



Prospecção de fungos Endofíticos isolados de plantas cultiváveis e não cultiváveis e seus efeitos na quebra de dormência de sementes de capim *Andropogon L.*

Prospecting of endophytic fungi isolated from cultivable and non-cultivable plants and their effects on breaking seed dormancy of *Andropogon L.* grass.

DOI: 10.55905/rdelosv16.n43-015

Recebimento dos originais: 25/04/2023

Aceitação para publicação: 23/05/2023

Tatiani Pereira de Souza Ferreira

Mestra em Produção Vegetal

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Gurupi, TO - Brasil

E-mail: nanatpsf@yahoo.com.br

Talita Pereira de Souza Ferreira

Doutora em Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Gurupi, TO - Brasil

E-mail: talitapsf@mail.uft.edu.br

Alex Sander Rodrigues Cangussu

Doutor em Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Gurupi, TO - Brasil

E-mail: talitapsf@mail.uft.edu.br

Vanessa Mara Chapla

Doutora em Química

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Gurupi, TO - Brasil

E-mail: vmchapla@mail.uft.edu.br

Michelle da Cunha Abreu Xavier

Doutora em Engenharia Química

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Palmas, TO - Brasil

E-mail: michellecax@mail.uft.edu.br



Gessyk Monteiro Marques

Graduanda em Engenharia de Bioprocessos e
Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Gurupi, TO - Brasil

E-mail: marques.monteiro@mail.uft.edu.br

Vanessa Oliveira de Lima

Graduanda em Engenharia Florestal

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Gurupi, TO - Brasil

E-mail: marques.monteiro@mail.uft.edu.br

Gil Rodrigues dos Santos

Doutor em Fitopatologia

Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)

Endereço: Gurupi, TO - Brasil

E-mail: gilrsan@mail.uft.edu.br

RESUMO

O capim *Andropogon L.* é uma forrageira que é muito cultivada em diversos ambientes inóspitos, mas suas sementes apresentam dormência fisiológica. Os fungos endofíticos podem estimular a quebra de dormência produzindo metabólitos que atuam no embrião que estimulam a germinação das sementes. Este trabalho visou estudar a prospecção de fungos endofíticos isolados de plantas cultiváveis e não cultiváveis na quebra de dormência de sementes do capim *Andropogon L.* Inicialmente, foi feita uma triagem de isolados de plantas cultiváveis e não cultiváveis para seleção de fungos endofíticos com potencial de estimular a quebra de dormência das sementes do capim *Andropogon L.* que foram selecionados 40 isolados. Sendo realizados ensaios *in vitro* onde as sementes eram dispostas em placas de Petri divididas em duas partes com os fungos cultivados em BDA e no outras 30 sementes de capim *Andropogon L.* sobre o papel umedecido. De um total de 40 isolados fúngicos 12 promoveram a quebra de dormência do capim *Andropogon L.* Também foram realizadas análises dos compostos voláteis utilizando a técnica *HeadSpace*, por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas - CG-EM. A análise dos compostos revelou 30 constituintes majoritários. Os resultados obtidos são promissores e podem fornecer subsídios ao mercado biotecnológico agrícola.

Palavras-chave: fungos endossimbiontes, compostos orgânicos voláteis, germinação, capim *Andropogon L.*

ABSTRACT

The grass plant *Andropogon L.* is a forage grass commonly cultivated in hostile environment, but its seeds present seed dormancy. The interruption of this dormancy can be stimulated by endophytic fungi because of its ability to produce metabolites that perform in the embryos which stimulate the seeds germination. This project aimed to study the prospectation of isolated endophytic fungi of cultivable and non-cultivable plants in the interruption of *Andropogon L.* seeds sleep physiology. Originally, a screening of isolated cultivable and non-cultivable plants was done to select endophytic fungi that could potentially stimulate the breaking of seed



dormancy of forage grass *Andropogon L.* seeds. Only 40 isolated seeds were selected. Experiments were executed in vitro where the seeds were disposed in petri dish split in two halves containing the fungi cultivated in PDA and 30 *Andropogon L.* forage grass seeds on a dewy tissue. Out of 30 isolated fungi, 12 promoted the interruption of the dormancy in the *Andropogon L.* forage grass. Analyses of volatile compounds using the HeadSpace technique were also done, by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry - GC-MS. The compounds analysis showed 30 majority components. The results obtained are promising and can provide subsidies to the agricultural biotechnology market.

Keywords: endosymbiont fungi, organic compounds, germination, grass *Andropogon L.*

1 INTRODUÇÃO

O pasto é a fonte primária de alimentos dos animais na pecuária de corte do Brasil (HOFFMAN et al., 2014). A maior parte da produção de ruminantes no Brasil é baseada no uso de pastagens, que ocupam cerca de 160 milhões de hectares nos campos brasileiros (IBGE, 2019). Com base na quantidade necessária de sementes para formação do pasto, Peske (2016) estimou que oito milhões de hectares de forrageiras tropicais são renovados anualmente.

