foram testados nas concentrações de 0,125; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 g L⁻¹. O extrato metanólico obtido a partir de *D. Schscholtzii* mostrou-se promissor quanto a inibição do capimannoni, uma vez que inibiu em 100% a germinação das sementes na menor concentração testada. O extrato metanólico de *L. pontae* mostrou percentuais de inibição crescentes em função do aumento da concentração alcançando 90% de inibição na maior concentração testada (1 % m/v). A partir das análises de RMN ¹H dos extratos foi possível caracterizar um perfil químico típico de substâncias polihidroxiladas como acontece nos açúcares. Apesar de preliminares, os resultados são promissores e motivam a realização de estudos adicionais.

Palavras-chave: Biodiversidade. Fungos. Bioherbicida.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Produção do taxol (1) pela espécie hospedeira <i>Taxus brevifolia</i> (1a) e <i>Taxomices andrenae</i> (1b), endofítico associado.....	19
Figura 2 - Produção de podofilotoxina (2) pela espécie <i>Trametes hirsuta</i> (2a), endofítico associado à espécie <i>Podophillum hexandrum</i> (2b).....	20
Figura 3 - Distribuição das sementes de capimannoni em caixa gerbox.....	25
Figura 4 - Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) do extrato metanólico de <i>L. pontae</i> (L18).....	30
Figura 5 - Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) do extrato metanólico de <i>D. eschscholtzii</i> (FB2C2).....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Germinação acumulada (GA), sementes mortas (MO), índice de velocidade de germinação (IVG) e Tempo médio de germinação (TMG) de sementes de capim annoni expostas a diferentes concentrações (%) do extrato metanólico do isolado L18.....28

Tabela 2 - Altura, perfilhamento e biomassa de plântulas de capim annoni submetidas a diferentes concentrações (%) do extrato metanólico do isolado L18.....28

LISTA DE ABREVIATURAS

PN	Produto Natural
BDA	Batata, Dextrose, Ágar
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
GA	Germinação Acumulada
MO	Sementes Mortas
TMG	Tempo Médio de Germinação
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
DMSO	Dimetilsulfóxido Deuterado
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
FAQUIM	Faculdade de Química
UNIFESSPA	Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

%	Porcentagem
mL	Mililitro
°C	Grau Celsius
mm	Milímetro
m/v	Massa/Volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivo geral.....	14
2.2	Objetivos específicos.....	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	Fungos.....	15
3.1.1	Fungos endofíticos.....	16
3.2	Plantas invasoras e o Capimannoni.....	20
3.3	Os impactos causados pelo uso crescente de agrotóxicos.....	21
4	PARTE EXPERIMENTAL.....	24
4.1	Seleção dos microrganismos.....	24
4.2	Produção de extratos orgânicos.....	24
4.3	Teste herbicida.....	24
4.4	Análise preliminar do perfil químico dos extratos.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1	Avaliação dos testes bioherbicida.....	27
5.2	Perfil químico preliminar dos extratos orgânicos.....	29
6	CONCLUSÃO.....	31
	REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

A procura de novos compostos com inúmeras aplicações é um processo que requer aperfeiçoamento contínuo e nesse cenário os produtos naturais representam uma alternativa para a descoberta de novas substâncias com propriedades biológicas úteis (SIMÕES et al., 2017).

O termo "produtos naturais" é utilizado para definir metabólitos secundários produzidos por um organismo, que na maioria dos casos funcionam como mecanismos de defesa contra herbívoros, micro-organismos, insetos e plantas concorrentes. Uma variedade de produtos naturais, principalmente a partir de fontes vegetais, tem sido usado por milhares de anos por uma fração significativa da população, sendo aplicados em vários setores como na área da saúde, cosmético, agroindústria entres outros (CHAPLA, 2014).

De acordo com a literatura, cerca de 50% dos fármacos de uso clínico colocado no mercado nos últimos 30 anos são de origem natural ou foram desenvolvidos por síntese química planejada a partir de um produto natural. Para o tratamento do câncer e de doenças infecciosas, uma vez que mais de 60% dos fármacos provêm de produtos naturais ou análogos sintéticos, o que evidencia o sucesso da química de produtos naturais (NEWMAN, 2007; CRAGG, 2016).

A habilidade da natureza em biossintetizar um conjunto excepcional de entidades químicas torna a química de produtos naturais um constante reservatório para a descoberta de novos compostos, com potencial de exploração sem paralelos (HALABALAKI et al., 2014). Desde o final do século XIX até os dias atuais, gerações de pesquisadores aplicam esforços voltados à investigação de milhares de moléculas produzidas por organismos vivos, encorajando a sociedade ao uso de vários PN em diferentes frentes de aplicação (FIRN e JONES 2003). Dentro desse contexto os micro-organismos vêm representando uma prolífica fonte de novos compostos bioativos, em especial os fungos que são reconhecidos como fontes de novas substâncias com aplicações em vários setores industriais (CHAVES NETO et al., 2021). Este fato tem cada vez mais motivado a pesquisa da química de micro-organismos.

Entre as diversas classes de fungos, os endofíticos que vivem assintomaticamente no interior de tecidos vegetais, têm se mostrado uma fonte promissora de substâncias biologicamente úteis (EL-HAWARY et al., 2020), sendo alvo de pesquisa em países do mundo inteiro para possíveis aplicações em vários setores da sociedade, incluindo o agropecuário (CHAVES NETO et al., 2021).

A demanda crescente por alimento em função do desenvolvimento populacional levou o setor agropecuário a usar de estratégias para produzir cada vez mais e em menor espaço de tempo. Nesse cenário, uma preocupação recorrente se estabeleceu em função do uso indiscriminado dos agrotóxicos.

Costumeiramente, os agrotóxicos são conhecidos pela sua função de combate e prevenção a pragas agrícolas que de imediato trazem grandes benefícios ao universo que se conhece como agroindústria (HINZ et al., 2020). Muitas pesquisas apontam para prejuízos ao ambiente e a saúde humana ocasionados por ação dessas substâncias, ditando cada vez mais a necessidade do uso de bioinsumos no setor agropecuário, a título de exemplo, o uso de bioherbicidas no lugar dos herbicidas sintéticos (KERGUNTEUIL et al., 2016; COMONT et al., 2020).

Nesse contexto, o presente trabalho tem como estratégia à busca por bioherbicidas a partir da exploração do metabolismo secundário de fungos endofíticos associados ao babaçu.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Geral

O presente trabalho tem como objetivo à busca de um bioerbicida a partir da exploração de extratos fúngicos.

2.2 Objetivos Específicos

Para realização do presente trabalho foi necessário:

- a) A produção de extratos orgânicos a partir de fungos previamente selecionados;
- b) Realização dos testes bioerbicida visando à inibição do desenvolvimento de capim annoni;
- c) Análise preliminar do perfil químico dos extratos.

3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 Fungos

O reino fungi compreende um grupo grande, diverso e amplamente disseminado de organismos, consistindo de bolores, cogumelos e leveduras. Cerca 100.000 espécies de fungos foram descritas, estimando-se a possibilidade de existirem até 1,5 milhões de espécies. Os fungos formam um grupo filogeneticamente distinto de outros organismos, são quimiorganotróficos, geralmente apresentando exigências nutricionais simples, sendo a maioria aeróbia (MADIGAN et al., 2010).

Em geral, os fungos podem se apresentar na forma de duas unidades morfológicas básicas: a leveduriforme e a hifa. Têm características heterotróficas, isto é, não possuem clorofila e portanto, necessitam de material orgânico para sobreviver, sendo a sua nutrição feita por absorção de nutrientes graças à presença de enzimas que são produzidas por eles e degradam produtos como, celulose e amido (MADIGAN et al, 2016).

