



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
BIOTECNOLOGIA – REDE BIONORTE



**FUNGOS ENDOFÍTICOS, ESTIMULADORES DE CRESCIMENTO,
ISOLADOS DE PLANTAS CULTIVÁVEIS E NÃO CULTIVÁVEIS**

TATIANI PEREIRA DE SOUZA FERREIRA

Gurupi - Tocantins

2024

TATIANI PEREIRA DE SOUZA FERRERIA

**FUNGOS ENDOFÍTICOS, ESTIMULADORES DE CRESCIMENTO,
ISOLADOS DE PLANTAS CULTIVÁVEIS E NÃO CULTIVÁVEIS**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins, com o requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos

Coorientador (a): Profa. Dra. Talita Pereira de Souza Ferreira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

P436f Pereira de Souza Ferreira, Tatiani.

Fungos Endofíticos, Estimuladores de Crescimento, Isolados de Plantas Cultiváveis e Não Cultiváveis. / Tatiani Pereira de Souza Ferreira. – Palmas, TO, 2024.

111 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Biodiversidade e Biotecnologia, 2024.

Orientador: Gil Rodrigues dos Santos

Coorientador: Talita Pereira de Souza Ferreira

1. endossimbiontes. 2. endossimbiontes; compostos orgânicos voláteis. 3. promotor de crescimento.. 4. bioestimuladores. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

TATIANI PEREIRA DE SOUZA FERRERIA

**FUNGOS ENDOFÍTICOS, ESTIMULADORES DE CRESCIMENTO,
ISOLADOS DE PLANTAS CULTIVÁVEIS E NÃO CULTIVÁVEIS**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de
Doutorado do Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE,
na Universidade Federal do Tocantins, com o
requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor
em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em: 08/07/2024

Banca Examinadora



Documento assinado digitalmente
GIL RODRIGUES DOS SANTOS
Data: 04/09/2024 09:56:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos (Orientador)
Universidade Federal do Tocantins (UFT)



Documento assinado digitalmente
LUIS OSWALDO VITERI JUMBO
Data: 04/09/2024 08:51:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luis Oswaldo Viteri Jumbo
Universidade Federal do Tocantins (UFT)



Documento assinado digitalmente
MICHELLE DA CUNHA ABREU XAVIER
Data: 04/09/2024 11:51:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Michelle da Cunha Abreu Xavier
Universidade Federal do Tocantins (UFT)



Documento assinado digitalmente
VANESSA MARA CHAPLA
Data: 04/09/2024 07:39:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Márcio Ootani
JCO - Bioprodutos

Prof. Dra. Vanessa Mara Chapla
Universidade Federal do Tocantins (UFT)

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Tatiani Pereira de Souza Ferreira, (x) autorizo () não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “Fungos Endofíticos, Estimuladores de Crescimento, Isolados de Plantas Cultiváveis e Não Cultiváveis ” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - RedeBIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto biblioteca da Instituição Certificadora.

Gurupi, 08 de setembro de 2024.

Documento assinado digitalmente
 **TATIANI PEREIRA DE SOUZA FERREIRA**
Data: 04/09/2024 07:23:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Tatiani Pereira de Souza Ferreira

CPF: 916.063.-221-68

RG: 456283 SSP-TO

DEDICATÓRIA

Dedico, ao meu pai Idemar (in memoriam),
minha mãe Mara, Talita (irmã), Junior, Uti,
Emil e João Marcus (irmãos), Nicholas,
Nicole, Bernardo, Bento e Benjamim
(sobrinhos).

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos meus pais idemar e Mara, principalmente a minha mãe e a minha irmã Talita que ajudaram muito, nesse período de estudo em todos os sentidos...

À Minha sobrinha Nichole que fez as traduções para o inglês...

E todos os meus tios especialmente Ruti, Isaias, Beta, Mimoso, Nica e Iva...

À Técnica do Laboratório de Fitopatologia a Dra. Dalmácia e a todos no laboratório de Fitopatologia...

À Vanessa e Gessyk (alunas) que me ajudou quando mais precisei...Deus vai recompensar...

À professora Dra. Vanessa e a Técnica de laboratório Msc. Claudiany por terem permitido o uso do laboratório e também repassado os seus conhecimentos...

Ao professor Dr. Fernando pelas orientações de estatística.....

À Professora Michelle...

Todos os meus colegas do Laboratorio de Fitopatologia que contribuíram muito no processo da pesquisa Keliany, Elsiane, Stephane e Lorena...

Ao professor Dr. Helson e especialmente o Jefferson.

Especialmente ao professor Dr. Gil e a Professora Dra. Talita e Dr. Luis Vitela pelas orientações, que Deus sempre esteja com vocês dando sabedoria e entendimento no dom que vocês possuem de ensinar.

E ao Programa Bionorte especialmente aos professores Dr. Alex Sander, Dr. Emerson e Valmir. CAPES pela bolsa concedida por um ano.

E todos os professores da Bionorte que me ensinaram muito, o conhecimento sobre uso e conservação da biodiversidade brasileira vai ficar comigo até a minha partida.

EPIGRAFE

**“Em algum lugar, alguma
coisa incrível está esperando
para ser descoberta.”**

CARL SAGAN

FERREIRA, Tatiani Pereira de. Fungos Endofíticos, Estimuladores de Crescimento, Isolados de Plantas Cultiváveis e Não Cultiváveis. 2024, 111f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins.

RESUMO

Os fungos endofíticos são microrganismos que vivem no interior das plantas por pelo menos uma parte de seu ciclo de vida sem causar dano algum, produzindo compostos voláteis e não voláteis com os seguintes efeitos: estimuladores de crescimento e desenvolvimento das plantas, aumento da mineralização e disponibilidade de nutrientes, produzindo compostos estimulantes liberando fitohormônios e quebra de dormência. O presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos potenciais de fungos endofíticos isolados de plantas cultivadas e não-cultivadas. Inicialmente, realizada 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. sendo selecionados 40 isolados onde um total de 12 isolados fúngicos promoveram a quebra de dormência da semente do capim *Andropogon* L. Também foram realizadas análises dos compostos voláteis dos 12 isolados fúngicos endofíticos utilizando a técnica HeadSpace, por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas - CG-EM. A análise dos compostos revelou 30 constituintes majoritários. O segundo experimento foi avaliado o potencial estimulador de fungos endofíticos na soja (*Glycine max* (L.) Merril. Sendo coletadas 12 amostras de fungos endofíticos em diversas partes de várias espécies de plantas cultivadas. Estes fungos foram isolados, identificados e cultivados durante 72h e, posteriormente, sendo preparando um extrato destes fungos (bionoculantes/bioinsumo) na concentração de 60%. para ser aplicada em plântulas. Plântulas de soja previamente semeadas em potes de plástico de 500 ml contendo substrato esterilizado e sem nenhum tipo de adubação e com 7 dias de idade foram pulverizadas com 5mL da solução previamente preparada. As plântulas foram mantidas em estufa a 28°C e fotoperíodo 12 horas. Após de 8 dias desde a aplicação dos extratos foram avaliados o tamanho e o diâmetro do caule e a raiz e determinado a sua massa fresca e seca. Os resultados mostram o potencial uso destes fungos como bioestimuladores radiculares e do caule da soja. O terceiro experimento verificou a influência de fungos endofíticos isolados de plantas cultivadas e não cultiváveis sobre desenvolvimento de plantas do capim Mombaça. O experimento foi conduzido em vasos que continham 10 kg de substrato que foram utilizadas duas testemunhas que continham apenas o CaCO_3 e outro $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ com a mesma proporção que foi adicionado para os vasos que continham os fungos. As sementes ficaram 24 horas emergidas em frascos

que continham 300 ml de água destilada que possuíam conídios e hifas de 12 isolados fúngicos endofíticos (tratamentos). Foi realizada a semeadura do capim Mombaça e com 80 dias foi realizado a análise das variáveis resposta. Portanto, verificou-se que os isolados fúngicos endofíticos são potencialmente bioestimuladores melhorando a qualidade da forrageira. Os resultados obtidos são promissores e podem fornecer subsídios ao mercado biotecnológico agrícola.

Palavra Chave: Fungos endossimbiontes; compostos orgânicos voláteis; promotor de crescimento.

FERREIRA, Tatiani Pereira de. **Growth stimulants, isolated from cultivated and uncultivated plants.** 108f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology). Federal University of Tocantins, TO – BRAZIL.

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms that live inside plants for at least part of their life cycle without causing any damage, producing volatile and non-volatile compounds with the following effects: stimulators of plant growth and development, increased mineralization and availability of nutrients, producing stimulating compounds releasing phytohormones and breaking dormancy. The present work aims to investigate the potential effects of endophytic fungi isolated from cultivatable and non-cultivatable plants. Initially, a screening of isolates from cultivable and non-cultivable plants was carried out to select endophytic fungi with the potential to stimulate the breaking of dormancy in *Andropogon* L. grass seeds, with 40 isolates being selected, where a total of 12 fungal isolates promoted the breaking of dormancy in the *Andropogon* L grass seed. Analyses of the volatile compounds of the 12 endophytic fungal isolates were also carried out using the HeadSpace technique, by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry - GC-MS. The compound analysis revealed 30 major constituents. The second experiment evaluated the stimulatory potential of endophytic fungi in soybean (*Glycine max* (L.) Merril. 12 samples of endophytic fungi were collected from different parts of various species of cultivable plants. These fungi were isolated, identified and cultivated for 72 hours and, subsequently, preparing an extract of these fungi (bionoculants/bioinput) at a concentration of 60% to be applied to soybean seedlings. These same seedlings were previously sown in 500 ml plastic pots containing sterilized substrate without any type of fertilizer and sprayed with 5mL of the previously prepared solution when they were 7 days old. The seedlings were kept in an oven at 28°C and a 12-hour photoperiod. After 8 days since the application of the extracts, the size and diameter of the stem and root were evaluated and their fresh and dry mass were determined. The results show the potential use of these fungi as root and stem biostimulators in soybean. The third experiment verified the influence of endophytic fungi isolated from cultivatable and non-cultivable plants on the development of Mombaça grass plants. The experiment was conducted in pots that contained 10 kg of substrate, in which two controls that contained only CaCO_3 and another $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ with the same proportion that was added to the pots that contained the fungi were used. The seeds were left to emerge for 24 hours in bottles containing 300 ml of distilled water containing conidia and hyphae from 12 endophytic fungal

isolates (treatments). Mombaça grass was sown and after 80 days the response variables were analyzed. Therefore, it was found that endophytic fungal isolates are potentially biostimulators, improving forage quality. The results obtained are promising and can provide subsidies to the agricultural biotechnology market.

Keyword: Endosymbiont fungi; volatile organic compounds; growth promoter.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

FIGURA 1: <i>Andropogon gayanus</i> cv. BRS	23
FIGURA 2: <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça	26
FIGURA 3: Soja [(<i>Glycine max.</i> (L.)	28

CAPITULO II

FIGURA 1: Percentagem da germinação de sementes de capim <i>Andropogon</i> L. pelo Teste Scott-Knott, à 5% de significância, CV = 24.13%.	60
---	----

CAPITULO III

FIGURA 1: Efeito no comprimento aéreo (A), diâmetro do caule (B) e comprimento da raiz (C) da soja quando exposta a extratos de diferentes fungos endofíticos. As barras representam as medias de três réplicas e as linhas verticais o desvio padrão, letras iguais nas barras significa ausência de diferencia estatística pelo teste Scott-Knott ($P < 0.05$)... ..	74
FIGURA 2: Efeito na massa aérea fresca e seca (A,B) e massa radicular (C,D) da soja quando exposta a extratos de diferentes fungos endofíticos; As barras representam as medias de três réplicas e as linhas verticais o desvio padrão, letras iguais nas barras significa ausência de diferencia estatística pelo teste Scott-Knott ($P < 0.05$).. ..	75

CAPITULO IV

FIGURA 1: Efeito de fungos endofiticos no número (A) e comprimento das folhas (B) e nos perfilhos do capim Mombaça (C) (<i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça). Barras representam a media e as líneas verticais nestas o desvio padrão; letras diferentes sobre as barras significa diferença estatística por o Kruskal-Wallis test (dados normais) ou o teste Tukey (não normais) com significância de $P < 0.05$	86
FIGURA 2. Efeito de fungos endofiticos na massa aerea fresca (A), seca (B) e no diâmetro do caule (C) do capim Mombaça (C) (<i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça). Barras indicas a media e líneas verticais nestas o desvio padrão; letras diferentes nas baras significa diferença estatística por o Kruskal-Wallis test $P < 0.05$	87
FIGURA 3. Efeito de fungos endofiticos na parte radicular; comprimento (A), diameyro (B), massa fresca (C) e massa seca (C) da raiz de <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça. Barras representan a media e líneas verticais nestas o desvio padrão; letras diferentes nas sobre as	

barras indica diferença estatística por o Kruskal-Wallis test (dados normais) ou o teste Tukey (não normais) com significância de $P < 0.05$ 88

LISTA DE TABELA

CAPITULO I

TABLE 1 - Secondary Metabolisms Produced by Endophytic Fungi.....	45
---	----

CAPITULO II

TABELA 1: Isolados fúngicos com maior estímulo à quebra de dormência do capim <i>Andropogon L.</i> e os seus respectivos hospedeiros padrão.	61
TABELA 2: Constituintes Majoritários da Análise do Perfil Químico Por CG/Em Haspace padrão.	62

CAPITULO III

Tabela 1: Isolados fúngicos obtidos de diferentes partes de várias espedeis de plantas	72
--	----

CAPITULO IV

Tabela 1: Isolados fúngicos obtidos de diferentes partes de várias espedeis de plantas	84
--	----

LISTA DE QUADRO

INTRODUÇÃO GERAL

QUADRO 1: Critérios simbióticos utilizados para caracterizar classes de endofíticos fúngicos	29
--	----

CAPITULO II

QUADRO 1- Plantas cultiváveis e não cultiváveis que foi obtidos os 40 isolados fúngicos..	58
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	20
1.1 OBJETIVOS	21
1.1.1 Objetivos Geral	21
1.1.2 Objetivos Específicos	21
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1 CAPIM <i>Andropogon</i> L.	22
2.1.1 Caracterização Do Capim <i>Andropogon</i> L.....	22
2.1.2 Botânica Capim <i>Andropogon</i> L.....	23
2.1.3 Dormência Capim <i>Andropogon</i> L.....	24
2.2 CAPIM <i>Panicum maximum</i> cv. <i>Mombaça</i>	25
2.2.1 Caracterização Do Capim <i>Panicum maximum</i> cv. <i>Mombaça</i>	24
2.2.2 Botânica Capim <i>Panicum maximum</i> cv. <i>Mombaça</i>	25
2.3 CULTURA DA SOJA [<i>Glycine max</i> (L.) Merr.]	26
2.3.1 Caracterização Cultura Da Soja [<i>Glycine max</i> (L.) Merr.]	27
2.3.2 Botânica CULTURA DA SOJA [<i>Glycine max</i> (L.) Merr.]	28
2.4 FUNGOS ENDOFÍTICOS	29
2.4.1 Fungos Endofíticos Produção de Metabólicos	30
2.4.1.1 Fungos endofíticos e produção de COV's.....	30
2.4.2 Fungos Endofíticos na Agricultura	29
2.4.3 Fungos Endofíticos e a Capacidade de Quebra de Dormência.....	31
2.4.4 Fungos Endofíticos Em Destaque Na Agricultura	31
2.4.5.1 <i>Penicillium</i> sp.	32
2.4.5.2 <i>Aspergillus</i> sp.	32
2.4.5.3 <i>Paecilomyces</i> sp.	33
2.4.5.4 <i>Trichoderma</i> sp.	33
2.4.5.5 <i>Purpureocillium</i> sp.	33
2.4.5.6 <i>Aureobasidium</i> sp.	34
2.4.5.7 <i>Chaetomium</i> sp.	34
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
 4 CAPITULO I - ENDOPHYTIC FUNGI AND THEIR COMPOUNDS OF AGRONOMIC INTEREST.....	 43

4.1 INTRODUCTION	43
4.2 MATERIAL AND METHODS	45
4.3 RESULTS AND DISCUSSION	45
4.5 FINAL CONSIDERATIONS	48
4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
 5 CAPITULO II PROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE PLANTAS CULTIVÁVEIS E NÃO CULTIVÁVEIS E SEUS EFEITOS NA QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE CAPIM <i>Andropogon</i> L.	52
5.1 INTRODUÇÃO	53
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	55
5.2.1 Isolamento Dos Fungos Endofíticos.....	55
5.2.2 Purificação Dos Fungos Endofíticos.....	56
5.2.3 Identificação Dos Fungos Endofíticos	56
5.2.4 Seleção De Fungos Endofíticos Promotores De Crescimento Das Sementes Do Capim <i>Andropogon</i> L.....	56
5.2.5 Análise Dos Compostos Voláteis Por Cromatografia Gasosa Acoplada À Espectrometria De Massas - CG-EM	57
5.2.6 Análise Estatística	57
5.3 RESULTADOS	58
5.3.1 Seleção De Fungos Endofíticos De Plantas Cultiváveis E Não Cultiváveis	58
5.3.2 Análise Do Perfil Químico Por CG/EM Haspace Isolados Vivos	60
5.4 DISCUSSÃO	62
5.5 CONCLUSÕES	64
5.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
 6 CAPITULO III -EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS POTENCIALMENTE PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM PLANTULAS DA SOJA (<i>Glycine max</i> (L.) Merril	68
6.1 INTRODUÇÃO	70
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	71
6.2.1 Isolamento Dos Fungos Endofíticos.....	71
6.2.2 Identificação Dos Fungos Endofíticos	72
6.2.3 Obtenção do Extrato Bruto.....	72

6.2.4 Bioensaio das Plântulas da Soja.....	72
6.2.5 Análise Estatística	73
6.3 RESULTADOS	73
6.4 DISCUSSÃO	75
6.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
 7 CAPITULO IV - EFEITO DE FUNGOS ENDOFITICOS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DO CAPIM MOMBAÇA (<i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça)	82
7.1 INTRODUÇÃO	82
7.2 MATERIAL E MÉTODOS	84
7.2.1 Isolamento Dos Fungos Endofíticos.....	84
7.2.2 Identificação Dos Fungos Endofíticos	84
7.2.3 Avaliação Das Atividades De Promoção Do Crescimento Vegetal De Diferentes Isolados De Fungos Endofíticos	85
7.2.5 Análise Estatística	86
7.3 RESULTADOS	86
7.3.1 Efeito de fungos endofiticos na parte aérea do capim Mombaça <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça.....	86
7.3.2 Efeito de fungos endofiticos na parte radícula do capim Mombaça <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça.....	87
7.4 DISCUSSÃO	88
7.5 CONCLUSÕES	92
7.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
APENDICE	98
ANEXOS	107

1 INTRODUÇÃO GERAL

O território brasileiro compreende seis diferentes biomas (ecoregões) que são hotspots mundiais de biodiversidade, todas são cultiváveis (LUCAS, CALDARELLI e VENTURA, 2023). Em 2021, a produção agrícola e pecuária representou 8% do Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil (USDA, 2022).

Na agricultura, os fertilizantes são essenciais para melhorar a produção agrícola (KAH *et al.*, 2013). Porém, com o aumento crescente de insumos agrícolas desenfreado, estes biomas estão sendo prejudicados com os assoreamentos dos rios, salinização do solo, desertificação, poluição do ar e água e extinção da fauna e flora brasileira (CUI *et al.*, 2020; SHARMA *et al.*, 2019; KAH *et al.*, 2013).

Outro fator que deve ressaltar é a problemática do uso indiscriminado do uso de fertilizantes vem causando no decorrer dos últimos anos o desequilíbrio de nutrientes (PENUELAS, COELLO, SARDANS, 2023). Então, ocorre uma desvantagem do uso excessivo de fertilizantes é a alteração irreversível da natureza química do solo, afetando assim negativamente a produtividade das culturas (BABU *et al.*, 2022).

A biotecnologia agrícola veio sanar, inovar e mudar o rumo da agropecuária e o uso indiscriminado de produtos químicos para melhorar o desenvolvimento das culturas agrícolas de importância econômica (SENE *et al.*, 2023; KOUR *et al.*, 2019).

Dentre as ferramentas biotecnológicas agrícola pode-se enfatizar os microrganismos endofíticos, com destaque os fungos endofíticos que são encontrados naturalmente nos tecidos das plantas e não causam sintomas detectáveis de doenças na planta (OMOMOWO *et al.*, 2023; WHITE *et al.*, 2019).

A relação entre plantas e endófitos através da relação simbiótica a planta fornece carboidratos que são vitais para o crescimento dos endófitos e, em troca, os metabólitos secundários dos endófitos podem ser fornecidos às plantas com tolerância a uma variedade de estressores, como seca, aumento da salinidade, imitação de nutrientes, regulação dos fitohormônios (WATTS *et al.*, 2023).

Pode-se dar grande importância aos compostos voláteis (VOCs) que potencialmente os fungos endofíticos produzem substâncias que são misturas de hidrocarbonetos simples, heterociclos, aldeídos, cetonas, álcoois, fenóis, tioálcoois, tioésteres e seus derivados, derivados de benzeno e ciclohexanos (ROY E BANERJEE, 2019).

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) emitidos por fungos influenciam na arquitetura das raízes e o crescimento das plantas. O conhecimento de como as plantas

reconhecem e respondem aos compostos microbianos bioativos está no centro das iniciativas para desenvolver práticas mais sustentáveis e ecológicas na agropecuária (RAVELO-ORTEGA, RAYA-GONZÁLEZ, LÓPEZ-BUCIO, 2023).

Neste sentido, novas alternativas de produção vêm se tornando cada vez mais necessárias com agropáticas ecologicamente corretas, econômicas e estáveis para assegurar a segurança alimentar (POVEDA *et al.*, 2021; CHOUHAN *et al.*, 2022; BARON e RIGOBELLO, 2022). O presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos potenciais de fungos endofíticos isolados de plantas cultivadas e não-cultivadas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos Geral

Investigar os efeitos potenciais de fungos endofíticos isolados de plantas cultivadas e não-cultivadas, na quebra de dormência da semente do Capim Andropogon, promoção de crescimento das plântulas de soja com os extratos fúngicos endofíticos e o desenvolvimento da planta de Capim Mombaça utilizando cepas fúngicas endofíticas.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Purificar as colônias e preservá-las de forma adequada;
- Identificar isolados de fungos plantas cultiváveis (açafrão, arroz, gergelim, milho, nirá, pimenta, romã, salsa, tomate) e não cultiváveis (alecrim pimenta, alfavaca, aranto, espécie florestal, mirra), com potenciais benéficos para o crescimento e o desenvolvimento das plantas;
- Verificar a produção de compostos que possuam atividades promotoras de crescimento;
- Avaliar as formas de aplicação dos isolados fúngicos endofíticos;
- Selecionar isolados com potencial na atividade promovendo o crescimento vegetativo;
- Buscar novas formulações dos produtos obtidos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CAPIM *Andropogon* L.

O Capim *Andropogon* L. vegeta bem em altitudes que variam desde o nível do mar até 1.400 m, principalmente em regiões onde a precipitação oscila entre 1.000 e 2.000 mm/ano (COSTA *et al.*, 2001).

Devido ao crescimento cespitoso, com a presença de perfilhos eretos, o Capim *Andropogon* L. possui baixa capacidade de cobertura do solo sendo mais indicado para áreas planas, ou seja, com declividade entre 0 e 3%. O capim-andropogon é adaptado aos solos de todas as classes de texturas e aos de baixa fertilidade e com teor de alumínio maior que 1,0 meq/100 mL (COUTO; KORNELIUS, 1985).

E apresenta baixa exigência de fósforo (0,6 – 1,0 mg/dm³) e pequenas doses de Nitrogênio (< 50 kg/ha) são suficientes para produções satisfatórias (THOMAS *et al.*, 1981). O seu estabelecimento é lento devido à dormência da semente, porém uma vez estabelecido, pode apresentar altos índices produtivos, desde que sejam respeitadas as mínimas exigências de manejo dessa forrageira, produzindo entre 20 e 30 t/ha⁻¹.ano de MS (THOMAS *et al.*, 1981).

Apresenta a rebrota muito rápida, ou seja, o processo de crescimento da planta é acelerado, durante a estação chuvosa (SERAFIM, 2015).

2.1.1 Caracterização do Capim *Andropogon* L.

O gênero *Andropogon* L. é um dos mais representativos da tribo Andropogoneae. Possui cerca de 100 espécies, distribuídas especialmente nos trópicos, com centros de diversidade específica na África e América Tropical (CLAYTON e RENVOIZE 1982; FISH, *et al.*, 2015).

No continente americano, o gênero está mais bem representado na América do Sul, com o maior número de espécies ocorrendo no Brasil. A diversidade específica mais elevada ocorre nas formações de cerrado e campos rupestres das Regiões Sudeste e Centro-Oeste (ZANIN e LONGHI-WAGNER, 2006).

Cultivado nos mais variados ecossistemas, o capim *Andropogon* L. Figura 1 é uma gramínea forrageira perene, ereta, que apresenta grande importância para pecuária brasileira, devido a sua elevada produção de fitomassa e boa resistência a seca, além de apresentar características agrônômicas desejáveis, como tolerância ao fogo, adaptabilidade a solos ácidos e de baixa fertilidade natural, boa aceitabilidade pelos animais e bom teor de proteína bruta

(COSTA et al., 2001). É também resistente á longos períodos de estiagem (RAMOS e PIMENTEL, 1985).



FIGURA 1: *Andropogon gayanus* cv. BRS Sarandi - Foto: DA FONSECA, C. E. L.

2.1.2 Botânica Capim *Andropogon* L.

O capim *Andropogon* L. é uma gramínea perene, hábito cespitoso, alógama, e inflorescências plumosas (ZANIN e LONGHI-WAGNER, 2006).

As principais características do capim *Andropogon* L. são as seguintes: i) porte ereto, podendo atingir mais de 2,5 m de altura; ii) touceiras robustas com perfilhamento abundante; sistema radicular profundo e bem desenvolvido; iii) folhas lineares lanceoladas e pubescentes. Pilosidade aveludada; iv) nervura principal bem evidente e destacada na base da lâmina foliar semelhante a pseudopecíolo; v) inflorescência do tipo especiforme; vi) inflorescência terminal

ou axilar com racemos pareados e vários pares de espiguetas; vii) sementes com longas aristas (JAYME; GONÇALVES; RAMIREZ; MENEZES, 2022).

2.1.3 Dormência Capim *Andropogon* L.

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).

Nery *et al.* (2012) averiguando o tempo de armazenamento das sementes do *Andropogon* L. constatou que com 5 meses de armazenamento após a colheita, ainda persistia a dormência das sementes, sendo que em seus estudos, as sementes apresentaram apenas 25% do seu poder germinativo.

Em outro estudo, realizado por Dos Santos *et al.* (2022) as sementes de capim *Andropogon* L. tiveram uma taxa média de germinação de 34%. Ainda, Sanchez e Ferguson (1986) enfatizam que o capim *Andropogon* L. tem baixo poder germinativo nos primeiros meses de colheita.

Nas gramíneas forrageiras, a dormência ocorre no período de maturação das sementes, então logo após a colheita, por um período de seis meses, encontram-se em fase de dormência, a qual é quebrada naturalmente quando armazenadas. Dessa forma, testes de germinação são necessários logo após a colheita, ocasião em que a dormência é mais acentuada. Nesse momento as amostras são encaminhadas ao laboratório de análise de sementes que dispõe de meios artificiais para a quebra da dormência (ITALIANO e RAMOS, 1999).

2.2 CAPIM *Panicum maximum* cv. Mombaça

O gênero *Panicum maximum* Jacq. Cv. Mombaça é originário da África especificamente na Tanzânia (SAVIDAN, JANK, COSTA, 1990; SOUZA *et al.*, 1996). Ele foi lançado pela Embrapa Gado de Corte em 1993, recebendo a classificação BRA-006645 (SAVIDAN, JANK, COSTA, 1990).

Sendo que é uma gramínea que necessita de fertilidade do solo para chegar ao seu máximo rendimento necessita de receber altas doses de adubação nitrogenada (EUCLIDES *et al.*, 2022). No Brasil tem sido importante em sistemas de produção intensivos (ou seja, irrigados

e fertilizados) devido à sua alta produtividade anual (FREITAS *et al.*, 2007; JANK, *et al.*, 2008; FERNANDES *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2021).

2.2.1 Caracterização Do Capim *Panicum maximum* cv. Mombaça

Adaptadas a solos de média a alta fertilidade e moderada tolerância a solos mal drenados. Requerem precipitação acima de 800-900 mm. Apresentam acentuada estacionalidade de produção de forragem, com o rendimento na estação seca do ano representando apenas de 10-15% da produção anual de forragem. O florescimento desta cultivar concentra-se em abril (nas regiões sudeste e centro-oeste), reduzindo drasticamente a produção de forragem (GOMIDE *et al.*, 2016).