Entre as plantas cultivadas, o capim *Andropogon L.* apresenta tolerância à seca, à baixa fertilidade e ótima resposta a fertilização do solo. É um dos maiores representantes da tribo *Andropogoneae*. Possui cerca de 100 espécies, distribuídas na África e América Tropical (CLAYTON E RENVOIZE, 1982). Resiste bem aos solos pedregosos, ácidos do Cerrado, ao fogo, tem boa produção de sementes, não apresenta problemas de fotossensibilização e rápida capacidade de rebrota (SERAFIM, 2015; CARVALHO et al., 2021). No Brasil tem maior ocorrência nas formações de cerrado e campos rupestres das Regiões Sudeste e Centro-Oeste (ZANIN e LONGHI-WAGNER, 2011). Entre as dificuldades no seu cultivo, o capim *Andropogon L.* apresenta sementes com baixo poder germinativo nos primeiros meses de sua colheita ocasionando a dormência das sementes (ALLIPRANDINI; BATISTA; GODOY, 1991). Assim, o embrião tem algum mecanismo fisiológico específico que impede a protrusão da raiz primária (VIVIAN et al., 2008). É conhecido que algumas sementes de gramíneas forrageiras apresentam dormência no período de maturação, logo após a colheita, por um período de seis meses, a qual pode ser quebrada naturalmente quando armazenadas. Dessa forma, testes de germinação são necessários logo após a colheita, ocasião em que a dormência é mais acentuada (ITALIANO e RAMOS, 1999).



Geralmente, as sementes do capim *Andropogon L.* não possuem cadastro no Registro Nacional de Sementes e Mudanças (RENASSEM) em conformidade com a Lei 10.711, de 2003, no Decreto nº 10.586, de 2020, e nas normas complementares. Então pela rusticidade da planta, a maioria das sementes utilizadas são colhidas pelos próprios produtores rurais ou as sementes comerciais são adquiridas sem nenhum atestado sanitário (DOS SANTOS et al., 2022). Assim, muitos produtores têm muitos prejuízos durante o seu cultivo, devido o baixo índice germinativo, exigindo na maioria das vezes operações de replantio que se tornam onerosos e inviáveis devido o alto custo.

A importância de estimular o bioinsumo na biotecnologia agrícola é primordial para a modernização agrícola do Brasil, utilizando meios como a biotecnologia agrícola no uso de ferramentas sustentáveis importantes para o sucesso de uma propriedade rural empresarial. Os fungos endofíticos são microrganismos que vivem no interior das plantas por pelo menos uma parte de seu ciclo de vida sem causar dano (BACON E WHITE, 2000; MORAES; CHAPLA; FERRAZ, 2020). É uma alternativa para todo esse processo, pois podem contribuir para o crescimento das plantas e a manutenção equilibrada do solo. Atuando direta ou indiretamente, podem ser aplicados individualmente ou combinados como bioinoculantes com bioprospecção em sistemas de melhoramento de culturas. Por isso, estudar o microbioma endofítico para aumentar a produtividade e suprimir patógenos tornaram-se essenciais (ADELEKE, et al., 2022).

Fungos endofíticos são potencialmente promotores de crescimento com interações simbióticas entre plantas, contribuindo na descoberta de novas biomoléculas para diversas aplicações biotecnológicas e desenvolvimento de uma agricultura sustentável (BOGAS, et al., 2022). Os compostos produzidos têm efeitos diversos, tais como: estimuladores de crescimento e desenvolvimento das plantas, aumento da mineralização e disponibilidade de nutrientes, produzindo compostos estimulantes e liberando fitohormônios (ANTOUN E PRÉVOST, 2005; RANA, et al., 2019; TIAN, et al., 2022).

Possuem capacidade de sintetizar vários compostos bioativos que são importantes fontes de enzimas extracelulares (amilase, asparaginase celulase, quitinase, lacase, lipase, protease e tirosinase (RANA, et al., 2019). Aproximadamente 250 compostos orgânicos voláteis (COVs) conhecidos são emitidos por fungos (MORATH; HUNG; BENNETT, 2012).

Adeleke, et al. (2022) enfatizam a importância de pesquisar fontes alternativas sustentáveis para estimular meios para sanar entraves que provocam perdas de produção. Apesar



da rusticidade do capim *Andropogon L.* a alta taxa de dormência de suas sementes praticamente inviabiliza a sua expansão e importância.

Desta forma, a utilização de fungos endofíticos com potencial de estímulo à germinação de sementes pode contribuir na emergência e maior densidade de plantas, evitando assim, necessidade de replantios, além de melhorar a microbiota do solo e do potencial de mineralização da matéria orgânica. De acordo com a literatura consultada, não foram encontrados trabalhos buscando identificar fungos endofíticos utilizados na quebra de dormência das sementes do capim *Andropogon*

Devido a estes motivos, este trabalho teve como objetivo avaliar a quebra de dormência do capim *Andropogon L.* por compostos voláteis produzidos por fungos endofíticos isolados a partir de plantas cultiváveis e não cultiváveis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Foram retirados tecidos vegetais de brotos, bulbos, folhas, caules e raízes de diferentes plantas cultiváveis (plantas cultiváveis (açafraão, arroz, gergelim, milho, nirá, pimenta, romã, salsa e tomate) e não cultiváveis (alecrim pimenta, alfavaca, aranto, joá bravo, espécie florestal, mirra), no município de Gurupi, Tocantins.. Foi feita assepsia dos tecidos dos órgãos das plantas, seguindo metodologia de Ghimire, et al., (2011) ; Azad e Kaminskyj, (2016)., Xia, et al., (2019) os tecidos foram imersos em hipoclorito de sódio, à 2,5% contendo Tween 80 a 0,1% em água destilada esterilizada por 15 minutos, em seguida em Álcool Etílico a 92,8° INPM, durante três minutos e, enxaguados em água esterilizada por três vezes consecutivas. Os tecidos vegetais cortados das plantas cultiváveis e não cultiváveis foram colocados em placas contendo meio de cultura BDA (Agar Batata Dextrose), tetraciclina + amoxicilina (500 mg/L) e incubados a 28 °C. As placas foram então incubadas na câmara de crescimento com temperatura de 28° C e mantidas sob refrigeração após obtenção da cultura pura.