Representam um conjunto de organismos eucarióticos e são considerados como um grupo particularmente versátil. A capacidade de absorver e crescer em muitos substratos e de convertê-los em metabólitos secundários importantes tem colocado esse grupo de micro-organismo em evidência. Essa capacidade metabólica versátil, tem atraído o interesse para os fungos em vista da sua aplicação potencial na química de produtos naturais (MORETTI; SARROCO, 2016).

Desempenham um importante papel no ecossistema, já que são decompositores naturais da matéria orgânica não viva. Espécies fúngicas podem provocar doenças em animais, no homem ou, ainda, podem atuar como fitopatógenos, provocando graves doenças em espécies vegetais de importância econômica, levando à grandes perdas na produção agrícola. Como possuem diferentes modos de vida, também podem ser encontrados em associação com espécies vegetais sem provocar danos, convivendo de forma simbiótica e trazendo benefícios para o hospedeiro, como, por exemplo, os fungos micorrízicos e os fungos endofíticos (ABREU et al., 2015; AMATUZZI et al., 2018).

Os fungos endofíticos têm sido bastante utilizados como produtores de diferentes substâncias de interesse econômico, tais como enzimas, fármacos, bioherbicidas, etc. (SILVA et al., 2022).

3.1.1 Fungos endofíticos

Os fungos endofíticos são identificados como dois grupos: os endófitos da família *Clavicipitaceae* (C- endófitos) que colonizam gramíneas e os não-*Clavicipitaceae* (NC-endófitos) que colonizam assintomaticamente os tecidos de plantas não vasculares, samambaias, coníferas e angiospermas. Essa classificação baseia-se nas diferenças de parentesco evolutivo e taxonomia dos fungos, na gama de hospedeiros que contaminam e nas funções ecológicas dos fungos. Esses dois grupos são divididos em classes, os C-endófitos indicam apenas uma classe, enquanto os NC- endófitos indicam três. Cada classe caracteriza-se pelos seguintes parâmetros: gama de hospedeiro, tecidos colonizados, limitada ou extensa colonização da planta, alta ou baixa biodiversidade vegetal, tipo de transmissão e os benefícios (RODRIGUES et al., 2011).

Os C-endófitos compreendem espécies de vida livre e organismos associados a insetos, fungos, gramíneas, juncos e ciperáceas. Esse grupo é derivado da ordem *Hypocreales* a qual é composta por linhagens de patógenos e endofíticos. Esses micro-organismos apresentam transmissão vertical, ou seja, as plantas parentais distribuem os fungos para as plântulas via infecções de sementes (SAIKKONEN et al., 2002)

A maioria dos C-endófitos é responsável por aumentar a resistência dos hospedeiros perante a herbivoria de insetos (XIAO et al., 2014; WU et al., 2015; AMATUZZI et al., 2018). Além dessa função, esses microrganismos apresentam uma variedade de outras atividades. Entretanto demonstrou-se que alguns C-endófitos não apresentam esses benefícios em relação ao hospedeiro, sendo necessário analisar as plantas em condições naturais para avaliar os reais benefícios (FAETH et al., 2006). Outras vantagens relacionadas a esses micro-organismos referem-se à resistência às doenças, melhoria na ecofisiologia das plantas a fim de promover melhor adaptação a condições de estresse (WU et al., 2015).

O segundo grupo, os NC-endófitos apresentam alta diversidade, pode desenvolver-se nos tecidos encontrados tanto acima, quanto abaixo do solo, geralmente apresentando extensa colonização dos tecidos do hospedeiro. A maioria dos componentes dessa classe pertence ao filo *Ascomycota* e os demais componentes pertencem ao filo *Basidiomycota*. Uma das principais características dessa classe é a capacidade de conceder tolerância às condições de estresse específicas para as plantas (FERNANDES, 2015).

Os fungos endofíticos representam uma grande fonte de recursos genéticos e biológicos, com inúmeras aplicações biotecnológicas. Desse modo, atividades de coleta, isolamento, identificação, cultivo e ensaios químicos/biológicos são etapas cruciais no desenvolvimento de pesquisas em vários laboratórios e centros de pesquisas acadêmicas.

Segundo Oliveira (2021) o isolamento de um fungo endofítico envolve cuidados específicos, uma vez que estes se encontram no mesmo ambiente dos epifíticos e patógenos. A coleta do material deve ser feita, preferencialmente, nos tecidos saudáveis que não apresentam manchas ou herbivoria. Outros pontos importantes para a coleta são espécie da planta, os órgãos e partes selecionadas, condições ambientais e físicas do local e estação do ano (JIA et al., 2016).

Os fungos endofíticos desempenham um importante papel na agricultura, e vêm sendo cada vez mais utilizados como agentes de biocontrole de pragas e doenças e por influenciarem de forma positiva no crescimento vegetal pela produção de fitoreguladores (AFZAL et al., 2014). Segundo Afzal et al. (2014), os fungos endofíticos são capazes, ainda, de elevar a resistência das plantas à seca e auxiliar na fixação não simbiótica de nitrogênio atmosférico, tornando-os bons agentes alternativos e viáveis para uma produção agrícola mais sustentável. A indução de tolerância aos mais variados fatores como estresses abióticos, extremos de temperatura, deficiência nutricional e presença de metais tóxicos, também são algumas das vantagens da presença de endófitos em espécies vegetais (GROVER et al., 2011, DANTAS et al., 2021).

Santos e Silva (2014) demonstraram que os fungos endofíticos também podem ser utilizados como antagonistas no controle biológico de patógenos de plantas. Sabe-se que o controle químico é o método mais utilizado no meio agrícola e de forma intensiva, mas o seu uso está aliado a várias desvantagens que incluem resistência microbiana, contaminação ambiental, contaminação do produtor, um elevado custo de produção (SANTOS e SILVA, 2014), eliminação de inimigos naturais de diferentes pragas e danos na microbiota benéfica dos vegetais (ETHUR et al., 2007). Dessa maneira, o uso de micro-organismos que possam inibir o desenvolvimento de fitopatógenos ou que possam atuar como entomopatogênicos é uma alternativa viável que pode reduzir ou até eliminar a necessidade de utilização de químicos na agricultura (SOUSA; SOARES e GARRIDO, 2009).

Os estudos com fungos endofíticos de espécies vegetais de interesse agrônômico também devem levar em consideração as interações existentes entre os micro-organismos, suas

aplicações e seu deslocamento no hospedeiro, uma vez que já foi relatado na literatura que a atuação dos endofíticos não acontece de forma individual, mas a partir de relações com a microbiota nativa e com o metabolismo da planta em que está inserido (STROBEL, 2018). O desenvolvimento de pesquisas que envolvam esse tipo de interação e que trabalhe com a mistura de isolados endofíticos benéficos de forma a elevar a capacidade de controle de doenças e de promoção de crescimento, seria de grande relevância e viabilizaria a introdução desses micro-organismos nas práticas agronômicas (OLIVEIRA, MATTOS e RODRIGUES -FILHO, 2021).

O estudo químico de fungos endofíticos levou ao isolamento de uma grande diversidade de substâncias pertencentes a diversas classes de metabólitos secundários, incluindo, alcalóides, peptídeos, estereóides, terpenóides, compostos fenólicos, quinonas e flavonóides, portanto com potencial de aplicações biotecnológicas (OLIVEIRA et al., 2015, SILVA et al., 2022).