A altura de manejo recomendada para pastagens formadas com capim-mombaça Figura 2 é de 90 cm, pois nesta faixa de altura há acúmulo máximo de massa seca foliar, menor acúmulo de massa de colmo e perdas mínimas por senescência (EUCLIDES *et al.*, 2018).

Contudo, apresenta razoável rebrotação após o corte na época seca do ano. Pela alta produção de forragem, estas cultivares podem ser utilizadas também para a produção de silagem. Não são recomendadas para fenação devido à presença de colmos mais grossos e suculentos (GOMIDE *et al.*, 2016).

O capim Mombaça, requer solos de média a alta fertilidade para um bom e rápido estabelecimento, bem como, para cobertura total do solo. Além disso, os resultados obtidos até o momento demonstram que esta gramínea é mais eficiente na utilização do fósforo disponível e expressando o máximo potencial agronômico com altas doses de nitrogênio (EUCLIDES *et al.*, 2022; COSTA *et al.*, 2001).



FIGURA 2: *Panicum maximum* cv. *Mombaça* - Foto: Dalízia Aguiar

2.2.2 Botânica Capim *Panicum maximum* cv. *Mombaça*

Apresentam crescimento cespitoso com altura média de 1,65 m formando touceiras. As folhas são quebradiça, com largura média de 3,0 cm e sem cerosidade. As lâminas apresentam poucos pêlos, duros e curtos, principalmente na face superior. As bainhas são glabras. Os colmos são levemente arroxeados. A inflorescência uma panícula com ramificações primárias longas e secundárias longas apenas na base. As espiguetas são glabras, uniformemente distribuídas, e arroxeadas em aproximadamente 1/3 da superfície externa. O verticilo normalmente apresenta micropilosidade (SAVIDAN, JANK, COSTA, 1990).

2.3 CULTURA DA SOJA [*Glycine max* (L.) Merr.]

A China é o centro de origem da soja (WANG *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2006). Sendo uma das culturas mais antigas do mundo. Originalmente, a soja não era adequada para ambientes em latitudes altas ou baixas. À medida que a soja se espalhou pelo mundo, ela se adaptou às mudanças ambientais (WANG *et al.*, 2023) e disseminada precocemente na Ásia e depois para outros continentes, em particular nas Américas, nos últimos séculos (WANG *et al.*, 2020; Gonzalez *et al.*, 2023).

É uma importante oleaginosa que atende às demandas de óleo e proteínas de milhões de pessoas em todo o mundo (RANI et al., 2023). O interesse no cultivo da soja depende de seu valor econômico, do potencial de produção de óleo comestível de cerca de 20% e do teor de proteína de 20–25% (Paul et al., 2020).

2.3.1 Caracterização da Cultura da Soja [*Glycine max* (L.) Merr.]

A produtividade da soja é uma característica quantitativa complexa que é significativamente influenciada por fatores ambientais (RANI et al., 2023). As características agrônômicas da soja Figura 3 são importantes porque estão direta ou indiretamente relacionadas ao seu rendimento (KIM et al., 2023).

O manejo agrônômico adequado, incluindo a melhor escolha de genótipos e uma época ideal de semeadura, melhora o desempenho das culturas em regiões com diferentes condições climáticas (SHAHIN et al., 2023; VASCONCELOS et al., 2015).

Para atingir alto potencial produtivo, a soja deve sustentar altas taxas de fotossíntese e acumular grandes quantidades de nitrogênio nas sementes (SINCLAIR, 2004). Embora a maior parte do N requerido pela soja seja fornecida através da fixação simbiótica de N_2 , a fertilização suplementar com nitrogênio pode aumentar a produtividade de grãos de soja (WOOD, 1993).



FIGURA 3: Cultura de soja (FPA, 2021).

2.3.2 Botânica soja [(*Glycine max.* (L.) Merr.)]

A soja pertence à família *Fabaceae* (RAHMAN *et al.*, 2023). É uma planta anual ereta, herbácea e de reprodução autógama, que apresenta certa variabilidade para algumas características morfológicas, que são influenciadas pelo ambiente, como o ciclo que pode ter de 75 (mais precoces) a 200 dias (mais tardias), a altura que varia de 30 a 200 cm e que pode influenciar a quantidade de ramificações, entre outros (MÜLLER, 1981).

As flores da soja são completas e ocorrem em racemos terminais ou axilares. A cor da flor pode ser branca ou púrpura, sendo que a tonalidade púrpura varia de acordo com a genética da cultivar (VERNETTI e JUNIOR, 2009). A abertura floral ocorre geralmente pela manhã e pode ser influenciada pela temperatura e umidade (SEDIYAMA *et al.*, 2005).

O fruto da planta é um legume comumente chamado de vagem. Quando maduro apresenta de 2 a 7 cm de comprimento e 1 a 2 cm de largura, o que pode variar de acordo com a cultivar e condições climáticas, mas normalmente apresenta uma forma achatada. Possui uma coloração que varia entre cinza, amarelo-palha ou preta (MÜLLER, 1981)

2.4 FUNGOS ENDOFÍTICOS

Endófitos são micróbios que passam todo ou parte de seu ciclo de vida dentro do tecido vegetal (OMOMOWO *et al.*, 2023; TIWARI e BAE, 2022; ADELEKE E BABALOLA, 2021; NISA *et al.*, 2015; CONN, E FRANCO, 2004).

Quando o fungo endofítico entra na célula vegetal, a integridade celular deve ser mantida durante o período de interação, e durante o estabelecimento de interações mutualísticas proporcionará uma compreensão mais profunda da reorganização altamente localizada da célula para defesa e hospitalidade (KOGEL, FRANKEN, HÜCKELHOVEN, 2006).

O fungo sobrevive dos nutrientes da planta hospedeira e, em troca, proporciona benefícios, incluindo tolerância a estresses bióticos e abióticos (BAMISILE *et al.*, 2018).

QUADRO 1. Critérios simbióticos utilizados para caracterizar classes de endofíticos fúngicos (RODRIGUES *et al.*, 2009):

Critério	Clavicipitáceo	Não clavicipitáceo		
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Intervalo de hosts	Estreito	Largo	Largo	Largo
Tecido(s) colonizado(s)	Atire e rizoma	Rebento, raiz e rizoma	Atirar	Raiz
Colonização <i>in planta</i>	Extenso	Extenso	Limitado	Extenso
Biodiversidade <i>in planta</i>	Baixo	Baixo	Alto	Desconhecido
Transmissão	Vertical e horizontal	Vertical e horizontal	Horizontal	Horizontal
Benefícios de condicionamento físico*	NHA	NHA e HA	NHA	NHA

* Os benefícios não adaptados ao habitat (NHA), como a tolerância à seca e o aumento do crescimento, são comuns entre os endófitos, independentemente do habitat de origem. Os benefícios da adaptação ao habitat (HA) resultam de pressões selectivas específicas do habitat, tais como pH, temperatura e salinidade.

Em uma classificação geral de endófitos os categorizou em endófitos sistêmicos e não sistêmicos/transitórios (WANI *et al.*, 2015). Ainda pode enfatizar que os endófitos são transmitidos verticalmente (sistêmico) e horizontalmente (intracelular) (não sistêmico) (OMOMOWO *et al.*, 2023). Enquanto os endófitos sistêmicos são co-cladogenéticos

(filogeneticamente os mesmos endófitos colonizam uma determinada planta hospedeira em diferentes condições ambientais), os endófitos não sistêmicos são filogeneticamente diferentes e exibem variações na diversidade, bem como na abundância, com mudanças nas condições ambientais (HIGGINS *et al.*, 2014).

2.4.1 Fungos Endofíticos Produção de Metabólicos

Os fungos endofíticos abrigam uma grande variedade de metabólitos secundários valiosos para a humanidade, as plantas e o meio ambiente (SLAMA *et al.*, 2021). Essas interações são capazes de desencadear a biossíntese de metabólitos secundários pelas células microbianas, o que pode ser vantajoso para as plantas ao conferir tolerância a estresses bióticos e abióticos contribuindo para a aptidão geral da planta (KOZA *et al.*, 2022).

Os metabólitos secundários produzidos pelos fungos endofíticos são fenóis, alcalóides, policetídeos, quinonas, esteróides, enzimas e peptídeos, que possuem maior valor terapêutico. Esta diversidade química também protege as plantas hospedeiras de patógenos, inibindo o crescimento de patógenos vegetais e estimulando o sistema imunológico do hospedeiro para amplificar os mecanismos de defesa das plantas (MEENA, HNAME, SIDDHARDHA, 2019).

Também contribui para fixação biológica de nitrogênio, a solubilização de fósforo, a absorção de micronutrientes, a produção de fitohormônios (SINGH *et al.*, 2022).

Os fungos *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* estão entre os fungos quimicamente mais inventivos, produzindo uma ampla gama de metabólitos secundários (FRISVAD, 2015).

Chaetomium globosum, uma das espécies mais comuns de ascomicetes, possui a capacidade de produzir metabólitos com potenciais bioativos, como quetoglobosinas, epipolítiodioxopiperazinas, azafilonas, xantonas, antraquinonas, cromonas, depsídonas, terpenóides e esteróides (ZHANG *et al.*, 2013).

2.4.1.1 Fungos endofíticos e produção de COV's

Os compostos orgânicos voláteis são encontrados em toda a natureza, e sua distinção está em sua propriedade física única de difusão rápida na atmosfera. Os compostos orgânicos voláteis (COVs) têm baixo peso molecular (menos de 300 Da) e ponto de ebulição mais baixo, o que facilita a evaporação ou sublimação rápida e cria uma densidade de vapor mais alta (ROY, 2019; TILOCCA *et al.*, 2020).

Os fungos produzem um coquetel de dezenas a centenas de COVs diferentes, durante o seu metabolismo, incluindo álcoois, aldeídos, ácidos, éteres, ésteres, cetonas, hidrocarbonetos, aminas, fenóis, heterociclos, terpenos e compostos de enxofre (KORPI *et al.*, 2009; JAMPÍLEK, KRÁĽOVÁ. 2024).

Os COVs fúngicos são muito importantes na mediação de interações de fungos com outros organismos *in situ*. Os efeitos interespecies incluem o envolvimento na formação e regulação de associações simbióticas (HERRERO-GARCIA *et al.*, 2011). Os fungos podem ajustar o equilíbrio de seus elementos em seus próprios tecidos em resposta à composição química da planta para melhor utilizar os recursos disponíveis e estabelecer uma relação benéfica (CAMENZIND *et al.*, 2018).

2.4.2 Fungos Endofíticos na Agricultura

Microrganismos endossimbióticos, que são tipicamente bactérias e/ou fungos, estabelecem relações mutuamente benéficas com o seu hospedeiro vegetal, incluindo melhoria da aptidão do hospedeiro.

Neste sentido, as plantas interagem com microrganismo em todos os níveis tróficos adaptando ao crescimento havendo simbiose entre elas (YAN, Lu *et al.*, 2019).

A utilização de fungos endofíticos mostra-se uma alternativa de grande potencial nas áreas de biocontrole, bioestimulação e biofertilização (BARON; RIGOBELLO, 2022).

No campo emergente da agricultura, os endófitos fúngicos têm sido considerados como potenciais “bioestimulantes” que podem facilitar a bioprospecção comercial de metabólitos secundários de alto valor de grupos superiores e inferiores de plantas cultiváveis e não cultiváveis da forma mais sustentável e mutualística (DAS *et al.*, 2022).

Os fungos endofíticos cosmopolitas atuam como bioestimulantes para produzir certos compostos bioativos, fitohormônios, fatores de solubilização de fosfato (VERMA *et al.*, 2022).

2.4.3 Fungos Endofíticos e a Capacidade de Quebra de Dormência

Esses grupos microbianos de plantas apresentam funções potenciais que podem ajudar na germinação e crescimento (ZAMAN *et al.*, 2023).

A germinação das sementes é uma etapa importante para a sobrevivência e reprodução das plantas (MATHUR *et al.*, 2022). A germinação de sementes é uma fenofase vital para a sobrevivência e reprodução das plantas em condições ambientais ótimas ou estressantes. O uso

de simbiontes endofíticos é um método promissor pelo qual a germinação de sementes pode ser melhorada (VUJANOVIC *et al.*, 2000).

Pois os fungos endofíticos produzem fitoquímicos que potencializa a germinação de sementes e promove o crescimento das plantas (BILAL *et al.*, 2018). Possuem funções biológicas importantes para as plantas hospedeiras, que podem promover a germinação de sementes, crescimento de mudas e acúmulo de biomassa, alterar as características fisiológicas e retardar os danos do estresse oxidativo das plantas hospedeiras, sintetizando hormônios vegetais, nutrientes e secundário metabólitos (QIN *et al.*, 2023).

Estudos de bioatividade em fungos endofíticos cultiváveis mostraram que isolados como *Fusarium* spp. possuem a capacidade de promover a germinação de sementes de *C. songaricum* (CUI; VIJAYAKUMAR; ZHANG, 2018).

Shahzad, *et al.*, (2018) averiguaram que os fungos endofíticos conseguiram quebrar a dormência em algumas espécies medicinais raras como a *Dendrobium nobile* e *D. chrysanthum* da família das orquídeas que são extremamente difíceis de geminar em condições normais.

2.4.4 Fungos Endofíticos em Destaque Na Agricultura

2.4.4.1 *Penicillium* sp.

São do reino Fungi; filo *Ascomycota*; classe *Eurotiomycetes*; ordem *Eurotiales*; família *Trichocomaceae* e gênero *Penicillium* (HOUBRAKEN *et al.*, 2011).

Esses fungos são encontrados em todo o mundo em diversos substratos, incluindo solo, restos de plantas, produtos alimentícios, ar, ambientes aquáticos sendo onipresentes (TORRES-GARCIA, GENÉ, GARCÍA, 2022; KIRK *et al.*, 2008).

Estas espécies foram isoladas como endófitas de múltiplas e diversas espécies de plantas (NICOLETTI *et al.*, 2014). Eles têm sido caracterizados como biocatalisadores, promotores de crescimento vegetal, fitorremediadores e produtores de enzimas (TOGHUEO, 2020).

2.4.4.2 *Aspergillus* sp.

Aspergillus é um fungo saprofítico onipresente. Seu nicho ecológico natural é o solo, onde sobrevive e cresce sobre detritos orgânicos. Está envolvido na degradação da matéria orgânica e é encontrado em diversas condições ecológicas (CHOWDHARY E MEIS,

2018). Sendo que é do reino Fungi; filo *Ascomycota*; classe *Eurotiomycetes* ; ordem *Eurotiales*; família *Trichocomaceae* e gênero *Aspergillus* (HOUBRAKEN *et al.*, 2011).

Ainda, pode considerar que o *Aspergillus* tem a capacidade de promover o crescimento de plantas a tolerância de estresse abiótico e biótico e tem capacidade de aumentar o índice de germinação de uma determinada cultura (JING *et al.*, 2022).

2.4.4.3 *Paecilomyces* sp.

É fungo filamentosos saprófito comum, que é fonte de produtos naturais bioativos, do reino Fungi; filo *Ascomycota*; classe *Eurotiomycetes* ; ordem *Eurotiales*; família *Trichocomaceae* e gênero *Paecilomyces* (HOUBRAKEN *et al.*, 2011).

Possui a capacidade de produzir enzimas hidrolíticas envolvidas na inibição de patógenos, secretando metabólitos secundários úteis e solubilizando nutrientes essenciais, como fósforo e zinco para uma determinada cultura agrícola (Constantin *et al.*, 2022).

2.4.4.4 *Trichoderma* sp.

É um gênero de fungo cosmopolita e oportunista que inclui espécies de interesse para a agricultura (WOO *et al.*, (2023). Sendo que é Reino Fungi; filo *Ascomycota*; classe *Sordariomycetes*; ordem *Hypocreales*; família *Hypocreaceae* e Gênero: *Hypocrea* (Teleomorfo) e *Trichoderma* (Anamorfo).

O *Trichoderma* sp. É muito utilizado na agricultura e tem produtos registrados utilizando esse microrganismo sendo de grande importância econômica. Possuem a capacidade de suprimir doenças de plantas, além de melhorar o crescimento e a produtividade das plantas por meio de modos de ação sobrepostos, como maior eficiência de nutrientes (JOO, HUSSEIN, 2022).

2.4.4.5 *Purpureocillium* sp.

É um fungo onipresente encontrado em diversos habitats, principalmente no solo (Santos, *et al.*, 2023). *Purpureocillium lilacinum* for Biocontrol, Bioremediation and Biofertilization., Reino:Fungi (Reino); Filo *Ascomycota*; Classe *Sordariomycetes*; Ordem *Hypocreales*; Família *Ophiocordycipitaceae*; Gênero *Purpureocillium* (LUANGSA-ARD *et al.*, 2011).

Purpureocillium sp. promove o crescimento com efeitos benéficos onde as disponibilidades de nitrogênio e fosfato aumentam no solo e promove o acúmulo de pigmentos fotossintéticos, ou seja, clorofila e carotenóides, o que pode ser atribuído ao aumento da disponibilidade de nutrientes no solo (KHAN E TANAKA, 2023).

2.4.4.6 *Aureobasidium* sp.

São microrganismos onipresentes encontrados em uma ampla variedade de ambientes extremos e benignos, como saprófitos, endófitos e patógenos (DI FRANCESCO, ZAJC, STENBERG, 2023). Sendo que é Reino Fungi; filo Ascomycota; classe Euascomycetes; ordem Dothideales; família Dothioraceae e gênero *Aureobasidium* sp. (Humphries *et al.*, 2017).

2.4.4.7 *Chaetomium* sp.

São capazes de colonizar vários substratos e são bem conhecidos por sua capacidade de degradar a celulose e de produzir uma variedade de metabólitos bioativos (WANG *et al.*, 2016). Sendo que é Reino Fungi; filo Ascomycota; classe Sordariomycetes; ordem Sordariales; família Chaetomiaceae e gênero *Chaetomium* (WANG *et al.*, 2022).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELEKE, B. S. e BABALOLA, O. O. The plant endosphere-hidden treasures: a review of fungal endophytes. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, 37(2), 154-177, 2021.

Agência FPA. Entenda como o Brasil se tornou o maior produtor de soja do mundo. 2021. Disponível em: <<https://agencia.fpagropecuaria.org.br/2021/01/29/entenda-como-o-brasil-se-tornou-o-maior-produtor-de-soja-do-mundo/>>. Acessado em: 25 de nov de 2022.

AGUIAR, D. Disponível em: *Panicum maximum* cv. Mombaça – EMBRAPA. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/882/panicum-maximumcv-mombaca>>. Acessado em: 21 de out de 2023.

ALLIPRANDINI, L. F.; BATISTA, L. A. R.; GODOY, R. Dormência em sementes de Andropogon. **Embrapa-UEPAE de São Carlos. Comunicado Técnico**, 1991.

BABU, P. J., SARANYA, S., LONGCHAR, B., & RAJASEKHAR, A. Nanobiotechnology-mediated sustainable agriculture and post-harvest management. **Current Research in Biotechnology**, 4, 326-336, 2022.

BAMISILE, B. S.; DASH, C. K.; AKUTSE, K. S.; KEPPANAN, R.; AFOLABI, O. G.; HUSSAIN, M.; QASIN, M.; WANG, L. Prospects of endophytic fungal entomopathogens as biocontrol and plant growth promoting agents: An insight on how artificial inoculation methods affect endophytic colonization of host plants. **Microbiological Research**, 217, 34-50, 2018.

BARON, N. C.; RIGOBELLO, E. C. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. **Mycology**, v. 13, n. 1, p. 39-55, 2022.

BILAL, L.; ASAF, S.; HAMAYUN, M.; GUL, H.; IQBAL, A.; ULLAH, I.; HUSSAIN, A. Plant growth promoting endophytic fungi *Aspergillus fumigatus* TS1 and *Fusarium proliferatum* BRL1 produce gibberellins and regulates plant endogenous hormones. **Symbiosis**, v. 76, n. 2, p. 117-127, 2018.

CAMENZIND, T.; HÄTTENSCHWILER, S.; TRESEDER, KK; LEHMANN, A.; RILLIG, MC. Limitação de nutrientes em processos microbianos do solo em florestas tropicais. **Monografias Ecológicas**, 88 (1), 4-21, 2018.

CHOUHAN, S; AGRAWAL, L; PRAKASH, A. Amelioration in traditional farming system by exploring the different plant growth-promoting attributes of endophytes for sustainable agriculture. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 1-21, 2022.

CHOWDHARY, A.; MEIS, J. F. Emergence of azole resistant *Aspergillus fumigatus* and One Health: time to implement environmental stewardship. **Environmental microbiology**, 20(4), 1299-1301, 2018.

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

CONN, V. M.; FRANCO, C. M. Analysis of the endophytic actinobacterial population in the roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) by terminal restriction fragment length polymorphism and sequencing of 16S rRNA clones. **Applied and environmental microbiology**, 70(3), 1787-1794, 2004.

CONSTANTIN, M.; RAUT, I.; GURBAN, A. M.; DONI, M.; RADU, N.; ALEXANDRESCU, E.; JECU, L. Exploring the Potential Applications of *Paecilomyces lilacinus* 112. **Applied Sciences**, 12(15), 7572, 2022.

COSTA, N. D. L.; TOWNSEND, C. R.; MAGALHÃES, J. A.; PEREIRA, R. D. A. Formação e manejo de pastagens de Capim-Mombaça em Rondônia, 2001.

COSTA, N.L., TOWNSEND, C.R., MAGALHÃES, J.A. E PEREIRA, R.G. DE A. 2001. Formação e manejo de pastagens de capim-andropogon em Rondônia. Embrapa Porto Velho. Rondônia. Recomendações Técnicas, 25. 2 pp.

COUTO, W; LEITE, G.G; KORNELIUS, E. The residual effect of P and lime on the performance of four tropical grasses in a high P fixing Oxisol. *Agronomy Journal*, Madison, 1985. v.77. p. 534-542.

CUI, J. L., VIJAYAKUMAR, V.; ZHANG, G. "Partitioning of fungal endophyte assemblages in root-parasitic plant *Cynomorium songaricum* and its host *Nitraria tangutorum*." **Frontiers in microbiology**, 2018, 666.

CUI, N., CAI, M., ZHANG, X., ABDELHAFEZ, A. A., ZHOU, L., SUN, H.; CHEN, G.; ZOU, G.; ZHOU, S. Runoff loss of nitrogen and phosphorus from a rice paddy field in the east of China: Effects of long-term chemical N fertilizer and organic manure applications. **Global Ecology and Conservation**, 22, e01011, 2020.

DA FONSECA, C. E. L. *Andropogon gayanus* cv. BRS Sarandi. EMBRAPA, 2021. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/5655001/andropogon-gayanus-cv-brs-sarandi>>. Acessado em: 12 de novo de 2022.

DAS, T.; DEY, A.; PANDEY, D. K.; PANWAR, J. S.; Nandy, S. Fungal endophytes as biostimulants of secondary metabolism in plants: a sustainable agricultural practice for medicinal crops. In: **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. Elsevier, 2022. p. 283-314.

DE VASCONCELOS, E.S.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, T. e CRUZ, C.D. Produtividade de grãos, adaptabilidade e estabilidade de genótipos de soja de ciclos precoce e médio. Semina: **Ciências Agrárias**, 36(3): 1203 -1214. 2015.

DI FRANCESCO, A.; ZAJC, J.; STENBERG, J. A. *Aureobasidium* spp.: diversity, versatility, and agricultural utility. **Horticulturae**, 9(1), 59, 2023.

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.. Pathogenicity of fungi associated with *Andropogon* grass seeds. **Journal of Plant Pathology** , v. 104, n. 2, pág. 565-573, 2022.

EUCLIDES, V. P. B.; CARPEJANI, G. C.; MONTAGNER, D. B.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; BARBOSA, R. A.; DIFANTE, G. S. Maintaining post-grazing sward height of *Panicum maximum* (cv. Mombaça) at 50 cm led to higher animal performance compared with post-grazing height of 30 cm. **Grass and Forage Science**, 73(1), 174-182, 2018.

EUCLIDES, V.P.B; MONTAGNER, D.B.; ARAUJO, A.R.; PEREIRA, M.A.; DIFANTE, G.S.; ARAUJO, I.M.M.; BARBOSA L.F. ; BARBOSA R.A.; GURGEL, A.L.C. Biological and economic responses to increasing nitrogen rates in Mombaça guinea grass pastures. **Scientific Reports**. 12(1):1937, 2022.

FERNANDES, F. D.; RAMOS, A. K. B.; JANK, L.; CARVALHO, M. A.; MARTHA JR, G. B.; BRAGA, G. J. Forage yield and nutritive value of *Panicum maximum* genotypes in the Brazilian savannah. **Scientia Agricola**, 71, 23-29, 2014.

FISH, L., Mashau, A. C., MOEAHA, M. J., & Nembudani, M. T. **Identification guide to southern African grasses: an identification manual with keys, descriptions and distributions**. South African National Biodiversity Institute, 2015.

FREITAS, K. R.; ROSA, B.; RUGGIERO, J. A.; NASCIMENTO, J. D.; HEINEMAM, A. B.; MACEDO, R. F.; NAVES, T.; OLIVEIRA, I. P. Avaliação da composição químico-

bromatológica do capim Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) submetido a diferentes doses de nitrogênio. **Bioscience Journal**, 23(3), 1-10, 2007.

FRISVAD, J. C. Taxonomy, chemodiversity, and chemoconsistency of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* species. **Frontiers in Microbiology**, 5, 773, 2015.

GOMIDE, C. D. M.; PACIULLO, D.; LEITE, J.; RESENDE, H. *Panicum maximum* cvs. Tanzânia e Mombaça para uso em pastejo: produção e custo, 2016.

GONZALEZ, P. G. A.; DE JESUS GARIBOTI, J. C.; LEAL SILVA, J. F.; LOPES, E. S.; ABAIDE, E. R.; LOPES, M. S.; CONCHA, R.F.F.; GOMES, E.L.; TOVAR, L. P. Soybean straw as a feedstock for value-added chemicals and materials: recent trends and emerging prospects. **BioEnergy Research**, 16(2), 717-740, 2023.

HERRERO-GARCIA; E., GARZIA, A.; CORDOBÉS, S.; ESPESO, E.A; UGALDE, U. Oxilipinas de 8 carbonos inibem a germinação e o crescimento, e estimulam a conidiação aérea em *Aspergillus nidulans*. **Fungal Biology**, 115 (4-5), 393-400, 2011.

HIGGINS, K. L.; ARNOLD, A. E.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. Communities of fungal endophytes in tropical forest grasses: highly diverse host-and habitat generalists characterized by strong spatial structure. **Fungal Ecology**, 8, 1-11, 2014.

HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. *Studies in Mycology*, Utrecht, v. 70, p. 1–51, 2011.

HUMPHRIES, Z.; SEIFERT, K. A.; HIROOKA, Y.; VISAGIE, C. M. A new family and genus in Dothideales for *Aureobasidium*-like species isolated from house dust. **IMA Fungus**, 8(2), 299-315, 2017.

ITALIANO, E. C.; RAMOS, G. M. Recomendações para produção de sementes de capim andropogon na região Meio-Norte. **Embrapa Meio-Norte. Circular técnica**, 1999.

JANK, L.; RESENDE, R.M.S; VALLE, C.D; RESENDE, M.D.; CHIARI, L.; CANÇADO, L.J. E SIMIONI, C. Melhoramento genético de *Panicum max*. **Melhoramento de forrageiras tropicais**, 1, 55-87, 2008.

JAYME; GONÇALVES; RAMIREZ; MENEZES. **Gramíneas Forrageiras. Tropicais**. 1ª edição. Belo Horizonte, 2022.

JING, M.; XU, X.; PENG, J.; LI, C.; ZHANG, H.; LIAN, C.; CHEN, Y.; SHEN, Z.; CHEN, C. Comparative Genomics of Three *Aspergillus* Strains Reveals Insights into Endophytic Lifestyle and Endophyte-Induced Plant Growth Promotion. **Journal of Fungi**, 8(7), 690, 2022.

JOO, J. H.; HUSSEIN, K. A. Biological control and plant growth promotion properties of volatile organic compound-producing antagonistic *Trichoderma* spp. **Frontiers in Plant Science**, 13, 897668, 2022.

JAMPÍLEK, J.; KRÁĽOVÁ, K. Compostos orgânicos voláteis fúngicos. In: **Metabólitos Secundários Fúngicos**. Elsevier, 2024. pág. 399-426.

KAH, M.; BEULKE, S.; TIEDE, K.; HOFMANN, T. Nanopesticides: state of knowledge, environmental fate, and exposure modeling. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, 43(16), 1823-1867, 2013.