2.2 PURIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

As colônias fúngicas que se apresentavam distintas umas das outras, de acordo com observações macroscópicas (coloração e características de crescimento em meio de cultura),



foram purificadas em meio BDA, preservadas pelo método da subcultura e acondicionadas em refrigeração.

2.3 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

A identificação dos fungos endofíticos que promoveram a quebra de germinação das sementes do capim *Andropogon L.* foi realizada através da microscopia de luz com o microscópio Tension, observando-se o crescimento e pigmentação da colônia, formação e característica das hifas e dos conídios. As observações foram feitas em microscópio óptico de luz e os fungos foram identificados com base na morfologia conjunta das estruturas reprodutivas de acordo com literatura especializada (WATANABE, 2002).

2.4 SELEÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DAS SEMENTES DO CAPIM *Andropogon L.*

Os isolados fúngicos foram cultivados em placas de Petri em meio BDA com discos de micélio-ágar, de 5 mm, e foram incubados por sete dias. Em seguida, discos de micélio foram cortados e colocados em placas contendo de um lado o meio de cultura BDA e do outro lado da placa, foi colocado papel germitest esterilizado umedecido. Como testemunhas, foram utilizadas placas sem divisória, apenas com o fungo em meio BDA e em outra placa, com papel úmido, apenas as sementes. Após três dias da adição do fungo na placa dividida com BDA e papel, foram incorporadas 30 sementes de capim *Andropogon L.* sobre o papel umedecido com água esterilizada. As placas foram colocadas em câmara BOD, durante sete dias, sob temperatura de 28°C. Posteriormente, as sementes foram contabilizadas, sendo consideradas como germinadas aquelas que continham protusão da radícula acima de 2 mm, como descrito na RAS (Regra de Análise de Sementes, 2009). Os dados foram utilizados para compor a tabela da germinação utilizando-se a Equação¹, proposta por Labouriau e Valadares (1976), em que:

$$G = \left(\frac{N}{A}\right) * 100 \qquad \text{Equação}^1$$

Onde:

G= germinabilidade;

N= número de sementes germinadas;

A= número total de sementes colocadas para germinar.



2.5 ANÁLISE DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS - CG-EM

Método de captura dos compostos voláteis foi: Acondicionou-se em cada vial de 20 ml 12 fungos vivos cultivados durante 7 dias e lacrou-se, no laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Tocantins – UFT. Esses materiais foram dispostos em uma caixa de correio e enviado para O Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo – *Central Analítica*.

O vial foi submetido a temperatura de 80 °C por 30 minutos, após foi injetado uma alíquota de 2,5 ml do gás produzido no equipamento de CG-MS Marca Shimadzu Modelo QP 2020. Os parâmetros que foram feitos na análise, foi coluna DB5ms - 30 metros X 0,25 mm de diâmetro X 0,25 µm de espessura do filme gás de arraste o Hélio 6.0 com fluxo da coluna de 1,5 ml por minuto com a temperatura de 40°C à 250°C e o equipamento que foi feito a análise dos compostos voláteis foi o Shimadzu Modelo QP 2020 e o tipo do analisador foi o modo de ionização, EI (Ionização por Impacto Eletrônico de 70 eV) com a identificação dos compostos foi utilizado os espectros de massas de cada pico integrado do cromatograma obtido com a comparação com a base de dados da Biblioteca NIST14 e seu índice de Similaridade realizado pelo próprio software do equipamento.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do software R, para os resultados obtidos experimentalmente no ensaio de promoção de crescimento, pelo delineamento inteiramente casualizado com três repetições, aplicando a análise de variância (ANOVA) com o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 SELEÇÃO DE FUNGOS ENDOFITICOS DE PLANTAS CULTIVÁVEIS E NÃO CULTIVÁVEIS

Dos fungos obtidos das plantas foram selecionados 40 isolados das folhas, caule, raiz, brotos, frutos, sementes e rizoma das plantas cultivadas (nirá, milho, gergelim, pimenta, tomate, arroz, romã, açafrão, salsa) e não cultiváveis (alfavaca, joá bravo, aranto, mirra, espécie florestal, alecrim pimenta), denominados em T1 até T40 e a Testemunha, conforme o Quadro 1.



Quadro 1 – Plantas cultiváveis e não cultiváveis que foram obtidos os 40 isolados fúngicos.