Além da variedade de metabólitos que os fungos endofíticos são capazes de produzir, outra vantagem do seu uso é a possibilidade de controlar os processos operacionais de maneira relativamente simples. Comparados às plantas, os fungos apresentam crescimento mais rápido em termos de tempo e espaço, além de possibilitar o direcionamento da produção de metabólitos de interesse através das condições de cultivo (pH, substrato, temperatura e aeração) (BUTLER; FONTAINE; COOPER, 2014; OLIVEIRA, MATTOS e RODRIGUES -FILHO, 2021)

Todos os vegetais superiores estudados até o momento apresentam microrganismos endofíticos, sendo possível o isolamento de um grande número de espécies a partir de um único hospedeiro. Entretanto, somente algumas, normalmente as espécies e/ou linhagens específicas do hospedeiro, estão presentes em quantidades significativas. As pesquisas desenvolvidas na área têm demonstrado que cada hospedeiro abriga um conjunto característico de endofíticos e que estes lhes são geralmente específicos (SAVI et al., 2019). A composição e frequência, entretanto, podem ser significativamente afetadas por fatores tais como: grau de umidade ambiental, distribuição geográfica (têm sido observadas diferenças bastante significativas na microbiota endofítica de espécies vegetais fora de seu habitat natural), posição relativa na planta (altura em relação ao solo), idade da planta, órgão da planta, entre outros (OLIVEIRA, MATTOS e RODRIGUES -FILHO, 2021).

Pode-se ainda inferir que plantas medicinais contenham micro-organismos que mimetizam a química da hospedeira e que sejam capazes de produzir o mesmo produto natural bioativo ou, até mesmo, derivados com maior bioatividade (OLIVEIRA et al., 2021). Esta

possibilidade permitiria a obtenção destes compostos por processos fermentativos, em contraposição aos processos extrativos tradicionais, com vantagens relacionadas à regularidade e uniformidade de produção e aos ganhos ambientais. Um exemplo importante é o taxol (Figura 1), produzido também por plantas, um potente antitumoral é encontrado em quantidades extremamente pequenas na casca interna de espécies de *Taxus*, árvore de crescimento lento de regiões da costa oeste dos Estados Unidos. Foram isolados, a partir dessas espécies vegetais, fungos endofíticos capazes de produzir o taxol, por exemplo, o *Taxosmyces andreanae* (Figura 1b) isolado de *Taxus brevifolia* (Figura 1a), abrindo a possibilidade de sua obtenção por via fermentativa, com custos mais baixos e maior disponibilidade (WANG et al., 2000; LI et al., 1998; SU et al., 2001). Posteriormente, foram descobertos outros fungos endofíticos, isolados de plantas que não *Taxus* sp., capazes de produzir o taxol, sugerindo que esta substância, que é um fungicida, teria a função proteger a planta hospedeira de patógenos (LI, SIDHU e STROBEL 1998; LI e STROBEL, 2001).

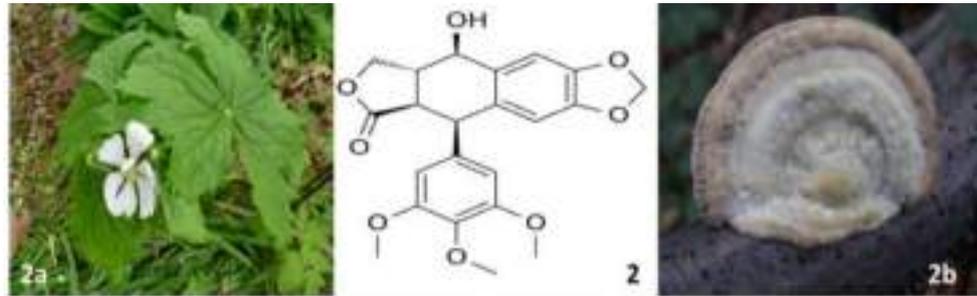
Outra substância bioativa extraída de plantas e que pode ser obtida por cultivo de fungo endofítico é a podofilotoxina (Figura 2a), sintetizada pelas espécies vegetais em extinção *Podophyllum* spp. e com aplicação como anticâncer, antiviral, antibacteriano, imunoestimulador e antireumático. Recentemente, foi reportado o isolamento do fungo *Trametes hirsuta* a partir de *Podophyllum hexandrum*, espécie que produz podofilotoxina e lignanas biologicamente ativas, com propriedades antioxidantes, anticâncer e radioprotetora (PURI et al., 2006). Outro exemplo de substâncias produzidas por fungos associados a plantas, são os alcalóides “ergot”, os quais tem analogia estrutural com aminas endógenas como a noradrenalina, dopamina e serotonina e quando usados em baixas doses tem efeito como vasoconstritor. Um exemplo é a ergotamina, produzida pelo fungo *Claviceps purpurea*, que atua como estimulador da contração uterina (BACON e HINTON, 1988).

Figura 1: Produção do taxol (1) pela espécie hospedeira *Taxus brevifolia* (1a) e *Taxomices andreanae* (1b), endofítico associado.



Fonte: [https://commons.m.wikimedia.org/wiki/File:Trametes_hirsuta_a1_\(1\).JPG](https://commons.m.wikimedia.org/wiki/File:Trametes_hirsuta_a1_(1).JPG).

Figura 2: Produção de podofilotoxina (2) pela espécie *Trametes hirsuta* (2a), endofítico associado à espécie *Podophillum hexandrum* (2b).



Fonte: <https://images.app.goo.gl/qQM8YTtq7E9rbhqM9>.

3.2 Plantas invasoras e o Capimannoni

A invasão de uma área natural por espécies vegetais é um dos maiores problemas ambientais atuais, esse problema decorre da introdução, espontânea ou intencional de plantas exóticas (FERNANDES e BARBOSA, 2013), representando uma das principais causas da perda de diversidade no mundo (FERREIRA e FILIPPI, 2010).

A rápida sobreposição de áreas ocupadas por espécies nativas é atribuída a certas características comuns das espécies invasoras, tais como a produção de sementes de pequeno tamanho em grande quantidade, dispersão por vento, maturação precoce, formação de banco de sementes com grande longevidade no solo, reprodução por sementes e por brotação, crescimento mais rápido que o de espécies nativas, longos períodos de floração e frutificação, pioneirismo e adaptação a áreas degradadas além da produção de toxinas biológicas que dificultam ou impedem o crescimento de plantas de outras espécies (alelopatia) e a ausência de inimigos naturais (MAGALHÃES e SILVA-FORSBERG, 2016).

Com essas características, o capimannoni (*Eragrostis plana* Nees) está entre as espécies exóticas invasoras de maior impacto no bioma Pampa. Esta espécie, originária do sudoeste da África, foi introduzida acidentalmente no Brasil na década de 1950, como contaminante de sementes de capim-de-rhodes (*Chloris gayana* Kunth) e capim-chorão (*Eragrostis curvula* Schrader) (MEDEIROS e FOCHT, 2007).

Embora, inicialmente acreditou-se no seu potencial como forrageira, longos estudos apontaram a deficiência em qualidade e palatabilidade (NASCIMENTO e HALL, 1978), não oferecendo suporte nutricional para ovelhas adultas e cordeiros (OTT e AMARAL, 2016), resultando em baixa produção animal. Estas informações levaram pesquisadores, extensionistas e produtores rurais a caracterizarem a espécie como de baixo valor forrageiro, com características de planta invasora, dominante e de difícil erradicação (SCHEFFER-BASSO et al., 2016). Assim, a portaria MA nº 205, de 13 de março de 1979

do Ministério da Agricultura, proibiu a comercialização, o transporte, a importação e exportação de suas sementes e mudas no RS.