KHAN, M.; TANAKA, K. *Purpureocillium lilacinum* for plant growth promotion and biocontrol against root-knot nematodes infecting eggplant. **Plos one**, 18(3), e0283550, 2023.

KIM, W. J.; KANG, B. H.; MOON, C. Y.; KANG, S.; SHIN, S.; CHOWDHURY, S.; JEONG, SC.; CHOI, HS.; JUNG-KIUNG, L.; HA, B. K. Genome-wide association study for agronomic traits in wild soybean (*Glycine max* L.). **Agronomy**, 13(3), 739, 2023.

KIRK, P. M. C. P.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. (Eds.). **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi**. Cabi, 2008.

KOGEL, K. H.; FRANKEN, P.; HÜCKELHOVEN, R. Endophyte or parasite—what decides?. **Current opinion in plant biology**, 9(4), 358-363, 2006.

KORPI, A.; JÄRNBERG, J.; PASANEN, A.L. Microbial volatile organic compounds. **Critical reviews in toxicology**, v. 39, n. 2, p. 139-193, 2009.

KOUR, D.; RANA, K. L.; YADAV, N.; YADAV, A. N.; SINGH, J.; RASTEGARI, A. A.; SAXENA, A. K. Agriculturally and industrially important fungi: current developments and potential biotechnological applications. **Recent advancement in white biotechnology through fungi: Volume 2: Perspective for value-added products and environments**, 1-64, 2019.

KOZA, N. A.; ADEDAYO, A. A.; BABALOLA, O. O.; KAPPO, A. P. Microorganisms in plant growth and development: Roles in abiotic stress tolerance and secondary metabolites secretion. **Microorganisms**, 10(8), 1528. 2022.

LIU, X., HE, J.; WANG, Y.; XING, G.; LI, Y.; YANG, S.; JHAO, T; GAI, J. Geographic differentiation and phylogeographic relationships among world soybean populations. **The Crop Journal**, 8(2), 260-272; 2020.

LUANGSA-ARD, J.; HOUBRAKEN, J.; VAN DOORN, T.; HONG, S. B.; BORMAN, A. M.; HYWEL-JONES, N. L.; SAMSON, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS microbiology letters**, 321(2), 141-149, 2011.

LUCAS, K. R.; CALDARELLI, C. E.; VENTURA, M. U. Agriculture and biodiversity damage: A prospective evaluation of the impact of Brazilian agriculture on its ecoregions through life cycle assessment methodology. **Science of The Total Environment**, 899, 165762, 2023.

MATHUR, P.; CHATURVEDI, P.; SHARMA, C.; BHATNAGAR, P. Improved seed germination and plant growth mediated by compounds synthesized by endophytic *Aspergillus niger* (isolate 29) isolated from Albizia lebbeck (L.) Benth. **3 Biotech**, v. 12, n. 10, p. 1-15, 2022.

MEENA, H.; HNAME, S.; SIDDHARDHA, B. Secondary metabolites from endophytic fungi: chemical diversity and application. **Advances in endophytic fungal research: Present status and future challenges**, 145-169, 2019.

MÜLLER, L. Taxonomia e morfologia. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. A soja no Brasil. 1 ed. Campinas: **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, p. 65-104, 1981.

NERY, M. C.; NERY, F. C.; SILVA, D. R. G.; SOARES, F. P. Produção de sementes forrageiras. **Boletim Técnico**, n. 88, p. 1-47, 2012.

NICOLETTI, R.; FIORENTINO, A; E SCOGNAMIGLIO, M. Endofitismo de espécies de *Penicillium* em plantas lenhosas. **O Jornal Aberto de Micologia** , 8 (1), 2014.

NISA, H.; KAMILI, A. N.; NAWCHOO, I. A.; SHAFI, S.; SHAMEEM, N.; BANDH, S. A. Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: a review. **Microbial pathogenesis**, 82, 50-59, 2015.

OMOMOWO, I. O.; AMAO, J. A.; ABUBAKAR, A.; OGUNDOLA, A. F.; EZEDIUNO, L. O.; BAMIGBOYE, C. O. A review on the trends of endophytic fungi bioactivities. **Scientific African**, e01594, 2023.

PAUL, A. A.; KUMAR, S.; KUMAR, V.; SHARMA, R. Milk Analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential and health concerns. **Critical reviews in food science and nutrition**, 60(18), 3005-3023,2020.

PENUELAS, J.; COELLO, F.; SARDANS, J. A better use of fertilizers is needed for global food security and environmental sustainability. **Agriculture & Food Security**, 12(1), 5, 2023.

PEREIRA, M.; DE ALMEIDA, R. G.; MACEDO, M. C. M.; DOS SANTOS, V. A. C.; GAMARRA, E. L., CASTRO-MONTOYA, J.; LEMPP, B.; DA GRAÇA MORAIS, M. Anatomical and nutritional characteristics of *Megathyrus maximus* genotypes under a silvopastoral system. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, 9(2), 159-170, 2021.

POVEDA ARIAS, J.; EUGUI ARRIZABALAGA, D.; ABRIL URÍAS, P.; VELASCO, P.. Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production. **Symbiosis**, v. 85, n. 1, p. 1-19, 2021.

QIN, X.; XU, J.; AN, X.; YANG, J.; WANG, Y.; DOU, M.; WANG, M.; HUANG, J.; FU, Y. Insight of endophytic fungi promoting the growth and development of woody plants. **Critical Reviews in Biotechnology**, p. 1-22, 2023.

RAHMAN, S. U.; MCCOY, E.; RAZA, G.; ALI, Z.; MANSOOR, S.; AMIN, I. Improvement of soybean; A way forward transition from genetic engineering to new plant breeding technologies. **Molecular Biotechnology**, 65(2), 162-180, 2023; 2023.

RAMOS, G. M. E PIMENTEL, J. C. M. Capim Andropogon – Informações Sobre o seu Comportamento nos Cerrados Piauenses. Teresina : **EMBRAPA-UEPAE, Teresina**, 1985.

RANI, R.; RAZA, G.; ASHFAQ H.; RIZWAN, M.; RAZZAQ, M. K.; WAHEED, M. Q.; SHIMELIS, H.; BABAR, A.D.; AIRF, M.; ARIF, M. Genome-wide association study of soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) germplasm for dissecting the quantitative trait nucleotides and candidate genes underlying yield-related traits. **Frontiers in Plant Science**, 14, 2023.

RAVELO-ORTEGA, G.; RAYA-GONZÁLEZ, J.; LÓPEZ-BUCIO, J. Compounds from rhizosphere microbes that promote plant growth. **Current Opinion in Plant Biology**, 73, 102336, 2023.

RODRIGUEZ, R. J.; WHITE JR, J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, A. R. A. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New phytologist**, 182(2), 314-330, 2009.

ROY, S. E BANERJEE, D. Volatile organic compounds from endophytic fungi. **Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi: Volume 2: Perspective for Value-Added Products and Environments**, 149-175, 2019.

SÁNCHEZ, M., & FERGUSON, J. E. Medición de calidad en semillas de *Andropogon gayanus*. *Revista Brasileira de Sementes*, 1986.

SANTOS, C. H. B.; DE ANDRADE, L. A.; FREZARIN, E. T.; SALES, L. R.; RIGOBELLO, E. C. C. *Purpureocillium lilacinum* for Biocontrol, Bioremediation and Biofertilization, 2023.

SAVIDAN, Y. H.; JANK, L. e COSTA, J. C. G. Registro de 25 acessos selecionados de *Panicum maximum*. Campo Grande: **EMBRAPA-CNPQC**, 1990.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C.; REIS, M. S. Melhoramento da Soja. In: BOREM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, p. 553-604. 2005.

SENE, G.; THIAO, M.; SY, O.; MBAYE, M. S.; e SYLLA, S. N. Reducing mineral fertilizer use for sustainable agriculture: the influence of seed coating with arbuscular mycorrhizal fungal spores and Leifsonia bacteria on maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) production. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**, 15(1), 1-13, 2023.

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

SHAHIN, M. G.; SAUDY, H. S.; EL-BIALLY, M. E.; ABD; EL-MOMEN, W. R.; EL-GABRY, Y. A.; ABD EL-SAMAD, G. A.; SAYED, A. N. Physiological and agronomic responses and nutrient uptake of soybean genotypes cultivated under various sowing dates. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 1-14, 2023.

SHAHZAD, R.; KHAN, A. L.; BILAL, S.; ASAF, S.; LEE, I. J. What is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 24, 2018.

SHARMA, A.; KUMAR, V.; SHAHZAD, B.; TANVEER, M.; SIDHU, G. P. S.; HANDA, N.; KPHLI, S.K; YADAV, P.; BALI, A.S.; PARIHAR, R.D.; DAR, O.I.; SIGH, K.; JASROTIA, S.; RAMAKRISHNAN, M.; KUMAR, S.; BHARDWAJ, R.; THUKRAL, A. K. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. **SN Applied Sciences**, 1, 1-16, 2019.

SINCLAIR, T. R. Improved carbon and nitrogen assimilation for increased yield. *Soybeans: Improvement, production, and uses*, 16, 537-568, 2004.

SINGH, D.; THAPA, S.; MAHAWAR, H.; KUMAR, D.; GEAT, N.; SINGH, S. K. Prospecting potential of endophytes for modulation of biosynthesis of therapeutic bioactive secondary metabolites and plant growth promotion of medicinal and aromatic plants. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 115(6), 699-730, 2022.

SLAMA, H. B.; CHENARI BOUKET, A.; ALENEZI, F. N.; POURHASSAN, Z.; GOLINSKA, P.; OSZAKO, T.; BELBAHRI, L. Potentials of endophytic fungi in the biosynthesis of versatile secondary metabolites and enzymes. **Forests**, 12(12), 1784, 2021.

SOUZA, A.G.; SOARES FILHO, C.V.; MELLA, S.C. Espécies forrageiras recomendadas para o Paraná. In: MONTEIRO, A.L.G., MORAES, A., CORRÊA, E.A.S. et al. (Eds.). **Forragicultura no Paraná**. Londrina: CPAF. p.196-205, 1996.

THOMAS, D. et al. *Andropogon gayanus* var. *bisquamulatus* cv. Planaltina: Principais características forrageiras. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.16, n.3, p.347-355, 1981.

TIWARI, Pragya; BAE, Hanhong. Endophytic fungi: Key insights, emerging prospects, and challenges in natural product drug discovery. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 360, 2022.

TILOCCA, B.; CAO, A.; MIGHELI, Q.. Scent of a killer: microbial volatilome and its role in the biological control of plant pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 41, 2020.

TOGHUEO, R. M. K.; BOYOM, F. F. Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications. **3 Biotech**, 10(3), 107, 2020.

TORRES-GARCIA, D. GENÉ, J.; GARCÍA, D. New and interesting species of *Penicillium* (Eurotiomycetes, Aspergillaceae) in freshwater sediments from Spain. **MycoKeys**, 86, 103~, 2022.

USDA. Economic Research Service U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Brazil's Momentum as a Global Agricultural Supplier Faces Headwinds, 2022. Disponível em: <<https://www.ers.usda.gov/amber-waves/2022/september/brazil-s-momentum-as-a-global-agricultural-supplier-faces-headwinds/>>. Acessado em: 24 de nov. de 2023.

VERMA, A.; SHAMEEM, N.; JATAV, H. S.; SATHYANARAYANA, E.; PARRAY, J. A.; POCZAI, P.; SAYYED, R. Z. Fungal endophytes to combat biotic and abiotic stresses for climate-smart and sustainable agriculture. **Frontiers in plant science**, v. 13, 2022.

VIVIAN, R.; SILVA, A.A.; GIMENES, JR., M.; FAGAN, E.B.; RUIZ, S.T. E LABONIA, V. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência –Breve revisão. **Planta Daninha**, 2008. vol. 26, n. 3, p. 695-706.

VUJANOVIC, V.; ST-ARNAUD, M.; BARABÉ, D.; THIBEAULT, G. Viability testing of orchid seed and the promotion of colouration and germination. **Annals of Botany**, 86(1), 79-86, 2000.

WANG, C.; HAO, X.; LIU, X.; SU, Y.; PAN, Y.; ZONG, C.; XING, G.; ELE, J.; GAI, J. An Improved Genome-Wide Association Procedure Explores Gene-Allele Constitutions and

Evolutionary Drives of Growth Period Traits in the Global Soybean Germplasm Population. **International Journal of Molecular Sciences**, 24(11), 9570, 2023.

WANG, L., GUAN, R.; ZHANGXIONG, L.; CHANG, R.; QIU, L. Genetic diversity of Chinese cultivated soybean revealed by SSR markers. **Crop Science**, 46(3), 1032-1038, 2006.

WANG, X. W.; HAN, P. J.; BAI, F. Y.; LUO, A.; BENSCH, K.; MEIJER, M.; KRAAK, B.; HAN, D.Y.; SUN, B.D.; CROUS, P.W.; HOUBRAKEN, J. Taxonomy, phylogeny and identification of Chaetomiaceae with emphasis on thermophilic species. **Studies in Mycology**, 101, 121, 2022.

WANG, X. W.; HOUBRAKEN, J.; GROENEWALD, J. Z.; MEIJER, M.; ANDERSEN, B.; NIELSEN, K. F.; CROWS, P.W.; SAMSON, R. A. Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and chaetomium-like fungi from indoor environments. **Studies in mycology**, 84, 145-224, 2016.

WANI, Z. A.; ASHRAF, N.; MOHIUDDIN, T.; RIYAZ-UL-HASSAN, S. PLANT-endophyte symbiosis, an ecological perspective. **Applied microbiology and biotechnology**, 99, 2955-2965, 2015.

WATTS, D.; PALOMBO, E. A.; JAIMES CASTILLO, A.; ZAFERANLOO, B. Endophytes in Agriculture: Potential to Improve Yields and Tolerances of Agricultural Crops. **Microorganisms**, 11(5), 1276, 2023.

WHITE, J. F., KINGSLEY, K. L., ZHANG, Q., VERMA, R., OBI, N., DVINSKIKH, S.; GOND, S.K.; KOWALSKI, K. P. Endophytic microbes and their potential applications in crop management. **Pest management science**, 75(10), 2558-2565, 2019.

WOO, S. L.; HERMOSA, R.; LORITO, M.; MONTE, E. Trichoderma: A multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. **Nature Reviews Microbiology**, 21(5), 312-326, 2023.

WOOD, C. W., TORBERT, H. A.; WEAVER, D. B. Nitrogen fertilizer effects on soybean growth, yield, and seed composition. **Journal of Production Agriculture**, 6(3), 354-360, 1993.

YAN, L.; ZHU, J.; ZHAO, X.; SHI, J.; JIANG, C.; SHAO, D. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, n. 8, p. 3327-3340, 2019.

ZAMAN, Nazia Rifat et al. Plant Microbiome Diversity and Potential for Crops and Sustainable Agriculture. In: **Plant Microbiome for Plant Productivity and Sustainable Agriculture**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 331-364.

ZHANG, G.; ZHANG, Y.; QIN, J.; QU, X.; LIU, J.; LI, X.; PAN, H. Antifungal metabolites produced by *Chaetomium globosum* No. 04, an endophytic fungus isolated from Ginkgo biloba. **Indian journal of microbiology**, 53(2), 175-180, 2013.

4 CAPITULO I - ENDOPHYTIC FUNGI AND THEIR COMPOUNDS OF AGRONOMIC INTEREST

Submetido e aprovado como Capítulo de Livro: DE SOUZA FERREIRA, T. P.; DE SOUZA FERREIRA, T. P.; MOURÃO, D. D. S. C.; XAVIER, M. D. C. A.; MARQUES, G. M.; LIMA, L. R.; DOS SANTOS, G. R. **Endophytic fungi and their compounds of agronomic interest**. Seven, 2023.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Endophytic fungi are microorganisms that live inside plants for at least part of their life cycle without causing any harm. They can stimulate dormancy breakdown by producing metabolites that act on the embryo that stimulate seed germination and potentially growth promoters with symbiotic interactions between plants. The compounds produced have diverse effects, such as: stimulators of growth and development of plants, increased mineralization and availability of nutrients, producing stimulating compounds releasing phytohormones and breakdown of dormancy. **MATERIAL AND METHODS:** Selected several articles that were collected in the scientific databases in Portuguese and English. **RESULTS AND DISCUSSION:** Articles were selected for the elaboration of a table reporting the main compounds in the promotion of growth and breakdown of dormancy. **CONCLUSION:** Endophytes can contribute to the discovery of new biomolecules for various biotechnological applications and the development of sustainable agriculture.

Keywords: Endophytic fungi, Interactions, Metabolic, Plants, Agriculture

4.1 INTRODUCTION

New production alternatives to feed the world population and its livestock are becoming increasingly necessary with ecologically correct, economic and stable agropractices to ensure food security (POVEDA *et al.*, 2021; CHOUHAN *et al.*, 2022; BARON and RIGOBELLO, 2022).

In this context, improving agricultural technologies and crop varieties has been the main driver for increasing agricultural productivity during the last century, but to ensure an environmentally sustainable and socially responsible food supply, the development of new agricultural practices that focus on minimizing soil environmental degradation, environmental pollution and the adverse effects of climate change is needed, basically, environmentally friendly biological strategies (IQ; EGIDI; LIU; KAUR; Singh, 2019). Plants interact with

microorganisms at all trophic levels adapting to growth and there is symbiosis between them (YAN, Lu *et al.*, 2019). These microorganisms may be beneficial to their host plants through mutualistic symbiosis (JIA, M. *et al.*, 2016). Among the important microorganisms for sustainable agriculture we have endophytic fungi (BACON, 2000).

Etymologically, the term 'endophyte' means 'within the plant' (endon: inside, phyton: plant) (BARON and RIGOBELLO, 2022). Endophytic fungi are microorganisms that reside inside the internal tissues in plants without causing damage to living plants (BACON, 2000).

Endophytic fungi can be classified according to their ecology, diversity with the mode of reproduction by sexual or asexual spores (BAMISILE *et al.*, 2018). They can be strictly linked to plants and complete an important part or even their entire life cycle within plants (HARDOIM *et al.*, 2015).

Almost all vascular plants examined to date harbor endophytes that are believed to originate from the rhizosphere and phyllosphere and enter the host plant through natural openings or wounds (GRABKA *et al.*, 2022).

Successful colonization by endophytes depends on many variables, including plant tissue type, plant genotype, microbial taxon and strain type, and biotic and abiotic environmental conditions (HARDOIM *et al.*, 2015).

Also the recognition of the plant as a host requires the activation of virulence mechanisms for colonization and the triggering of the host's defenses by these events. As long as there is a balance in this interaction, the fungus survives on the nutrients of the host plant and, in return, offers benefits (BAMISILE *et al.*, 2018).

Endophytes can infect host plants vertically and/or horizontally. In vertical transmission the systemically diffused fungus is passed to the descendants via seeds of the host plant. The transmission of the fungus carried out through spores of asexual and sexual origin is said to be horizontal (SAIKKONEN *et al.*, 2004).

Endophytic fungi can be classified into four groups: (a) Class I are Clavicipitaceous fungi (resides in grasses with vertical transmittance), (b) Class-II-IV are non-clavicipitaceous fungi (Ascomycota and Basidiomycota), in which Class II endophytes inhabit roots, shoots, and rhizomes and transmit through seeds or rhizomes (i.e., both horizontally and vertically), (c) Class III inhabits leaves/shoots (transmitted horizontally), and (d) Class IV are ascomycetes typical, form conidia and reside in the roots (transmitted horizontally) of plants (RODRÍGUEZ *et al.*, 2009; HARTLEY AND GANGE, 2009).

Fungal species release several secondary metabolites, including plant growth promoters (KADDES *et al.*, 2019; YADAV *et al.*, 2023, SCHMALTZ *et al.*, 2023; QIN *et al.*, 2023).

Endophyte fungi form mutualistic interactions and beneficial relationships with their host *plants* (RODRIGUEZ *et al.*, 2009), which can not only stimulate plant growth, but also promote the accumulation of secondary metabolites in the plant (MURTHY *et al.*, 2014). They can produce a widerange of compounds associated with defense, communication and interaction with host plants, nutrient absorption (BRADER *et al.*, 2014). These carbon-based compounds are known as volatile organic compounds (VOCs) (KADDES *et al.*, 2019).

Volatile organic compounds VOCs are hydrophobic organic molecules with low molecular weight (<300 Da) and high vapor pressure (≥ 0.01 kPa at 20 °C) (PAGANS; FONT; SÁNCHEZ, 2006). VOCs are typically secondary metabolites belonging to terpenoids, phenylpropanoids, benzenoids, fatty acids, and amino acid derivatives. Due to their small size and high vapor pressure, VOCs can diffuse easily through the atmosphere and soil (DUDAREVA *et al.*, 2006).

The bioactive potentials of endophytic VOCs include inter- and intraspecific signaling and synthesis of growth-promoting metabolites by host plants (GOMES *et al.*, 2015).

The regulation of secondary metabolism in fungi is complex, involving multiple proteins and complexes that respond to various environmental and host stimuli. Major in roads have been made in understanding these processes in the model fungus, *Aspergillus nidulans*. The functional characterization of homologues of *Aspergillus* proteins such as LaeA in other fungi should lead to many discoveries. Recently detailed metabolic pathways have been constructed on a whole-genome scale for *A. nidulans* (DAVID, HELGA *et al.*, 2008).

4.2 MATERIAL AND METHODS

The present work, of a descriptive nature, was a bibliographic review, developed from the accomplishment of a bibliographic survey carried out with searches of articles in national and international journals, in databases and specialized sites (Google Scholar, SciELO, PubMed). That deals with endophytic fungi that can contribute to a more sustainable agriculture.

4.3 RESULTS AND DISCUSSION

The symbiosis of endophytic fungi largely promotes plant growth, producing several secondary metabolites (JAIN and PUNDIR, 2017).

They act as reservoirs of new bioactive secondary metabolites such as bezopyranones, alkaloids, phenolic acids, quinones, steroids, saponins, tannins and terpenoids. Due to the

impact of endophytes on the host plant, increasing its growth or increasing its fitness (NAZIR and RAHMAN, 2018; MATHUR *et al.*, 2021).

And plant hormones such as gibberellins, jasmonates, abscisic acid and many others play a role in plant growth (STRANSKA *et al.*, 2022). Cosmopolitan endophytic fungi act as biostimulants to produce certain bioactive compounds, phytohormones, phosphate solubilization factors (VERMA *et al.*, 2022).

These microbial groups of plants have potential functions that can help with germination and growth (ZAMAN *et al.*, 2023).

Delgado-Sánchez *et al.* (2010) tested the effects of four species of fungi *Penicillium chrysogenum*, *Phoma sp.*, *Trichoderma harzianum* and *T. koningii* on breaking the dormancy of *Opuntia leucotricha* seeds that have physiological dormancy. They detected that the seeds inoculated with the four fungi achieved the highest germination index than the control, opening new insights in to the effect of fungi on the breakdown of seed dormancy.

The isolate FS2 (*Talaromyces sp.*) promoted the growth of several plant species such as *Brassica campestris*, *Arabidopsis thaliana*, *Phaseolus vulgaris*, *Nicotiana benthamiana* and *Cucumis sativus*, when it was applied, not only in the soil (in contact with the plants), but also when it was not in contact with the plants in the same plastic chamber. This last case means that the volatile compounds emitted by this fungus can participate in the promotion of plant growth (YAMAGIWA *et al.* 2011).

The production of volatile compounds by these microorganisms results in a gain in plant mass, in addition to improving the nutrition and protection mechanism of these plants, as shown in Table 1 (LIU *et al.*, 2015).

TABLE 1 - Secondary Metabolisms Produced by Endophytic Fungi

ENDOPHYTIC FUNGI	BIOACTIVE COMPOUNDS	FUNCTION	BIBLIOGRAPHIC REFERENCE
<i>Talaromyces sp.</i> nov.	b-cariofileno	Promotion of plant growth	YAMAGIWA <i>et al.</i> 2011
<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>A. ochraceus</i>	2-phenylethanol	Vegetative Growth	FARBO,. 2018
<i>Trichoderma sp.</i>	6-pentil-2H-pyrane-2-one (6-PP)	alters root organogenesis by modulating ethylene signaling and auxin transport	ZIN & BADALUDDIN, 2020
<i>Laccaria bicolor</i>	(-)-tujopseno	responsible for changes in the root architecture of plants	DITENGOU, Franck A. <i>et al.</i> , 2015
<i>Trametes gibbosa</i>	1-octen-3-ol	semiochemical insects	THAKEOW <i>et al.</i> , 2008
<i>Muscador albus</i>	1-butanol, 3-methyl-	Antimicrobials	STROBEL <i>et al.</i> , 2001

<i>Induratia</i>	Pyrimidine 2-chloro-4-ethyl-6-methyl-, Cycloactive, Tricycle[4.3.1.1(3,8)]undecan-3-methoxy-, 4- Amino-3,5-diethylpyridine, Imidazo [5,1-f][1,2,4]triazine-2,7-diamine, Dimethyl-[4-[2-(3-methylisoxazol-5-yl)vinyl]phenyl]amine, 4(1H)-Pyrimidinone, 2,3-dihydro-1-methyl-6-(4-pyridinyl)-2-thioxo-, 2- Phenyl-6-chloro- benzofuran, 1-Methyl-2- nitro-4-(1,2,2-trimethylcyclopentyl)-benzene	Biological control of toxicogenic fungi	GOMES <i>et al.</i> , 2023
<i>Aspergillus niger</i>	Benzoic acid	Promoting growth	MATHUR, Parikshana <i>et al.</i> , 2023.
<i>Geotrichum candidum</i>	ethyl isovalerate, isoamylacetate and 2-phenylethanol	Broad-spectrum bioactivity against stored grain pathogens	MITRA <i>et al.</i> , 2023.
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	β -resorcylic acid, (15S)-O--methyl lasiodiplodine, 1, (14S, 15S)-14-hydroxy-of--Methyl lasiodiplodine, 2 and 2,4-dihydroxy-6-(8-hydroxy-heptyl) ethyl benzoate	(bio-)herbicides	MACÍAS-RUBALCAVA; GARRIDO, 2022.
<i>Aspergillus</i> sp, <i>Penicillium</i> sp, <i>Trichoderma</i> sp, <i>Chaetomium</i> sp e <i>Colletotrichum</i> sp.	Dimethylamine, ethylamine, formamide and Formic acid, ethyl ester	Breakdown of dormancy of seeds of <i>Andropogon</i> L. grass	DE SOUZA FERREIRA <i>et al.</i> , 2023.

Source: Prepared by the authors

The use of endophytic fungi is an alternative of great potential in the areas of biocontrol, biostimulation and biofertilization (BARON and RIGOBELLO, 2022).

In the emerging field of agriculture, fungal endophytes have been considered as potential "biostimulants" that can facilitate the commercial bioprospection of high-value secondary metabolites from upper and lower groups of cultivable and non-cultivable plants in the most sustainable and mutualistic way (DAS *et al.*, 2022; Adeleke *et al.*, 2022; DE SOUZA

FERREIRA *et al.*, 2023).

4.4 FINAL CONSIDERATIONS

This review denoted the importance that fungal microorganisms have for the interspecific relationship between microorganisms and plants. In this sense, find strategies to shape the endophytic microbiome for agricultural use in order to promote sustainability. Thus, endophytes have great potential for the bioprospection of sustainable compounds that can replace or mitigate the indiscriminate use of pesticides and chemical fertilizers with integrated practices aimed at the cultivation of plants important for Brazilian agriculture.

However, the need for research using genetic tools, the main genes involved in the biosynthetic pathways of VOCs can be identified and overexpressed for the large-scale production of these compounds that are abundant and have high genetic diversity, the identification and characterization of new VOCs for global sustainable development.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELEKE, B.S.; FADIJI, A.E.; AYILARA, M.S.; IGIEHON, O.N.; NWACHUKWU, B.C.; BABALOLA, O.O. Strategies to Enhance the Use of Endophytes as Bioinoculants in Agriculture. . **Horticulturae**, v. 8, n. 6, pág. 498, 2022.

BACON, Charles W.; WHITE, James (Ed.). **Microbial endophytes**. CRC press, 2000.

BAMISILE, B. S., DASH, C. K., AKUTSE, K. S., KEPPANAN, R., & WANG, L.. Fungal endophytes: beyond herbivore management. **Front Microbiol** 9: 544, 2018.

BARON, N. C.; RIGOBELLO, E. C. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. **Mycology**, v. 13, n. 1, p. 39-55, 2022.

BRADER, G., COMPANT, S., MITTER, B., TROGNITZ, F., & SESSITSCH, A.. Metabolic potential of endophytic bacteria. **Current opinion in biotechnology**, v. 27, p. 30-37, 2014.