PLANTA	CULTIVÁVEIS (C) E NÃO CULTIVÁVEIS (NC)	PARTE DA PLANTA	CÓDIGO DO ISOLADO FÚNGICO
Açafrão	C	Folha	T37
Arroz	C	semente	T18
Arroz	C	semente	T22
Gergelim	C	Raiz	T6
milho	C	Caule	T5
milho	C	Folha	T10
milho	C	Caule	T11
milho	C	Caule	T17
milho	C	Folha	T13
milho	C	Caule	T20
Milho	C	semente	T38
Nirá	C	semente	T31
pimenta	C	Folha	T7
pimenta	C	semente	T8
Pimenta	C	Folha	T12
Romã	C	Caule	T27
Romã	C	Folha	T29
Tomate	C	Folha	T9
Salsa	C	Raiz	T32
Tomate	C	Raiz	T35
Tomate	C	Caule	T36
Tomate	C	Folha	T40
Aranto	NC	Broto	T16
Aranto	NC	Broto	T34
alecrim pimenta	NC	Raiz	T30
alecrim pimenta	NC	Raiz	T39
Alfavacão	NC	folha	T1
Alfavacao	NC	Folha	T15
capim pé de galinha	NC	florescência	T33
espécie florestal	NC	Folha	T26
joá bravo	NC	Flor	T3
joá bravo	NC	Raiz	T4
joá bravo	NC	Flôr	T14
joá bravo	NC	Raiz	T21
joá bravo	NC	Folha	T23
joá bravo	NC	Caule	T25
joá bravo	NC	Raiz	T28
Mirra	NC	Folha	T24



Mirra	NC	Raiz	T19
-------	----	------	-----

Fonte: Autores, 2023

Dentre os 40 isolados, os que tiveram maiores efeitos na quebra de dormência do capim *Andropogon L.* foram um total de 12, os quais apresentaram o seguinte índice germinativo: T4 isolado da raiz do joá bravo, com índice germinativo de 57,7%, T6 (gergelim, 54,4%), T1 (Alfavacão, 52,2%), T5 (milho, 47,7%), T2 (Nirá, 44,4%), T34 (Aranto, 40%), T7 (pimenta, 38,8%), T28 (joá bravo 38,8%), T19 (Mirra, 36,6%), T8 (pimenta, 35,5%), T37 (Açafrão, 33,3%) e a testemunha, sementes molhadas com água destilada, com 29,9% de germinação. Alguns isolados, provavelmente inibiram a germinação em relação à testemunha, no qual podemos destacar o fungo obtido do Alecrim Pimenta, T39 (6,6%), conforme a Figura 1.

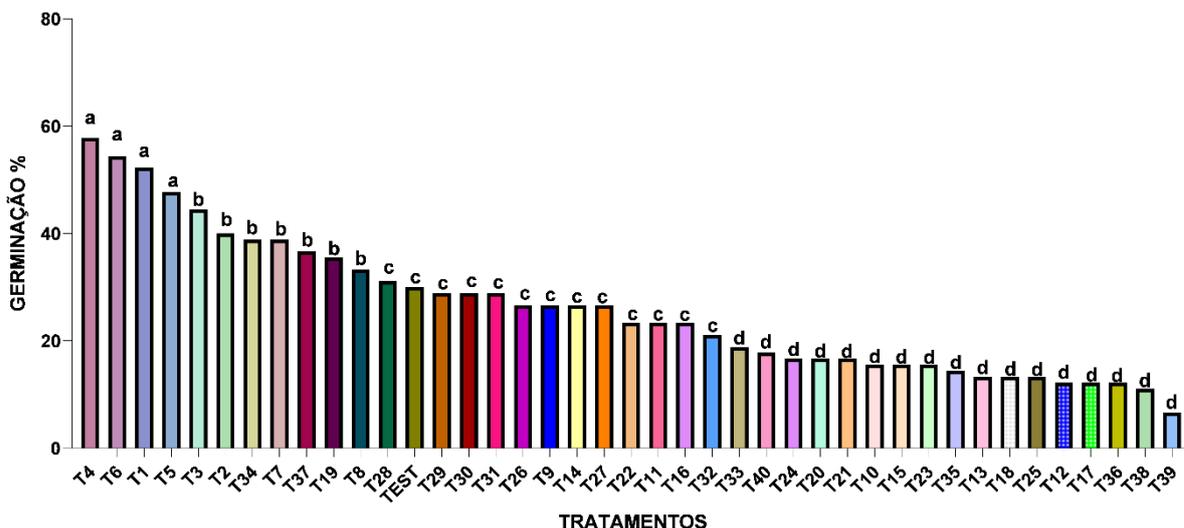
Neste sentido, os resultados apresentados na avaliação da quebra de dormência das sementes do capim *Andropogon L.* com o efeito dos Metabólicos secundários dos fungos endofíticos, os isolados com o maior índice germinativo superior a 50%, foram Joá bravo, isolado da raiz: (T4) teve o índice germinativo de 57,7%, Gergelim, raiz, T6 (54,4%), Alfavacão, folha, T1 (52,2%) e, em relação à testemunha (sementes umidecidas com água estéril) que foi de 31,1%.

Dentre os compostos majoritários analisados dos fungos endofíticos que obtiveram os melhores resultados foram: grupo das aminas dimetilamina (T1, T2, T3, T4, T7, T19, T28) e etilamina (T6, T8, T34, T37), grupo das amidas (formamida (T3, T28, T34, T37) e o grupo carboxila ácido fórmico, éster etenílico (T5, T8). Constata-se que esses fungos produziram diferentes estruturas químicas que são potencialmente bioativas (AZEVEDO; PEREIRA; ARAÚJO, 2000).

