



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA - UFOB
Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães – CMLEM
Graduação em Engenharia de Biotecnologia

EDIELMA DE OLIVEIRA LARA

**Seleção de estirpes de fungos endofíticos do Pequiizeiro
(*Caryocar coriaceum* Wittm) para controle de fitopatógenos em
diferentes condições de crescimento**

Luís Eduardo Magalhães, BA

2024

EDIELMA DE OLIVEIRA LARA

**Seleção de estirpes de fungos endofíticos do Pequiizeiro
(Caryocar coriaceum Wittm) para controle de fitopatógenos em
diferentes condições de crescimento**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal do
Oeste da Bahia, como requisito para
obtenção do título de Bacharela em
Engenharia de Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Felipe da Silva
Figueira
Coorientador: Prof. Dr. Taidés Tavares
dos Santos

Luís Eduardo Magalhães, BA

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

L318 Lara, Edielma de Oliveira.

Seleção de estirpes de fungos endofíticos do Pequiizeiro (*Caryocar coriaceum Wittm*) para controle de fitopatógenos em diferentes condições de crescimento. / Edielma de Oliveira Lara, 2024.

54 f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Felipe da Silva Figueira.

Coorientador: Prof. Dr. Taidés Tavares dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso: (Graduação em Engenharia de Biotecnologia) – Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães, Luís Eduardo Magalhães, BA, 2024.

1. Fungos endofíticos – Aplicações biotecnológicas. 2. Plantas – Pequiizeiro. 3. Cerrado – Bahia, Região Oeste.

I. Figueira, Felipe da Silva. II. Santos, Taidés Tavares dos. III. Universidade Federal do Oeste da Bahia – Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães. IV. Título.

CDD: 660.6

BIBLIOTECAS UFOB - Biblioteca Universitária de Luís Eduardo Magalhães

EDIELMA DE OLIVEIRA LARA

**Seleção de estirpes de fungos endofíticos do Pequiizeiro
(*Caryocar coriaceum* Wittm) para controle de fitopatógenos em
diferentes condições de crescimento**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal do
Oeste da Bahia, como requisito para
obtenção do título de Bacharela em
Engenharia de Biotecnologia.

Luís Eduardo Magalhães-BA, 20 de
setembro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Felipe da Silva Figueira
Universidade Federal do Oeste da Bahia

Dra. Bruna Alexandrino
Universidade Federal do Norte do Tocantins

Dra. Elida Simone Guido
Universidade Federal do Oeste da Bahia

(A versão assinada deste documento encontra-se na Coordenação do Curso)

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só foi possível graças à colaboração e apoio de várias pessoas, direta ou indiretamente envolvidas, as quais sou profundamente grata. Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por me conceder força, paciência e sabedoria ao longo dessa jornada. Sua presença foi essencial para enfrentar os desafios, e sou grata pelos aprendizados e pelas vitórias que me fortaleceram ao longo do caminho.

Agradeço de coração à minha família, especialmente às minhas filhas, Lettícia de Oliveira Torres, Eduarda de Oliveira Lara e Alice de Oliveira Lara, cujo amor e incentivo foram o alicerce que me sustentou. Sem o apoio de vocês, essa conquista não seria possível. Vocês são minha fonte de inspiração, e sou eternamente grata por terem estado ao meu lado em todos os momentos.

Quero expressar minha profunda gratidão ao meu orientador, Felipe da Silva Figueira, e ao meu coorientador, Taidés Tavares dos Santos. Obrigada por acreditarem no meu potencial, pelos ensinamentos valiosos, pelas correções necessárias e por todo o conhecimento compartilhado. Sua orientação foi determinante para o sucesso deste trabalho.

Minha sincera gratidão também vai para meus amigos, Adriana de Oliveira Sampaio e Francyslayne de Jesus Oliveira, que estiveram ao meu lado nos momentos mais desafiadores da minha trajetória acadêmica. Obrigada pelas risadas, pelo incentivo constante e pela amizade incondicional. Vocês têm um lugar especial no meu coração, e desejo que alcancem seus objetivos e se tornem grandes profissionais.

Agradeço ainda a todos os professores da Universidade Federal do Oeste da Bahia que contribuíram para minha formação, oferecendo o conhecimento e a base que permitiram a realização deste trabalho. Sou grata à instituição por proporcionar um ambiente de aprendizado e pesquisa, e por oferecer os recursos necessários ao desenvolvimento acadêmico.

Por fim, expresso meu reconhecimento ao CNPq, ao Programa Nacional de Assistência Estudantil (PNAES) e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Tecnológica (PIBITI), cujo suporte financeiro foi fundamental para que eu pudesse me dedicar aos estudos e concluir este trabalho com êxito.

A todos, meu sincero obrigado!

EPÍGRAFE

*"Viver é arriscar tudo. Caso contrário
você é apenas um pedaço inerte de
moléculas montadas aleatoriamente à
deriva onde o universo te sopra".*

Rick and Mortycom

RESUMO

Fungos endofíticos são microrganismos específicos que residem em tecidos vegetais, estabelecendo uma simbiose mutualística sem causar sintomas patogênicos ou danos ao hospedeiro. Essa simbiose promove o crescimento das plantas, conferindo-lhes resistência contra patógenos e estresses ambientais, além de melhorar a absorção de nutrientes e a tolerância a condições adversas. Esta pesquisa investigou a diversidade e o potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados às folhas e frutos do pequizeiro (*Caryocar coriaceum* Wittm), focando na seleção de estirpes adaptadas a fatores ambientais e em campo. Dez isolados de fungos endofíticos do pequizeiro, integrantes da coleção de culturas microbianas do Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães (CMLEM), foram selecionados entre aqueles com capacidade de inibir o crescimento de fitopatógenos *in vitro*. Os isolados foram reativados a partir do estoque (Castellani). Após reativação ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ por até sete dias), os aspectos macromorfológicos foram contrastados com os previamente descritos. Quatro isolados foram escolhidos, devido ao seu grau de esporulação, para ensaios de caracterização funcional e avaliação de resistência a estresses abióticos, incluindo crescimento em diferentes meios de cultura, sob estresse salino, em diferentes temperaturas e pHs. A micromorfologia dos fungos foi explorada por meio de microcultivo, permitindo a observação de estruturas vegetativas e reprodutivas sob microscópio óptico. Os resultados indicaram que o fungo V5F2 demonstrou crescimento ótimo nos meios BDA e SDA, mais baixo em meios salinos e Czapeck. O V10F2 exibiu excelente crescimento, exceto no BDA sem hidróxido de sódio. Com relação à temperatura, todos os isolados, exceto o fungo V5F2, demonstraram um crescimento completo, a 25°C , indicando uma boa adaptação à temperatura ambiente. Contudo, nenhum dos isolados foi capaz de alcançar um crescimento satisfatório a 40°C , o que indica uma incapacidade geral de adaptação a condições de temperatura extrema. Em relação ao pH, a maioria dos isolados cresceu bem, exceto V5F2 em pH ácido. No que diz respeito à elucidação taxonômica, o isolado V10F2 foi identificado como pertencente ao gênero *Rhizoctonia*. Novos esforços devem ser empreendidos a fim de alcançar a identificação dos demais isolados.

Palavras-chave: Estresse abiótico, interação fungo-planta, potencial de biocontrole.