CHOUHAN, S; AGRAWAL, L; PRAKASH, A. Amelioration in traditional farming system by exploring the different plant growth-promoting attributes of endophytes for sustainable agriculture. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 1-21, 2022.

DE SOUZA FERREIRA, T. P.; DE SOUZA FERREIRA, T. P.; CANGUSSU, A. S. R.; CHAPLA, V. M.; XAVIER, M. D. C. A.; MARQUES, G. M.; DOS SANTOS, G. R. Prospecção de fungos Endofíticos isolados de plantas cultiváveis e não cultiváveis e seus efeitos na quebra de dormência de sementes de capim *Andropogon* L. **DELOS: DESARROLLO LOCAL SOSTENIBLE**, v. 16, n. 43, p. 716-733, 2023.

DAS, T.; DEY, A.; PANDEY, D. K.; PANWAR, J. S.; NANDY, S. Fungal endophytes as biostimulants of secondary metabolism in plants: a sustainable agricultural practice for

medicinal crops. In: **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. Elsevier, 2022. p. 283-314.

DAVID, H.; ÖZÇELİK, İ. Ş.; HOFMANN, G.; NIELSEN, J. Analysis of *Aspergillus nidulans* metabolism at the genome-scale. **BMC genomics**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 2008.

DELGADO-SÁNCHEZ, P.; ORTEGA-AMARO, M. A.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A. A.; JIMÉNEZ-BREMONT, J. F.; Flores, J. Further evidence from the effect of fungi on breaking *Opuntia* seed dormancy. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 10, p. 1229-1230, 2010.

DITENGOU, F. A., MÜLLER, A., ROSENKRANZ, M., FELTEN, J., LASOK, H., VAN DOORN, M. M., E POLLE, A. Volatile signalling by sesquiterpenes from ectomycorrhizal fungi reprogrammes root architecture. **Nature communications**, 2015, 6279.

DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D. A.; ORLOVA, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n. 5, p. 417-440, 2006.

FARBO, M.G.; URGEGHE, P.P.; FIORI, S.; MARCELLO, A.; OGGIANO, S.; BALMAS, V.; HASSAN, Z.U.; JAOUA, S.; MIGHELI, Q. Effect of yeast volatile organic compounds on ochratoxin A-producing *Aspergillus carbonarius* and *A. ochraceus*. **Int. J. Food Microbiol.** 2018, 284, 1–10.

GOMES, M. QUEIROZ, O.L. PEREIRA. Mycofumigation for the biological control of postharvest diseases in fruits and vegetables: A review. Austin. **Journal of Biotechnology and Bioengineering**, p. 1051, 2015.

GOMES, A. A. M.; PAES, S. A.; FERREIRA, A. P. S.; PINHO, D. B.; DE LOURDES CARDEAL, Z.; MENEZES, H. C.; PEREIRA, O. L. Endophytic species of Induratia from coffee and carqueja plants from Brazil and its potential for the biological control of toxicogenic fungi on coffee beans by means of antimicrobial volatiles. **Brazilian Journal of Microbiology**, 1-12, 2023.

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; BERG, G.; PIRTTILÄ, A. M.; COMPANT, S.; CAMPISANO, A.; SESSITSCH, A. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 79, n. 3, p. 293-320, 2015.

HARTLEY, S. E.; GANGE, A. C. Impacts of plant symbiotic fungi on insect herbivores: mutualism in a multitrophic context. **Annual Review of Entomology**, 54(1), 323-342, 2009.

JAIN, P.; PUNDIR, R. K. Potential role of endophytes in sustainable agriculture-recent developments and future prospects. **Endophytes: biology and biotechnology**, 2017.

JIA, M.; CHEN, L.; XIN, H. L.; ZHENG, C. J.; RAHMAN, K.; HAN, T.; QIN, L. P. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 906, 2016.

KADDES, A.; FAUCONNIER, M. L.; SASSI, K.; NASRAOUI, B.; JIJAKLI, M. H.. Endophytic fungal volatile compounds as solution for sustainable agriculture. **Molecules**, v. 24, n. 6, p. 1065, 2019.

LIU, X. e ZHANG, H. 2015. The effects of bacterial volatile emissions on plant abiotic stress tolerance. **Frontiers in Plant Science**. v. 6, p. 1-6. 2015.

MATHUR, P.; AGRAWAL, P.; GHOSH, U.; SHARMA, C.; BHATNAGAR, P.; CHATURVEDI, P. Growth promotion ability of endophytic *Aspergillus niger* on different species of Vigna. **Vegetos**, 1-10, 2023.

MACÍAS-RUBALCAVA, M. L.; GARRIDO-SANTOS, M. Y.. Phytotoxic compounds from endophytic fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 3, p. 931-950, 2022.

MURTHY, Hosakatte Niranjana; LEE, Eun-Jung; PAEK, Kee-Yoeup. Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 118, p. 1-16, 2014.

MITRA, M., VENKATESH, P., GHISSING, U., BISWAS, A., MITRA, A., MANDAL, M., MAITI, M. K. Fruity-scented antifungal volatiles from endophytic *Geotrichum candidum* PF005: Broad-spectrum bioactivity against stored grain pathogens, mode of action and suitable formulation for mycofumigation. **Biological Control**, 177, 105129, 2023.

NAZIR, A.; RAHMAN, H. A. Secrets of plants: endophytes. **International Journal of Plant Biology**, v. 9, n. 1, p. 7810, 2018.

PAGANS, Estela; FONT, Xavier; SÁNCHEZ, Antoni. Emission of volatile organic compounds from composting of different solid wastes: Abatement by biofiltration. **Journal of hazardous materials**, v. 131, n. 1-3, p. 179-186, 2006.

POVEDA ARIAS, J.; EUGUI ARRIZABALAGA, D.; ABRIL URÍAS, P.; VELASCO, P.. Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production. **Symbiosis**, v. 85, n. 1, p. 1-19, 2021.

QIN, X.; XU, J.; AN, X.; YANG, J.; WANG, Y.; DOU, M.; FU, Y. Insight of endophytic fungi promoting the growth and development of woody plants. **Critical Reviews in Biotechnology**, p. 1-22, 2023.

QIU, Z.; EGIDI, E.; LIU, H.; KAUR, S.; SINGH, B.K. New frontiers in agriculture productivity: Optimised microbial inoculants and in situ microbiome engineering. **Biotechnol. Adv.** 2019, 37, 107371.

RODRIGUEZ, R. J.; WHITE JR, J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, A. R. A. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**, v. 182, n. 2, p. 314-330, 2009.

ROY, S.; BANERJEE, D. Compostos orgânicos voláteis de fungos endofíticos. **Avanço recente em biotecnologia branca por meio de fungos: Volume 2: Perspectiva para produtos e ambientes de valor agregado**, p. 149-175, 2019.

SAIKKONEN, K.; WÄLI, P., HELANDER, M., FAETH, S.H. Evolution of endophyte–plant symbioses. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 6, p. 275-280, 2004.

SCHMALTZ, S.; SILVA, M.A.; NINAUS, R.G; GUEDES, J.V.C.; ZABOT, G.L.; TRES, M.V.; MAZUTTI, M.A. Biomolecules in modern and sustainable agriculture. **3 Biotech**, v. 13, n. 2, p. 70, 2023.

STROBEL, G. A.; DIRKSE, E.; SEARS, J.; MARKWORTH, C. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. **Microbiology**, v. 147, n. 11, p. 2943-2950, 2001.

STRANSKA, M.; DZUMAN, Z.; PRUSOVA, N.; BEHNER, A.; KOLOUCHOVA, I.; LOVECKA, P.; HAJŠLOVA, J.. Fungal Endophytes of *Vitis vinifera*—Plant Growth Promoters or Potentially Toxinogenic Agents?. **Toxins**, v. 14, n. 2, p. 66, 2022.

THAKEOW, P., ANGELI, S., WEIßBECKER, B., & SCHÜTZ, S. Antennal and behavioral responses of *Cis boleti* to fungal odor of *Trametes gibbosa*. **Chemical Senses**, v. 33, n. 4, p. 379-387, 2008.

VERMA, A.; SHAMEEM, N.; JATAV, H. S.; SATHYANARAYANA, E.; PARRAY, J. A.; POCZAI, P.; SAYYED, R. Z. . Fungal endophytes to combat biotic and abiotic stresses for climate-smart and sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

WANI, Z. A.; ASHRAF, N.; MOHIUDDIN, T.; RIYAZ-UL-HASSAN, S. Plant-Endophyte Symbiosis, An Ecological Perspective. **Applied Microbiology And Biotechnology**, V. 99, P. 2955-2965, 2015.

YADAV, P.; DEBNATH, N.; ARORA, S.; YADAV, A. K. Occurrence, Detection, and Management of T-2 Toxin and HT-2 Toxin in Food and Feed. In: **Mycotoxins in Food and Feed**. CRC Press, 2023. p. 157-187.

YAMAGIWA, Y. INAGAKI, Y.; ICHINOSE, Y.; TOYODA, K.; HYAKUMACHI, M.; SHIRAISHI, T. *Talaromyces wortmannii* FS2 emits β -caryophyllene, which promotes plant growth and induces resistance. **Journal of General Plant Pathology**, 77, 336-341, 2011.

YAN, L.; ZHU, J.; ZHAO, X.; SHI, J.; JIANG, C.; SHAO, D.. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 8, p. 3327-3340, 2019.

ZAMAN, N. R.; CHOWDHURY, F. T.; KHAN, H.; ISLAM, M. R. Plant Microbiome Diversity and Potential for Crops and Sustainable Agriculture. In: **Plant Microbiome for Plant Productivity and Sustainable Agriculture**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 331-364.

ZIN, N.A. E BADALUDDIN, N.A. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 168-178, 2020.

5 CAPITULO II 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.

Submetido e aprovado como Artigo: DE SOUZA FERREIRA, T. P., DE SOUZA FERREIRA, T. P., CANGUSSU, A. S. R., CHAPLA, V. M., XAVIER, M. D. C. A., MARQUES, G. M., ... DOS SANTOS, G. R. Prospecção de fungos Endofíticos isolados de plantas cultiváveis e não cultiváveis e seus efeitos na quebra de dormência de sementes de capim *Andropogon* L. DELOS: DESARROLLO LOCAL SOSTENIBLE, 16(43), 716-733, 2023.

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 outro 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.

Palavra 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 prospection 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.*

5.1 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 Mudas (RENASEM) 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 L.*.

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.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Isolamento Dos Fungos Endofíticos

Foram retirados tecidos vegetais de brotos, bulbos, folhas, caules e raízes de diferentes plantas cultiváveis (plantas cultiváveis (açafrão, 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 + amoxilina (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.

5.2.2 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.

5.2.3 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).

5.2.4 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 com água destilada. 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:

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

Onde:

G= germinabilidade;

N= número de sementes germinadas;

A= número total de sementes colocadas para germinar.

5.2.5 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.

5.2.6 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.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Seleção De Fungos Endofíticos 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 foi 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

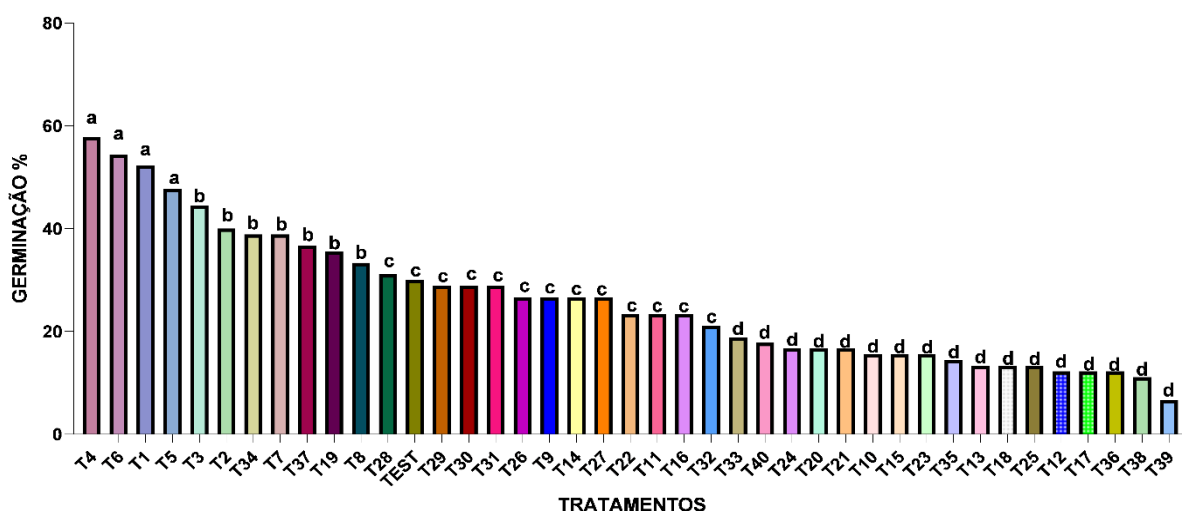
Fonte: Elaboração dos autores.

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.

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: Elaboração dos autores.

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</i> sp.	Alfavação	<i>Ocimum gratissimum</i>	Folha
T2	<i>Penicillium</i> sp.	Nirá	<i>Allium tuberosum</i>	Bulbo
T3	<i>Chaetomium</i> sp.	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Flôr
T4	<i>Penicillium</i> sp.	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Raiz
T5	<i>Penicillium</i> sp.	Milho	<i>Zea mays</i>	Caule
T6	<i>Penicillium</i> sp.	Gergelim	<i>Sesamum indicum</i>	Raiz
T7	<i>Penicillium</i> sp.	pimenta	<i>Capisicum</i> sp.	Folha
T8	<i>Penicillium</i> sp.	pimenta	<i>Capisicum</i> sp.	Semente
T19	<i>Aspergillus</i> sp.	Mirra	<i>Tetradenia riparia</i>	Raiz
T28	<i>Penicillium</i> sp.	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Raiz
T34	<i>Trichoderma</i> sp.	Aranto	<i>Kalanchoe</i> sp.	Broto
T37	<i>Aspergillus</i> sp.	Açafrão	<i>Curcuma longa</i> L.	Folha

Fonte: Elaboração dos autores.

5.3.2 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 12 fungos endofíticos, 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, <i>1,3-Difluoro-2-propanol</i> , Benzenemetanol, α -(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
T6	Etilamina e 1-Metil-4-(metanoato de etila)ciclo
T7	Dimetilamina e Dimetil sulfona
T8	Ácido fórmico 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: Elaboração dos autores.

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 constatarem 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.

5.4 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 lebbbeck* (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. seguido 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 *Colletotricum* sp. na folha no broto alfavacão. 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, 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 e Ácido fórmico.

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

5.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELEKE, B.S.; FADIJI, A.E.; AYILARA, M.S.; IGIEHON, ON, NWACHUKWU, B.C. e BABALOLA, O.O. Estratégias para potencializar o uso de endófitos como bioinoculantes na agricultura. **Horticulturae** , 8 (6), 498, 2022.

ALLIPRANDINI, L. F.; BATISTA, L. A. R. e GODOY, R. Dormência em sementes de *Andropogon*. Embrapa-UEPAE de São Carlos. **Comunicado Técnico**, 1991.

ANTOUN, H. e PRÉVOST, D. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. *PGPR: Biocontrol and biofertilization*, 1-38, 2006.

AZAD, K. e KAMINSKYJ, S. A fungal endophyte strategy for mitigating the effect of salt and drought stress on plant growth. *Symbiosis*, 68, 73-78, 2016.

AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI J.R.; W., PEREIRA, J. O. e DE ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic journal of biotechnology*, 3(1), 15-16, 2000.

BACON, C. W. e WHITE, J. (Eds.). **Microbial endophytes**. CRC press, 2000.

BOGAS, A. C.; CRUZ, F. P. N.; LACAVA, P. T. E SOUSA, C. P. Endophytic fungi: an overview on biotechnological and agronomic potential. *Brazilian Journal of Biology*, 84, 2022.

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. e ANDRADE, C. M. S. BRS Sarandi: nova cultivar de *Andropogon gayanus* para pastagens. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 2021.

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

DAOUDI, E.H. e BIONDI, S. Metabolisme et role des polyamines dans le developpement de la plante. *Acta bot. Gallica*, 142, 209–233, 1995.

DOS SANTOS, P. R. R.; DE SOUZA CARLOS MOURÃO, D.; DALCIN, M. S.; OSORIO, P. R. A., DE OLIVEIRA LIMA, F. S. e DOS SANTOS, G. R. Pathogenicity of fungi associated with *Andropogon* grass seeds. *Journal of Plant Pathology*, 104(2), 565-573, 2022.

FEITOSA, F. M.; JÚNIOR, I. O.; DAVID, A. M. S.; RODRIGUES, B. R. A.; DAMASCENA, N. S.; ARAÚJO, E. D.; AMARO, H. T. R. Efeito dos reguladores giberelina e citocinina na quebra de dormência de sementes de capim-andropogon. *Revista de Ciências Agrárias*, 38(1), 34-40, 2015.

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

GHIMIRE, S. R.; CHARLTON, N. D.; BELL, J. D.; KRISHNAMURTHY, Y. L. e CRAVEN, K. D. Biodiversity of fungal endophyte communities inhabiting switchgrass (*Panicum virgatum* L.) growing in the native tallgrass prairie of northern Oklahoma. *Fungal Diversity*, 47, 19-27, 2011.

HOFFMANN, A.; DE MORAES, E. H. B. K.; MOUSQUER, C. J.; SIMIONI, T. A.; GOMER, F. J.; FERREIRA, V. B. e DA SILVA, H. M. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período da seca. **Nativa**, 2(2), 119-130, 2014.

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., e RAMOS, G. Recomendações para produção de sementes de capim andropogon na região Meio-Norte, 1999.

JANK, L.; BRAZ, T.G.S. e MARTUSCELLO, J.A. Seção 3. 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, 2013.

KHAN, A. L.; HAMAYUN, M.; KIM, Y. H.; KANG, S. M. e LEE, I. J. 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, 2011.

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

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

LABOURIAU, L.G. e VALADARES, M.B. 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. e BHATNAGAR, P. Improved seed germination and plant growth mediated by compounds synthesized by endophytic *Aspergillus niger* (isolate 29) isolated from Albizia lebbeck (L.) Benth. **3 Biotech**, 12(10), 271, 2022.

MORAES, G. K. A.; FERRAZ, L. F. e CHAPLA, V. M. Compostos orgânicos voláteis de fungos endofíticos e suas aplicações biotecnológicas. **RVq**, 12(6), 1498-510, 2020.

MORATH, S. U.; HUNG, R. e BENNETT, J. W. Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. **Fungal biology reviews**, 26(2-3), 73-83, 2012.

PAMPHILE, J. A.; COSTA, A. T.; ROSSETO, P.; POLONIO, J. C.; PEREIRA, J. O. e AZEVEDO, J. L. Aplicações Biotecnológicas De Metabólitos Secundários Extraídos De Fungos Endofíticos: o caso do *Colletotrichum* sp. **Revista Uningá**, 53(1), 2017.

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.; ... e SAXENA, A. K. Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. **Advances in endophytic fungal research: present status and future challenges**, 105-144, 2019.

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

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

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

TIAN, Y.; FU, X.; ZHANG, G.; ZHANG, R.; KANG, Z.; GAO, K.; e MENDGEN, K. Mechanisms in growth-promoting of cucumber by the endophytic fungus *Chaetomium globosum* strain ND35. **Journal of Fungi**, 8(2), 180, 2022.

TOGUEO, R.M.K e 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. e LABONIA, V. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência: breve revisão. **Planta daninha**, 26, 695-706, 2008.

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. e GAO, Y. G. 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, 2019.

ZANIN, A. e LONGHI-WAGNER, H. M. Revisão de *Andropogon* (Poaceae-Andropogoneae) para o Brasil. **Rodriguésia**, 62, 171-202, 2011.

6 CAPITULO III EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS COMO POTENCIAIS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM PLANTULAS DA SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill

ENDOPHYTIC FUNGUS EXTRACTS AS POTENTIAL GROWTH PROMOTERS IN SOYBEAN PLANTS (*Glycine max* (L.) Merrill)

EXTRACTOS DE HONGOS ENDOFÍTICOS COMO POTENCIALES PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill

Submetido e aprovado como Artigo: DE SOUZA FERREIRA, T. P., JUMBO, L. O. V., DE SOUZA FERREIRA, T. P., ARMIJOS, M. J. G., MOURÃO, D. D. S. C. e DOS SANTOS, G. R. Extratos de fungos endofíticos como potenciais promotores de crescimento em plantulas da soja (*Glycine max* (L.) Merrill. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, 16(4), e4027-e4027, 2024.

RESUMO

Os microorganismos endófitos são promissores no campo agrícola como potenciais estimuladores de crescimento. Assim, foi avaliado o potencial estimulador de fungos endofíticos na soja (*Glycine max* (L.) Merrill. Inicialmente foram coletadas 12 amostras de fungos endofíticos em diversas partes de várias espécies de plantas cultivadas. Estes fungos foram isolados, identificados e cultivados e em processo de fermentação durante 72h. Após deste processo foi preparada uma concentração ao 60% para ser aplicada. Plântulas de soja previamente semeadas em potes de plástico de 500 ml contendo substrato esterilizado e sem nenhum tipo de adubação e com 7 dias de idade foram pulverizadas com 5mL da solução previamente preparada. As plântulas foram mantidas em estufa a 28°C e fotoperíodo 12 horas. Após de 8 dias desde a aplicação dos extratos foram avaliados o tamanho e o diâmetro do caule e a raiz. Posteriormente a massa fresca e seca usando uma balança de precisão foi avaliada. Os resultados evidenciaram que dos 12 fungos aplicados nas plântulas, oito incrementaram significativamente o comprimento do caule, com um maior destaque para as plantas tratadas com *Purpureocillium lilacinum* e *Penicillium citrinum*. Já o diâmetro do caule foi maior em todos os tratamentos exceto nas plantas tratadas com *Penicillium citrinum*. O comprimento da raiz também foi incrementado significativamente quando tratados com algumas espécies de fungos. Similarmente a massa aérea e radicular também foi incrementada dependendo dos tratamentos. Conclusivamente nossos resultados mostram o potencial uso destes fungos como bioestimuladores radiculares o de caule da soja.

Palavras-chave: Regulador de crescimento, Bioproduto, Fungo endofítico, Soja.

ABSTRACT

Endophytic microorganisms are promising in the agricultural field as potential growth stimulators. Thus, was evaluated the stimulating potential of endophytic fungi in soybeans (*Glycine max* (L.) Merril. Initially, 12 samples of endophytic fungi were collected from different parts of various cultivated plant species. These fungi were isolated, identified and cultivated; in a fermentation process by 72h. After this process, a concentration of 60% was prepared for application. Soybean seedlings previously sown in 500 ml plastic pots containing sterilized substrate and without any type of fertilization and at 7 days old were sprayed with 5mL of the previously prepared solution. The seedlings were kept in a greenhouse at 28°C with a 12-hour photoperiod; after 8 days from the application of the extracts, the size and diameter of the stem and root were assessed. Subsequently, the fresh and dry mass was evaluated using a precision scale. The results showed that of the 12 fungi applied to the seedlings, eight significantly increased stem length, with the plants treated with *Purpureocillium lilacinum* and *Penicillium citrinum* standing out the most. Stem diameter, on the other hand, was greater in all treatments, except for plants treated with *Penicillium citrinum*. Root length was also significantly increased when treated with some fungal species. Similarly, aerial and root mass also increased depending on the treatment. In conclusion, our results show the potential use of these fungi as root and stem biostimulators for soybean.

Keywords: Growth regulator, Bioproduct, Endophytic fungus, Soybean.

RESUMEN

Los microorganismos endofíticos son prometedores en el ámbito agrícola como potenciales estimuladores del crecimiento. Por ello, se evaluó el potencial estimulador de los hongos endófitos en la soja (*Glycine max* (L.) Merril). Inicialmente, se recogieron 12 muestras de hongos endófitos de diferentes partes de varias especies de plantas cultivadas. Estos hongos se aislaron, identificaron, cultivaron y fermentaron durante 72 horas. Tras este proceso, se preparó una concentración del 60% para su aplicación. Plántulas de soja previamente sembradas en macetas de plástico de 500 ml conteniendo sustrato esterilizado y sin ningún tipo de fertilizante y a los 7 días de edad fueron rociadas con 5mL de la solución previamente preparada. Las plántulas se mantuvieron en un invernadero a 28°C con un fotoperiodo de 12 horas. El tamaño y el diámetro del tallo y la raíz se evaluaron 8 días después de aplicar los extractos. Posteriormente, se evaluó la masa fresca y seca utilizando una balanza de precisión. Los resultados mostraron que, de los 12 hongos aplicados a las plántulas, ocho aumentaron

significativamente la longitud del tallo, destacando las plantas tratadas con *Purpureocillium lilacinum* y *Penicillium citrinum*. El diámetro del tallo fue mayor en todos los tratamientos, excepto en las plantas tratadas con *Penicillium citrinum*. La longitud de la raíz también aumentó significativamente cuando se trató con algunas especies fúngicas. Conclusivamente nuestros resultados muestran el potencial uso de estos hongos como bioestimuladores radiculares o del tallo de la soya.

Palabras clave: Regulador de crecimiento, Bioproducto, hongo endofítico, soya

6.1 INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos aumenta a cada dia devido ao crescimento da população, e a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das culturas de segurança alimentar e nutricional mais importantes para o futuro (JOHNSON *et al.*, 2023; RAMLAL *et al.*, 2024). Atualmente esta leguminosa é a quarta cultura mais cultivada no mundo com uma produção estimada em 371 milhões de toneladas na safra 2021, das quais 139 milhões de toneladas são produzidas no Brasil (FAOSTAT, 2023). Devido a sua elevada quantidade proteica (40%) e de óleo vegetal (20%). A soja torna-a altamente desejável para consumo humano e animal e como biocombustível (HERRIDGE *et al.*, 2008; IBANDA *et al.*, 2018; HU *et al.*, 2023; KIM *et al.*, 2023; RANI *et al.*, 2023).

Pelo seu alto teor de proteína a soja atualmente é transformada em produtos alimentares compostos como leite de soja, tofu, pasta de soja, natto e molho de soja, farinha de soja, óleo; além de substituir a fontes de proteínas animais (ovos, carne e leite) (QIN *et al.*, 2022; KIM *et al.*, 2023).

Justamente por sua importância no âmbito mundial, sua produção em grande escala exige uma aplicação excessiva de fertilizantes químicos sintéticos com potenciais efeitos ao meio ambiente ao médio ou longo prazo. Estes efeitos influenciam na comunidade microbiana do solo, acidificação do solo, emissões de gases com efeito estufa e a contaminação das águas subterrâneas por nitratos (TURABI *et al.*, 2024; ZHAO *et al.*, 2024). Além, a aplicação de fertilizantes mesmo que é uma solução rápida para controlar a deficiência de micronutrientes no solo esta é apenas uma solução temporária, e o alto custo de mercado do fertilizante não é acessível aos agricultores com baixo poder aquisitivo (JOHNSON *et al.*, 2023). Neste contexto, é necessário o uso de novas tecnologias para sanar essa grande problemática sem interferir na produção desta importante fonte de proteína (MILAZZO *et al.*, 2013). Mediante a toda esta

conjuntura a inovação biotecnológica pode amenizar o uso destes insumos como a utilização de biomoléculas bioativas no controle de pragas e doenças, herbicidas, promotores de crescimento e controle osmótico das plantas com o déficit hídrico (ZHENG *et al.*, 2016; MELO *et al.*, 2024).

Uma das tecnologias proeminentes para a redução e insumos sintéticos é o uso de microrganismos endófitos; estes organismos na natureza vivem nos tecidos internos das plantas sem causar (em algumas plantas) sintomas evidentes de doença (Wilson, 1995; Nisa *et al.*, 2015). Fungos endofíticos convivem em simbioses com o hospedeiro. A planta protege e alimenta o fungo e este produz para a planta substâncias bioativas (reguladoras do crescimento da planta, antibacterianas, antifúngicas, antivirais, inseticidas, etc.) com o fim de que o hospedeiro se sobreponha a seus competidores (CARROLL, 1988; FAETH, 2002; YAN *et al.*, 2019; CHOUHAN *et al.*, 2022). Esta associação bem equilibrada entre estes organismos e suas plantas hospedeiras pode ser consequência de anos de convivência e evolução. Neste sentido estudos reportam que fungos endofíticos ajudam suas plantas hospedeiras a resistir diversos estresses bióticos e abióticos (Yao *et al.*, 2017) pelo que tem sido foco de atenção para seu potencial aproveitamento na agricultura.