Na figura 1, segundo o teste de normalidade Shapiro-Wilk a 5% de significância, os resíduos podem ser considerados normais (valor $p=0.2290349$). E Dos 40 tratamentos, o grupo “a” com maior taxa de germinação foram os tratamentos (T4, T6, T1, T5), no que diz a respeito ao grupo “b” foram (T3, T2, T34, T7, T37, T19, T8), grupo “c” (T28, testemunha, T29, T30, T31, T26, T9, T14, T27, T22, T11, T16, T32) e o grupo “d” (T33, T40, T24, T20, T21, T10, T15, T23, T35, T13, T18, T25, T12, T17, T36, T38 E T39).



Figura 1 - Percentagem da germinação de sementes de capim *Andropogon L.* pelo Teste Scott-Knott, à 5% de significância, CV = 24.13%.



Fonte: Autores, 2023.

De acordo com a Tabela 1, dos 12 isolados fúngicos com potencial de estimular a quebra de dormência das sementes do capim *Andropogon L.*, foram identificados cinco gêneros de fungos: um (isolado) *Colletotrichum*, sete do gênero *Penicillium* dois do gênero *Aspergillus* um *Chaetomium* e *Trichoderma*.

Tabela 1: Isolados fúngicos com maior estímulo à quebra de dormência do capim *Andropogon L.* e os seus respectivos hospedeiros.

Nº	Espécie	Planta	Nome Científico	Parte da Planta
T1	<i>Colletotrichum sp.</i>	Alfavacão	<i>Ocimum gratissimum</i>	Folha
T2	<i>Penicilium sp.</i>	Nirá	<i>Allium tuberosum</i>	bulbo
T3	<i>Chaetomium sp.</i>	Joá bravo	<i>Solanum sp.</i>	Flôr
T4	<i>Penicilium sp.</i>	Joá bravo	<i>Solanum sp.</i>	Raiz
T5	<i>Penicilium sp.</i>	Milho	<i>Zea mays</i>	Caule
T6	<i>Penicilium sp.</i>	Gergelim	<i>Sesamum indicum</i>	Raiz
T7	<i>Penicilium sp.</i>	pimenta	<i>Capisicum sp.</i>	Folha
T8	<i>Penicilium sp.</i>	pimenta	<i>Capisicum sp.</i>	Semente
T19	<i>Aspergillus sp.</i>	Mirra	<i>Tetradenia riparia</i>	Raiz
T28	<i>Penicilium sp.</i>	Joá bravo	<i>Solanum sp.</i>	Raiz
T34	<i>Trichoderma sp.</i>	Aranto	<i>Kalanchoe sp.</i>	broto
T37	<i>Aspergillus sp.</i>	Açafrão	<i>Curcuma longa L.</i>	folha

Fonte: Autores, 2023.



3.2 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO POR CG/EM HASPACE ISOLADOS VIVOS

O perfil químico dos endófitos foi obtido pela técnica de CG/EM. Foram encontrados um total de 30 constituintes majoritários, produzidos pelos fungos isolados que estimularam a germinação das sementes do Capim *Andropogon L.*, expresso na tabela 2:

Tabela 2: Constituintes Majoritários da Análise do Perfil Químico Por CG/Em Haspace.

Código	Constituintes Majoritários
T1	Dimetilamina, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, 2-Heptanona, Butanal ou Butiraldeído, (+-)-5-Metil-2-hexanol e 2-Nonanona
T2	Dimetilamina, Dimetilsulfóxido e Dimetil sulfona, Hepta-4,6-diin-2-ol
T3	Dimetilamina, formamida, Dimetilsulfóxido, 1,3-Difluoro-2-propanol, Benzenometanol, .alfa-(1-aminoetil), Anfetamina, Acetamida, 2-fluoro-, Catina e Dimetil sulfona
T4	Dimetilamina, 3-metil-1-butanol, Dioxido de carbono, Óxido de etileno e Etino, flúor-
T5	Ácido fórmico, éster etílico
T6	Etilamina e 1-Metil-4-(6-metil hept-5-en-2-il)ciclo
T7	Dimetilamina e Dimetil sulfona
T8	Ácido fórmico, éster etílico e 3-metil-1-butanol
T19	Dimetilamina
T28	Dimetilamina e Formamida
T34	Etilamina, Formamida, 2-metil-1-butanol, 2,4-dimetil-, Hexano, 2-pentil-, Furano
T37	Etilamina, Formamida, Espiro[5.5]undec-2-eno, 3,7,7-trimetil-11-, Panaginsene, Cariofileno e (-)-Triciclo[6.2.1.0(4,11)]undec-5-eno, 1,5

Fonte: Autores, 2023.

Os constituintes majoritários de todos os isolados fúngicos que tiveram maior índice em porcentagem pela técnica de CG/EM foram: T1 a dimetilamina com 93%, T2 dimetilamina com 99,9%, T3 formamida com 65,2% e dimetilamina com 49,98%, T4 dimetilamina com 99,95%, T5 Ácido fórmico, éster etílico 100%, T6 etilamina 99,79%, T7 dimetilamina 99,79%, T8 Ácido fórmico, éster etílico 99,47, T19 dimetilamina 100%, T28 dimetilamina 50,31% e formamida 49,69%, T34 etilamina 49,49% e formamida 48,43% e T37 etilamina 49,86% e formamida 46,88%

Dentre os grupos químicos dos compostos majoritários analisados dos fungos endofíticos que mais expressivos foram: grupo das aminas dimetilamina (T1, T2, T3, T4, T7, T19, T28) e etilamina (T6, T34, T37), grupo das amidas formamida (T3, T28, T34, T37) e o grupo carboxila Ácido fórmico, éster etílico (T5, T8). Constata-se que esses fungos produziram diferentes estruturas químicas que são potencialmente bioativas (AZEVEDO; PEREIRA; ARAÚJO, 2000). De um modo geral, os resultados obtidos constataram que os fungos podem promover a quebra de dormência de sementes de plantas dormentes, por motivos fisiológicos e bioquímicos. Desta



forma, por razões mutualísticas e de forma, não parasitária, percebeu-se a interação planta e microrganismo, que pode-se considerar como fungos endofíticos.