Mesmo com essas medidas, a ocupação do capimannoni nos campos do bioma Pampa é alarmante e crescentes são as perdas em decorrência dessa invasão. Perdas tanto econômicas, especialmente na atividade pecuária, quando se observa o déficit no ganho de peso dos animais, comparados àqueles criados em campo nativo sem infestação por capimannoni (FERREIRA e FILIPPI, 2010); mas, principalmente, perdas ambientais, quando se atenta para as espécies nativas que estão sendo suprimidas e substituídas por essa espécie invasora.

Relativo sucesso no controle do alastramento da espécie tem sido obtido através do uso de herbicidas químicos (PEREZ, 2015). No entanto, o custo ambiental devido ao uso indiscriminado dessas substâncias é enorme, pois desfavorece a estabilidade ecológica de sistemas naturais, contaminando e empobrecendo o solo e as águas subterrâneas (OOTANI et al., 2013, REICHERT JÚNIOR, 2017).

Alternativamente, a utilização de insumos biologicamente ativos na agricultura, aliado ao desenvolvimento e uso de técnicas de extração, purificação e identificação de compostos presentes em matrizes naturais, como por exemplo microrganismos, tem demonstrado o efeito benéfico da utilização de metabólitos secundários nas mais variadas áreas (MALDANER et al., 2021).

3.3 Os impactos causados pelo uso crescente de agrotóxicos

A utilização excessiva de agrotóxicos na agricultura vem sendo considerado um agente significativo na contaminação do solo, das águas e do ar devido à sua toxicidade e o aumento crescente de seus teores encontrados no ambiente (SILVÉRIO et al., 2012). Supõe-se que apenas 30% do total de agrotóxico fica na planta. Os resultados desfavoráveis desses produtos nos ecossistemas naturais e cultivados abrangem, além da contaminação do ambiente, a modificação da microbiologia do solo, a morte de polinizadores e de organismos que são capazes de controlar as populações de pragas e prejuízos às lavouras (FREITAS e PINHEIRO, 2010). Os fertilizantes químicos, se utilizados excessivamente, também ocasionam impactos significativos no ambiente, sendo capaz de levar à poluição de cursos d'água, lagos e mananciais, acidificação dos solos, contaminação de aquíferos, geração de gases relacionados ao efeito estufa e estrago da camada de ozônio (SAMBUICHI et al., 2012).

Desse modo, os efeitos gerados no solo podem causar impactos nas águas superficiais e subsuperficiais e, estas, por sua vez, podem afetar a fauna e os seres humanos. De acordo com Silvério et al., (2012), o aproveitamento dessas águas ou suas reutilizações na agricultura podem suceder em riscos à saúde pública, além da contaminação de recursos naturais. Assim, a permanência, a intensidade e os riscos desses impactos sobre os recursos naturais e a biodiversidade, no decorrer do tempo, necessitam ser mais pesquisados.

A venda total de agrotóxicos em 2022 foi de 685.745,68 toneladas de ingredientes ativos, o que representa um aumento de 10,51% nas vendas internas desses produtos “Químicos e Bioquímicos” em relação a 2019. Foram identificados 309 ingredientes ativos, químicos e bioquímicos, sendo os dez mais comercializados: Glifosato; 2,4-D; Mancozebe; Atrazina; Acefato; Clorotalonil; Malationa; Enxofre; Imidacloprido e Clorpirifós (IBAMA, 2022).

Informações sobre as quantidades de produtos usadas e suas tendências ao longo do tempo podem auxiliar na tomada de decisões regulatórias, no direcionamento da fiscalização e em decisões sobre investimentos, estudos e pesquisas para registro de alternativas menos impactantes. (IBAMA, 2022)

Nesse contexto, torna-se necessário avançar nas discussões de práticas alternativas ao uso indiscriminado dos agrotóxicos, tais como a aplicação de bioinsumos.

Bioinsumo é classificado como produto de origem biológica formulado com microrganismos (por exemplo, bactérias, fungos, nematóides e vírus) ou com compostos bioativos microbianos ou plantas, que limitam ou reduzem as populações de pragas, ou são utilizados para melhorar a produtividade, a qualidade e a saúde das plantas ou as características biológicas do solo (MARCHESE; FILIPPONE, 2018; SAMADA; TAMBUNAN, 2020). Os bioinsumos podem vir de uma grande diversidade de organismos e muitos produtos já foram lançados e registrados no mercado agrícola (SAMADA; TAMBUNAN, 2020).

Os bioinsumos exercem um papel fundamental na proteção da cultura, especialmente em áreas onde a resistência a pesticidas, nichos de mercado e preocupações ambientais limitam o uso de agrotóxicos. Os bioinsumos mais comumente usados são organismos vivos, patogênicos para a praga de interesse. O crescente interesse no uso de bioinsumos pode estar relacionado aos benefícios associados: i) benefício ecológico; eles são menos tóxicos e prejudiciais do que os pesticidas convencionais, reduzindo assim a exposição dos consumidores aos pesticidas regulamentados; ii) especificidade de alvo; projetado para afetar apenas a praga

alvo e organismos intimamente relacionados, em contraste com os pesticidas convencionais que podem afetar outros organismos diferentes, como pássaros, insetos e mamíferos; iii) ambientalmente benéfico; muitas vezes são eficazes em pequenas quantidades, decompõem-se rapidamente, resultando em menor exposição e efeitos adversos limitados no meio ambiente, flora e fauna e evitando problemas de poluição e; iv) adequação; reduz muito o uso de pesticidas convencionais quando usados como um componente de programas de manejo e controle de pragas, enquanto os rendimentos das colheitas permanecem altos (ABBEY et al., 2019).

Alguns países têm alterado suas políticas para desencorajar o uso de produtos químicos e promover bioinsumos (AJMAL et al., 2018). Há um esforço internacional no sentido de organizar as ações de incentivo a bioinsumos, dentre elas: harmonizar conceitos, propor testes necessários para registro, estimular novos processos de registros que considerem as multifuncionalidades dos bioinsumos, adequar marcos regulatórios e normativos, instituir linhas de fomento ao desenvolvimento dos bioinsumos (VIDAL et al., 2020).

Os bioinsumos constituem hoje uma nova promessa tecnológica que abre a possibilidade de reconciliar interesses dentro do âmbito agrícola, oferecendo soluções inovadoras para responder a um crescimento cada vez maior por parte dos consumidores e setor produtivo que exigem mudanças ao uso expressivo de agrotóxicos (VIDAL et al., 2020).

Os bioinsumos são uma alternativa que está cada vez mais presente no manejo da cultura, complementando o manejo convencional, por representarem opções economicamente atrativas e ecologicamente aceitáveis (MARCHESE; FILIPPONE, 2018).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Seleção dos microrganismos

Para realização deste trabalho foram selecionadas as cepas FB2C2 e L18 (*Lasiodiplodia pontae*), ambos preservados na micoteca do Laboratório Multidisciplinar de Biologia da Faculdade de Química. A cepa FB2C2 foi isolado como endofítica da palmeira babaçu (*Attalea speciosa*), enquanto L18 isolada como fitopatógeno do caju (*Anacardium occidentale*). A cepa FB2C2 foi isolada pelo grupo de pesquisa em Química de Produtos Naturais da FAQUIM/UNIFESSPA, Marabá/PA, enquanto a cepa L18 foi cedida pela Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza/CE.