Atualmente existem vários reportes sobre o uso de fungos endofíticos na agricultura, com foco no uso como fungicidas, inseticida, protetor externo da planta, imunidade, resistência a fatores abióticos das plantas (Zheng *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2019; De Souza Ferreira *et al.*, 2023). Porém existem poucos estudos sobre bioestimulantes de fungos endofíticos principalmente em culturas que possuem um grande valor econômico como a soja e cultivado em grandes áreas agrícolas. Assim nosso objetivo foi avaliar o uso de extratos brutos de 12 fungos endofíticos como promotores de crescimento das plântulas de soja.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Isolamento dos fungos endofíticos

Os fungos endofíticos foram repicados em meio de cultura BDA em placas de petri e incubados à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. Este período foi determinado para os crescimentos das colônias de 12 isolados fúngicos, provenientes de plantas cultivadas (**Tabela 1**).

Tabela 1: Isolados fúngicos obtidos de diferentes partes de várias espécies de plantas

Espécie	Planta	Nome Científico	Parte da Planta
<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Alfavacão	<i>Ocimum gratissimum</i>	Folha
<i>Penicilium</i> sp.	Nirá	<i>Allium tuberosum</i>	Bulbo
<i>Chaetonium</i> sp.	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Flôr
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Raiz
<i>Penicilium</i> sp.	Milho	<i>Zea mays</i>	Caule
<i>Penicilium</i> sp.	Gergelim	<i>Sesamum indicum</i>	Raiz
<i>Penicilium</i> sp.	pimenta	<i>Capisicum</i> sp.	Folha
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	pimenta	<i>Capisicum</i> sp.	Semente
<i>Aspergillus</i> sp.	Mirra	<i>Tetradenia riparia</i>	Raiz
<i>Penicillium citrinum</i>	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Raiz
<i>Trichoderma</i> sp.	Aranto	<i>Kalanchoe</i> sp.	Broto
<i>Paecilomyces variotii</i>	Açafrão	<i>Curcuma longa</i> L.	Folha

6.2.2 Identificação dos fungos

A identificação das cepas dos 12 isolados de fungos foi realizada através da observação do crescimento, formação de estruturas vegetativas e reprodutivas, com 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 (BARNETT E HUNTER, 1972; WATANABE, 2002).

6.2.3 Obtenção do extrato fúngico

Os 12 isolados endofíticos foram repicados e cultivados em placas de Petri com meio BDA durante 6 dias e incubado em estufa climatizada a $\pm 28^{\circ}\text{C}$. Em seguida, 2 discos do micélio de 6 mm de diâmetro foram adicionados em 3 frascos de Erlenmeyer de 500mL. Os frascos continham 300 mL do meio de cultura MBD: 200 g/L de batata e 20g/L de dextrose. Foram incubados 28°C a 120 rpm por 3 dias, após de 72h foram retiradas amostras para a realização dos ensaios de pós-emergência (TALUKDAR *et al.*, 2021).

6.2.4 Bioensaios nas plântulas de soja

As sementes de soja foram cultivadas em potes de plástico de 500 ml contendo substrato esterilizado e autoclavado e sem nenhum tipo de adubação. Em cada pote foram semeadas 3 sementes sadias de soja, e mantidas em casa de vegetação em temperatura $\pm 28^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo

24 horas, durante 7 dias sendo umedecidos quando necessário. Subsequentemente foi preparada em água destilada uma concentração fúngicas ao 60 para cada extrato bruto, no controle apenas água destilada foi aplicada. Após 7 dias de ter germinado as plantas um volume de 5 mL de cada tratamento foi aplicado via superfície foliar na parte da manhã (08:00 – 09:00). E após de 8 dias desde a aplicação dos extratos (15 dias desde a germinação das sementes e foram avaliados o tamanho e o diâmetro do caule e a raiz usando uma régua graduada e/ou paquímetro. Posteriormente tanto foi avaliada a massa fresca e seca (após de secagem em estufa durante 48 horas a 50 °C) usando uma balança de precisão. O experimento foi realizado em triplicata.

6.2.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa estatístico Sisvar, 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 ScottKnott a 5% de probabilidade.

6.3 RESULTADOS

Aqui foi demonstrado que os fungos endofíticos influenciam no desenvolvimento das plantas de soja, e esta influência foi dependente da espécie de fungo aplicada. Foram observadas diferenças no comprimento do caule e raiz, diâmetro (caule) da soja, de acordo com a espécie de fungo tratada. Dos 12 fungos aplicados nas plântulas de soja, oito incrementaram significativamente o comprimento do caule de soja, com um maior destaque para as plantas tratadas com *Purpureocillium lilacinum* e *Penicillium citrinum* ($P < 0.001$) (**Figura 1A**) coletados em *Capisicum* sp. (semente) e *Solanum* sp. (raiz) respectivamente. Já o diâmetro do caule foi maior em todos os tratamentos ($P = 0.0003$) exceto nas plantas tratadas com *Penicillium citrinum* (**Figura 1B**) proveniente do *Solanum* sp. (raiz). O comprimento da raiz também foi incrementado significativamente ($P = 0.0003$) quando tratados com algumas espécies de fungos (**Figura 1C**).

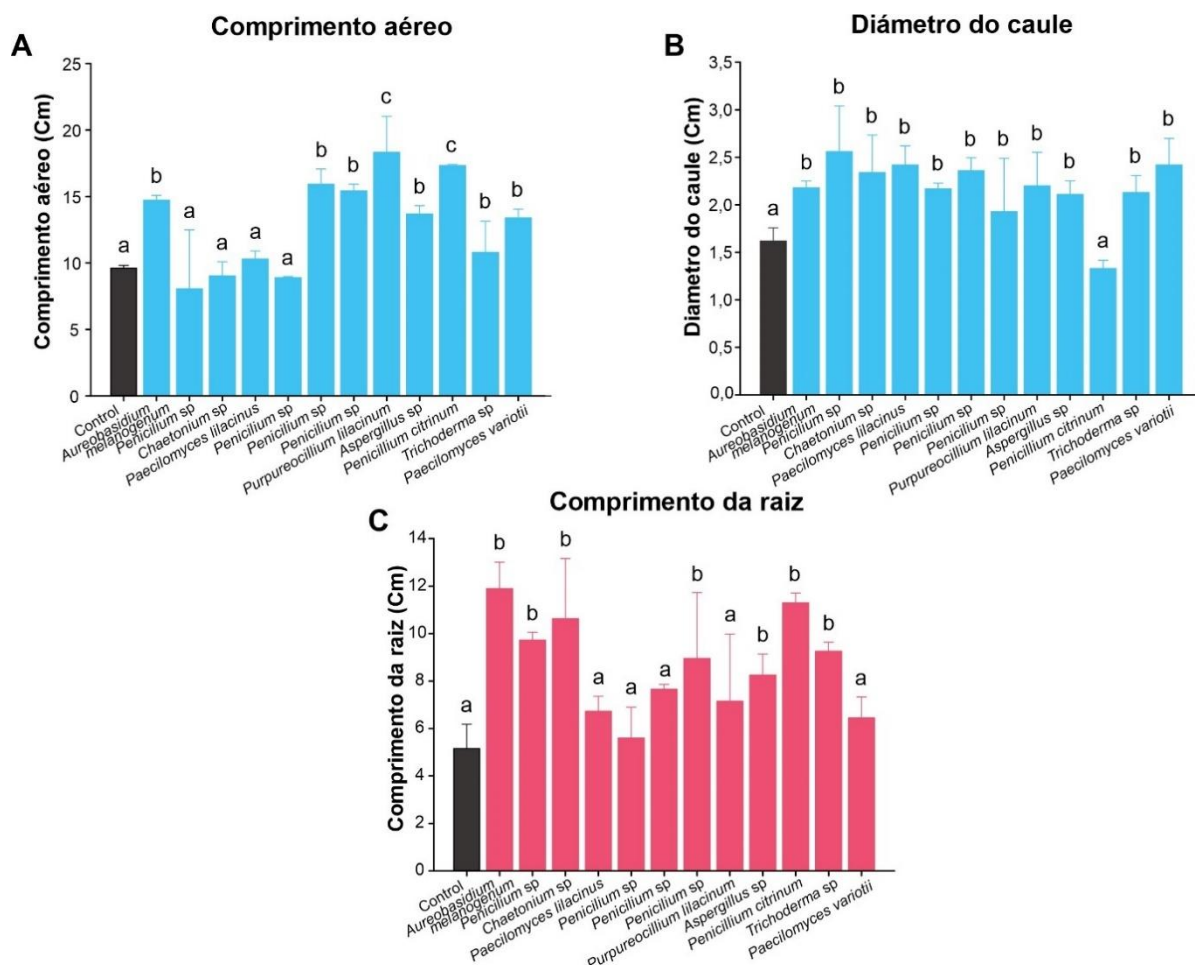


Figura 1. Efeito no comprimento aéreo (A), diâmetro do caule (B) e comprimento da raiz (C) da soja quando exposta a extratos de diferentes fungos endofíticos. As barras representam as medias de três réplicas e as linhas verticais o desvio padrão, letras iguais nas barras significa ausência de diferencia estatística pelo teste Scott-Knott ($P < 0.05$).

Similarmente os fungos *Aureobasidium melanogenum*, *Penicillium sp. Chaetonium sp.*, *Penicillium citrinum* e *Trichoderma sp.* provenientes de *Allium tuberosum* (bulbo), *Solanum sp.* (flor), *Solanum sp.* (raiz), *Solanum sp.* (raiz) e *Kalanchoe sp.* (broto) respectivamente incrementarem o peso ($P = 0.036$) da massa aérea fresca (**Figura 2A**); o mesmo resultado foi observado no peso da massa aérea seca ($P = 0.001$) exceto para o fungo *P. citrinum* e *Trichoderma sp.* (**Figura 2B**), já na massa radicular os tratamentos com os fungos *Penicillium sp.* de *Allium tuberosum* (bulbo) e *Chaetonium sp.* de *Solanum sp.* (flor) apresentaram um maior incremento de peso tanto em fresco ($P < 0.001$) (**Figura 2C**) como em seco ($P < 0.001$) (**Figura 2D**).

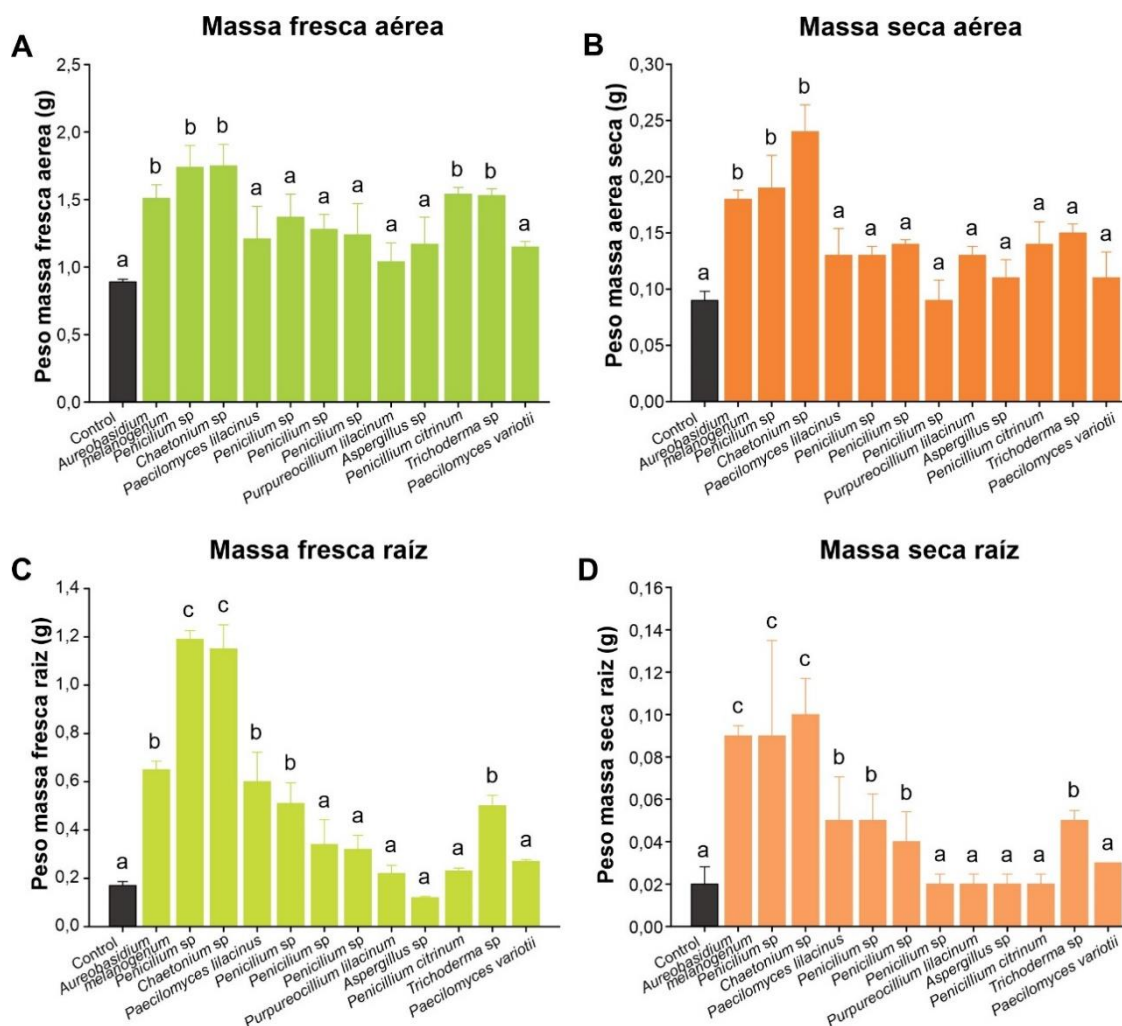


Figura 2. Efeito na massa aérea fresca e seca (A,B) e massa radicular (C,D) da soja quando exposta a extratos de diferentes fungos endofíticos; As barras representam as medias de três réplicas e as linhas verticais o desvio padrão, letras iguais nas barras significa ausência de diferencia estatística pelo teste Scott-Knott ($P < 0.05$).

6.4 DISCUSSÃO

Nossos resultados evidenciaram o potencial dos fungos endofíticos como bioagentes a serem usados na cultura de soja. Porém este potencial é dependente da espécie e da origem da planta destes, percebe-se que estes fungos influenciaram positivamente no crescimento tanto da parte aérea como da parte radicular de plantas de soja o que os faz proeminentes no seu uso como bioestimuladores de crescimento.

O comprimento aéreo foi estimulado nas plantas de soja quando tratadas com várias espécies de fungos endofíticos, porém esta estimulação foi, mais notória nas plantas tratadas com *Purpureocillium lilacinum* e *Penicillium citrillum* provenientes da semente de *Capsicum*

sp. e da raiz de *Solanum* sp. respectivamente. Os resultados concordam com outros estudos que mostraram que o fungo *P. lilacinum* que promoveu o crescimento de plantas de milho, feijão, soja e pimenta in vitro e em condições de semi-campo (BARON *et al.*, 2020; MORENO-SALAZAR *et al.*, 2020; KHAN E TANAKA, 2023). Estes mesmos estudos observaram que as plantas tratadas com *P. lilacinum* apresentaram melhores pigmentos fotossintéticos (clorofila, caroteoides) das plantas. Outros autores sugerem que o crescimento das plantas quando tratadas com *P. lilacinum* e devido a habilidade deste fungo de solubilizar fosfato de cálcio do solo como fonte de fósforo para a planta além de incrementar a aquisição de nutrientes do solo (Hernández-Leal *et al.*, 2011; Nieto-Jacobo *et al.*, 2017); além de produzir o ácido indol acético (auxina) que é uma fito-hormona, responsável por vários efeitos no desenvolvimento de rebentos e raízes e outros processos fisiológicos das plantas (JAROSZUK-ŚCISEŁ *et al.*, 2014; KUNKEL e HARPER, 2017; BARON *et al.*, 2020).

Conforme aqui encontrado, outros estudos reportaram que plantas tratadas com o fungo *Penicillium citrillum* desenvolveram um melhor comprimento do caule e a raiz; atividade que foi atribuída à alta presença de giberlinas (KHAN *et al.*, 2008; WAQAS *et al.*, 2015). As Giberlinas são uma família de fitohormônios vegetais diterpenoides provenientes de processos metabólitos das plantas, e sua produção pode ser estimulada em presença de microrganismos. Estes fitohormônios são bem conhecidas por serem estimuladoras de crescimento em algumas espécies de plantas e principalmente do caule (NISHIJIMA *et al.*, 1994; KHAN *et al.*, 2008). Além, tem sido reportado que os *P. citrinum* tem a capacidade de solubilizar fosforo inorgânico do solo fazendo-o mais disponíveis para a planta (MITTAL *et al.*, 2008; CHOUHAN *et al.*, 2022). Mais recentemente reportou que o *P. citrillum* além de produzir fitohormônios ácido indol acético (auxina) e outras citocininas estimula a produção do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico e desaminasse (solubiliza fosfato) e sideróforos (solubizador de ferro) (GU *et al.*, 2023; JAISWAL *et al.*, 2023).

Porém o *Purpureocillium lilacinum* e *Penicillium citrillum* foram os que mais contribuíram no crescimento do caule, o diâmetro deste foi maior em todos os outros tratamentos, exceto quando tratado com *P. citrillum*. Este crescimento do diâmetro pode estar relacionado com a produção de fitohormônios destes fungos (Khan *et al.*, 2008; Khan e Tanaka, 2023); sem deixar de destacar a especificidade destes fungos a determinadas espécies de plantas. Já o comprimento da raiz foi incrementado quando a soja foi tratada com *Aureobasidium melanogenum*, *Penicilium* sp, *Chaetonium* sp, *Aspergillus* sp, *Penicillium citrinum* e *Trichoderma* sp. resultados que concordam com outros estudos (Wakelin *et al.*, 2004; Khan *et al.*, 2008; Doni *et al.*, 2014; Islam *et al.*, 2014; Pandya *et al.*, 2018; Tian *et al.*,

2022; Gu *et al.*, 2023) atribuem estas propriedades a sua capacidade de estimular e regular a produção de mediante uma complexa biossíntese do metabolismo de fitohormônios vegetais. Estes incrementos no crescimento da raiz das plantas são de extrema importância nas culturas de climas cálidos devido á possibilidade de tolerar mais stress abióticos principalmente o hídrico.

A massa das partes aéreas da soja e a massa radicular também foram incrementados quando tratados com determinados fungos endofíticos. Porém este incremento nem sempre esteve associado ao incremento do comprimento aéreo ou radicular ou do diâmetro do caule. Similares resultados foram reportados em plantas de beringela *Solanum melongena* quando tratada com o fungo *Purpureocillium lilacinum* (KHAN e TANAKA, 2023) ou nabo *Brassica rapa* quando tratado com *Penicillium citrinum* (GU *et al.*, 2023). Assim nossos resultados revelam o potencial dos fungos endofíticos como promotores de crescimento, o que pode ser de interesse na procura na biotecnologia agrícola para reduzir o efeito nas plantas de estresse abiótico.

6.5 REFERENCIAS

BARNETT, H.; HUNTER, B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Minneapolis, Burgess Publishing Company., 1972. v+241 pp.

BARON, N. C.; DE SOUZA POLLO, A.; RIGOBELLO, E. C. *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi. **PeerJ**, v. 8, p. e9005, 2020. ISSN 2167-8359.

CARROLL, G. Fungal endophytes in stems and leaves: From latent pathogen to mutualistic symbiont. **Ecology**, v. 69, n. 1, p. 2-9, 1988. ISSN 0012-9658. Disponível em: < <https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2307/1943154> >.

CHOUHAN, S.; AGRAWAL, L.; PRAKASH, A. Amelioration in traditional farming system by exploring the different plant growth-promoting attributes of endophytes for sustainable agriculture. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 151, 2022/01/24 2022. ISSN 1432-072X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02637-4> >.

DE SOUZA FERREIRA, T. P. et al. Prospecção de fungos Endofíticos isolados de plantas cultiváveis e não cultiváveis e seus efeitos na quebra de dormência de sementes de capim *Andropogon* L. **DELOS: Desarrollo Local Sostenible**, v. 16, n. 43, p. 716-733, 2023. ISSN 1988-5245.

DONI, F. et al. Physiological and growth response of rice plants (*Oryza sativa* L.) to *Trichoderma* spp. inoculants. **AMB Express**, v. 4, n. 1, p. 45, 2014/05/29 2014. ISSN 2191-0855. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0045-8> >.

FAETH, S. H. Are endophytic fungi defensive plant mutualists? **Oikos**, v. 98, n. 1, p. 25-36, 2002. ISSN 0030-1299. Disponível em: < <https://nsojournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0706.2002.980103.x> >.

FAOSTAT. **Crops and livestock products**. Retrieved January 28, 2023, from 2023.

GU, K. et al. *Penicillium citrinum* provides transkingdom growth benefits in choy sum (*Brassica rapa* var. *parachinensis*). **Journal of Fungi**, v. 9, n. 4, p. 420, 2023. ISSN 2309-608X. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/2309-608X/9/4/420> >.

HERNÁNDEZ-LEAL, T. I.; CARRIÓN, G.; HEREDIA, G. Solubilización in vitro de fosfatos por una cepa de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. **Agrociencia**, v. 45, n. 8, p. 881-892, 2011. ISSN 1405-3195.

HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1, p. 1-18, 2008/10/01 2008. ISSN 1573-5036. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9668-3> >.

HU, S.; LIU, C.; LIU, X. The beneficial effects of soybean proteins and peptides on chronic diseases. **Nutrients**, v. 15, n. 8, p. 1811, 2023. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/8/1811> >.

IBANDA, A. P. et al. Combining ability and heritability of soybean resistance to groundnut leaf miner. **Euphytica**, v. 214, n. 10, p. 192, 2018/09/28 2018. ISSN 1573-5060. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2271-7> >.

ISLAM, S. et al. Chilli rhizosphere fungus *Aspergillus* spp. PPA1 promotes vegetative growth of cucumber (*Cucumis sativus*) plants upon root colonisation. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 10, p. 1231-1238, 2014/06/15 2014. ISSN 0323-5408. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.837633> >.

JAISWAL, S.; OJHA, A.; MISHRA, S. K. Assessment of plant growth-promoting parameters of endophytes isolated from *Calotropis procera* and their performance under irrigated and non-irrigated conditions. **Current Microbiology**, v. 81, n. 1, p. 49, 2023/12/26 2023. ISSN 1432-0991. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03570-z> >.

JAROSZUK-ŚCISEŁ, J.; KUREK, E.; TRYTEK, M. Efficiency of indoleacetic acid, gibberellic acid and ethylene synthesized in vitro by *Fusarium culmorum* strains with different effects on cereal growth. **Biologia**, v. 69, n. 3, p. 281-292, 2014/03/01 2014. ISSN 1336-9563. Disponível em: < <https://doi.org/10.2478/s11756-013-0328-6> >.

JOHNSON, K. V. H. et al. Food and nutritional security: Innovative approaches for improving micronutrient use efficiency in Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under hostile soils. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 56-70, 2023/03/01 2023. ISSN 0718-9516. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01025-1> >.

KHAN, M.; TANAKA, K. *Purpureocillium lilacinum* for plant growth promotion and biocontrol against root-knot nematodes infecting eggplant. **PLoS One**, v. 18, n. 3, p. e0283550, 2023. Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283550> >.

KHAN, S. A. et al. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. **BMC Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 231, 2008/12/22 2008. ISSN 1471-2180. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-231> >.

KIM, W. J. et al. Quantitative trait loci (QTL) analysis of seed protein and oil content in wild soybean (*Glycine soja*). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 4077, 2023. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/4077> >.

KUNKEL, B. N.; HARPER, C. P. The roles of auxin during interactions between bacterial plant pathogens and their hosts. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 245-254, 2017. ISSN 0022-0957. Disponível em: < <https://doi.org/10.1093/jxb/erx447> >. Acesso em: 3/16/2024.

MELO, G. B. et al. Foliar application of biostimulant mitigates water stress effects on soybean. **Agronomy**, v. 14, n. 3, p. 414, 2024. ISSN 2073-4395. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/2073-4395/14/3/414> >.

MILAZZO, M. F. et al. Sustainable soy biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 806-852, 2013/11/01/ 2013. ISSN 1364-0321. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032113004760> >.

MITTAL, V. et al. Stimulatory effect of phosphate-solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 3, p. 718-727, 2008/03/01/ 2008. ISSN 0038-0717. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071707004178> >.

MORENO-SALAZAR, R. et al. Plant growth, foliar nutritional content and fruit yield of *Capsicum chinense* biofertilized with *Purpureocillium lilacinum* under greenhouse conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 261, p. 108950, 2020/02/05/ 2020. ISSN 0304-4238. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423819308362> >.

NIETO-JACOBO, M. F. et al. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017-February-09 2017. ISSN 1664-462X. Disponível em: < <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2017.00102> >.

NISA, H. et al. Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review. **Microbial Pathogenesis**, v. 82, p. 50-59, 2015/05/01/ 2015. ISSN 0882-4010. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401015000601> >.

NISHIJIMA, T. et al. Endogenous gibberellins and bolting in cultivars of Japanese radish. **Plant Bioregulators in Horticulture** 394, p. 199-206, 1994. ISSN 9066054867.

PANDYA, N. D. et al. Plant growth promoting potential of *Aspergillus* sp. NPF7, isolated from wheat rhizosphere in South Gujarat, India. **Environmental Sustainability**, v. 1, n. 3, p. 245-252, 2018/09/01 2018. ISSN 2523-8922. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s42398-018-0025-z> >.

QIN, P.; WANG, T.; LUO, Y. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 7, p. 100265, 2022/03/01/ 2022. ISSN 2666-1543. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666154321001678> >.

RAMLAL, A. et al. Androgenesis in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.): a critical revisit. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 60, n. 1, p. 1-15, 2024/02/01 2024. ISSN 1475-2689. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11627-023-10402-z> >.

RANI, R. et al. Genetic diversity and population structure analysis in cultivated soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) using SSR and EST-SSR markers. **PLOS ONE**, v. 18, n. 5, p. e0286099, 2023. Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286099> >.

TALUKDAR, R. et al. Isolation and characterization of an endophytic fungus *Colletotrichum coccodes* producing tyrosol from *Houttuynia cordata* Thunb. Using ITS2 RNA Secondary Structure and Molecular Docking Study. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 2021-June-17 2021. ISSN 2296-4185. Disponível em: < <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2021.650247> >.

TIAN, Y. et al. Mechanisms in growth-promoting of Cucumber by the endophytic fungus *Chaetomium globosum* strain ND35. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 2, p. 180, 2022. ISSN 2309-608X. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/2309-608X/8/2/180> >.

TURABI, A. B. et al. Optimizing soybean crop performance through the Integrated application of organic and chemical fertilizers: A study on alkaline soil in Afghanistan. **Crops**, v. 4, n. 1, p. 82-94, 2024. ISSN 2673-7655. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/2673-7655/4/1/7> >.

WAKELIN, S. A. et al. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. **Biology and Fertility of Soils**, v. 40, n. 1, p. 36-43, 2004/06/01 2004. ISSN 1432-0789. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00374-004-0750-6> >.

WAQAS, M. et al. Endophytic fungi promote plant growth and mitigate the adverse effects of stem rot: an example of *Penicillium citrinum* and *Aspergillus terreus*. **Journal of Plant Interactions**, v. 10, n. 1, p. 280-287, 2015/01/01 2015. ISSN 1742-9145. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/17429145.2015.1079743> >.

WATANABE, T. Morphologies of cultured fungi and key to species. **Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi**, v. 362, 2002.

WILSON, D. Endophyte: The evolution of a term, and clarification of Its use and definition. **Oikos**, v. 73, n. 2, p. 274-276, 1995. ISSN 00301299, 16000706. Disponível em: < <http://www.jstor.org/stable/3545919> >. Acesso em: 2024/03/14/.

YAN, L. et al. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 8, p. 3327-3340, 2019/04/01 2019. ISSN 1432-0614. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09713-2> >.

YAO, Y. Q. et al. Endophytic fungi harbored in the root of *Sophora tonkinensis* Gapnep: Diversity and biocontrol potential against phytopathogens. **MicrobiologyOpen**, v. 6, n. 3, p. e00437, 2017. ISSN 2045-8827. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mbo3.437> >.

ZHAO, T. et al. Coupling of reduced inorganic fertilizer with plant-based organic fertilizer as a promising fertilizer management strategy for colored rice in tropical regions. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 23, n. 1, p. 93-107, 2024/01/01/ 2024. ISSN 2095-3119. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095311923001053> >.

ZHENG, Y.-K. et al. Diversity, distribution and biotechnological potential of endophytic fungi. **Annals of Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 529-542, 2016/06/01 2016. ISSN 1869-2044. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1153-7> >.