4 DISCUSSÃO

O capim *Andropogon L.* tem grande relevância na pecuária brasileira pela sua rusticidade e bom desempenho no campo, e é recomendado para regiões de solos ácidos, baixa fertilidade e em condições de estresse hídrico (JANK et al., 2013). Ainda, Sanchez e Ferguson (1986) enfatizam que o capim *Andropogon L.* tem baixo poder germinativo nos primeiros meses de colheita pelo seu processo de maturação.

Dessa forma, ainda faltam muitos estudos sobre métodos para melhorar a germinação na homogeneização na germinação das sementes de capim *Andropogon L.* São necessárias alternativas para melhorar a taxa germinativa destas forrageiras onde nas gramíneas forrageiras tropicais, a expressão da dormência está associada à causas físicas e fisiológicas presentes nas sementes recém-colhidas (FEITOSA, et al., 2015).

Quanto aos resultados obtidos neste trabalho sobre fungos endofíticos e seus metabólicos, um total de 12 isolados promoveram a quebra de dormência do capim *Andropogon L.*, provavelmente em decorrência dos compostos produzidos por eles, os quais apresentaram uma grande variedade de metabólicos.

Verificou-se que dos 40 tratamentos 30% tiveram bons resultados em relação à testemunha, porém apenas os tratamentos T4, T6 e T1 estimularam o índice germinativo das sementes com índice superior a 50%, representados respectivamente pelos fungos endossimbiontes: *Penicillium sp.* (57,7%), *Penicillium sp.* (54,4%) e *Colletotrichum sp.* (52,2%). Geralmente, os fungos do gênero *Penicillium* são encontrados em quase todos os substratos na natureza e normalmente são considerados saprófitas ou contaminantes. Também são frequentemente associados às sementes, podendo causar prejuízos em pós-colheita.

Estudos realizados por KHAN, Abdul Latif et al. (2011) verificaram que a espécie *Penicillium funiculosum* melhorou significativamente a germinação das sementes de soja e o crescimento das plantas em relação ao controle.

Acredita-se que alguns fungos possam aumentar o processo germinativo das sementes, por meio da produção de substâncias que promovam a quebra de dormência de sementes como é o caso dos resultados obtidos no presente trabalho no capim *Andropogon L.* Os resultados obtidos



demonstraram que houve maior incidência dos isolados fúngicos do gênero *Penicillium* spp. por meio dos tratamentos T2, T4, T5, T6, T7, T8 e T10. De acordo com TOGUEO (2020), o gênero *Penicillium* spp. endofítico pode proteger a planta hospedeira contra múltiplos estresses, com diversas funções biológicas com potencial antibiótico e possuindo compostos bioativos com possível utilização em múltiplos processos agrícolas.

Outro gênero encontrado foram os *Aspergillus* nos tratamentos T19 e T37, que também promoveram a quebra de germinação das sementes do capim *Andropogon* L.. Estudos realizados por Mathur, et al. (2022) constataram efeitos benéficos promovidos pelo *Aspergillus niger* endofítico encontrado na planta medicinal *Albizia lebbek* (L.). Os autores constataram que o extrato fúngico melhorou a porcentagem e o vigor das sementes de trigo, cevada e milho em relação à testemunha e os resultados demonstraram que os compostos produzidos influenciaram na qualidade das sementes.

Outro resultado obtido destacou o gênero *Colletotrichum* (T1) como tendo estimulado a germinação das sementes, em mais de 50%, em relação à testemunha, não tratada, ficando em 3º lugar entre os melhores tratamentos. Vale ressaltar que algumas espécies deste gênero são reportadas como sendo um dos principais fitopatógenos de muitas plantas cultivadas em todo mundo. Por outro lado, temos que considerar que a maioria dos microorganismos são poucos estudados quanto aos benefícios que podem representar ao processo ecológico nas relações interespecíficas de forma positiva (PAMPHILE et al., 2017).

Resultados como este provocam discussões tanto na área ecológica e conservação como a importância biotecnológica que os fungos podem ter para melhoria da agricultura sendo que não apenas um gênero pode ser comercial, mas um vasto número de microorganismos podem contribuir para um desenvolvimento de uma agricultura sustentável e não provocando desequilíbrios ambientais.

Outro fator importante foi que dos 12 isolados fúngicos e que foram encontrados em 9 plantas cultiváveis e não cultiváveis em várias partes da planta, sendo: nirá no bulbo, joá bravo na raiz e flôr, milho no caule, gergelim na raiz e *pimenta* na folha e semente foram encontrados os isolados fúngicos *Penicillium* spp. seguidos do *Aspergillus* ssp. que foram expressados no açafraão na folha, posteriormente o *Trichoderma* sp. no broto do aranto, *Chaetomium* sp na flôr do joá bravo e o *Colletotrichum* sp. na folha no broto alfavação. Desta forma, constata-se que os fungos endofíticos sobrevivem em várias partes das plantas (KHAN et al., 2015).