4.2 Produção de extratos orgânicos

Para a produção dos extratos orgânicos, ambos os isolados foram reativados em placas de Petri usando BDA (batata, dextrose, ágar) como meio de cultura. Após reativação, fragmentos de micélio foram inoculados em frascos Erlenmeyers (500 mL) contendo meio de cultura sólido (arroz tio João parbolizado estéril). Após inóculo, os frascos Erlenmeyers foram incubados em câmara tipo BOD por um período de 30 dias à temperatura de 27°C. Após o período de cultivo, a triplicata de cada uma das cepas foi submetida à extração utilizando metanol como solvente orgânico extrator. Para a extração foram utilizados 300 mL por frasco Erlenmeyer divididos em duas etapas equitativas. Após a extração o material extraído foi concentrado em rotaevaporar com o auxílio de vácuo e sob aquecimento para a obtenção dos extratos metanólicos. Os extratos obtidos foram testados quanto ao seu potencial bioherbicida e analisados por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H).

4.3 Teste bioherbicida

Os extratos metanólicos obtidos a partir do cultivo em meio sólido dos isolados FB2C2 e L18 foram testados nas concentrações de 0,125; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 % (m/v) para avaliação do potencial bioherbicida de ambos. Os experimentos foram desenvolvidos visando a inibição da germinação e do desenvolvimento das plântulas de capimannoni. Em paralelo aos experimentos com os extratos diluídos em água:álcool foram desenvolvidos experimentos controle a partir da mesma proporção água: álcool utilizada na diluição dos extratos.

As sementes de capimannoni foram dispostas sobre papel de germinação do tipo mata-borrão em caixas gerbox (capacidade 250 mL, medida 11 x 11 x 3,5 cm). O papel de germinação

foi umedecido com as soluções previamente preparadas de cada tratamento em um volume de 5 mL por repetição, sendo reaplicados 1 mL a cada três dias para evitar a desidratação. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Cada repetição consistiu de uma caixa do tipo gerbox com 20 sementes de capim annoni (Figura 3).

Figura 3: Distribuição das sementes de capim annoni em caixa gerbox



FONTE: SOUSA, B. F, 2022.

Os testes foram realizados em sala de crescimento climatizada, com temperatura controlada de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ e fotoperíodo de 12 horas. Foram feitas contagens diárias da germinação e o potencial germinativo foi avaliado através das seguintes variáveis:

Germinação acumulada (GA) – Adaptado de Brasil (2013), foi realizada a contagem ao final de 10 dias após a incubação, com o resultado expresso em porcentagem. Foi considerada como germinada a semente que emitiu a radícula com no mínimo 2 mm de comprimento;

Sementes mortas (MO) – Realizada concomitantemente com a germinação acumulada, sendo que as sementes que não germinaram, foram classificadas como mortas. O resultado foi expresso em porcentagem.

Índice de velocidade de germinação (IVG) – Determinado através de contagens diárias da germinação durante 10 dias. Os valores obtidos foram calculados pela seguinte fórmula: $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ (MAGUIRE, 1962); onde, IVG = índice de velocidade de germinação; G1, G2,... Gn = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem; N1, N2,... Nn = número de dias da semente à primeira, segunda e última contagem.

Ao final do teste também foi feita avaliação do desenvolvimento inicial das plântulas de capimannoni através de medições de altura das plântulas e contagem de perfilhos.

4.4 Análise preliminar do perfil químico dos extratos

Para uma abordagem prévia do perfil químico, 10 mg de cada um dos extratos foram analisadas por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de H (RMN ^1H) em um espectrômetro Ascend 400 MHz da Bruker, em colaboração com a Universidade Federal do Pará. Para análise as amostras foram solubilizadas em DMSO deuterado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados aqui expressos constituem em parte, dados da dissertação do discente Anderson Rodrigues Silva, em especial o isolamento e identificação do isolado FB2C2. O endofítico FB2C2 foi isolado dos frutos do babaçu e identificado por análise molecular como *Daldinia eschscholtzii*.

5.1 Avaliação dos testes bioherbicida

A partir dos dados obtidos nos experimentos bioherbicidas do isolado FB2C2 (*D. Eschscholtzii*) fica evidente a necessidade de novos experimentos a partir de concentrações menores, uma vez que se teve 100% de inibição da germinação nas concentrações iniciais testadas. Esse ocorrido desperta ainda mais o interesse na busca de substâncias bioativas produzidas pelo isolado FB2C2, na perspectiva do controle do capimannoni.

Nos testes a partir do isolado L18 foi observado percentuais de inibição da germinação correlacionados a concentração testada, ou seja, quanto maior a concentração, maior o percentual de inibição, alcançando 90% de inibição na maior concentração testada (1 % m/v). Esses resultados podem ser observados na tabela 1.

Acompanhando os resultados da GA do extrato L18 a mortalidade foi crescente com o aumento da concentração do extrato. No que se refere à velocidade de germinação, o índice de velocidade de germinação (IVG) foi significativamente reduzido em concentrações a partir de 0,25%.

Embora não tenha sido avaliado o sistema radicular, por se tratar de um ensaio *in vitro* e, nesse caso, o desenvolvimento radicular ser insuficiente para permitir tais avaliações, as consequências no crescimento inicial já puderam ser percebidas ao final de dez dias. O dano visual foi crescente com o aumento das concentrações. O extrato do isolado L18 prejudicou o crescimento do capimannoni, sendo observada redução que se aproxima de 50% na altura quando em exposição à 0,5% do extrato. Como consequência da inibição do crescimento em altura, o perfilhamento e a biomassa também foram progressivamente reduzidos pela exposição ao extrato (Tabela 2).

Tabela 1: Germinação acumulada (GA), sementes mortas (MO), índice de velocidade de germinação (IVG) e Tempo médio de germinação (TMG) de sementes de capimannoni expostas a diferentes concentrações (%) do extrato metanólico do isolado L18.

Tratamento	Germinação acumulada (%)	Mortas (%)	IVG	TMG
Controle H₂O	92,5	7,5	2,64	5,05
0,125 %	72,5	27,5	2,07	5,42
0,25 %	47,5	52,5	1,36	5,1
0,5 %	25,0	75,0	0,71	4,3
0,75 %	15,0	85,0	0,42	7,6
1,0 %	10,0	90,0	0,28	7

Tabela 2: Altura, perfilhamento e biomassa de plântulas de capimannoni submetidas a diferentes concentrações (%) do extrato metanólico do isolado L18.

	C. H₂O	C. Álcool	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0
Altura	1,22	1,15	1,33	1,13	0,82	-	0,22
Perfilhamento	0,55	-	1,03	1,04	1,04	-	1,0
Biomassa	0,0306		0,0100	0,0047	0,0060	0,0010	0,0020

Daldinia eschscholtzii caracterizado como endófito filamentosos é comumente encontrado em plantas lenhosas (STADLER et al., 2014). Estudos químicos a partir de *Daldinia* spp. levaram à identificação de vários metabólitos bioativos, incluindo derivados de benzofenonas, triterpenóides, benzoquinonas, esteroides, heptentrióis, policetídeos, ortosporinas (ZHANG et al., 2011).

Os registros voltados aos testes de bioatividade associados a extratos e substâncias isoladas a partir de *Daldinia* spp. revelam potencial antimicrobiano, antioxidante e antiinflamatório (KIM et al., 2020). Apesar de resumido o levantamento bibliográfico não foram encontrados registros referentes ao potencial bioherbicida de produtos obtidos a partir de espécies *Daldinia*, o que valoriza os resultados encontrados e motiva a realização de estudos adicionais na investigação do potencial bioherbicida e caracterização química dos extratos.