ABSTRACT

Endophytic fungi are specific microorganisms that reside in plant tissues, establishing a mutualistic symbiosis without causing pathogenic symptoms or damage to the host. This symbiosis promotes plant growth, conferring resistance against pathogens and environmental stresses, in addition to improving nutrient absorption and tolerance to adverse conditions. This research investigated the diversity and biotechnological potential of endophytic fungi associated with the leaves and fruits of the pequi tree (*Caryocar coriaceum* Wittm), focusing on the selection of strains adapted to environmental factors and in the field. Ten isolates of endophytic fungi from the pequi tree, members of the microbial culture collection of the Luís Eduardo Magalhães Multidisciplinary Center (CMLEM), were selected among those with the ability to inhibit the growth of phytopathogens *in vitro*. The isolates were reactivated from the stock (Castellani). After reactivation ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ for up to seven days), the macromorphological aspects were contrasted with those previously described. Four isolates were chosen, due to their degree of sporulation, for functional characterization and evaluation of resistance to abiotic stresses, including growth in different culture media, under saline stress, at different temperatures and pHs. The micromorphology of the fungi was explored through microcultivation, allowing the observation of vegetative and reproductive structures under an optical microscope. The results indicated that the fungus V5F2 demonstrated optimal growth in PDA and SDA media, with lower growth in saline and Czapeck media. V10F2 exhibited excellent growth, except in PDA without sodium hydroxide. Regarding temperature, all isolates, except fungus V5F2, demonstrated complete growth at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, indicating good adaptation to room temperature. However, none of the isolates was able to achieve satisfactory growth at $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, indicating a general inability to adapt to extreme temperature conditions. Regarding pH, most isolates grew well, except V5F2 at acidic pH. Regarding taxonomic elucidation, isolate V10F2 was identified as belonging to the genus *Rhizoctonia*. Further efforts should be undertaken in order to achieve the identification of the remaining isolates.

Keywords: Abiotic stress, fungus-plant interaction, biocontrol potential.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Agrupamento de genes do metabolismo secundário.....	23
Figura 2. Frasco de penicilina usado na conservação dos fungos.....	26
Figura 3. Esquema do confronto direto.....	27
Figura 4 Aplicação da técnica de microcultivo.....	30
Figura 5. Comparação da cultura dos fungos endofíticos do pequiheiro em relação aos patógenos <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Fusarium oxysporum</i>	32
Figura 6. Caracterização dos fungos endofíticos micromorfológicamente.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Porcentagem de inibição de <i>Fusarium oxysporum</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> submetidos ao controle biológico com os fungos do pequizeiro.....	31
Tabela 2. Análise de crescimento médio dos fungos endofíticos nos três meios de cultura diferentes.....	33
Tabela 3. Análise de crescimento médio dos fungos em meio BDA com diferentes concentrações de cloreto de sódio.....	34
Tabela 4. Análise de crescimento médio dos fungos endofíticos em quatro temperaturas diferentes.....	35
Tabela 5. Avaliação do crescimento médio dos fungos endofíticos em três níveis distintos de pH.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA- Batata-Dextrose Ágar

CBN- Controle Biológico Natural

CBC- Controle Biológico Clássico

CBA- Controle Biológico Aplicado

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ERO - Espécies Reativas de Oxigênio

FAO- *Food and Agriculture Organization*

GYP- Glicose, Extrato de levedura e Peptona

HCl- Ácido Clorídrico

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IRAC-BR - Comitê Brasileiro de Ação à Resistência a Inseticidas

IVCM- Análise do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NaOH- Hidróxido de sódio

pH- Potencial hidrogeniônico

SDA- Sabouraud Dextrose Ágar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3. JUSTIFICATIVA	15
4. REFERENCIAL TEÓRICO	16
4.1 Cerrado.....	16
4.2 Desafios fitopatológicos na produção agrícola do cerrado do Oeste da Bahia.....	17
4.3 Fungos Endofíticos.....	18
4.4 Controle Biológico.....	19
4.5 Metabólitos secundários de fungos endofíticos	21
4.6 Tolerância a estresses abióticos em fungos endofíticos.....	23
5 METODOLOGIA	25
5.1 Microrganismos endofíticos e fitopatogênicos utilizados.....	25
5.2 Seleção dos fungos endofíticos e teste de cultura pareada (antagonismo microbiano)	26
5.3 Avaliação de condições de estresse abiótico.....	27
5.3.1 Crescimento em diferentes meios de cultura.....	27
5.3.2 Crescimento em diferentes temperaturas.....	28
5.3.3 Estresse salino.....	28
5.3.4 Crescimento em diferentes faixas de pHs.....	29
5.4 Caracterização macro e micromorfológica.....	29
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
7. CONCLUSÃO	39
8. REFERÊNCIAS	40
APÊNDICE I	50

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado, um bioma predominante no centro-norte brasileiro que se estende até a região oeste da Bahia, abriga uma diversidade de espécies vegetais, incluindo o pequi, o qual pode ser da espécie *Caryocar brasiliense* Camb, *C. coriaceum* Wittm e *C. cuneatum* Wittm (OLIVEIRA JÚNIOR, 2022). O fruto desse pequi, conhecido como pequi, destaca-se por seu elevado valor nutricional e comercial (FLAUZINO, 2020; COSTA, 2023).

Assim como todas as plantas, o pequi possui o potencial de estabelecer associações com microrganismos. Esses microrganismos podem colonizar diferentes partes da planta, como os espaços intercelulares dos tecidos vegetais (colonização endofítica) ou as superfícies das plantas (colonização epifítica). (TORRES et al., 2022).

A relação entre plantas e microrganismos tornou-se uma área de pesquisa em expansão, especialmente no Brasil, devido ao clima tropical e à vasta biodiversidade de flora e microbiota do país (CECHINEL FILHO, 2020). Neste sentido, houve um crescente reconhecimento da importância dos microrganismos associados às plantas, com foco especial nos endófitos, que habitam os tecidos vegetais sem prejudicar seus hospedeiros. Embora tenham sido identificados no passado, os microrganismos endofíticos receberam atenção mais ampla apenas nas últimas duas décadas, quando seu papel crucial na adaptação das plantas e na produção de uma variedade de metabólitos, incluindo os secundários e primários, foi destacado (CASAS et al., 2021). Esses metabólitos têm aplicações biotecnológicas diversas, abrindo caminho para a produção de substâncias como vacinas, enzimas, antibióticos, antifúngicos e até mesmo anticancerígenos, representando um mercado global de grande valor econômico (GUISELINI, 2023).

Na literatura científica, encontram-se relatos que evidenciam a capacidade dos fungos endofíticos, sejam filamentosos e leveduriformes, em produzir diversos metabólitos secundários bioativos com aplicação biotecnológica, incluindo atividade antimicrobiana que pode ser explorada no controle de

fitopatógenos (KAMEL et al., 2020; NAIK et al., 2019; SADRATI et al., 2013). De fato, várias espécies de fungos têm sido empregadas em estratégias de controle biológico de doenças vegetais, destacando-se gêneros como *Trichoderma* e *Penicillium* (BAILEY et al., 2008; GAO; DAI; LIU, 2010; KOSAWANG et al., 2018; SAAD; GHAREEB; SAEED, 2019).

A implementação eficaz de fungos endofíticos em programas de controle biológico de doenças vegetais requer uma análise abrangente do alcance de suas ações e da habilidade de sobreviver e se adaptar a situações de estresse abiótico. Esse conhecimento é essencial para garantir que esses microrganismos possam desempenhar um papel consistente e confiável na proteção das plantas contra patógenos, mesmo em condições ambientais exigentes (FONTANA et al., 2021).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar a diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados às folhas e aos frutos do pequiheiro (*Caryocar coriaceum* Wittm), visando a seleção de estirpes quanto a adaptação a fatores ambientais e identificação taxonômica para o biocontrole de doenças em campo.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar o potencial *in vitro* de controle biológico exercido por fungos endofíticos obtidos de *C. coriaceum* sobre fungos fitopatogênicos;
- Avaliar o crescimento *in vitro*, dos fungos endofíticos associados às folhas e aos frutos do pequiheiro sob diferentes temperaturas e diferentes pHs;
- Investigar as respostas dos isolados a diferentes meios de cultura;
- Verificar a tolerância dos isolados fúngicos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) para avaliar seu potencial de sobrevivência em ambientes salinos;
- Identificar, o possível nível taxonômico das espécies fúngicas mais promissoras para uso biotecnológico.