Dentre os fungos endofíticos que promovem crescimento em plantas os isolados da raiz são os mais estudados. Porém, os resultados obtidos demonstram que eles estão presentes em grande quantidade na parte aérea, incluindo as folhas, bulbos, caule, sementes e flores.

Dos 12 fungos endofíticos estudados, apenas dois (*Penicillium*, isolado do milho e da pimenta) não expressaram os compostos majoritários à base de amina e amida. Os demais tiveram como principais constituintes a dimetilamina que é uma amina alifática secundária em ambos os substituintes Nitrogênio (N) são metil. É uma amina alifática secundária e um membro das metilaminas. A etilamina é uma amina alifática primária de dois carbonos. A formamida que é a amida do ácido monocarboxílico mais simples, obtida pela condensação formal do ácido fórmico com amônia (PUBCHEM, 2022). O *Penicillium*, isolado do milho (T8) e da pimenta (T5) produziram o composto Ácido fórmico, éster etílico, que o ácido fórmico é o ácido carboxílico mais simples, contendo um único carbono que ocorre naturalmente em várias fontes como agente antibacteriano, solvente prótico, metabólito, solvente e adstringente (PUBCHEM, 2022).

A dimetilamina e etilamina são “isômeros”, isso denota que dos 12 fungos que provavelmente influenciaram a germinação das sementes do capim *Andropogon L.*, 10 tiveram compostos majoritários da família das aminas. Daoudi e Biondi (1995), explana que as aminas estão envolvidas no processo de crescimento e regulação das plantas.

Os fungos endofíticos possuem suprimento adicional de N para as plantas, fornecido pelos endófitos, sendo a forma direta que estes microrganismos utilizam para promover o crescimento de diferentes culturas, os fungos endofíticos produzem uma variedade de substâncias, consiste em uma fonte importante de compostos biologicamente ativos que têm aplicações agrícolas promissoras (RIBEIRO; PAMPHILE, 2017).

Contanto, é necessário encontrar estratégias atuais e futuras da comunicação química de fungos endofíticos e com suas plantas hospedeiras para produção sustentável de produtos naturais desejáveis (KUSARI, HERTWECK; SPITELLER, 2012). No entanto, as interações celulares e moleculares entre os fungos endofíticos e os promotores de crescimento de plantas permanecem menos exploradas (TIAN, et al., 2022).

5 CONCLUSÕES

Os isolados fúngicos *Penicillium* spp. tiveram os melhores efeitos na quebra de dormência das sementes de *Andropogon*.

Os fungos endofíticos apresentaram como compostos majoritários a dimetilamina e etilamina que são “isômeros” e Ácido fórmico, éster etílico.

Foram encontrados fungos endofíticos em vários órgãos da parte aérea das plantas cultiváveis e não cultiváveis como também nas raízes.

REFERÊNCIAS

Adeleke, B.S., Fadiji, A.E., Ayilara, M.S., Igiehon, ON, Nwachukwu, BC, & Babalola, OO (2022). Estratégias para potencializar o uso de endófitos como bioinoculantes na agricultura. *Horticulturae*, 8 (6), 498.

Alliprandini, L. F., Batista, L. A. R., & Godoy, R. (1991). Dormência em sementes de *Andropogon*. *Embrapa-UEPAE de São Carlos. Comunicado Técnico*.

Antoun, H., & Prévost, D. (2006). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. *PGPR: Biocontrol and biofertilization*, 1-38.

Azad, K., & Kaminskyj, S. (2016). A fungal endophyte strategy for mitigating the effect of salt and drought stress on plant growth. *Symbiosis*, 68, 73-78.

Azevedo, J. L., Maccheroni Jr, W., Pereira, J. O., & De Araújo, W. L. (2000). Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic journal of biotechnology*, 3(1), 15-16.

Bacon, C. W., & White, J. (Eds.). (2000). *Microbial endophytes*. CRC press.

Bogas, A. C., Cruz, F. P. N., Lacava, P. T., & Sousa, C. P. (2022). Endophytic fungi: an overview on biotechnological and agronomic potential. *Brazilian Journal of Biology*, 84.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Secretaria de Defesa Agropecuária*. – Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399 p.

Carvalho, M. A., da Fonseca, C. E. L., Maciel, G. A., Verzignassi, J. R., Gusmão, M. R., & Andrade, C. M. S. (2021). BRS Sarandi: nova cultivar de *Andropogon gayanus* para pastagens. *Planaltina, DF: Embrapa Cerrados*.

Clayton, W.D. & Renvoize, S.A. (1982). Gramineae. *In Flora of Tropical East Africa* (R.M. Polhill, ed.). Balkema, Rotterdam, part 3, p.767-782.

Daoudi, E.H. & Biondi, S. (1995). Metabolisme et role des polyamines dans le developpement de la plante. *Acta bot. Gallica*, 142, 209–233.

dos Santos, P. R. R., de Souza Carlos Mourão, D., Dalcin, M. S., Osorio, P. R. A., de Oliveira Lima, F. S., & dos Santos, G. R. (2022). Pathogenicity of fungi associated with *Andropogon* grass seeds. *Journal of Plant Pathology*, 104(2), 565-573.