5.2 Perfil químico preliminar dos extratos orgânicos

Ambos os extratos metanólicos foram submetidos à análise espectroscópica via RMN ^1H . O espectro de RMN ^1H de ambos os extratos (Figura 4 e 5) deixa em evidência a produção de compostos hidroxilados, dada a riqueza de sinais na região entre 3,0 e 4,0 ppm. Apesar de não serem observados outros sinais que caracterizariam outras classes de compostos não é possível destacar a presença destas, uma vez que não houve qualquer tratamento de amostra prévia à aquisição dos espectros. O que dita a necessidade de uma investigação mais aprofundada dos extratos, em especial aquele que apresentou atividade herbicida na menor concentração testada frente ao capimannoni.

Figura 4 – Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do extrato metanólico de *L. pontae* (L18).

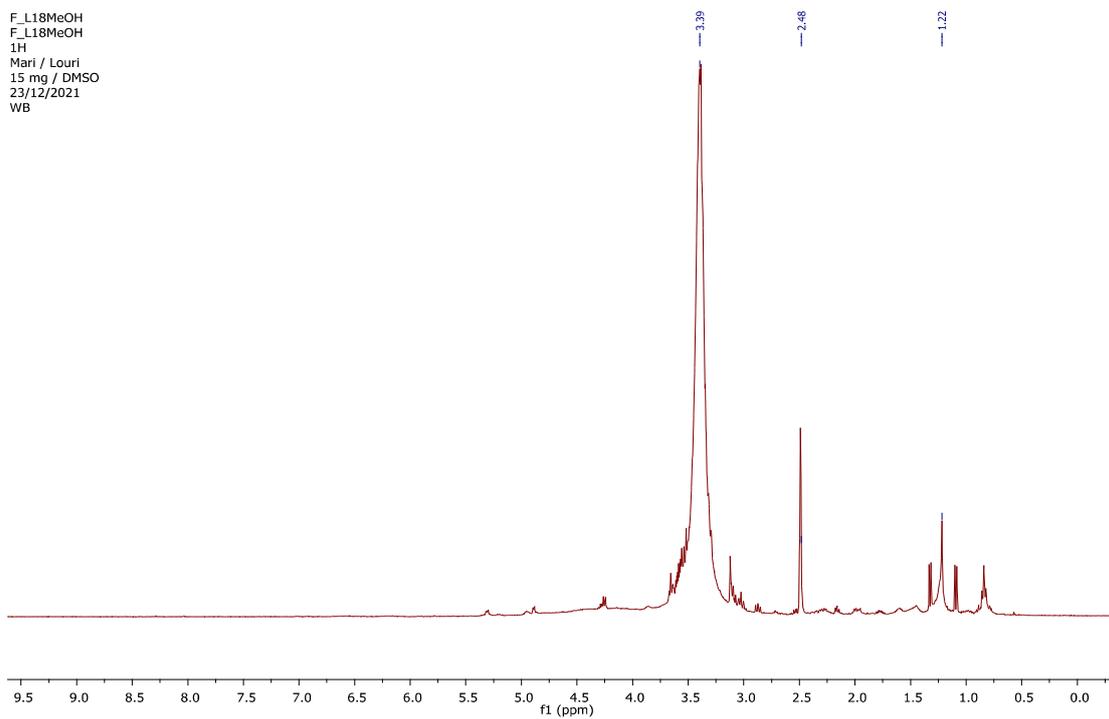
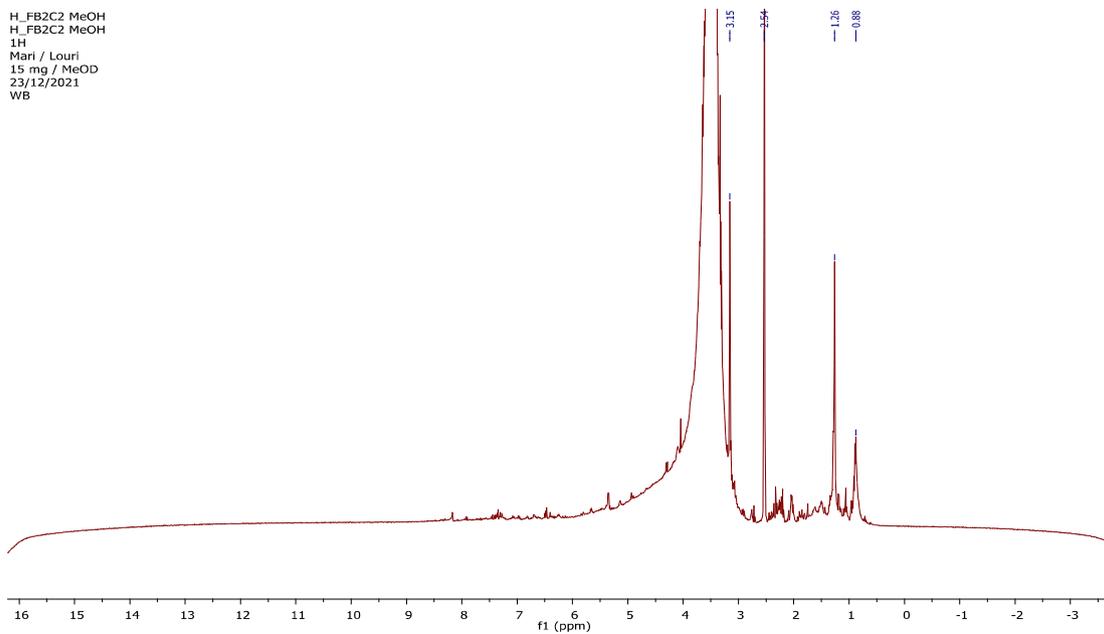


Figura 5 – Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do extrato metanólico de *D. eschscholtzii* (FB2C2).



6. CONCLUSÃO

Em busca de recursos naturais com potencial de aplicação como bioherbicida, foram produzidos cultivos microbianos a partir de *D. eschscholtzii* e *L. pontae* e a partir destes foram obtidos extratos metanólicos. Os extratos foram avaliados quanto ao potencial para inibir a germinação e o desenvolvimento de plântulas do capimannoni. O extrato metanólico obtido a partir do cultivo de *D. eschscholtzii* mostrou-se mais eficiente, uma vez que inibiu em 100% a germinação de sementes já na menor concentração testada, enquanto o extrato metanólico de *L. pontae* só alcançou 90% de inibição na concentração máxima de 1% m/v e na avaliação do desenvolvimento das plântulas prejudicou o crescimento do capimannoni, sendo observada redução que se aproxima de 50% na altura quando em exposição à 0,5 % do extrato.

No que se refere as análises de caracterização química, para ambos os extratos foram observados sinais que caracterizam compostos polihidroxilados, como sacarídeos, porém, ambos os extratos não sofreram qualquer tipo de pré-tratamento.

Apesar de preliminares, os resultados são promissores e incentivam a realização de estudos mais aprofundados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBEY, L.; ABBEY, J.; LEKE-ALADEKOKBA, A.; IHESHIULO, E. M.; IJENYO, M. **“Biopesticides and biofertilizers: types, production, benefits, and utilization”**. Byproducts from Agriculture and Fisheries: Adding Value for Food, Feed, Pharma, and Fuels. NJ, USA, pp. 479–500, 2019.

ABREU, J. A S.; ROVIDA, A. F. S.; PAMPHILE, J. A. **Fungos de Interesse: Aplicações Biotecnológicas**. Uningá review, 2015.