7 CAPITULO IV - EFEITO DE FUNGOS ENDOFITICOS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DO CAPIM MOMBAÇA (*Panicum maximum* cv. Mombaça)

SUBMISSÃO: O referente artigo ainda não foi submetido

RESUMO

O capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) É uma pastagem de alta produtividade, apresenta elevada porcentagem de folhas, principalmente na seca, com perfilhos vigorosos e alta tolerância à seca. Os endófitos fúngicos colonizam os tecidos sem causar danos ao seu hospedeiro, estimulando o desenvolvimento da planta por meio da produção de metabólitos secundários. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência de fungos endofíticos isolados de plantas cultivadas e não cultiváveis sobre desenvolvimento de plantas do capim Mombaça, no município de Gurupi, Tocantins, Brasil. O experimento foi conduzido em vasos que continham 10 kg de substrato que foram utilizadas dois controles que continham apenas o CaCO_3 e outro $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ com a mesma proporção que foi adicionado para os vasos que continham os fungos. Após 80 dias da semeadura foram feitas as avaliações com as análises estatísticas. A análise estatística foi realizada com delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, aplicando a análise de variância (ANOVA) com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Como resultado foi verificado que os isolados fúngicos *Penicillium* sp. (T5) e o *Chaetomium* sp. (T3) foram superiores aos demais tratamentos em todas as variáveis resposta sendo que o *Penicillium* sp. (T5), sempre atingiu médias bem superiores aos demais isolados fúngicos tratamentos com dois controles. Portanto, verificou-se que os isolados fúngicos endofíticos são potencialmente bioestimuladores melhorando a qualidade das forrageiras na agropecuária brasileira e com grande potencial de diminuir o uso de fertilizantes químicos.

Palavras-chave: Regulador de crescimento; Bioestimuladores; Fungo endofítico; Mombaça

7.1 INTRODUÇÃO

As pastagens ocupam aproximadamente um terço da superfície terrestre, representam a maior parte das terras aráveis do planeta e são utilizadas principalmente para a pecuária (REINERMANN *et al.*, 2020). Recobrem cerca de 170 milhões de hectares do território brasileiro, o que equivale a 2/3 da área agrícola do país (IBGE, 2019). Dada a extensa área

ocupada, o Brasil destaca-se na produção de bovinos a pasto, possuindo o maior rebanho com exploração comercial do mundo, com cerca de 234.352.649 milhões de cabeças (IBGE, 2022).

A espécie *Panicum maximum* Jacq. é originária da África tropical até a África do Sul, em margens florestais, onde ocupa solo recém-desmatado e em pastagens sob sombra rala de árvores. Seu habitat abrange altitudes de 0 nível do mar até 1.800 m.s.n.m. (JANK, 1995; JÚNIOR *et al.*, 2014).

O capim *P. maximum* cv. Mombaça, lançado no Brasil em 1993, (JANK, 1995), é um cultivar de alta produtividade, com alta porcentagem de folhas, principalmente na seca (MÜLLER *et al.*, 2002). Trata-se de uma gramínea tropical de porte elevado, com perfilhos vigorosos, tolerância alta a seca e reprodução apomítica por sementes, com resultados muito satisfatórios, notadamente nas fazendas com pecuária intensificada. Esses atributos do capim-mombaça têm motivado uma demanda bastante expressiva por sementes (BOONMAN, 1993).

Para manter a alta produtividade exige um pasto mais tecnificado com correções de adubação que podem ser usados excessivamente causando danos ambientais, eutrofização de corpos hídricos, degradação da qualidade dos corpos d'água e ineficiência no aproveitamento dos insumos (HAYGARTH *et al.*, 2014; MATOS, 2023).

Então, há necessidade de desenvolver estratégias alternativas seguras para proteger e melhorar o rendimento das culturas. Uma dessas alternativas promissoras é a aplicação de fungos endofíticos para melhorar o desenvolvimento da planta (MUKHERJEE *et al.*, 2021).

Os endófitos fúngicos colonizam os tecidos internos saudáveis das plantas sem causar quaisquer sintomas de doença ao hospedeiro. Eles são conhecidos por conferir benefícios consideráveis ao hospedeiro ao produzirem substâncias que estimulam o crescimento das plantas (AHMAD *et al.*, 2020; KHALIL *et al.*, 2021). Eles têm a mesma via anabólica ou semelhante que as plantas hospedeiras, o que pode promover o crescimento das plantas (WANI *et al.*, 2015).

Rana *et al.* (2019) enfatizam que os fungos endofíticos podem colonizar vários órgãos das plantas como caule, pecíolos, folhas (foliares), frutos, botões, sementes e nas inflorescências, desempenhando assim, um papel significativo no ciclo de vida da planta, como promotores de crescimento.

Estudos sobre fungos endofíticos transmitidos por sementes são importantes porque desempenham papéis significativos na produtividade das plantas. Esses fungos podem influenciar na germinação das sementes, vigor das mudas e crescimento geral das plantas e pode levar ao desenvolvimento de práticas agrícolas sustentáveis (YAN, LU *et al.*, 2019, ROY

et al., 2023). Os fungos endofíticos possuem, ainda, compostos voláteis que podem melhorar o crescimento das plantas (KUMAR *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2014).

Então, novas alternativas para diminuir os impactos ambiental, saúde humana e animal destaca a importância de estudar fungos endofíticos como promotores de crescimento para a produção agrícola sustentável servindo como bioestimuladores para melhor produção na agropecuária (POVEDA *et al.*, 2021). Estudos comprovando o efeito de fungos endofíticos na promoção de crescimento de forrageiras têm sido escassos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência de fungos endofíticos isolados de plantas cultivadas e não cultivadas sobre desenvolvimento de plantas do capim Mombaça.

7.2 MATERIAL E METODOS

7.2.1 Isolamento dos fungos endofíticos

Os fungos endofíticos foram repicados em meio de cultura BDA em placas de petri e incubados à temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. Este período foi determinado para os crescimentos das colônias de 12 isolados fúngicos, provenientes de plantas cultivadas e não cultivadas (**Tabela 1**).

Tabela 1: Isolados fúngicos obtidos de diferentes partes de várias espécies de plantas

Espécie	Planta	Nome Científico	Parte da Planta
<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Alfavacão	<i>Ocimum gratissimum</i>	Folha
<i>Penicilium</i> sp.	Nirá	<i>Allium tuberosum</i>	Bulbo
<i>Chaetonium</i> sp.	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Flôr
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Raiz
<i>Penicilium</i> sp.	Milho	<i>Zea mays</i>	Caule
<i>Penicilium</i> sp.	Gergelim	<i>Sesamum indicum</i>	Raiz
<i>Penicilium</i> sp.	Pimenta	<i>Capisicum</i> sp.	Folha
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pimenta	<i>Capisicum</i> sp.	Semente
<i>Aspergillus</i> sp.	Mirra	<i>Tetradenia riparia</i>	Raiz
<i>Penicillium citrinum</i>	Joá bravo	<i>Solanum</i> sp.	Raiz
<i>Trichoderma</i> sp.	Aranto	<i>Kalanchoe</i> sp.	Broto
<i>Paecilomyces variotii</i>	Açafrão	<i>Curcuma longa</i> L.	Folha

7.2.2 Identificação dos fungos

A identificação das cepas das 12 espécies de endofíticos foi realizada através da microscopia ótica de luz, observando-se o crescimento e pigmentação da colônia, formação e

característica das hifas e dos conídios. Os fungos foram identificados com base na morfologia conjunta das estruturas reprodutivas de acordo com literatura especializada (BARNETT E HUNTER, 1972) e WATANABE, 2002).

7.2.3 Avaliação das atividades de promoção do crescimento vegetal de diferentes isolados de fungos endofíticos

O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, em cinco repetições. Os tratamentos foram representados pelos fungos endofíticos (*Aureobasidium melanogenum* (T1), *Penicillium* sp. (T2), *Chaetonium* sp. (T3), *Paecilomyces lilacinus* (T4), *Penicillium* sp (T5), *Penicillium* sp (T6), *Penicillium* sp (T7), *Purpureocillium lilacinum* (T8), *Aspergillus* sp. (T19), *Penicillium citrinum* (T28), *Trichoderma* sp. (T34) e *Paecilomyces variotii* (T37).

As sementes de capim Mombaça foram submersas durante 24 horas em frasco de vidro contendo 200 ml de água destilada com esporos e hifas dos 12 isolados fúngicos. No dia seguinte este extrato que continham os isolados fúngicos foram semeados em vasos de 10 kg com solo esterilizado. Também foram utilizadas duas testemunhas que continham apenas o CaCO_3 e outro $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ com a mesma proporção que foi adicionado para os vasos que continham os fungos. Este solo foi preparado 15 dias antes do semeio com 20 gr de calcário dolomítico, e no dia anterior ao semeio foi adicionado 30 gr de superfosfato simples. Após a emergência das plântulas do capim Mombaça foram desbastadas e deixando as cinco plântulas mais vigorosas em todos os vasos que continham os tratamentos.

A avaliação das plantas foi realizada após 80 dias do plantio. A folha, caule e a raiz foram medidos com o auxílio de régua graduada e o diâmetro com um paquímetro. A massa fresca da raiz e do caule foram pesados em balança analítica de precisão e, em seguida, dispostos em estufa de secagem durante 2 dias com a temperatura de 60°C, e, então, pesados para obtenção da massa seca. Estes dados foram dispostos na tabela como: números de folhas, número de perfilhos e comprimento da folha; massa aérea (fresca), massa aérea (seca) e diâmetro do caule e comprimento da raiz, comprimento da raiz, massa fresca (raiz), massa seca (raiz).

7.2.5 Análise Estatística

Os resultados obtidos experimentalmente no ensaio de promoção de crescimento, foram analisados pelo delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, aplicando a análise de variância (ANOVA) com o teste de teste Tukey a 5% de probabilidade.

7.3 RESULTADOS

7.3.1 Efeito de fungos endofíticos na parte aérea do capim Mombaça *Panicum maximum* cv. Mombaça

O potencial de fungos endofíticos como promotores de crescimento em capim mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) foi avaliado o número de folhas incrementado nas plantas tratadas apenas com *Penicilium* sp. (**Figura 1A**) o comprimento destas foi incrementado com varias outras espécies, e principalmente com *Penicilium* sp. e *Trichoderma* sp. (**Figura 1B**). o numero de perfilhos também foi incrementado quando tratadas com o fungo *Chanetonium* sp. e *Penicilium* sp. (**Figura 1C**).

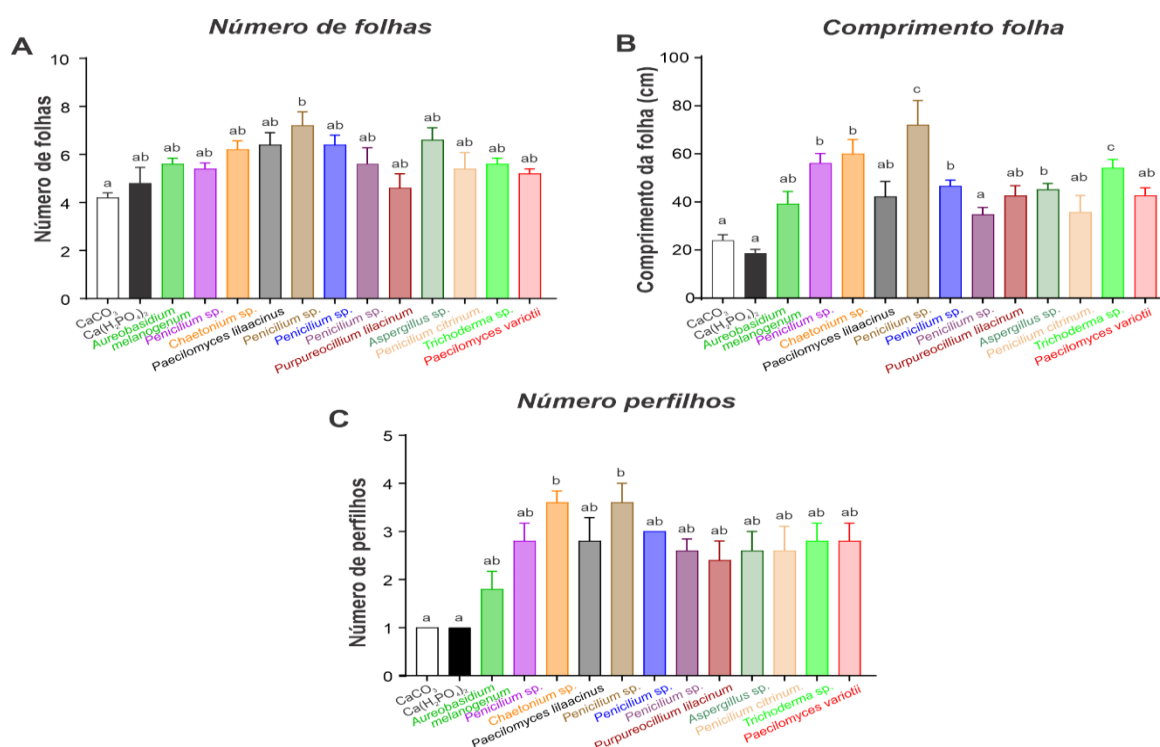


Figura 1. Efeito de fungos endofíticos no número (A) e comprimento das folhas (B) e nos perfilhos do capim Mombaça (C) (*Panicum maximum* cv. Mombaça). Barras representam a media e as líneas verticais nestas o desvio padrão; letras diferentes sobre as barras significa

diferença estatística por o Kruskal-Wallis test (dados não normais) ou o teste Tukey (normais) com significância de $P < 0.05$.

Similarmente foi encontrada uma maior massa aérea fresca (**Figura 2A**) e seca (**Figura 2B**) das planta de capim Mombaça nas plantas tratadas com o fungo *Penicillium* sp. Porém o diâmetro do caule foi incrementado nas plantas tratadas com esta espécie e com o *Chanetonium* sp (**Figura 2C**).

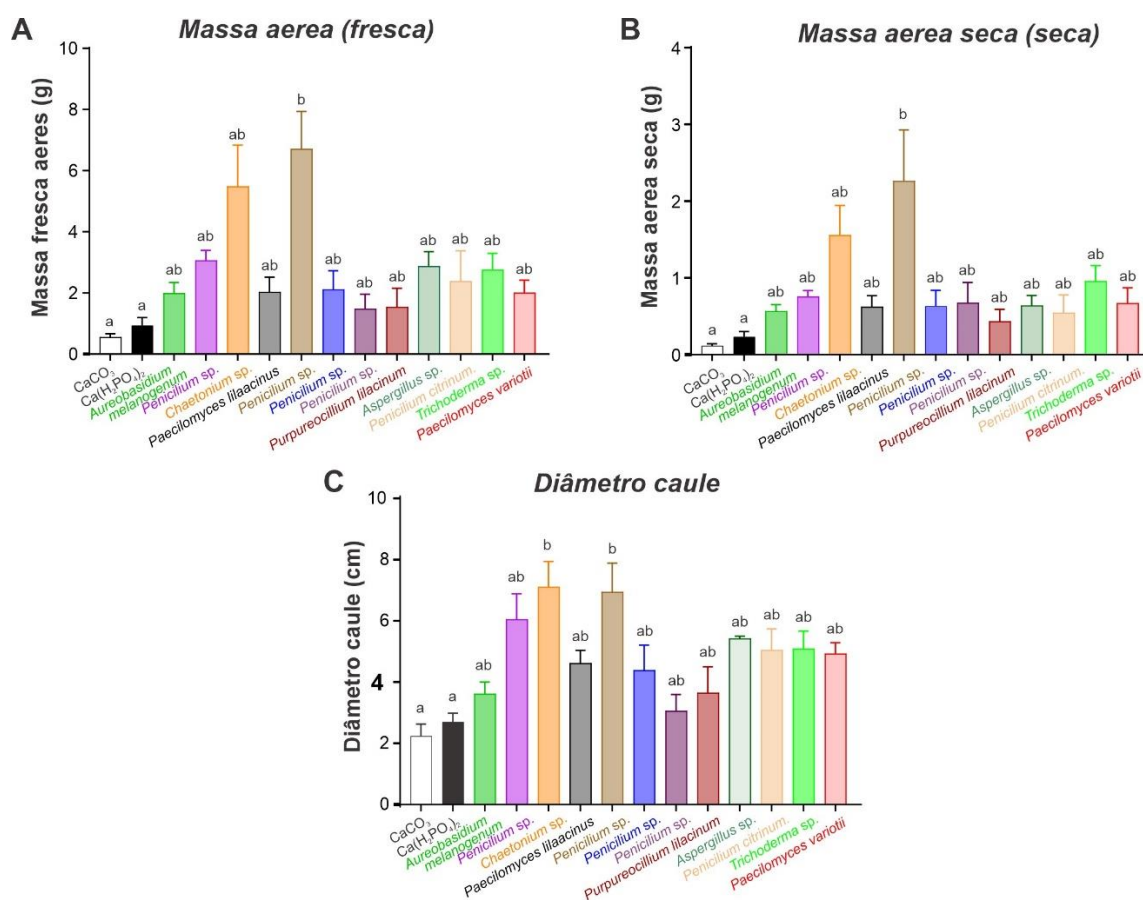


Figura 2. Efeito de fungos endofíticos na massa aerea fresca (A), seca (B) e no diâmetro do caule (C) do capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça). Barras indicas a media e líneas verticais nestas o desvio padrão; letras diferentes nas baras significa diferença estatística por o Kruskal-Wallis test $P < 0.05$.

7.3.2 Efeito de fungos endofíticos na parte radícula do capim Mombaça *Panicum maximum* cv. Mombaça

Quando avaliada a parte radicular do capim Mombaça foi evidente um incremento no comprimento da raiz para as plantas tratadas com *Aureobasidium melanogenum*, *Penicillium* sp.,

Chaetomium sp., *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp. com um maior incremento para estas dois últimas espécies de fungos (**Figure 3A**). Já a maioria das espécies de fungos endofíticos cotribuirom para um incremento do diâmetro da raiz, com exceção duas espécies de *Penicillium* e o *Purpureocillium lilacinum* (**Figura 3B**). Entanto que a massa radicular fresca (**Figura 3C**) e seca (**Figura 3D**) foi incrementada nos tratamentos com o fungo *Penicillium* sp.

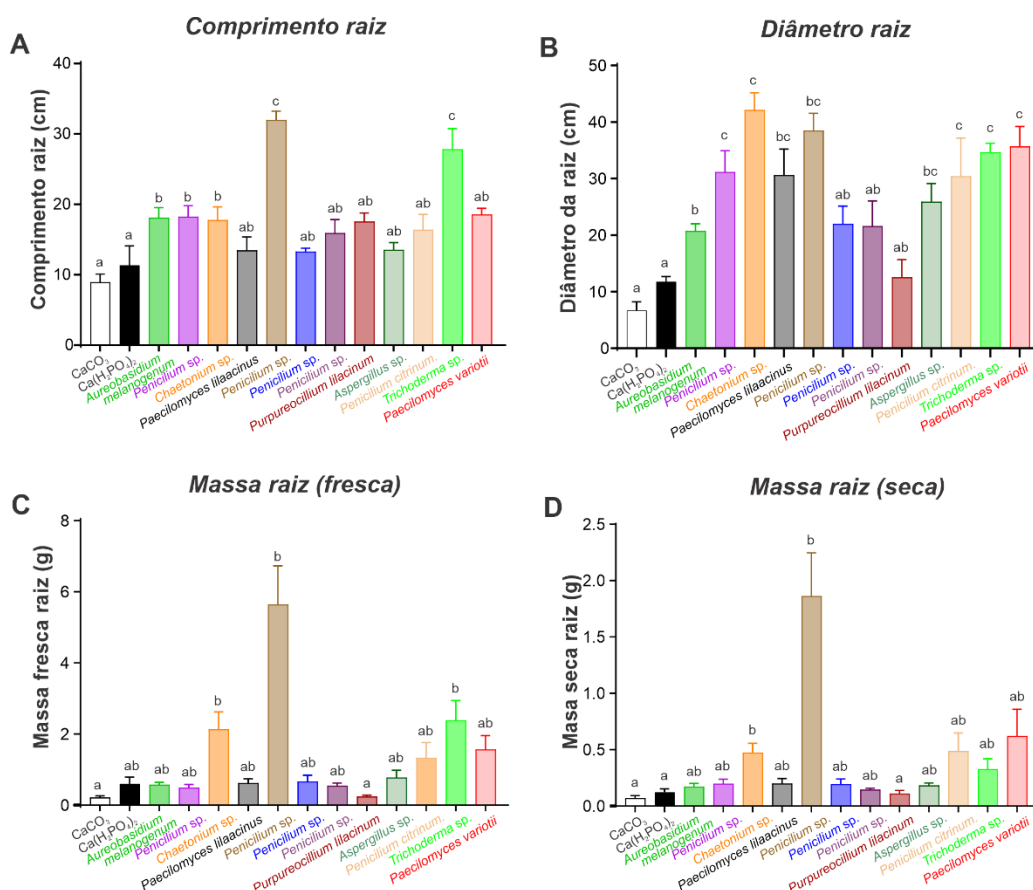


Figura 3. Efeito de fungos endofíticos na parte radicular; comprimento (A), diâmetro (B), massa fresca (C) e massa seca (C) da raiz de *Panicum maximum* cv. Mombaça. Barras representam a media e líneas verticais nestas o desvio padrão; letras diferentes nas sobre as barras indica diferença estatística por o Kruskal-Wallis test (dados não normais) ou o teste Tukey (normais) com significância de $P < 0.05$.

7.4 DISCUSSÃO

Neste estudo foi avaliado após de 80 dias de plantio a influencia dos fungos endofíticos inoculados nas sementes do capim Mombaça no processo de desenvolvimento da planta do capim Mombaça.

Os resultados obtidos com os 12 tratamentos com os fungos endofíticos melhoraram o desenvolvimento do capim Mombaça conforme a análise estatística de cada variável resposta: números de folhas, número de perfilhos e comprimento da folha; massa aérea (fresca), massa aérea (seca) e diâmetro do caule e comprimento da raiz, comprimento da raiz, massa fresca (raiz), massa seca (raiz), em relação aos controles 1 e 2. Para estas variáveis, de um modo geral, pode-se destacar os tratamentos com *Penicillium* sp. (T5) e *Chaetonium* (T3).

De Ferreira *et al.*, (2023) utilizando os mesmos isolados endofíticos em seus trabalho verificaram que os metabólicos voláteis e não voláteis bioestimularam a quebra de dormência das sementes do capim Andropogon, os seus compostos majoritários foram Dimetilamina, formamida, Dimetilsulfóxido, 1,3-Difluoro-2-propanol, Benzenometanol, α -(1-aminoetil), Anfetamina, Acetamida, 2-fluoro-, Catina e Dimetil sulfona para *Chaetonium* sp. (T3) e *Penicillium* sp. (T5) Ácido fórmico.

O sinergismo e compostos voláteis podem favorecer a promoção de crescimento de plantas, porém alguns fungos endofíticos tem maior desempenho em uma determinada planta, por exemplo: gramíneas e leguminosas, ou determinada parte da planta que os fungos endofíticos estão colonizando. Podem estimular a quebra de dormência da semente, porém ser ineficiente na melhoria do desenvolvimento de uma planta ou vice-versa.

Pode-se destacar o *Penicillium* sp. (T5) que foi eficiente praticamente em todas a variáveis resposta. Os metabólicos voláteis deste isolado pode-se perceber que dentre os compostos majoritários somente foi indentificado o Ácido fórmico, éster etílico. Porém dependendo da idade das cepas e a fase que o isolado esta emitindo outros tipos de compostos voláteis que sinergicamente podem estar promovendo o crescimento do capim Mombaça.

Ainda, constata-se que o *Penicillium* sp. (T5) foi isolado de milho que é da família Graminae, mesma do capim Mombaça, precisamente este fungo endofítico predileção em culturas desta família. Kaur e Saxena (2023) estudando mudas de trigo com o isolado #5TAKL-3a (*Penicillium citrinum*) também tiveram êxito afirmando que o isolado fungico estudado foram promissores como bioinoculantes.

Além do isolado fúngico *Penicillium* sp. (T5), deve-se destacar também o isolado *Chaetonium* sp. (T3) que foi o segundo melhor sendo que muitas vezes não variou estaticamente os seus valores levando em consideração as médias. Ele foi isolado da flôr do joá bravo que é uma planta invasora resistente infestando pastos da família Solanaceae, esse isolado fúngico melhorou diâmetro da raiz e do caule. Os seus metabólicos com atividades antioxidantes como

foi constatado em seus metabólicos voláteis e ainda a produção de compostos a base de amina e amida, que podem ter contribuído com o desenvolvimento do capim Mombaça.

A superioridade entre as médias em praticamente todas as variáveis resposta está muito presente em praticamente todo o ensaio tanto nos tratamentos dos isolados fúngicos *Penicillium* sp. (T5), *Chaetonium* sp. (T3).

Para as variáveis resposta massa fresca (aérea) e massa seca (aérea) os isolados fúngicos *Penicillium* sp. (T5), *Chaetonium* sp. (T3) foram os melhores havendo maior interação simbiótica mutualista entre a planta e os microrganismos. As médias foram bastante superior em relação aos controles e aos demais tratamentos sendo que eles favoreceram maior massa seca e fresca da parte aérea.

Outra variável resposta o Diâmetro do caule foi o *Chaetonium* sp. (T3) 7,1 mm e *Penicillium* sp. (T5) 6,9 mm sendo um valor bem superior aos controles 2 com 2,6 mm e controle 1 com 2,2mm.

Quanto a massa seca (raiz) e massa fresca (raiz) o melhor resultado foi o *Penicillium* sp. (T5) 3,6g e o *Chaetonium* sp. (T3) 2,3g e os piores resultados com controle 1 com 0,22g e controle 2 com 0,23g. Pode-se constatar que a diferença entre as médias é grande e a massa seca da raiz *Penicillium* sp. (T5) foi 1,8g e os piores resultados com controle 1 com 0,07g e controle 2 com 0,11g os fungos endofíticos influenciaram nitidamente a massa fresca e seca da raiz. Mehmood *et al.*, (2019) verificaram que a cepa isolada da *Aspergillus awamori* W11 foi capaz de colonizar raízes de milho e aumentou significativamente o comprimento da parte aérea e da raiz e a biomassa seca das plântulas.

Em se tratando do diâmetro da raiz, os melhores resultados foram os *Chaetonium* sp. (T3) 42,1 mm e *Penicillium* sp. (T5) 38,4 mm e o controle 2 com 11,7 mm e controle 1 com 6,6 mm.

A variável resposta comprimento da folha os melhores resultados foram o *Penicillium* sp. (T5) 7,2cm e *Chaetonium* sp. (T3) 6 e o controle 1 com 24 cm e controle 2 com 18,7 cm foram os piores resultados e o comprimento da raiz *Penicillium* sp. (T5) 31,9 e *Trichoderma* sp. (T34) 27,8 e o controle 2 com 11,3 cm e controle 1 com 8,9 cm foram os piores resultados. Tang *et al.* (2023) verificaram que o isolado *Aspergillus niger* STL3G74, apresentou a melhor capacidade de promoção do crescimento da planta hospedeira em experimentos em vasos.

Em comparação com plantas não inoculadas, o comprimento da parte aérea, a biomassa seca da parte aérea e da raiz das plantas inoculadas com STL3G74 aumentaram significativamente. O aumento no comprimento da parte aérea em plantas inoculadas com fungos foi relatado também por (HAMAYUN *et al.*, 2010).

Khan *et al.* (2015) constataram que as plantas tratadas com RSF-4L CF exibiram níveis significativamente mais elevados de crescimento de planta, teor de clorofila e comprimento de raiz/parte aérea do que aquelas no grupo de tratamento IAA (controle positivo).

Quanto ao número de perfilhos os isolados fúngicos *Penicillium* sp. (T5) 3,6 und. e *Chaetonium* sp. (T3) 3,6 und. tiveram as melhores médias, sendo que as piores médias foram os controles 1 e 2 com 1 und. O número de folhas foram *Penicillium* sp. (T5) 7,2 und. e *Aspergillus* sp. (T19) 6,6 und. sendo que as piores médias foram *Purpureocillium lilacinum* (T8) 4,6 und. o controles 1 com 4,2 und. O número de perfilhos é importante pois, os pastos dependem da contínua produção de novas lâminas foliares e perfilhos para reposição daqueles que morreram ou foram consumidos (Hodgson, 1990), sendo importante na produtividade e rendimento das forrageiras.

Com todo o potencial agrobiotecnologicamente benéfico os fungos endofíticos é uma alternativa. Foi comprovado que os fungos endófitos são uma opção potencial para alcançar a intensificação sustentável das culturas devido à sua capacidade de produzir compostos vitais que promovem o crescimento das plantas, sendo uma alternativa para serem manipulados biotecnologicamente para melhorar a produtividade e a sustentabilidade dos rendimentos agrícolas (OMOMOWO E BABALOLA., 2019).