3. JUSTIFICATIVA

A pesquisa aborda desafios agrícolas na região Oeste da Bahia, importante produtora de soja e milho. A busca por alternativas sustentáveis para o controle de doenças em plantas é essencial devido a limitações das práticas convencionais, como o uso extensivo de agrotóxicos, fungicidas e pesticidas. Fungos endofíticos surgem como soluções promissoras, coexistindo harmoniosamente com plantas hospedeiras e protegendo-as de doenças. A região, líder na produção agrícola, pode se beneficiar com estratégias de controle biológico baseadas nesses microrganismos.

O potencial dos fungos endofíticos associados ao pequizeiro, espécie do Cerrado, é inovador. Explorar a diversidade e metabólitos desses fungos pode criar base sólida para bioprodutos de controle biológico, oferecendo abordagem sustentável ao manejo de doenças agrícolas. Esses produtos também têm potencial biotecnológico, contribuindo para a economia local e nacional.

O cultivo e experimentação com fungos em laboratório frequentemente ocorrem em condições ideais de temperatura, pH, entre outros, diferindo significativamente das condições de campo, marcadas por diversos estresses abióticos. Este estudo busca contribuir para o entendimento do comportamento de fungos endofíticos frente a tais estresses, considerando, inclusive, o aumento global das temperaturas, as alterações climáticas e seu impacto no tempo de cultivo, associados à perda de produtividade. O objetivo é subsidiar a futura incorporação desses fungos em práticas eficazes de controle biológico em condições de campo desafiadoras.

Além disso, a pesquisa na região possibilita colaboração direta entre academia e agricultores, enriquecendo a aplicabilidade prática dos resultados. Isso atende à necessidade de soluções adaptadas à realidade agrícola local. Em suma, o projeto busca enfrentar desafios agrícolas ao explorar o potencial dos fungos endofíticos, proporcionando benefícios sustentáveis à produção agrícola e à economia regional e nacional.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Cerrado

O Cerrado é um bioma presente na região tropical do continente sul-americano, abrangendo desde os limites inferiores da Amazônia até os estados de São Paulo e Paraná. Também inclui áreas menores no Leste boliviano e nordeste paraguaio, totalizando uma extensão de mais de 2,0 milhões de km² (OLIVEIRA FILHO e RATTER, 1995). É o segundo maior bioma brasileiro, ficando atrás apenas da Floresta Amazônica. Estendendo-se por mais de 1.200 km de Leste a Oeste e mais de 1.000 km de Norte a Sul, no centro do Brasil, o Cerrado é conhecido por suas paisagens deslumbrantes, caracterizadas por águas cristalinas, flores e frutos. Ele é predominante nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Tocantins, Piauí e Distrito Federal, sendo também encontrado em outros seis estados brasileiros, bem como parte do oeste da Bahia (DA SILVA TEIXEIRA; DA FONSECA, 2022).

Apesar de sua riqueza biológica, o Cerrado enfrenta ameaças significativas devido à atividade humana, sendo internacionalmente reconhecido como um dos 25 hotspots, (25 regiões no mundo que possuem alta biodiversidade e um número significativo de espécies endêmicas). Essas regiões, apesar de sua rica diversidade, estão ameaçadas pela perda de habitat (ZANIRATO, 2021). A rápida transformação do bioma é preocupante. O "jardim das árvores tortas" está sendo substituído por vastas áreas de cultivo, como soja, algodão, cana-de-açúcar e eucalipto, além de pastagens para a pecuária (MACHADO, 2023).

Essa degradação não apenas coloca em risco a biodiversidade impressionante do Cerrado, mas também ameaça regiões essenciais para as principais bacias hidrográficas do Brasil e a subsistência de muitas comunidades locais. Com mais de 15 mil espécies de plantas e 1.570 espécies de animais, o Cerrado é uma das savanas mais biodiversas do mundo (DIANESE et al., 1997).

Para enfrentar essa situação crítica, é essencial que a sociedade brasileira e o governo revejam suas estratégias de conservação para o Cerrado (CARRAZA e FIGUEREDO, 2010). A exploração extrativista dos recursos naturais, como o pequi (*C. brasiliense* Camb e *C. coriaceum* Wittm), pode

oferecer uma alternativa sustentável para as comunidades locais e contribuir para a recuperação de áreas degradadas.

4.2 Desafios Fitopatológicos na Produção Agrícola do Cerrado do Oeste da Bahia

O setor agrícola na região Oeste assume um papel central como principal produtora de grãos na Bahia, gerando divisas essenciais para o estado e contribuindo significativamente para a economia nacional. O cultivo em larga escala, com ênfase em culturas-chave como soja, milho e algodão, destaca a diversidade econômica regional. Essas culturas desempenham funções cruciais na segurança alimentar, indústria têxtil e geração de empregos. Além disso, o setor promove o desenvolvimento rural, a fixação populacional no campo e a implementação de práticas sustentáveis, resultando em eficiência agrícola e minimização dos impactos ambientais adversos (FRIAS et al., 2021).

A produção agrícola no Cerrado do Oeste da Bahia enfrenta desafios significativos devido a diversas doenças que limitam o crescimento e a produtividade das culturas, com destaque para o mofo branco, também conhecido como podridão do caule, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Esta patologia afeta várias culturas, incluindo o algodão, sendo responsável por bilhões de dólares em perdas de colheitas (BOLAND e HALL, 1994). A utilização excessiva de fungicidas químicos para mitigar as perdas têm impactos ambientais e de saúde, além de acelerar a seleção de cepas resistentes do patógeno (KOMÁREK et al., 2010).

O uso isolado de fungicidas químicos para controlar o mofo branco apresenta resultados inconsistentes devido à dificuldade em alcançar uma cobertura adequada do patógeno, resultando na necessidade de medidas alternativas (MEYER et al., 2014). Estratégias de controle biológico, como o uso de *Trichoderma spp.*, têm se mostrado eficazes no manejo de *S. sclerotiorum* em diversas culturas, incluindo o algodão (LI et al., 2005). *Trichoderma* atua parasitando e degradando os escleródios do fungo, proporcionando uma alternativa sustentável aos fungicidas químicos (FERRAZ et al., 2011).

Outro desafio fitopatológico relevante é a murcha causada por *Fusarium oxysporum*, que produz altos níveis de murcha vascular na soja. *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* é um patógeno transmitido pelo solo, difícil de controlar com tratamentos químicos convencionais. O desenvolvimento de cultivares resistentes tem sido uma estratégia, mas a pesquisa é prejudicada pela falta de conhecimento da variabilidade genética do fungo (MILANESI et al., 2013).

A busca por soluções bio-rationais levou ao interesse renovado no controle biológico como alternativa de manejo. Microrganismos benéficos, como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Streptomyces*, têm sido explorados devido às suas propriedades antagonistas contra patógenos de plantas (NOBRE et al., 2021). Esses agentes de biocontrole oferecem potencial no controle de doenças, proporcionando uma abordagem sustentável e reduzindo a dependência de fungicidas químicos.