AFZAL, M.; KHAN, Q. M.; SESSITSCH, A. **Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants**. Chemosphere, v. 17, pp. 232-242, 2014.

AMATUZZI, R. F.; CARDOSO, N.; POLTRONIERI, A. S.; POITEVIN, C. G.; DALZOTO, P.; ZAWADENEAK, M. A.; PIMENTEL, I. C, 2018. **Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae)**. Brazilian Journal of Biology, vol. 78, pp. 429-435.

BACON C. W.; HINTON D. M. **Ascosporic iterative germination in *Epichloe typhina***. British Mycological Society, pp. 563-569, 1988.

BASSO, T. P.; GALLO, C. R.; BASSO, L. C. **Atividade celulolítica de fungos isolados de bagaço de cana-de-acucar e madeira em decomposição**. Pesq. agropec. bras., Brasília, v. 45, p.1282-1289, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília: SNDA/CGAL, 2013. 97 pp.

BUTLER, M. S.; FONTAINE, F.; COOPER, M. A. **Natural Product Libraries: Assembly, Maintenance, and Screening**. Planta Medica, pp. 1161, 2014.

CHAVES NETO, J. R.; DOS SANTOS, M. S. N.; MAZUTTI, M. A.; ZABOT, G. L.; TRES, M. V. **Phoma dimorpha phytotoxic activity potentialization for bioherbicide production**. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, pp. 1-11, 2021.

CHAPLA, V. M. **Bioprospecção dos fungos endofíticos associados à espécie vegetal *Eugenia jambolana* e utilização de modificador epigenético no cultivo do fungo *Lecythophora* sp.** Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 2014.

CLAY, K. **Fungal endophytes of grasses.** Annual review of ecology and systematics, California, v. 21, pp. 275-297, 1990.

COMONT, D.; LOWE, C.; HULL, R.; CROOK L.; HICKS, H. L.; ONKOKESUNG, N.; BEFFA, R.; CHILDS, D. Z.; EDWARDS, R.; FRECKLETON, R. P.; NEVE, P. **Evolution of generalist resistance to herbicide mixtures reveals a trade-off in resistance management.** Nature Communications, pp. 1-9, 2020.

DANTAS, S. B. S.; ALVES, F. A. M.; CHAPLA, V. M. **Chemical, diversity and biotechnological potential of endophytic fungi isolated from Brazilian Cerrado plants.** Biota Neotropica, pp. 1-8, 2021.

DELABONA, P. da S. **Bioprospecção de fungos produtores de celulase da região amazônica para a produção de etanol celulósico.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

EL-HAWARY, S. S.; MOAWAD, A. S.; BAHR, H. S.; BDELMOHSEN, U. R.; MOHAMMED, R. **Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus *Aspergillus*.** RSC Adv, pp. 22058-22079, 2020.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; FLORES, M. G. V. **Seleção de antagonistas fúngicos a *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* em substrato comercial para mudas.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 37, pp. 1794-1797, 2007.

FAETH, S. H.; GARDNER, D. R.; HAYES, C. J.; JANI, A.; WITTLINGER, S. K.; JONES, T. A. **Temporal and spatial variation in alkaloid levels in *Achnatherum robustum*, a native Grass infected with the endophyte *Neotyphodium*.** Journal of Chemical Ecology, New York, v. 32, pp. 307-324, 2006.

FERNANDES G. W.; BARBOSA, N. P. U. **Bombas relógio que ameaçam a natureza - Com um dos patrimônios ambientais mais ricos do país, Minas Gerais se ressentida**

negligência e irresponsabilidade pela introdução de espécies invasoras. Scientific American Brasil, pp. 60-61, 2013.

FERNANDES, E. G. **Fungos endofíticos em soja (*Glycine max*): diversidade, biocontrole de fitopatógenos e análise de metabólitos.** Monografia – Universidade Federal de Viçosa, 2015.

FERREIRA, N. R.; FILIPPI, E. E. **Reflexos econômicos, sociais e ambientais da invasão biológica pelo capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) no bioma pampa.** Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v. 27, pp. 47-70, 2010.

FIRN, R. D.; JONES, C. G. **Natural products—a simple model to explain chemical diversity.** Natural Product Reports, v. 20, pp. 382-391, 2003.

FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. **Efeitos sub-letais dos pesticidas agrícolas e seus impactos no manejo de polinizadores dos agroecossistemas brasileiros.** Oecologia Australis, pp. 282-298, 2010.

GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. **Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stress.** World Journal of Microbiology Biotechnology, v. 27, pp. 1231-1240, 2011.

HALABALAKI, M. et al. **Recent advances and new strategies in the NMR-based identification of natural products.** Current Opinion in Biotechnology, v. 25, pp. 1-7, 2014.

HINZ, H. L.; WINSTON, R. L.; SCHWARZLANDER, M. **A global review of target impact and direct nontarget effects of classical weed biological control.** Curr. Opin. Insect Sci, pp. 48-54, 2020.

IBAMA. **Relatório de comercialização de agrotóxicos.** 2022.

JIA, M. et al. **A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review.** Frontiers in Microbiology, v. 7, pp. 1-14, 2016.

KERGUNTEUIL, A.; BAKHTIARI, M.; FORMENTI, L.; XIAO, Z.; DEFOSSEZ, E.; RASMANN, S. **Biological control beneath the feet: A review of crop protection against insect root herbivores.** Insects, 2016.

KIM, J. A.; JEON, J.; PARK, S.-Y.; JEON, M. J.; YEO, J.-H.; LEE, Y.-H.; KIM, S. **Draft genome sequence of *Daldinia childiae* JS-1345, an endophytic fungus isolated from stem tissue of Korean fir.** Microbiol. Resour. Announc, 2020.

LI, J.Y.; SIDHU, R. S.; STROBEL, G. A. **Stimulation of taxol production in liquid cultures of *Pestalotiopsis microspora*.** Mycological Research, pp. 4461-464, 1998.

LI, J. Y.; STROBEL, G. A. **Jesterone and hydroxy-jesterone antioomycete cyclohexenone epoxides from the endophytic fungus *Pestalotiopsis jester*.** Phytochemistry, pp. 261–265, 2001.

LOPES, F. C. **Produção e análise de metabólitos secundários de fungos filamentosos.** Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 2011.

MADIGAN, M. T. et al. **Brock biology of microorganisms.** 10 ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 2010. 1019 pp.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock.** 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 960 pp.

MAGALHÃES, L. C. S.; SILVA-FORSBERG, M. C. **Espécies Exóticas Invasoras: caracterização e ameaças aos ecossistemas.** Scientia Amazonia, v. 5, pp. 63-74, 2016.

MAGUIRE, J. D. **Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor.** Crop Science, pp. 176-177, 1962.

MALDANER, J. et al. **Óleos essenciais: potencial bioherbicida para o controle do capimannoni.** Boletim Técnico: pesquisa e desenvolvimento. Porto Alegre: SEAPDR/DDPA, pp. 33, 2021.

MARCHESE, A. M.; FILIPPONE, M. P. **Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible.** Rev. Agron. Noroeste Argent. v. 38, pp. 9-21, 2018.

MEDEIROS, R. B.; FOCHT, T. **Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul.** Pesquisa Agropecuária Gaúcha, v.13, pp.105-114, 2007.

MOREIRA, R. **Fungos endofíticos e epifíticos associados às folhas de cacauero**. Instituto de Biociência. Rio Claro, 2014.

MORETTI, A.; SARROCCO, S. **Fungi**. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. **The encyclopedia of food and health**. Oxford: Academic Press, pp. 162-168, 2016.