A importância ambiental, econômica e social nos estudos de novos bioestimuladores pode evitar o uso excessivo de insumos químicos. No entanto é necessário investimento público ou privado em estudos que possam descobrir novas fontes para melhorar a qualidade da produção sem degradar os biomas brasileiros.

Neste sentido novos meios de produção como a biotecnologia agrícola, com a utilização de microorganismos e procurando diversificação do microbiota do local para favorecer a implantação das culturas especialmente as pastagens com microorganismos que potencialmente são promotores de crescimento de forrageiras como capim Mombaça, que necessita de insumos para melhorar o rendimento que é muito criticando por ambientalistas por haver contaminação em grandes áreas e os seus recursos hídricos e trazendo riscos a saúde dos animais e do ser humano.

Muitas multinacionais já vem aderindo o uso biológico destes organismos fúngicos como: a empresa Nitro com o seu produto - Trichodermaiz/ WP – PRO (*Trichoderma harzianum*), a empresa Agrocerec com o produto – ag Dumon com a associação de três microrganismos bactérias: *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* em associação com o fungo *Paecilomyces lilacinus* (*Purpureocillium lilacinum*).

Esse nicho de mercado pode crescer ainda mais, com valores acessíveis, tanto para agricultura familiar ou grandes agropecuaristas, melhorando a qualidade das culturas implantadas em suas propriedades e ainda assegurando a rentabilidade para as multinacionais e os consumidores e ainda melhorar o sistema de produção com o intuito da produção sustentável.

A solução e a biotecnologia agrícola aliada ao conhecimento dos microorganismos promotores de crescimento de qualquer cultura comercial pode amenizar e favorecer a economia a sociedade e o ambiente que todos estão inserido. Hoje a responsabilidade social e muito difundida na sociedade, garantir a segurança alimentar e evitar danos irreversíveis a saúde dos seres vivos é importante e a conservação do ecossistema aliando a economia sustentável das entidades que iram gerir esta nova tecnologia.

7.5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, pode-se perceber que os resultados comprovaram que os 12 isolados fúngicos influenciaram no desenvolvimento do capim Mombaça melhorando o desenvolvimento da forrageira obtendo bons resultados em relação as testemunhas e que são potencialmente bioestimuladores melhorando a qualidade das forrageiras na agropecuária brasileira e futuramente poderá amenizar o uso abusivo de fertilizantes químicos com mais estudos.

7.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, I.; DEL MAR JIMÉNEZ-GASCO, M.; LUTHE, D. S.; SHAKEEL, S. N. e BARBERCHECK, M. E. Endophytic *Metarhizium robertsii* promotes maize growth, suppresses insect growth, and alters plant defense gene expression. **Biological Control**, 144, 104167, 2020.

BARNETT, HL e HUNTER, BB. Gêneros **Ilustrados de Fungos Imperfeitos**. 3ª Edição, Burgess Publishing Co., Minneapolis, 241 p, 1972.

BOONMAN, J.G. **East Africa's grasses and fodders**: their ecology and husbandry. Dordrecht: Kluwer Academic, 1993. 343p.

CORRÊA, J. C.; MAUAD, M. e ROSOLEM, C. A. Fósforo no solo e desenvolvimento de soja influenciados pela adubação fosfatada e cobertura vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39, 1231-1237, 2004.

HAMAYUN, M.; KHAN, S. A.; IQBAL, I.; AHMAD, B. e LEE, I. J. Isolation of a gibberellin-producing fungus (*Penicillium* sp. MH7) and growth promotion of crown daisy (*Chrysanthemum coronarium*). **J Microbiol Biotechnol**, 20(1), 202-207, 2010.

HAYGARTH, P. M.; JARVIE, H. P.; POWERS, S. M.; SHARPLEY, A. N.; ELSE, J. J.; SHEN, J.; PETERSON, H. M.; CHAN, N. L.; HOWDEN, N. J. K.; BURT, T.; WORRALL, F.; ZHANG, F. e LIU, X. Sustainable Phosphorus Management and the Need for a Long-Term Perspective: The Legacy Hypothesis. **Environmental Science & Technology**, (48), 8417-8419, 2014.

HUANG, X. F.; CHAPARRO, J. M.; REARDON, K. F.; ZHANG, R.; SHEN, Q. e VIVANCO, J. M. Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. **Botany**, 92(4), 267-275, 2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>. Acesso em: 15 set 2023.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 15 set 2023.

JANK, L. Melhoramento e seleção de variedades de *Panicum maximum* In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12., Piracicaba, 1995. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 1995. p.21-58.

JÚNIOR, N. R., ARIANO, A. P., SANTOS, M., GERVAZIO, W., e SILVA, I. COMPARAÇÃO MORFOANATÔMICA DO CAULE E FOLHA DE *Panicum maximum* (JACQ.) CV MOMBAÇA EM DOIS SISTEMAS DE PASTAGENS. **ENCICLOPEDIA BIOSFERA**, 10(18), 2014.

KHALIL, A. M. A.; HASSAN, S. E. D.; ALSHARIF, S. M.; EID, A. M.; EWAIS, E. E. D.; AZAB, E.; GOBOURI, A.A.; EIKELISH, A., FOUADA, A. Isolation and characterization of fungal endophytes isolated from medicinal plant *Ephedra pachyclada* as plant growth-promoting. **Biomolecules**, 11(2), 140, 2021.

KAUR, R.; SAXENA, S. *Penicillium citrinum*, um fungo endofítico tolerante à seca isolado de folhas de trigo (*Triticum aestivum* L.) com capacidade de promoção do crescimento das plantas. **Microbiologia Atual**, v. 80, n. 5, pág. 184, 2023.

KHAN, A. R.; ULLAH, I.; WAQAS, M.; SHAHZAD, R.; HONG, S. J.; PARK, G. S. e SHIN, J. H. Plant growth-promoting potential of endophytic fungi isolated from *Solanum nigrum* leaves. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 31, 1461-1466, 2015.

KUMAR, V.; SONI, R.; JAIN, L.; DASH, B. e GOEL, R. Endophytic fungi: recent advances in identification and explorations. **Advances in endophytic fungal research: present status and future challenges**, 267-281, 2019.

MATOS, S.. Custos de recuperação de áreas degradadas na Amazônia brasileira. **AgroANALYSIS**, v. 43, n. 2, p. 21-23, 2023.

MEHMOOD, A.; HUSSAIN, A.; IRSHAD, M.; HAMAYUN, M.; IQBAL, A. e KHAN, N. In vitro production of IAA by endophytic fungus *Aspergillus awamori* and its growth promoting activities in Zea mays. **Symbiosis**, 77, 225-235, 2019.

MUKHERJEE, A.; BHOWMICK, S.; YADAV, S.; RASHID, M. M.; CHOUHAN, G. K.; VAISHYA, J. K. E VERMA, J. P. Re-vitalizing of endophytic microbes for soil health management and plant protection. 3 **Biotech**, 11, 1-17, 2021.

MÜLLER, M. D. S.; FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D.; GARCÍA Y GARCÍA, A., e LÓPEZ OVEJERO, R. F. Produtividade do *Panicum maximum* cv. Mombaça irrigado, sob pastejo rotacionado. **Scientia Agricola**, 59, 427-433, 2002.

OMOMOWO, O. I. E BABALOLA, O. O. Bacterial and fungal endophytes: tiny giants with immense beneficial potential for plant growth and sustainable agricultural productivity. **Microorganisms**, 7(11), 481, 2019.

POVEDA, J.; EUGUI, D.; ABRIL-URÍAS, P. e VELASCO, P.. Endophytic fungi as direct plant growth promoters for sustainable agricultural production. **Symbiosis**, 85(1), 1-19, 2021.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Ceres; Potafos, 1991. 343p.

RANA, K. L.; KOUR, D.; SHEIKH, I.; DHIMAN, A.; YADAV, N.; YADAV, A. N.; RASTEGARI, A. L.; SINGH, K; SAXENA, A. K. Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. **Recent advancement in white biotechnology through fungi: volume 1: diversity and enzymes perspectives**, 1-62, 2019.

ROY, S.; SARMA, A.; PAUL, S.; JHA, D. K. e TAYUNG, K. Plant growth-promoting traits and activation of defense enzymes in traditional rice variety by fungal endophytes isolated from seeds of indigenous rice cultivars of Northeast India. **South African Journal of Botany**, 160, 483-492, 2023.

TANG, W.; GONG, W.; XIAO, R.; MAO, W.; ZHAO, L.; SONG, J. e LI, H. Endophytic Fungal Community of *Stellera chamaejasme* L. and Its Possible Role in Improving Host Plants' Ecological Flexibility in Degraded Grasslands. **Journal of Fungi**, 9(4), 465, 2023.

WANI, Z. A.; ASHRAF, N.; MOHIUDDIN, T. e RIYAZ-UL-HASSAN, S. Plant-endophyte symbiosis, an ecological perspective. **Applied microbiology and biotechnology**, 99, 2955-2965, 2015.

YAN, L.; ZHU, J.; ZHAO, X.; SHI, J.; JIANG, C. e SHAO, D. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied microbiology and biotechnology**, 103, 3327-3340, 2019.

ZIPFEL, C.; OLDROYD, G. E.D. Plant signalling in symbiosis and immunity. **Nature**, v. 543, n. 7645, p. 328-336, 2017.

WATANABE, T. **Pictorial atlas of soil and seed fungi**: morphologies of cultured fungi and key to species. CRC press, 2002.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como objetivo selecionar microrganismos fúngicos endofíticos potencialmente promotores de crescimento e quebra de dormência de sementes.

A triagem descrita do Capítulo II, possibilitou verificar os isolados fúngicos mais eficientes que puderam quebrar a dormência do Capim *Andropogon* sp. que chegou a 12 isolados fúngicos, sendo de plantas cultivadas: *Aureobasidium melanogenum* (T1) alfavacão (*Ocimum gratissimum*), na folha; *Penicillium* sp. (T2) nirá (*Allium tuberosum*), no bulbo; *Penicillium* sp. (T5) milho (*Zea mays*) na raiz; *Penicillium* sp. (T6) gergelim (*Sesamum indicum*), na raiz; *Penicillium* sp. (T7) pimenta (*Capisicum* sp.) na folha; *Purpureocillium lilacinum* (T8) pimenta (*Capisicum* sp.), na raiz e *Paecilomyces variotii* (T37) açafrão (*Curcuma longa* L) na folha. De plantas não cultiváveis, foram isolados os fungos: *Chaetonium* sp. (T3), isolado do joá bravo (*Solanum* sp.), na flôr; *Paecilomyces lilacinus* (T4) joá bravo, (*Solanum* sp) na raiz; *Aspergillus* sp. (T19), isolado da mirra (*Tetradenia riparia*), na raiz; *Penicillium citrinum* (T28), do joá bravo, *Solanum* sp. da raiz e *Trichoderma* sp. (T34), obtido dos brotos de aranto (*Kalanchoe* sp.) que conseguiram superar o índice germinativo para esta cultura sendo que de todos os 12 isolados fúngicos tiveram destaque o *Paecilomyces lilacinus* T4 e o *Penicillium* sp. (T6).

Em se tratando do capítulo III, foi estudado a respeito dos extratos fúngicos dos 12 isolados endofíticos. Os extratos foram fermentados durante 72 horas. Os resultados evidenciaram que dos 12 fungos aplicados nas plântulas, oito incrementaram significativamente o comprimento do caule, com um maior destaque para as plantas tratadas com *Purpureocillium lilacinum* e *Penicillium citrinum*. Já o diâmetro do caule foi maior em todos os tratamentos exceto nas plantas tratadas com *Penicillium citrinum*. O comprimento da raiz também foi incrementado significativamente quando tratados com algumas espécies de fungos. Similarmente, a massa aérea e radicular também foi incrementada dependendo dos tratamentos. Conclusivamente, os resultados mostram o potencial uso destes fungos como bioestimuladores radiculares e do caule da soja.

Em se tratando do Capítulo IV, avaliou os 12 fungos endofíticos estudados realizando a inoculação dos fungos endofíticos nas sementes do Capim Mombaça cv., os melhores resultados foram os tratamentos *Penicillium* sp. (T5) e *Chaetonium* sp. (T3). Os resultados demonstram a eficiência dos isolados fúngicos endofíticos estudados as suas potencialidades quanto ao desenvolvimento da planta desde a quebra de dormência até a promoção de crescimento, sendo promissores para produção em grande escala de um bioproduto. Eles

produzem metabólicos secundários eficientes para aplicação na biotecnologia agrícola. Estes bioprodutos podem sanar o uso excessivo de insumos químicos usados que podem trazer danos socio-ambientais.

Sob perspectivas futuras esses isolados fúngicos tem uma grande importância para a inovação da biotecnologia agrícola, novos estudos devem ser realizados com esses microrganismos. O *Penicillium* spp. e *Chaetomium*, tiveram maior destaque, mais testes poderão ser utilizados para verificar a eficiência destes microrganismos endofíticos. Porém os demais também tem outras funcionalidades que ainda não foram identificadas neste trabalho mas que podem ser eficientes, como o controle biológico de pragas e doenças.

APENDICE

APENDICE A

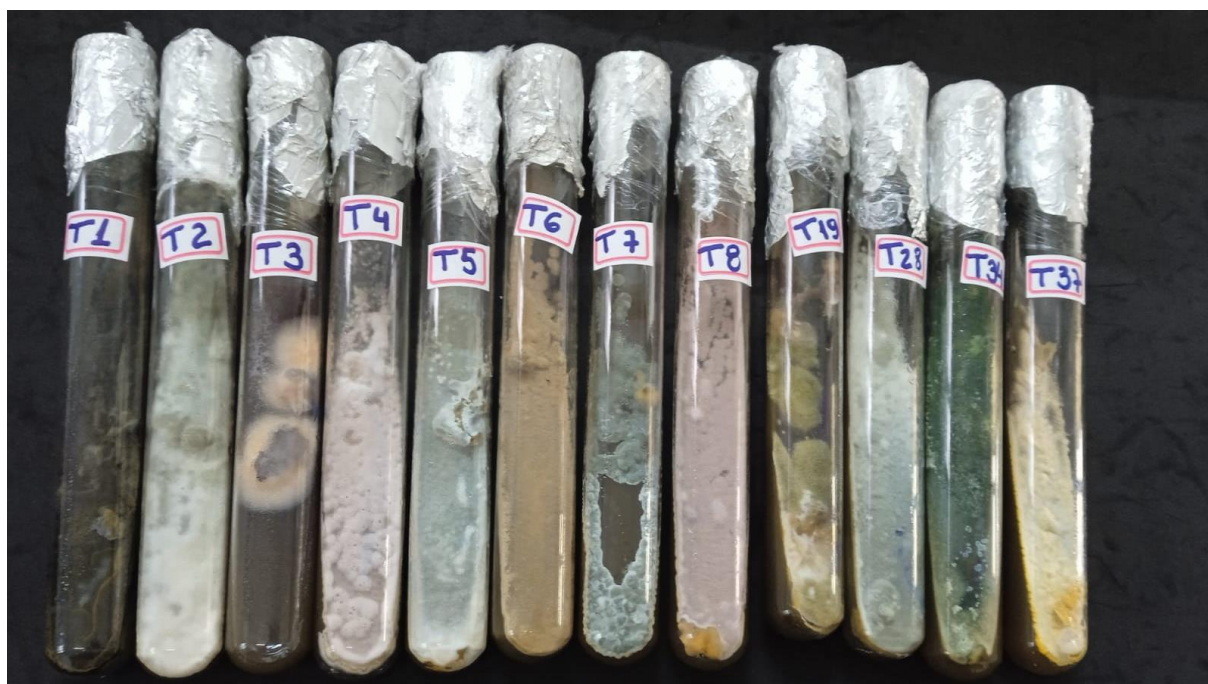


FIGURA 1: Conservação de 12 isolados fúngicos potencialmente promotores de crescimento.

APENDICE B

Tabela 1 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T1.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,160	99,33	93,96	Dimetilamina
2	3,753	0,07	1,71	1-Butanol, 3-metil-
3	3,811	0,53	2,71	1-Butanol, 2-metil-
4	4,117	0,00	0,20	(2-Aziridinyloethyl) amina
5	4,133	0,00	0,14	l-Alanina etilamida, (S)-
6	4,190	0,00	0,06	1,4-Dioxano-2,6-diona
7	6,103	0,00	0,03	1,4-Dioxano-2,6-diona
8	6,374	0,00	0,08	Acetaldeído
9	6,419	0,00	0,08	Etileno oxido
10	6,833	0,02	0,34	2-Heptanona
11	6,880	0,01	0,22	Butanal
12	6,903	0,00	0,13	Guanidina carbonato
13	7,127	0,01	0,14	(+)-5-Metil-2-hexanol
14	7,197	0,00	0,08	Etileno oxido
15	12,579	0,01	0,13	2-Nonanona

Tabela 2 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T2.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,060	99,95	99,05	Dimetilamina
2	3,633	0,00	0,03	Ácido Oxalico
3	3,697	0,00	0,04	Óxido De Etileno
4	3,740	0,00	0,04	Tuaminoheptano
5	3,790	0,00	0,05	(2-Aziridinylethyl)amina
6	3,809	0,00	0,06	Alanina
7	3,953	0,00	0,06	Hydroxiureia
8	3,997	0,00	0,02	1,4-Dioxano-2,6-diono
9	4,030	0,00	0,04	Etino, fluoro-
10	5,387	0,00	0,03	(S)-(+)-1-Ciclohexiletilamina
11	6,128	0,01	0,10	Dimetilsulfóxido
12	6,287	0,00	0,03	Propano, 2-chloro-
13	7,463	0,02	0,22	Dimetilsulfona
14	7,503	0,00	0,13	Fosfina, metil-
15	7,523	0,00	0,09	Ácido metiltiofosfonamídico, S-metil

Tabela 3 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T3.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,045	34,54	49,98	Dimetilamina
2	2,392	65,21	47,24	Formamida
3	3,903	0,00	0,04	(2-Aziridiniletil)amina
4	4,222	0,00	0,02	Benzenotanamina, 3,4-benziloxi-2,5-difluoro-.beta.-hidroxi-N-metil-
5	4,360	0,00	0,03	1,4-Dioxano-2,6-diona
6	4,678	0,00	0,02	Dióxido de carbono
7	5,500	0,00	0,02	Óxido nitroso
8	5,963	0,03	0,37	Dimetilsulfóxido
9	5,977	0,01	0,35	1,3-Difluoro-2-propanol
10	6,007	0,03	0,31	Benzenometanol, alfa-(1-aminoetil)-, [R-(R*,R*)]-
11	6,053	0,03	0,25	Anfetamina
12	6,083	0,02	0,20	Hepta-4,6-diin-2-ol
13	6,120	0,01	0,14	Acetamida, 2-fluoro-
14	6,136	0,01	0,12	Catina
15	7,097	0,00	0,02	Uretano
16	7,210	0,00	0,01	D-Alanina

17	7,502	0,08	0,71	Dimetilsulfona
18	7,593	0,00	0,09	Clorodifluoroacetamida
19	7,613	0,00	0,06	Benzenometanol, .alfa.-(1-aminoetil)-, [R-(R*,R*)]-
20	7,680	0,00	0,02	dl-fenilefrina

Tabela 4 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T4

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,084	99,95	98,56	Dimetilamina
2	3,613	0,00	0,05	Dióxido de carbono
3	3,730	0,00	0,03	Óxido De Etileno
4	3,764	0,02	0,15	1-Butanol, 3-metil-
5	3,853	0,01	0,17	Dióxido de carbono
6	3,893	0,01	0,13	Óxido De Etileno
7	3,930	0,01	0,11	Etino, fluoro-
8	3,950	0,00	0,09	(2-Aziridiniletil)amina
9	3,963	0,00	0,08	(2-Aziridiniletil)amina
10	3,978	0,00	0,09	D-Alanina
11	4,000	0,00	0,09	Óxido De Etileno
12	4,013	0,00	0,06	D-Alanina
13	4,050	0,00	0,05	n-hexilmetilamina
14	4,080	0,00	0,05	D-Alanina
15	4,109	0,00	0,06	Alanina
16	4,156	0,00	0,05	l-Alanina etilamida, (S)-
17	4,197	0,00	0,04	Etino, fluoro-
18	4,233	0,00	0,06	Dióxido de carbono
19	4,507	0,00	0,03	Dióxido de carbono
20	6,772	0,00	0,04	Ácido carbâmico, sal monoamônico

Tabela 5 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T5.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,083	100,00	100,00	Ácido fórmico, éster etenílico

Tabela 6 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T6.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,004	32,64	51,18	Etilamina
2	2,353	67,34	48,61	Etilamina

3	23,659	0,02	0,21	1-Metil-4-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohexa-1,3-dieno
---	--------	------	------	--

Tabela 7 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T7.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,285	99,97	99,40	Dimetilamina
2	3,513	0,00	0,03	Oxido nitroso
3	3,530	0,00	0,02	Aceltadeído
4	3,728	0,00	0,04	l-Alanina etilamida, (S)-
5	7,301	0,00	0,03	Glicerina
6	7,453	0,00	0,03	Uretano
7	7,522	0,02	0,34	Dimetilsulfona
8	7,590	0,00	0,07	2-buteno ozonido
9	7,603	0,00	0,04	2-buteno ozonido

Tabela 8 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T8.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,189	99,47	97,70	Ácido fórmico, éster etenílico
2	3,808	0,53	2,30	1-Butanol, 3-metil-

Tabela 9 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T19.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,196	100,00	100,00	Dimetilamina

Tabela 10 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T28.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	6,581	30,58	50,31	Dimetilamina
2	6,966	69,42	49,69	Formamida

Tabela 11 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T34.

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,050	32,88	49,49	Etilamina
2	2,367	66,34	48,43	Formamida

3	3,825	0,09	0,36	1-Butanol, 2-metil-
4	4,827	0,64	1,44	Hexano, 2,4-dimetil-
5	9,614	0,04	0,28	Furano, 2-pentil-

Tabela 12 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T37

Pico	Tempo de retenção	Área %	Altura %	Constituintes
1	2,062	28,78	49,86	Etilamina
2	2,429	70,89	46,88	Formamida
3	18,615	0,01	0,17	Espiro[5.5]undec-2-eno, 3,7,7-trimetil-11-metileno-, (-)-
4	20,258	0,01	0,09	Panaginsene
5	21,868	0,01	0,11	Cariofileno
6	22,394	0,28	2,63	(Tricyclo[6.2.1.0(4,11)]undec-5-ene, 1,5,9,9
7	24,334	0,03	0,25	Naftaleno,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro

APENDICE B

FIGURA 1 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T1.

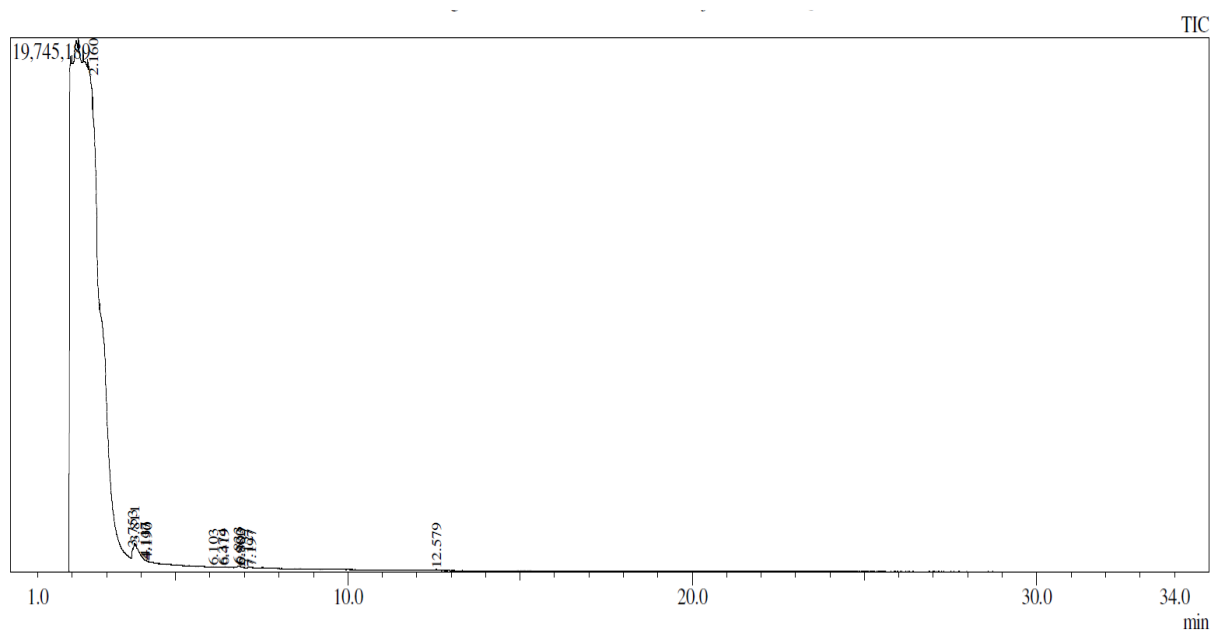


FIGURA 2 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T2.

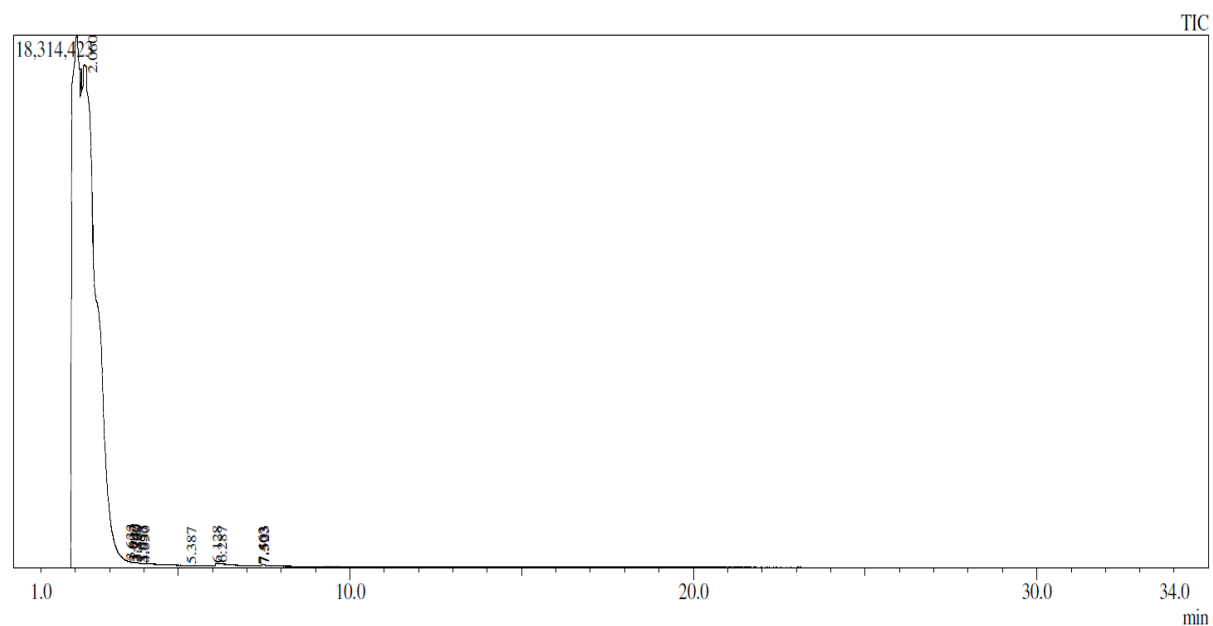


FIGURA 3 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T3.

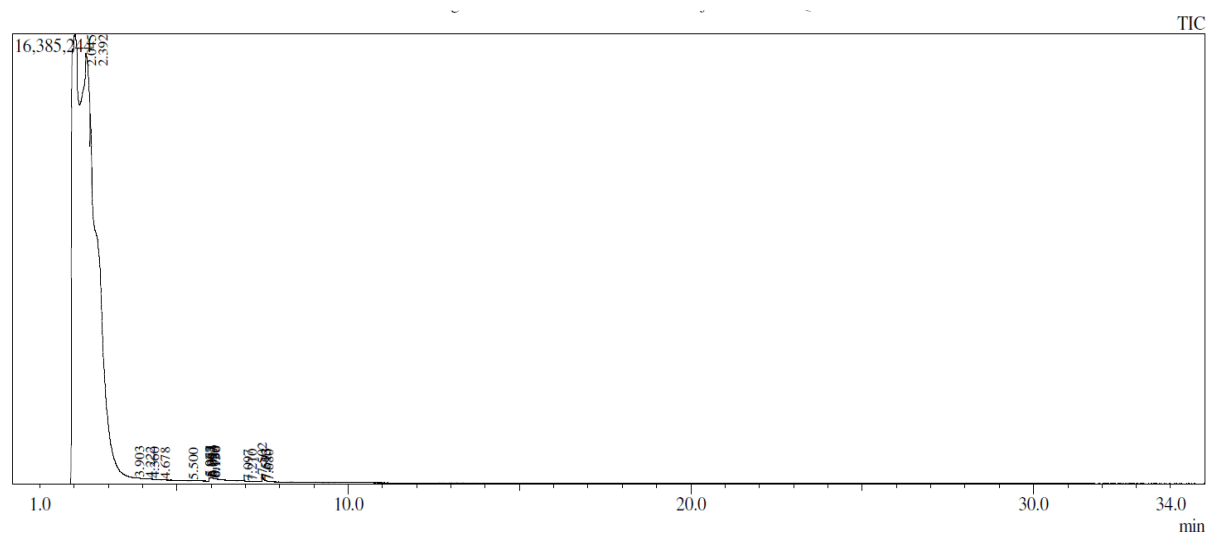


FIGURA 4 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T4.