4.3 Fungos Endofíticos

Os fungos, um grupo diversificado de microrganismos eucarióticos, desempenham papéis cruciais nos ecossistemas como decompositores e na ciclagem de nutrientes. Entre eles, os fungos endofíticos, residentes no interior das plantas sem causar danos aparentes, têm recebido atenção crescente devido às suas propriedades bioativas. O reino fúngico, estimado em cerca de 1,5 milhão de espécies, abrange uma vasta diversidade, com aproximadamente 90 mil espécies catalogadas (AZEVEDO, 2014).

Uma abordagem do conceito de microrganismo endofítico, proposta por Azevedo e Araújo (2007), classifica-os em dois tipos principais: Tipo I e Tipo II. Os endófitos do Tipo I residem em tecidos vegetais sem desenvolvimento de estruturas externas, enquanto os do Tipo II podem induzir a formação de estruturas externas, como nódulos bacterianos e fungos micorrízicos. Essa classificação destaca a complexidade e a diversidade das interações simbióticas entre os microrganismos e suas plantas hospedeiras, revelando o potencial dessas associações para aplicações biotecnológicas.

A simbiose entre fungos endofíticos e plantas desempenha um papel fundamental na defesa e adaptação das plantas às condições adversas. Essa interação mútua beneficia ambas as partes, com os endófitos fornece compostos bioativos, como enzimas, alcaloides e antibióticos, que conferem maior resistência às plantas contra estresses abióticos e bióticos. Além disso, a colonização de programas vegetais por esses microrganismos pode resultar na produção de metabólitos secundários bioativos, ampliando o potencial biotecnológico dessas associações (TORRES et al., 2018).

Os fungos endofíticos surgem como candidatos promissores para o controle biológico de insetos-praga na agricultura. Esses microrganismos, que ocupam nichos semelhantes aos fitopatógenos, possuem mecanismos de ação multifacetados, incluindo microparasitismo (invasão celular limitada) e antibiose (produção de substâncias inibidoras defensivas), que resultam na inibição do crescimento e reprodução de microrganismos específicos (SARAIVA et al., 2014).

4.4 Controle Biológico

O controle biológico se baseia na regulação natural das populações de pragas por seus inimigos naturais, divididos em cinco grupos: competidores, predadores, parasitoides, parasitas e entomopatógenos, essa interação busca preservar o equilíbrio populacional das pragas, promovendo um controle biológico eficaz e sustentável no ambiente agrícola. (ZANETTI et al., 2021). O manejo biológico abrange três vertentes principais: Controle Biológico Natural (CBN), que faz a conservação de inimigos naturais; Controle Biológico Clássico (CBC), no qual faz a introdução de inimigos naturais exóticos; e Controle Biológico Aplicado (CBA), utilizando a liberação massal de inimigos naturais (PARRA, 2021).

A identificação e o monitoramento de pragas-chave são essenciais para determinar a estratégia de controle biológico adequada. A introdução de microrganismos, como fungos entomopatogênicos, desempenha papel crucial

no controle de insetos-praga. Contudo, o uso excessivo de pesticidas pode afetar a eficácia desses microrganismos (SMITH, 2012).

O controle biológico pode ser aplicado de diferentes maneiras, incluindo a inoculação de inimigos naturais, a liberação inundativa em culturas farmacêuticas e a liberação inoculativa estacional em culturas de curta duração. Além disso, o controle comportamental de insetos, como a distribuição de adesivos coloridos para captura de pragas, também é uma estratégia utilizada (MICHEREFF FILHO, 2013).

Ao longo dos 10.000 anos de domesticação de plantas, os fitopatógenos representam um desafio constante, limitando as colheitas. Independentemente do método de cultivo, as plantas enfrentam fitomoléstias. A produção em larga escala depende de defensivos agrícolas, mas sua toxicidade impulsiona a busca por métodos alternativos (PUNJA; UTKHEDE, 2003). No entanto, o aumento da demanda por alimentos livres de resíduos tóxicos e a conscientização sobre os impactos de pesticidas levam a reavaliações, excluindo métodos tradicionais, engloba estratégias como controle biológico e indução de resistência (PASCHOLATI, 1998).

Produtos biológicos, incluindo biopesticidas, ganham destaque. Microrganismos como *Candida oleophilla* e *Trichoderma harzianum* são usados em biopesticidas. No Brasil, a história do controle biológico evoluiu com marcos como a criação do Comitê Brasileiro de Ação à Resistência a Inseticidas (IRAC-BR) que fomenta pesquisas e desenvolvimento de trabalhos com produtos fitossanitários, além de prover informações estratégicas sobre manejo de resistência a inseticidas (CARVALHO; BARCELLOS, 2012).

A integração de métodos químicos e biológicos mantém o equilíbrio ambiental. Estratégias integradas, considerando monitoramento e métodos biológicos, atendem à necessidade de reduzir intervenções químicas, promovendo uma agricultura sustentável. Sendo o controle biológico, uma resposta eficaz e sustentável aos desafios agrícolas, alinhada à busca por práticas mais amigáveis ao meio ambiente e seguras para os consumidores. O Brasil, com sua rica biodiversidade, está cada vez mais orientado para

estratégias de manejo biológico, promovendo uma agricultura mais eficiente e ecologicamente responsável (ALTIERI et al., 2003).

No contexto do controle biológico de pragas, fungos desenvolvem mecanismos especializados de degradação enzimática no tegumento do inseto, contornando os compostos defensivos produzidos pelo hospedeiro. As relações para obtenção de energia podem ser categorizadas em biotrofia (nutrição a partir de células vivas), necrotrofia (nutrição de tecidos mortos) e hemibiotrofia (inicialmente biotrófico e posteriormente necrotrófico). Estudos apontam que a mortalidade de insetos-praga por fungos entomopatogênicos decorre da acumulação de micotoxinas/metabólitos secundários nos tecidos da planta, resultando em diminuição na alimentação de herbívoros, antibiose em fungos patógenos e repelência (NUNES, 2021). O uso de microrganismos endofíticos representa uma alternativa relevante aos produtos fitossanitários convencionais, com o intuito de reduzir infecções patogênicas e populações de insetos-praga, porém muitas vezes, esse enfoque permite um efeito sinérgico quando empregado em conjunto com produtos compatíveis, fortalecendo a estratégia integrada de combate a doenças e pragas.

4.5 Metabólitos secundários de fungos endofíticos

Fungos endofíticos auxiliam as plantas na adaptação e resistência a estresses, produzindo metabólitos como enzimas e antibióticos (ZHANG et al., 2006). A produção de metabólitos bioativos, como alcaloides e terpenos, é característica dos fungos endofíticos (KELLER et al., 2005; CANUTO et al., 2012). A diversidade de substâncias bioativas possui aplicações em agricultura, medicina e indústria (ZHAO et al., 2010).

Os parâmetros de cultivo desempenham um papel crítico na produção de metabólitos secundários por organismos. Pequenas alterações no meio de cultura podem afetar a produção de compostos específicos e o perfil geral de metabólitos. A seleção adequada das condições é fundamental para obter antioxidantes de fontes microbianas ou vegetais. Além disso, as condições de

extração variam devido à diversidade de antioxidantes naturais em diferentes materiais (VANDERMOLEN et al., 2013).

Os microrganismos ajustam suas propriedades fisiológicas e bioquímicas de acordo com a condição nutricional, aprimorando o rendimento de compostos bioativos. Fatores físico-químicos, como temperatura, pH, luz e modificações no meio, podem influenciar essa produção (LIYANA-PATHIRANA et al., 2005; MIAO et al., 2006; KIRANMAYI et al., 2011; WANG et al., 2011).