Feitosa, F. M., Júnior, I. O., David, A. M. S., Rodrigues, B. R. A., Damascena, N. S., Araújo, E. D., & Amaro, H. T. R. (2015). Efeito dos reguladores giberelina e citocinina na quebra de dormência de sementes de capim-andropogon. *Revista de Ciências Agrárias*, 38(1), 34-40.

Fonte: Recuperada do *PubChem*. <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.



Ghimire, S. R., Charlton, N. D., Bell, J. D., Krishnamurthy, Y. L., & Craven, K. D. (2011). Biodiversity of fungal endophyte communities inhabiting switchgrass (*Panicum virgatum* L.) growing in the native tallgrass prairie of northern Oklahoma. *Fungal Diversity*, 47, 19-27.

Hoffmann, A., de MORAES, E. H. B. K., Mousquer, C. J., Simioni, T. A., Gomer, F. J., Ferreira, V. B., & da SILVA, H. M. (2014). Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período da seca. *Nativa*, 2(2), 119-130.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo agropecuário: resultados definitivos 2017. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>. Acesso em: 24 de set de 2022.

Italiano, E. C., & RAMOS, G. (1999). Recomendações para produção de sementes de capim andropogon na região Meio-Norte.

Jank, L., Braz, T.G.S. & Martuscello, J.A. Seção 3 (2013). Espécies forrageiras: Gramíneas de clima tropical. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. Forragicultura: Ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros. *Funep*, 2014. p. 148-174.

Khan, A. L., Hamayun, M., Kim, Y. H., Kang, S. M., & Lee, I. J. (2011). Ameliorative symbiosis of endophyte (*Penicillium funiculosum* LHL06) under salt stress elevated plant growth of *Glycine max* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(8), 852-861.

Khan, A. L., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., & Lee, I. J. (2015). Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. *Critical reviews in biotechnology*, 35(1), 62-74.

Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012). Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry & biology*, 19(7), 792-798.

LABOURIAU, L.G. & VALADARES, M.B. (1976). On the germination of seeds of *Calotropis procera*. *Anais da academia Brasileira de Ciências*, v.48, p.174-186, 1976.

Mathur, P., Chaturvedi, P., Sharma, C., & Bhatnagar, P. (2022). Improved seed germination and plant growth mediated by compounds synthesized by endophytic *Aspergillus niger* (isolate 29) isolated from *Albizia lebbek* (L.) Benth. *3 Biotech*, 12(10), 271.

Moraes, G. K. A., Ferraz, L. F., & Chapla, V. M. (2020). Compostos orgânicos voláteis de fungos endofíticos e suas aplicações biotecnológicas. *RVq*, 12(6), 1498-510.

Morath, S. U., Hung, R., & Bennett, J. W. (2012). Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal biology reviews*, 26(2-3), 73-83.

Pamphile, J. A., Costa, A. T., Rosseto, P., Polonio, J. C., Pereira, J. O., & Azevedo, J. L. (2017). APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EXTRAÍDOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS: O CASO DO *Colletotrichum* sp. *Revista Uningá*, 53(1).



PESKE, S.T. O mercado de sementes no Brasil. *SeedNews*, 03 maio 2016. Disponível em: <https://seednews.com.br/artigos/546-o-mercado-de-sementes-no-brasil-edicao-maio-2016>.

Acesso em: 02 nov 2022.

Rana, K. L., Kour, D., Sheikh, I., Yadav, N., Yadav, A. N., Kumar, V., ... & Saxena, A. K. (2019). Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. *Advances in endophytic fungal research: present status and future challenges*, 105-144.

Ribeiro, A.D.S., & Pamphile, J.A. (2017). Micro-organismos endofíticos e seu potencial biotecnológico. *Uningá Review*, 29(3).

Sánchez, M., & Ferguson, J. E. (1986). Medición de calidad en semillas de *Andropogon gayanus*. *Revista Brasileira de Sementes*.

SERAFIM, V., GOMES, V., & SEIXAS, A. (2015). Manejo do pastejo para capim-*Andropogon*-revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça*, 24, 1-9.

Tian, Y., Fu, X., Zhang, G., Zhang, R., Kang, Z., Gao, K., & Mendgen, K. (2022). Mechanisms in growth-promoting of cucumber by the endophytic fungus *Chaetomium globosum* strain ND35. *Journal of Fungi*, 8(2), 180.

Togueo, R.M.K; Boyom, F.F. Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications. 3 *Biotech*, v. 10, n.3, pág.1-35, 2020.

Vivian, R. S. A. A., Silva, A. A., Gimenes Jr, M., Fagan, E. B., Ruiz, S. T., & Labonia, V. (2008). Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência: breve revisão. *Planta daninha*, 26, 695-706.

Watanabe, T. (2010). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC press.

Xia, Y., Sahib, M. R., Amna, A., Opiyo, S. O., Zhao, Z., & Gao, Y. G. (2019). Culturable endophytic fungal communities associated with plants in organic and conventional farming systems and their effects on plant growth. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.

Zanin, A., & Longhi-Wagner, H. M. (2011). Revisão de *Andropogon* (Poaceae-*Andropogoneae*) para o Brasil. *Rodriguésia*, 62, 171-202.