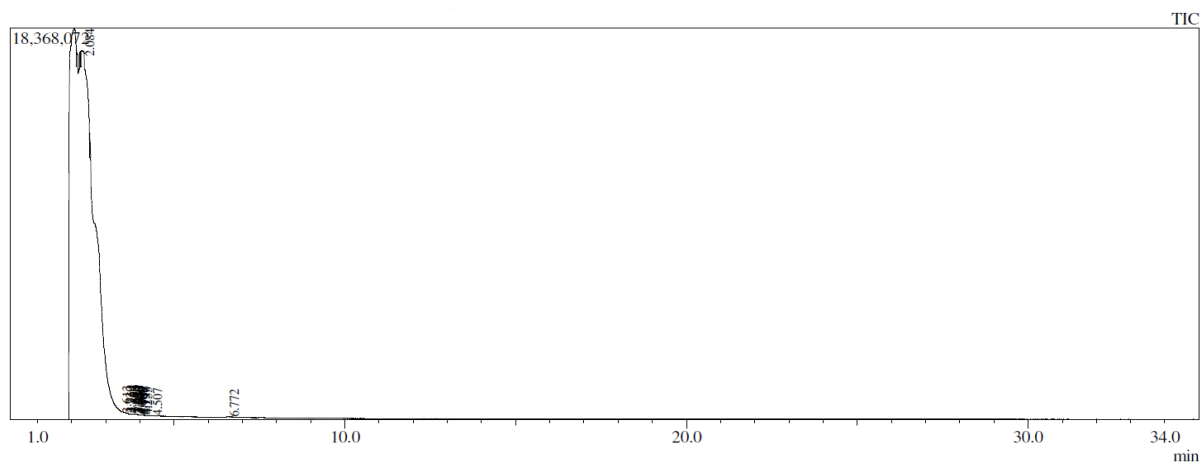


FIGURA 5 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T5.

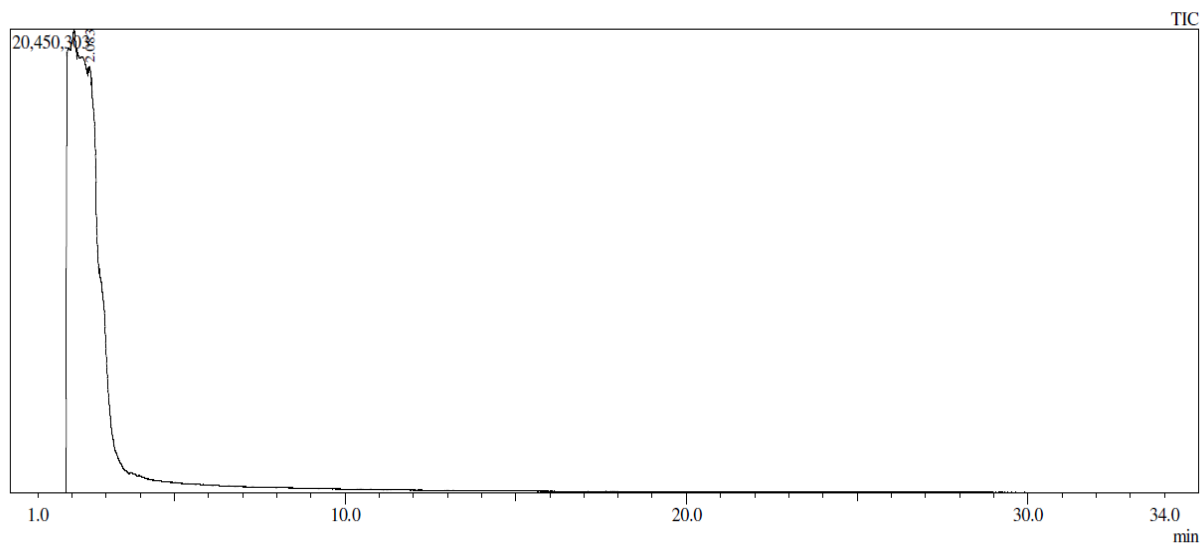


FIGURA 6 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T6.

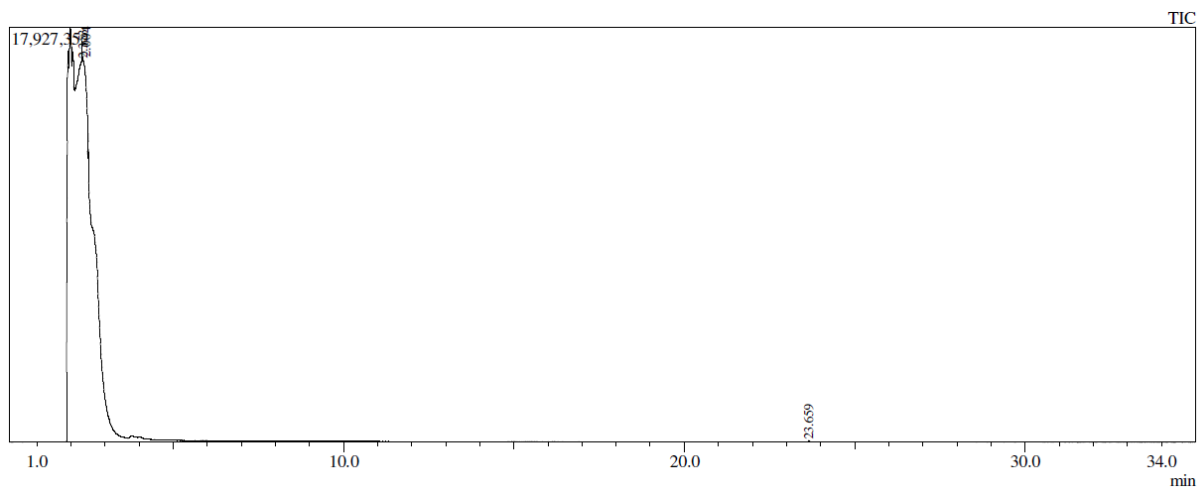


FIGURA 7 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T7.

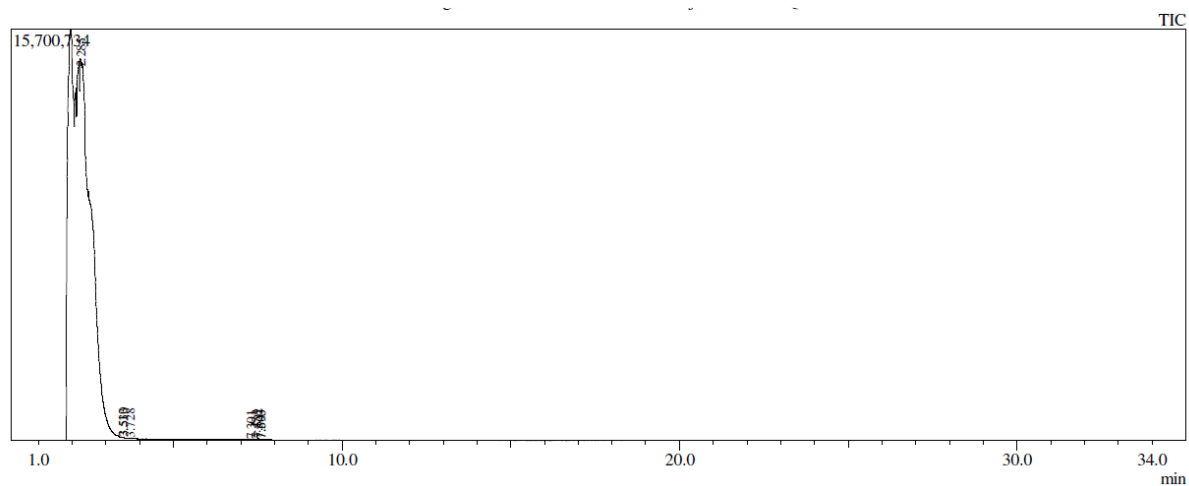


FIGURA 8 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T8.

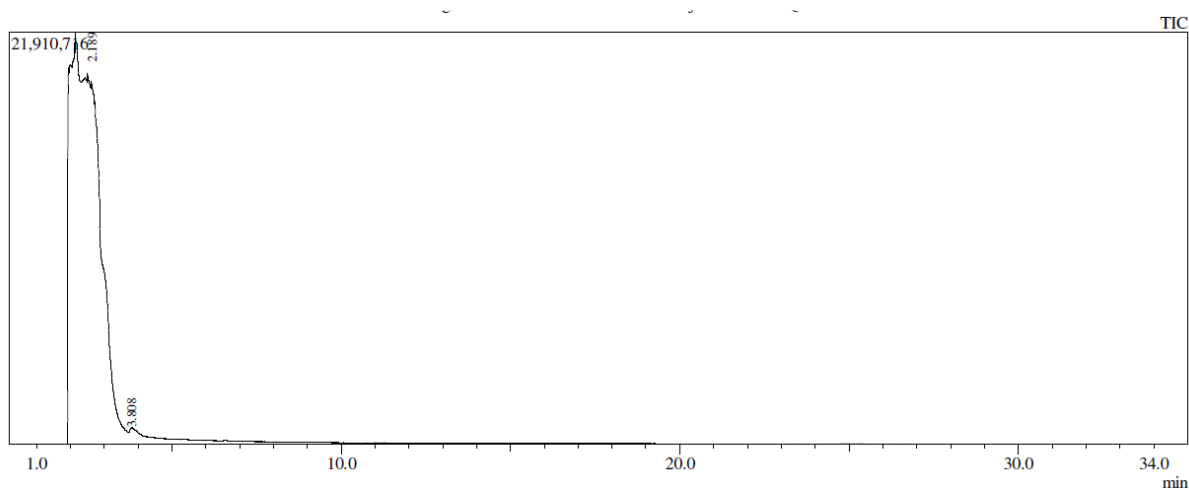


FIGURA 9 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T19.

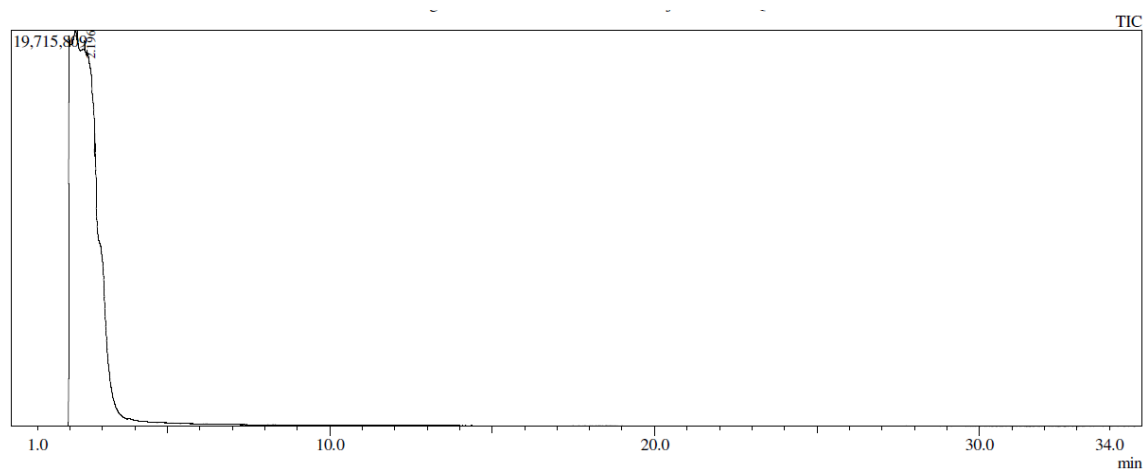


FIGURA 10 - Compostos encontrados por análises de HeadSpace - CG/M isolado vivo T28.

TIC

17,818,181

2.367

3.825

4.827

9.614

1.0 10.0 20.0 30.0 34.0 min

Chromatogram showing detector response (TIC) versus time (min). The x-axis ranges from 1.0 to 34.0 minutes. The y-axis is labeled TIC. A large peak is observed at approximately 1.8 minutes, with a label '18,280,656' above it. Several smaller peaks are labeled with their retention times: 2.429, 18.615, 20.298, 21.868, 22.394, and 24.334.

ANEXOS

ANEXO A



REVISTA
DELOS
DESARROLLO
LOCAL SOSTENIBLE

Revista Delos Desarrollo Local Sostenible

DECLARAÇÃO

A Revista Delos Desarrollo Local Sostenible, ISSN 1988-5245 declara para os devidos fins, que o artigo intitulado **“Prospecção de fungos Endofíticos isolados de plantas cultiváveis e não cultiváveis e seus efeitos na quebra de dormência de sementes de capim Andropogon L.”** de autoria de *Tatiani Pereira de Souza Ferreira, Talita Pereira de Souza Ferreira, Alex Sander Rodrigues Cangussu, Vanessa Mara Chapla, Michelle da Cunha Abreu Xavier, Gessyk Monteiro Marques, Vanessa Oliveira de Lima, Gil Rodrigues dos Santos*, foi publicado no v. 16, n. 43, p. 716-733.

A revista é on-line, e os artigos podem ser encontrados ao acessar o link:

<https://ojs.revistadelos.com/ojs/index.php/delos/issue/view/47>

DOI: <https://doi.org/10.55905/rdelosv16.n43-015>

Por ser a expressão da verdade, firmamos a presente declaração.

São José dos Pinhais, 23 de Maio de 2023.



QR de validade da publicação

Equipe editorial

ANEXOS B



ANEXO C

AGRONOMY (AGRONOMIA)



Revista Brasileira de Ciências Agrárias
ISSN (on line) 1981-0997
v.15, n.2, e8082, 2020
Recife, PE, UFRPE. www.agraria.pro.br
DOI:10.5039/agraria.v15i2a8082
Protocol 8082 - 17/12/2019 • Approved in 02/04/2020

Inoculation of *Rhizobium* associated with *Trichoderma asperellum* on the development and yield of cowpea

Gil Rodrigues dos Santos¹, Higor Barbosa Reis¹, Eliane Aparecida Rotili¹, Dalmarcia de Souza Carlos Mourão¹, David Ingsson Oliveira Andrade de Farias¹, Tayná Alves Pereira¹, Tatiani Pereira de Souza Ferreira¹, Aloísio Freitas Chagas Junior¹

¹ Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, Brasil. E-mail: gilrsan@uft.edu.br; higorbarbosareis@hotmail.com; elianerotili@yahoo.com.br; dalmarciaadm@yahoo.com.br; david_ingsson@gmail.com; taynasap@gmail.com; nanatpsf@yahoo.com.br; chagasjraf@uft.edu.br

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the efficiency of simultaneous inoculation of isolates from rhizobia and *Trichoderma* in cowpea and their effects on its growth, nodule quality and grain yield. In the experiment under greenhouse conditions, the cowpea cv. Vinagre, of a medium-late cycle, was used in a test with a completely randomized design. In the field test, three cowpea cultivars (Vinagre, Fradinho and Sempre Verde) were used in a randomized block design, with seven treatments and three replicates. The variables evaluated in the greenhouse were biomass, nodulation and relative efficiency (RE) while the yield was evaluated in the field. Seeds inoculation of cowpea with *Trichoderma* and rhizobia, in the greenhouse, followed by an additional *Trichoderma* shoot application at 25 days after sowing (DAS), was relevant for biomass accumulation, with no difference in the nitrogen application and nodulation. Applying rhizobia was important for the root development. Seed inoculation with rhizobia and *Trichoderma* followed by another *Trichoderma* application at 25 DAS, provided increased yield in the three studied varieties, under field conditions.

Key words: biomass; nodulation; *Vigna unguicula*

ANEXOS C

Vol. 14(5), pp. 208-214, May, 2020
 DOI: 10.5897/JMPR2019.6853
 Article Number: 1D484BA63461
 ISSN 1996-0875
 Copyright © 2020
 Author(s) retain the copyright of this article
 http://www.academicjournals.org/JMPR



Journal of Medicinal Plants Research

Full Length Research Paper

Chemical composition and bioactivity of essential oil from *Morinda citrifolia* L. fruit

Ronice Alves Veloso², Talita Pereira de Souza Ferreira^{1*}, Bruna Letícia Dias¹,
 Dalmarcia de Souza Carlos Mourão², Renisson Neponuceno de Araújo Filho³,
 Rhayk Sales Lira Glória¹, Alessandra Macedo Barros¹, Tatiani Pereira de Souza Ferreira¹,
 Vanessa Mara Chapla⁴, Alex Sander Rodrigues Cangussu¹,
 Stella de Castro Santos Machado² and Gil Rodrigues dos Santos²

¹Bioprocess Engineering and Biotechnology, Federal University of Tocantins, University Campus of Gurupi, 77410-530 Gurupi, TO, Brazil.

²Agronomic Engineering Department, Federal University of Tocantins, University Campus of Gurupi, 77410-530 Gurupi, TO, Brazil.

³Forest Engineering Department, Federal University of Tocantins, University Campus of Gurupi, 77410-530 Gurupi, TO, Brazil.

⁴Environmental Chemistry Department, Federal University of Tocantins, University Campus of Gurupi, 77410-530 Gurupi, TO, Brazil.

Received 19 September, 2019; Accepted 14 February, 2020

Morinda citrifolia has aroused the interest of several research institutions due to its pharmacological properties. The compounds biosynthesized can be explored as an alternative for control measures of plant pathogens causing leaf lesions in maize. The study aim at evaluating the potential effects of essential oil obtained from ripe fruits of *M. citrifolia* on *Bipolaris maydis* and *Exserohilum turcicum* isolated from maize plants. Ripe fruits were subjected to extraction of essential oil by hydrodistillation method and chemical composition was determined by gas chromatography/mass spectrometry. The yield of essential oil was 0.17% (v/w), and the main constituents identified were octanoic acid constitutes 82.2%, hexanoic acid 8.3%, 3-methylbutyl octanoate 4.2%, and ethyl octanoate 2.5%. Mycelial growth control *in vitro* and *in vivo* of *B. maydis* and *E. turcicum* spots diseases in maize plants was evaluated and the fruit of *M. citrifolia* was found to have potential essential oil with fungicidal activity at concentration 0.25%. With area under the disease progress curve (AUDPC) values lower than those observed in treatments with fungicide, the preventive control of leaf spot in *B. maydis* plants using essential oil of *M. citrifolia* showed biological activities and therefore a source of molecules to be exploited that can minimize the severity of diseases.

Key words: *Bipolaris maydis*, *Exserohilum turcicum*, fungitoxicity, phytopathogenic, *Zea mays*.

ANEXO D



Ciências Agrárias

Scientia Amazonia, v. 10, n. 1, CA9-CA20, 2021

Revista on-line <http://www.scientia-amazonia.org>

ISSN:2238.1910

Controle da Mancha de Curvularia em plantas de manjeriço com o uso de óleo essencial de capim citronela¹

Ronice Alves Veloso², Talita Pereira de Souza Ferreira^{3*}, João Vinicius Lopes dos Reis⁴,
 Julcemar Didonet⁵, Tatiani Pereira de Souza Ferreira⁶, Claudiany Silva Leite Lima⁷, Eduardo
 Oliveira Guilherme⁸, Valeria Bastos de Araújo⁹, Gil Rodrigues dos Santos¹⁰

Resumo

A escassez de informações quanto ao controle de doenças em espécies medicinais torna o seu cultivo uma atividade de risco, uma vez que, a utilização de defensivos químicos pode comprometer quantitativa e qualitativamente a síntese de princípios ativos. Assim, o objetivo do trabalho foi analisar o efeito fungitóxico *in vitro* do óleo essencial de capim citronela (*Cymbopogon nardus*) e o controle da Mancha de Curvularia em plantas de manjeriço (*Ocimum basilicum*). Lesões foliares foram isoladas a partir de folhas de plantas de manjeriço em meio de cultura BDA. Confirmando os postulados de Koch, o patógeno foi identificado como *Curvularia lunata*. Foram avaliados a inibição do crescimento micelial; germinação de conídios; teste de fitotoxidez e controle *in vivo* preventivo e curativo da Mancha de Curvularia utilizando o óleo essencial de capim citronela. Os bioensaios foram implantados em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Com base nos resultados foi possível observar que o óleo essencial de capim citronela apresentou potencial fungitóxico com a inibição total do crescimento micelial e germinação de conídios de *C. lunata* a partir das concentrações de 15% e 3,5%, respectivamente. À concentração de 1,0% de óleo essencial observou-se fitotoxidez em manjeriço com a presença de leve clorose e início de necroses nas folhas. O óleo essencial de capim citronela apesar de ineficaz no controle curativo apresentou eficiência quando aplicado de forma preventiva, reduzindo a severidade da doença Mancha de Curvularia em plantas de manjeriço, demonstrando potencial como fungicida botânico.

Palavras-Chave: *Curvularia lunata*, *Cymbopogon nardus* L., *Ocimum basilicum* L., Fungicida botânico, Manchas.

ANEXO E



Utilização da farinha e óleo de noni no controle alternativo de *Rhizoctonia solani* em soja

Use of flour and noni oil in the alternative control of *Rhizoctonia solani* in soy

DOI:10.34117/bjdv7n4-190

 Recebimento dos originais: 23/03/2021
 Aceitação para publicação: 08/04/2021

Alessandra Macedo Barros
 Mestranda em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins
 E-mail: macedo46@outlook.com

Talita Pereira de Souza Ferreira
 Docente do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins,
 E-mail: talitapsf@uft.edu.br

Dalmácia de Souza Carlos Mourão
 Doutoranda em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins
 E-mail: dalmaciaadm@yahoo.com.br

Tatiani Pereira de Souza Ferreira
 Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia, Universidade Federal do Tocantins
 E-mail: nanatpsf@yahoo.com.br

Claudiany Silva Leite Lima
 Mestre em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins
 E-mail: claudianyilmk@uft.edu.br

Robson dos Santos Barbosa
 Doutorando em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia, Universidade Federal do Tocantins
 E-mail: robson.barbosa@uft.edu.br

Lenise Cristina Battistelli
 Mestranda em Biotecnologia Industrial, Universidade de São Paulo
 E-mail: le.cb2@hotmail.com

Gil Rodrigues dos Santos
 Docente do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Tocantins
 E-mail: gilrsan@mail.uft.edu.br

Brazilian Journal of Development, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 36069-36079 apr 2021

ANEXO F



Revista de Ciencias Agricolas
 e-ISSN 2256-2273
<https://doi.org/10.22267/rcia.223902.182>

Research Article; Other agricultural sciences.

Toxicological studies in poultry consuming fumonisin from corn contaminated with Brazilian Amazonian flora

Estudios toxicológicos en aves de corral que consumen fumonisin de maíz contaminado con flora amazónica brasileña

Oelton Rosa Júnior¹; Alex Sander Rodrigues Cangussu²; Ana Patrícia Carvalho da Silva³; Kenia Ferreira Rodrigues⁴; Meliane Karoline do Carmo Félix⁵; Tullio Teixeira Deusdará⁶; Tatiani Pereira de Souza Ferreira⁷; Hélio de Sousa Brito⁸; Kelvinson Fernandes Viana⁹; Eliane Macedo Sobrinho¹⁰; Raimundo Wagner Souza Aguiar¹¹; Gil Rodrigues dos Santos¹²

ARTICLE DATA	ABSTRACT
1 Researcher, Ph.D. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, oelton.junior@gmail.com https://orcid.org/0000-0002-8177-3480 2 Professor, Ph.D. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, alexcangussu@gmail.com https://orcid.org/0000-0003-2664-8027 3 Professor, Ph.D. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, apcarvalho@uft.edu.br https://orcid.org/0000-0003-0570-0711 4 Professor, Ph.D. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, rodriguesk@uft.edu.br https://orcid.org/0000-0002-2750-8870 5 Researcher, MSc. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, melianekaroline@gmail.com https://orcid.org/0000-0001-7776-4672 6 Researcher, MSc. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, tullio@mail.uft.edu.br https://orcid.org/0000-0002-7566-0631 7 Researcher, MSc. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, nanatpsf@yahoo.com.br https://orcid.org/0000-0001-9680-0616 8 Researcher, MSc. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, heliosousa1245@gmail.com https://orcid.org/0000-0002-6785-0267 9 Professor, Ph.D. Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu-PR, Brazil, kelvinson.viana@unila.edu.br https://orcid.org/0000-0002-7806-0519 10 Professor, PhD, Instituto Federal do Norte Minas Gerais, Aracaju-MG, Brazil, eliane.santos@ifmg.edu.br https://orcid.org/0000-0002-1576-4957 11 Professor, PhD, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, rwsa@uft.edu.br https://orcid.org/0000-0002-5169-4968 12 Professor, PhD, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Brazil, gilrsan@mail.uft.edu.br https://orcid.org/0000-0002-3830-9463	The fungus <i>Fusarium verticillioides</i> produces fumonisins (FB1 and FB2), characterized by being the most frequently produced molecular forms and with greater toxicity. Fumonisin contamination is responsible for substantial losses during the meat production chain, so the safe levels of these compounds must be determined. The study was directed to establish safe levels of FB1 in poultry production; for this purpose, were used COBB 500® birds on experimental lots of infected corn during the 2015/2016 season in Brazil. The experimental group included 160 animals, divided into two groups: The T1 without fumonisin in the diet (control); and the T2 group in which corn was contaminated with 2.78 µg/g of fumonisin FB1. Histopathological effects of liver, heart, and small intestine, and zootechnical parameters were measured in birds treated. We found that there were no significant differences between the birds treated and untreated after 21 days of exposure to each treatment; F-values > P-values ($P < 0,05$) for feed intake and weekly weight gain. Taken together, our data showed that the concentration evaluated is safe in poultry and will contribute to the design of future clinical studies.

Keywords: mycotoxins; corn meal; feed contamination.

RESUMEN

El hongo *Fusarium verticillioides* produce fumonisinas (FB1 y FB2), caracterizadas por ser las formas moleculares más frecuentemente producidas y con la toxicidad más significativa. La contaminación por fumonisinas es responsable de pérdidas sustanciales durante la cadena de producción de carne por lo que niveles seguros de estos compuestos deben ser determinados. Este estudio pretende establecer niveles seguros de FB1 en la producción avícola; para ello, se utilizaron aves COBB 500® en lotes experimentales de maíz infectado durante la temporada 2015/2016 en Brasil. El grupo experimental incluyó 160 animales, divididos en dos grupos: T1 sin fumonisinas en la

Received: December 23 2021.
 Accepted: August 30 2022.

ANEXO G



DOI: 10.55905/cuadv16n4-121

Receipt of originals: 03/22/2024
Acceptance for publication: 04/15/2024

Extratos de fungos endofíticos como potenciais promotores de crescimento em plantulas da soja (*Glycine max* (L.) Merril)

Endophytic fungus extracts as potential growth promoters in soybean plants (*Glycine max* (L.) Merril)

Extractos de hongos endofíticos como potenciales promotores de crecimiento em plantas de soja (*Glycine max* (L.) Merril)

Tatiani Pereira de Souza Ferreira

Mestra em Produção Vegetal
Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)
Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil
E-mail: nanatpsf@yahoo.com.br

Luis Oswaldo Viteri Jumbo

Doutor em Entomologia
Instituição: Universidade Federal de Tocantins (UFT)
Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil
E-mail: luis.viteri@mail.uft.edu.br

Talita Pereira de Souza Ferreira

Doutora em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)
Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil
E-mail: talitapsf@mail.uft.edu.br

María José González Armijos

Mestra em Bioquímica e Imunologia
Instituição: Universidade Federal de Minas (UFMG)
Endereço: Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil
E-mail: majito130692@ufmg.br

Dalmarcia de Souza Carlos Mourão

Doutora em Produção Vegetal
Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)
Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil
E-mail: dalmarciaadm@mail.uft.edu.br

Gil Rodrigues dos Santos

Doutor em Fitopatologia
Instituição: Universidade Federal do Tocantins (UFT)
Endereço: Gurupi, Tocantins, Brasil
E-mail: gilrsan@mail.uft.edu.br