Brakhage (2013) destaca a produção específica de metabólitos sob condições particulares, regulados por fatores como luminosidade, temperatura, carbono, nitrogênio, interações entre espécies e deficiência de ferro. Muitos genes de biossíntese desses metabólitos podem não ser expressos em condições normais, afetando a detecção por métodos analíticos.

Mecanismos de sinalização permitem que microrganismos respondem a mudanças ambientais, incluindo a depleção de nutrientes (PALKOVÁ et al., 2004). Estudos recentes por Kumar et al. (2015) confirmam que a produção de metabólitos secundários varia conforme a espécie, a condição nutricional e o cultivo, onde a composição do meio influencia a quantidade e a qualidade dos compostos, como demonstra a figura 1.

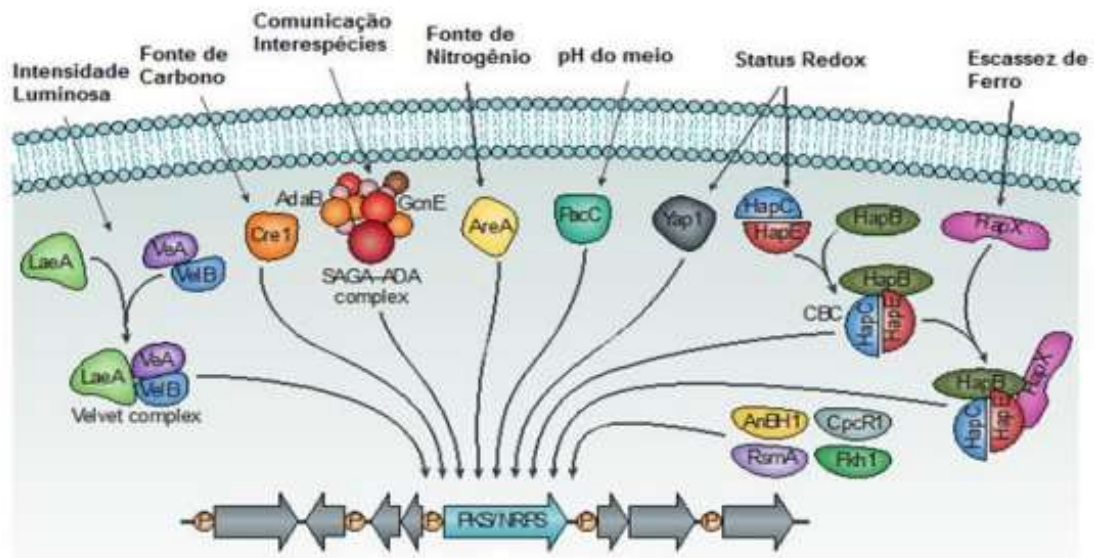


Figura 1: Agrupamento de genes do metabolismo secundário. Fonte: Brakhage, 2013.

4.6 Tolerância a estresses abióticos em fungos endófitos

Diante dos desafios crescentes das mudanças climáticas, práticas agrícolas inovadoras são úteis para melhorar a eficácia das culturas em condições de temperaturas elevadas. Um exemplo notável é o fungo endófito termofílico *Thermomyces sp.* (CpE), que demonstrou eficácia em atenuar os efeitos adversos do estresse térmico em plantas de pepino. Os tratamentos com CpE preservaram parâmetros cruciais, como eficiência quântica do fotossistema II, taxa de fotossíntese e eficiência do uso da água, enquanto promoviam o acúmulo de compostos benéficos em comparação com plantas não tratadas sob estresse térmico (ALI et al., 2018). Em condições de estresse térmico, as plantas geralmente aumentam a condutância estomática, promovendo altas taxas de transpiração. No entanto, plantas tratadas com endófitos, como *Thermomyces sp.*, mantiveram o conteúdo hídrico foliar, melhorando a eficiência do uso da água sob estresse. Esses endófitos termofílicos minimizam as perdas excessivas de água através do fechamento estomático, uma estratégia adaptativa para preservar a água diante do aumento do estresse térmico (ALI et al., 2018).

Além da resposta ao estresse térmico, os endófitos fúngicos são alterados para a tolerância a uma variedade de estresses abióticos. A capacidade de solubilizar fosfato, produzir sideróforos, antibióticos, fitohormônios e mineralizar nutrientes desempenha papel vital na promoção do crescimento das plantas durante condições adversas (YUNG et al., 2021). Em ambientes salinos, endófitos como *Piriformospora indica* têm sido associados ao aumento da produção de biomassa, intensificando a capacidade antioxidante das plantas e regulando enzimas antioxidantes sob estresse salino (BALTRUSCHAT et al., 2008; MURPHY et al., 2018).

A resiliência e a sustentabilidade da agricultura contemporânea estão intrinsecamente ligadas aos fungos endofíticos. Sua capacidade de mobilizar fosfato insolúvel, fornecer nitrogênio e secretar metabólitos que promovem o crescimento das plantas destaca-se como uma contribuição valiosa para a agricultura (HASSAN, 2017; YADAV e YADAV, 2017). Esses fungos desempenham papel fundamental na adaptação das plantas a altas temperaturas, regulando atividades físicas, bioquímicas e metabólicas para produzir metabólitos benéficos (BERNAL, 2020).

No cenário complexo do desenvolvimento de resistência a pesticidas por pragas e patógenos, a gestão ambiental de pesticidas por meio de agentes de biocontrole, como fungos endofíticos, emerge como uma abordagem sustentável (BARON e RIGOBELLO, 2022). Esses endófitos não apenas conferem resistência biótica às plantas hospedeiras, mas também estimulam o crescimento e o rendimento das plantas, além de proteger contra patógenos. Sua capacidade de moléculas modulares bioativas, antioxidantes e fitohormônios destaca-se como uma estratégia promissora para enfrentar os desafios da agricultura moderna (SINGH et al., 2015). Os fungos endofíticos oferecem uma gama de benefícios para as plantas hospedeiras, contribuindo para a resistência aos estresses abióticos, otimização do crescimento e resiliência em condições adversas. Essas interações simbióticas emergem como uma ferramenta valiosa na promoção da agricultura sustentável diante dos desafios ambientais contemporâneos (SILVA, 2020).

5 METODOLOGIA

5.1 Microrganismos endofíticos utilizados

Este estudo direcionou seu foco para a análise de uma coleção de fungos endofíticos, composta por 63 isolados, provenientes do bioma Cerrado. Esses fungos foram isolados em estudos prévios, ainda não publicados, que foram conduzidos por integrantes do grupo de pesquisa “Engenharia de Biotecnologia”, do curso de Engenharia de Biotecnologia da Universidade Federal do Oeste da Bahia, e se encontram devidamente armazenados e disponíveis para acesso e uso pela comunidade acadêmica, no laboratório 4 do Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães.

Os tecidos vegetais empregados foram folhas e frutos da árvore de pequi. A coleta do material vegetal foi realizada no município de Luís Eduardo Magalhães - BA (-12°4'41.177"S; - 45°46'36.876"W). Amostras do material vegetal coletado, contendo flores, foram prensadas, secas e enviadas para identificação pelo Herbário da Universidade de Brasília (UnB), cujo nº de depósito é UB 238011. A identidade da espécie foi confirmada como *Caryocar coriaceum* Wittm.

Com relação ao isolamento dos fungos endofíticos que compõem a coleção, foi empregada metodologia proposta por GONZAGA et al. (2014) com ligeiras modificações, a qual abrangeu as fases de isolamento, identificação e cultivo de fungos endofíticos, utilizando amostras obtidas de plantas de pequi, em meio BDA. Essa abordagem visou aprofundar a compreensão da diversidade fúngica presente no ecossistema do Cerrado, com ênfase nas interações entre esses fungos e o pequi, bem como sua relação com fungos fitopatogênicos relevantes para as culturas agrícolas da região.