NASCIMENTO, A.; HALL, G. A. B. **Estudos Comparativos de Capim Annoni-2 (*Eragrostis plana*) e pastagem nativa de várzea da Região de Santa Maria, Rio Grande do Sul. 1. Características Químico-Bromatológicas**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.13, pp.7-14, 1978.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. **Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014**. Journal of Natural Products, 2016.

OKI, Y.; FERNANDES, G. W.; CORREA JUNIOR, A. **Fungos: amigos ou inimigos? Ciência Hoje**. v. 42, pp. 64-66, 2008.

OLIVEIRA, K. M. et al. **Isolamento e atividade antibacteriana de fungos endofíticos de *Piper glabratum* Kunth**. Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR, v. 19, pp. 3-9, 2015.

OLIVEIRA, M. C. F.; MATTOS, M. C.; RODRIGUES FILHO, E. **Tópicos em química microbiana: oportunidades acadêmicas e biotecnológicas**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2021.

OLIVEIRA, M. N.; SANTOS, D. A.; ALBINO, U. B.; SILVA, S. C.; SILVA, S. Y. S. **Seleção e cultivo de micro-organismos para estudo químico**. In Tópicos em química microbiana: oportunidades acadêmicas e biotecnológicas. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2021.

OTT, R.; AMARAL, G. A. **Projeto Capim-annoni**. Natureza em Revista, Porto Alegre, pp. 28-29, 2016.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B.; CAJAZEIRA, J. P. **Use of Essential Oils in Agriculture**. Journal of Biotechnology and Biodiversity, v. 4, pp. 162-174, 2013.

PEREZ, N. B. **Método integrado de recuperação de pastagens Mirapasto: foco capim-annoni**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2015. 23 pp.

PETRINI, O.; SIEBER, T. N.; TOTI, L.; VIRET, O. **Ecology, metabolit production, and substract utilization in endophytic fungi**. Natural Toxins, pp.185-196, 1993.

PURI, S. C.; NAZIR, A.; CHAWLA, R.; ARORA, R.; RIYAZ-UL-HASAN, S.; AMNA, T.; AHMED, B.; VERMA, V.; SINGH, S.; SAGAR, R.; SHARMA, A.; KUMAR, R.; SHARMA, R. K.; QAZI, G. N. **The endophytic fungus *Trametes hirsuta* as a novel alternative source of podophyllotoxin and related aryl tetralinlignans**. Journal of Biotechnology, 2006.

QIN, L.; YU, H.; ZHANG, L.; LIL.; ZHENG, C.; GUO, L.; LI, W.; SUN, P. **Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes**. Microbiological Research, pp. 437-444, 2010.

REICHERT JUNIOR, F. W. **Controle de plantas daninhas e seletividade a culturas pela aplicação de isolados fúngicos**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, Erechim, RS, 2017.

RODRIGUES, A.; MUELLER, U. G.; ISHAK, H. D.; BACCI, M. J.; PAGNOCCA, F. C. **Ecology of microfungal communities in gardens of fungus-growing ants (Hymenoptera: Formicidae): a year-long survey of three species of attine ants in Central Texas**. FEMS Microbiology Ecology, Amsterdam, v. 78, pp. 244-255, 2011.

SAIKKONEN, K.; ION, D.; GYLLENBERG, M. **The persistence of vertical transmitted fungi in Grass metapopulation**. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, Edinburgh, v. 269, pp. 1397-1403, 2002.

SAMADA, L. H.; TAMBUNAN, U. S. F. **Biopesticides as Promising Alternatives to Chemical Pesticides: A Review of Their Current and Future Status**. Journal of Biological Sciences, pp. 66–76, 2020.

SAMBUICHI, R. H. R.; OLIVEIRA, M. A. C.; SILVA, A. P. M.; LUEDEMANN, G. **Sustentabilidade ambiental da agropecuária brasileira: impactos, políticas públicas e desafios**. Brasília: Ipea, pp. 1-47, 2012.

SANTOS, M. S. B.; SILVA, A. A. C. R. **Sanidade de sementes de arroz, biocontrole, caracterização e transmissão de *Curvularia lunata* em semente-plântula de arroz**. Revista Ceres, v. 61, pp. 511-517, 2014.

- SAVI, D. C.; ALUIZIO, R.; GLIENKE C. **Brazilian plants: an unexplored source of endophytes as producers of active metabolites.** *Planta med.* pp. 619–636, 2019.
- SILVA, H. S. A. “**Microrganismos endofíticos como agentes de biocontrole de ferrugem do cafeeiro e de promoção de crescimento.**” In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, pp. 277-287., 2009.
- SILVA, I. M. M.; SILVA, R. M.; PAULA, V. B; ESTEVINHO, L. M. **Biological activities of endophytic fungi isolated from *Annona muricata* Linnaeus: a systematic review.** *Brazilian Journal of Biology*, pp 1-9, 2024.
- SILVÉRIO, F. O.; SILVA, J. G. S.; AGUIAR, M. C. S.; CACIQUE, A. P.; PINHO, G. P. **Análise de agrotóxicos em água usando extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura por cromatografia líquida de alta eficiência.** *Química Nova*, v. 35, pp. 2052-2056, 2012.
- SIMÕES, C.; SCHENKEL, E.; MELLO, J. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento.** Porto Alegre, pp. 502 – 537, 2017.
- SOUSA, C. S.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S. **Produção de mudas de tomateiro em substrato orgânico inoculado e incubado com estreptomicetos.** *Bragantia*, Campinas, v. 6, pp. 195-203, 2009.
- STADLER, M.; LAESSOE, T.; FOURNIER, J; DECOCK, C.; SCHMIESCHEK, B.; TICHY, H.V.; PERSOH, D. **Uma taxonomia polifásica de *Daldinia* (*Xylariaceae*) Estudos em Micologia.** *Stud Mycol*, pp.1–143, 2014.
- STROBEL, G. **The Emergence of Endophytic Microbes and Their Biological Promise.** *J Fungi* (Basel), v. 4, 2018.
- SU, W.; HUANG, Y.; WANG, J.; LI, G.; ZHENG, Z. **Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*.** *Immunology and Medical Microbiology*, pp. 163-167, 2001.
- VIDAL, M. C.; SALDANHA, R.; VERISSIMO, M. A. A. **Bioinsumos: o programa nacional e a sua relação com a produção sustentável.** In: GINDRI, D. M.; MOREIRA, P.A.B.;

VERISSIMO, M. A. A. (org). **Sanidade Vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável.** Florianópolis: Governador do Estado de Santa Catarina, pp. 382-410, 2020.

WU, Y.; GIRMA, S.; DA SILVA, V. M.; PERRY, B.; HU, X.; TAN, G. T, 2015. **The role of endophytic fungi in the anticancer activity of *Morinda citrifolia* Linn. (Noni).** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, vol. 2015, pp. 393960.

XIAO, J.; ZHANG, Q.; GAO, Y-Q.; TANG, J-J.; ZHANG, A-L.; GAO, J-M. **Secondary Metabolites from the Endophytic *Botryosphaeria dothidea* of *Melia azedarach* and Their Antifungal, Antibacterial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities.** Journal of agriculture and Food Chemistry, v. 62, pp. 3584-3590, 2014.

ZHANG, Y. L.; ZHAN, J.; JIANG, N.; LU, Y. H.; WANG, L.; XU, S. H.; WANG, W.; ZHANG, G. F.; XU, Q.; GE, H. M.; MA, J.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. **Immunosuppressive polyketides from mantis-associated *Daldinia eschscholzii*.** Journal of the American Chemical Society, pp. 5931-5940, 2011.