Os microrganismos endofíticos foram conservados pelo método de Castellani (CASTELLANI, 1939). Esse método de conservação consiste na utilização de frascos criogênicos e/ou de penicilina (Figura 2), contendo água destilada estéril (3,0 a 5,0 mL) onde alíquotas de blocos de ágar, com aproximadamente 25mm² de crescimento fúngico são adicionados,

armazenando-os em condições ambientais de laboratório a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ (EMBRAPA, 2012).



Figura 2. Frasco de penicilina usado na conservação dos fungos. (Fonte: <https://www.rbrvidros.com.br/frasco-penicilina-vial-transparente-com-tampa-e-rolha-de-borracha/prod-9236072/>)

Dez isolados, entre aqueles com capacidade de inibir o crescimento de fitopatógenos *in vitro*, foram selecionados e reativados a partir do estoque (Castellani). Após reativação ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ por até sete dias), os aspectos macromorfológicos foram contrastados com os previstos, para confirmação. Quatro dos dez isolados foram escolhidos, devido ao seu grau de esporulação, para ensaios de caracterização funcional e avaliação de resistência a estresses abióticos, incluindo crescimento em diferentes meios de cultura, sob estresse salino, em diferentes temperaturas e pHs.

5.2 Seleção dos fungos endofíticos e teste de cultura pareada (antagonismo microbiano)

Para o procedimento de cultura pareada, cada um dos isolados escolhidos foi contrastado com *Fusarium oxysporum* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Para esse procedimento, placas de Petri (90 mm) contendo o meio BDA, foram inoculadas com um disco de micélio de 5 mm de diâmetro do fitopatógeno, e no lado oposto da placa, com um disco do fungo endofítico a ser avaliado. As placas (controle) continham apenas um disco de micélio do fitopatógeno (figura 3). As placas foram incubadas à temperatura a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ por 10 dias.

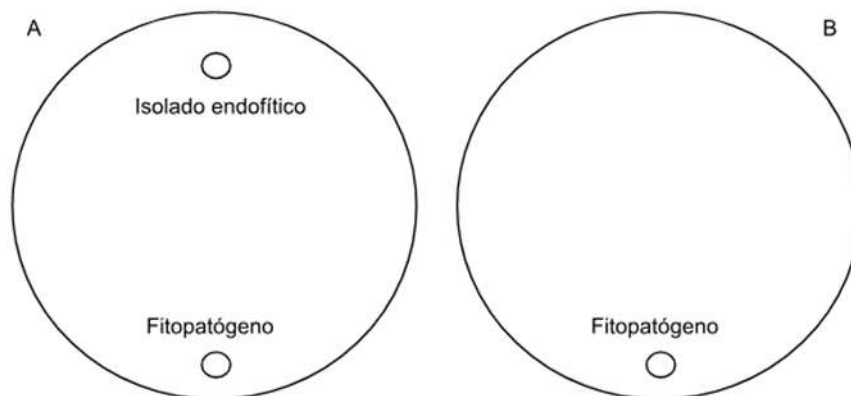


Figura 3. Esquema demonstrativo do confronto direto entre fungos endofítico e fitopatogênicos. A: Conformação das placas de antagonismo; B: conformação das placas de controle negativo (fungo fitopatogênico na ausência de um endofítico).

O cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial do fitopatógeno foi determinado por meio da equação (1).

$$\% \text{ inibição} = \frac{DM-dm}{DM} \times 100 \quad (1)$$

Onde, DM é o diâmetro médio das colônias das duplicatas do controle negativo (fitopatógeno na ausência do fungo endofítico antagonista, letra B da figura 3) e dm é o diâmetro médio das colônias do fitopatogeno em cada uma das placas de tratamento (fitopatógeno na presença do fungo endofítico antagonista, letra A da figura 3).

O potencial de ação antagônica *in vitro* contra os isolados foi executado conforme a metodologia descrita por Carvalho et al., (2011), com modificações. Essa abordagem estatística permitiu avaliar de forma significativa os efeitos dos fungos endofíticos sobre o crescimento dos fitopatógenos.

5.3 Avaliação de condições de estresse abiótico

5.3.1 Crescimento em diferentes meios de cultura

Conforme mencionado acima, quatro isolados foram escolhidos para uma investigação sobre as respostas em diferentes meios de cultura, e avaliar o crescimento sob estresse nutritivo, também chamado de estresse abiótico

(CHANDRA, 2007). Utilizando a metodologia de Chandra (2007) com modificações, discos de 5 mm foram obtidos de culturas cultivadas em meio BDA, em 28 °C ± 2 por até sete dias e inoculados no centro de placas de Petri, em duplicatas para cada meio de cultura [Batata Dextrose Ágar (BDA), Sabouraud Dextrose Ágar (SDA) e Czapek]. A incubação ocorreu a 28 °C ± 2, simulando condições ideais para o crescimento fúngico, por ser uma temperatura média do Cerrado. O diâmetro do crescimento micelial foi medido ao longo de sete dias usando um paquímetro digital. Os dados foram analisados estatisticamente para calcular a média dos resultados de crescimento micelial, proporcionando uma comparação quantitativa das respostas e capacidades de crescimento nos diferentes meios de cultura.

5.3.2 Crescimento em diferentes temperaturas

Discos de 5mm de diâmetro das culturas endofíticas escolhidas, cultivadas por até sete dias, foram inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubados em diferentes temperaturas (25 °C, 30 °C, 35 °C e 40 °C) ao longo de sete dias. Após o período de incubação, o diâmetro micelar do crescimento foi medido utilizando um paquímetro digital, e a média foi calculada para cada isolado. A capacidade global de crescimento dos endófitos foi avaliada com base na habilidade de prosperar em condições adversas. Além disso, a adaptação dos endófitos a diferentes temperaturas foi avaliada e quantificada. Os dados foram submetidos a análises para identificar diferenças significativas no crescimento em diferentes temperaturas. O experimento foi replicado pelo menos duas vezes para garantir resultados consistentes, utilizando placas de controle negativo, sem inoculação, para detectar possíveis contaminações, conforme proposto pela metodologia com modificações (CAMPOS et al., 2017).

5.3.3 Estresse salino

Após obter os resultados dos testes anteriores, foi conduzido o teste de tolerância ao NaCl, onde foram preparados discos de 5 mm de diâmetro a partir de culturas previamente cultivadas por sete dias para cada um dos quatro

isolados. Esses discos foram inoculados em placas contendo meio de cultura BDA suplementado com diferentes concentrações de (NaCl): 3%, 5%, 8% e 10%. As placas foram colocadas em uma câmara de crescimento (BOD) a uma temperatura constante de 28 °C ± 2 e monitoradas ao longo de cinco dias. Utilizando um paquímetro digital, foi realizada a medição do diâmetro cerâmico do crescimento micelial, e a média foi calculada para cada isolado. As leituras foram realizadas após o período de sete dias, com base no crescimento visível na superfície do meio de cultura sólido, seguindo o método descrito por Barnett et al. (2000).

5.3.4 Crescimento em diferentes valores de pHs

Para avaliar o crescimento de diferentes valores de pH como indicadores de tolerância ao estresse, após a obtenção dos resultados acima, esta pesquisa avaliou valores de pH 3, 5 e 10, utilizando o meio de cultura BDA. Para este ajuste, o ácido clorídrico (HCl) foi utilizado para os pHs 3 e 5, enquanto o pH 10 foi modulado com o uso de hidróxido de sódio (NaOH). As culturas selecionadas para teste foram devidamente inoculadas e incubadas ao longo de um período de sete dias. Durante o desenvolvimento, o crescimento micelial foi monitorado constantemente. Ao final do experimento, procedeu-se à medição do crescimento micelial por meio de um paquímetro digital. Esses dados foram então utilizados para o cálculo da média, permitindo uma análise abrangente. A qualidade do crescimento dos endófitos foi avaliada através da observação geral, levando em consideração a sua capacidade de prosperar sob condições extremas, como as testadas, seguindo o método descrito por Potshangbam et al. (2017).

5.4 Caracterização macro e micromorfológica

Os fungos foram reativados em BDA e incubados em incubadora BOD por sete dias onde foram caracterizados pela observação visual de características macroscópicas (coloração, borda, aspectos de crescimento das colônias) (LACAP et al., 2003). Já a caracterização micromorfológica ocorreu com auxílio de microscópio, observadas por meio da técnica de microcultivo (RIDDELL, 1950), com adaptações. Tal técnica foi realizada utilizando placas de Petri

esterilizadas, no qual em seu interior foram colocados uma lâmina de microscopia, uma lamínula e um pedaço de algodão (Figura 3).



Figura 4. Preparo de material para microcultivo. O isolado fúngico (não mostrado) deve ser adicionado sobre a lâmina.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Nesse processo, fragmentos de micélio, desprovidos de ágar, foram cuidadosamente posicionados em uma lâmina de microscopia. Em seguida, uma lamínula foi sutilmente pressionada sobre o fragmento. Logo depois, o algodão que estava dentro da placa de Petri foi umedecido com água destilada esterilizada e na sequência a placa foi incubada a $28^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 30 dias. Durante este período a cada quatro dias o algodão foi umedecido com água destilada e trocado quando necessário. Após o estabelecimento do crescimento micelial na lamínula, esta foi cuidadosamente removida para não danificar as estruturas do fungo aderidas na superfície inferior da lamínula. Uma gota do corante azul de metileno foi adicionada em uma lâmina de vidro nova e a lamínula foi disposta sobre a gota. Uma observação detalhada das estruturas vegetativas e reprodutivas foi realizada com um aumento óptico de 100 X e os resultados foram agrupados em morfotipos. Essas análises microscópicas foram realizadas para identificar o complexo de esporos e examinar o arranjo das hifas, proporcionando uma compreensão aprofundada da micromorfologia dos fungos endofíticos e contribuindo para uma melhor caracterização das espécies presentes.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Seleção dos fungos endofíticos

A partir do teste de confronto direto realizado com os dez isolados endofíticos e, também, levando-se em consideração a capacidade e intensidade da esporulação, foram escolhidos os isolados que seriam empregados na caracterização funcional e avaliação de resistência a estresses abióticos. Na tabela 1 são apresentados os percentuais inibição de *Fusarium oxysporum* e *Sclerotinia sclerotiorum* submetidos ao controle biológico com os fungos do pequizeiro.

Tabela 1. Porcentagem de inibição de *Fusarium oxysporum* e *Sclerotinia sclerotiorum* submetidos ao controle biológico com os fungos do pequizeiro.

Código do Morfotipo	Caracterização do grupo (Cor da frente/cor do verso/aspecto/outras informações relevantes)	% de inibição crescimento de <i>F. oxysporum</i>	% de inibição crescimento de <i>S. sclerotiorum</i>
V1F4	Preto/marrom/esporulação intensa	51%	36,8%
V4F2	Preto com branco/verde/cotonoso/	50%	
V5F2	Cinza esverdeado/amarelo/cotonoso	54%	60%
V9F1.2	Verde musgo/amarelo esverdeado/coraceo	49%	52%
V12F1.2	Verde com branco/amarelo/cotonoso/esporulante	58%	50%
V10F1	Branco com cinza/cinza com amarelo/aveludado	60%	61,2%
V10F3	Cinza/preto com ranhuras/aveludado	50%	49,1%
V10F2	Branco com tons amarelo/amarelo/cotonoso	70%	67,3%
V8F2.1	Branco com preto/amarelo/coraceo/esporulante	51%	50,1%

V11F1	Branco/amarelo/cotonoso/alta esporulação	49%	49,8%
-------	--	-----	-------

Todos os isolados apresentaram crescimento e foram capazes de inibir o crescimento dos patógenos entre o quinto e o sétimo dia de cultivo. Mesmo após quatro dias de cultivo em relação ao antagonista, a maioria dos isolados não demonstrou um crescimento significativo, resultando em variações no percentual de inibição entre 49% e 70%, conforme a tabela 1.

A análise da porcentagem de inibição da cultura pareada, conforme apresentado na Tabela 1 é avaliada até o sétimo dia, onde a figura 4 ilustra claramente o antagonismo microbiano entre os fungos endofíticos associados ao pequiizeiro, tendo o *S. sclerotiorum* (à esquerda), e o *F. oxysporum* (à direita).



Figura 5. Comparação da cultura dos fungos endofíticos do pequiizeiro em relação aos patógenos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium oxysporum*.

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

De acordo com os resultados obtidos foram feitos a seleção dos isolados (V5F2, V10F1, V10F2, V12F1.2), devido aos seus índices de crescimento elevados contra ambos os patógenos, mostrando-se eficientes no controle. Outro aspecto considerado na escolha, foi a capacidade de esporulação dos isolados, evitando-se aqueles com esporulação demasiada porque isso inviabilizaria as análises subsequentes.

6.2 Caracterização do crescimento dos fungos endofíticos em três diferentes meios de cultura

A análise dos dados da Tabela 2 revela padrões distintos de crescimento dos fungos nos diferentes meios de cultura. No meio BDA, o fungo V5F2 apresentou um crescimento máximo, atingindo 100% da placa de Petri, enquanto os outros fungos mostraram um crescimento moderado. Isso sugere uma preferência específica do V5F2 pelo ambiente fornecido pelo BDA e SDA, possivelmente devido à composição do meio.

Tabela 2: Análise de crescimento médio dos fungos endofíticos nos três meios de cultura diferentes.

Isolados endofíticos	Crescimento (média aritmética) em BDA	Crescimento (média aritmética) em SDA	Crescimento (média aritmética) em Czapeck
V5F2	88,00	88,00	62,00
V10F1	63,05	88,00	88,00
V10F2	74,80	88,00	88,00
V12F1.2	68,33	65,83	88,00

O fungo com 88 mm é considerado como referência de 100%, e todas as outras medidas são calculadas com base nesse valor.

Por outro lado, no meio SDA, apenas o fungo V12F1.2 exibiu crescimento moderado, enquanto os demais alcançaram 100% de cobertura da placa. Essa variação na capacidade de crescimento entre os fungos pode ser atribuída às diferentes exigências nutricionais ou às adaptações específicas ao meio SDA.

Notavelmente, no meio Czapeck, todos os fungos alcançaram crescimento total, exceto o V5F2. Esse resultado sugere que o meio Czapeck pode ser mais favorável ao crescimento geral dos fungos testados, exceto para o V5F2, que parece preferir ou se adaptar melhor a outros meios.

Em suma, os resultados destacam a importância da seleção adequada do meio de cultura para o crescimento ótimo dos fungos, bem como a variabilidade intrínseca entre as adaptações de espécies e estirpes fúngicas em suas preferências de crescimento e ambientais.

6.3 Análise do crescimento dos fungos endofítico em condições de estresse salino

Os dados da Tabela 3 demonstram que, apesar da consideração do parâmetro de sete dias de incubação no meio BDA com diferentes concentrações de cloreto de sódio, os resultados foram observados em um período reduzido, pois com cinco dias de incubação alguns fungos já tinham alcançado o 100%. A análise revelou que, em uma concentração de 3% de cloreto de sódio, somente o fungo V10F2 alcançou um crescimento completo de 100%, enquanto os outros fungos exibiram um crescimento médio. Por outro lado, nas concentrações de 5%, 8% e 10% de cloreto de sódio, todos os fungos demonstraram um crescimento completo em toda a placa, com exceção do fungo V5F2.

Tabela 3: Análise de crescimento médio dos fungos em meio BDA com diferentes concentrações de cloreto de sódio.

Concentração de NaCl em BDA e crescimento dos fungos				
Isolados endofíticos	(média em mm)			
	3%	5%	8%	10%
V5F2	54,03	54,38	48,04	46,72
V10F1	65,86	88,00	88,00	88,00
V10F2	88,00	88,00	88,00	88,00
V12F1.2	52,69	88,00	88,00	88,00

O fungo com 88 mm é considerado como referência de 100%, e todas as outras medidas são calculadas com base nesse valor.

Esse resultado sugere que o fungo V10F2 possui uma maior tolerância ao estresse salino em comparação com os outros fungos avaliados. Isso pode estar relacionado à sua adaptação a ambientes com altas concentrações de sal ou a uma capacidade intrínseca de lidar com a toxicidade do cloreto de sódio. Por outro lado, o fungo V5F2 parece ser mais sensível ao aumento da concentração de cloreto de sódio, resultando em um crescimento comprometido em concentrações mais elevadas.

Essas descobertas destacam a importância de considerar a resposta dos fungos ao estresse salino em estudos relacionados à sua ecologia e potencial aplicação em ambientes adversos. Além disso, sugerem a necessidade de investigações adicionais para compreender os mecanismos subjacentes à tolerância diferencial ao sal entre os fungos estudados.

6.4 Verificação do crescimento dos fungos endofíticos em quatro diferentes temperaturas

Ao analisar os dados da Tabela 4 referentes ao estudo de tolerância ao estresse abiótico em relação a diferentes faixas de temperatura, observa-se variações significativas no crescimento dos isolados fúngicos após sete dias de incubação.

Tabela 4: Análise de crescimento médio dos fungos endofíticos em quatro temperaturas diferentes.

Isolados endofíticos	Temperatura de incubação e crescimento dos fungos (média em mm)			
	25°C	30°C	35°C	40°C
V5F2	61,08	88,00	40,21	8,80
V10F1	88,00	55,48	34,49	3,52
V10F2	88,00	65,82	7,92	7,92
V12F1.2	88,00	68,33	38,19	1,76

O fungo com 88 mm é considerado como referência de 100%, e todas as outras medidas são calculadas com base nesse valor.

Inicialmente, destaca-se que, na temperatura de 25°C, todos os isolados, exceto o fungo V5F2, demonstraram um crescimento completo de 100%, indicando uma boa adaptação à temperatura ambiente. No entanto, na temperatura de 30°C, o cenário mudou, com apenas o fungo V5F2 alcançando 100% de crescimento, enquanto os outros isolados exibiram um crescimento moderado. Isso sugere que o fungo V5F2 pode possuir uma maior capacidade de tolerância ao aumento de temperatura em comparação com os demais isolados.

Na temperatura de 35°C, destaca-se o comportamento do fungo V10F2, que apresentou um crescimento significativamente inferior em relação aos outros isolados, indicando uma sensibilidade específica a temperaturas mais elevadas. Por outro lado, os demais isolados mostraram um crescimento mediano, sugerindo uma tolerância relativa a essa temperatura.

Por fim, na temperatura de 40°C, nenhum dos isolados foi capaz de alcançar um crescimento satisfatório, o que indica uma incapacidade geral de adaptação a condições de temperatura extrema.

Esses resultados evidenciam a importância da temperatura na regulação do crescimento fúngico e destacam as diferentes respostas adaptativas dos isolados às variações térmicas. Além disso, sugerem a necessidade de investigações adicionais para compreender os mecanismos moleculares subjacentes à tolerância ou sensibilidade de cada indivíduo isolado às diferentes temperaturas.

6.5 Verificação do crescimento dos fungos endofíticos em três diferentes pHs

Ao analisarmos os dados da Tabela 5, referentes ao estudo de tolerância dos microrganismos em relação a diferentes faixas de pH, observamos variações distintas no crescimento dos isolados fúngicos após sete dias de incubação.

Tabela 5: Avaliação do crescimento médio dos fungos endofíticos em três níveis distintos de pH.

Isolados endofíticos	Faixas de pH e crescimento dos fungos (média em mm)		
	3	5	10
V5F2	39,10	79,67	79,45
V10F1	78,57	78,67	80,67
V10F2	80,67	80,67	79,80
V12F1.2	77,65	77,67	80,67

O fungo com 88 mm é considerado como referência de 100%, e todas as outras medidas são calculadas com base nesse valor.

É notável que, no pH 3, apenas o fungo V5F2 não demonstrou um crescimento adequado, enquanto os demais isolados exibiram um crescimento excelente. Especialmente digno de nota é o desempenho do fungo V10F2, que atingiu um crescimento total sob essas condições ácidas.

No pH 5, observou-se que somente o fungo V10F2 conseguiu alcançar 100% de crescimento, enquanto os outros isolados apresentaram um crescimento moderado. Isso sugere uma maior tolerância do fungo V10F2 às condições de pH ligeiramente ácidas em comparação com os demais isolados.

Por outro lado, no pH 10, os fungos V10F1 e V12F1.2 destacaram-se ao apresentarem crescimento máximo, enquanto os outros isolados demonstraram um crescimento mediano. Isso sugere uma adaptação específica desses dois isolados a ambientes alcalinos, indicando uma possível especialização em nichos ecológicos com pH elevado.

Esses resultados ressaltam a importância do pH ambiental na regulação do crescimento fúngico e evidenciam as diferentes capacidades de adaptação dos isolados às variações de acidez ou alcalinidade. Além disso, sugerem a existência de mecanismos bioquímicos distintos entre os isolados, que podem conferir vantagens competitivas em diferentes condições de pH no ambiente.

6.6 Caracterização micromorfológica dos fungos endofíticos e identificação

A identificação dos fungos foi realizada meticulosamente, com base em características morfológicas criteriosamente observadas, incluindo padrões de crescimento, estrutura das hifas, coloração e textura das colônias e substratos, entre outros aspectos relevantes. Esses dados foram confrontados com as descrições de fungos endofíticos previamente catalogados na literatura científica por Selim et al. (2012). Apesar dos esforços dedicados, apenas o fungo V10F2 foi categoricamente identificado como pertencente ao gênero *Rhizoctonia*, distinguindo-se por características específicas, tais como a presença de hifas

septadas com ângulo de 90° e uma frequência de ângulo de 45°, conforme ilustrado na Figura 5.

No entanto, os demais fungos não puderam ser identificados utilizando os métodos tradicionais de observação morfológica. Diante dessa limitação, torna-se imprescindível recorrer a ferramentas de taxonomia molecular para elucidar sua classificação taxonômica de forma mais precisa. A utilização dessas ferramentas permitirá uma análise minuciosa do DNA dos fungos em questão, possibilitando uma identificação mais acurada e confiável, mesmo para aqueles que não puderam ser diferenciados com base em características morfológicas.

Este resultado evidencia a importância da complementaridade entre abordagens morfológicas e moleculares na identificação de microrganismos, especialmente em casos onde a morfologia não é suficiente para distinguir entre espécies ou gêneros. A aplicação de técnicas moleculares oferece uma perspectiva mais abrangente e robusta, contribuindo significativamente para o entendimento da diversidade fúngica e sua importância em diversos ecossistemas.

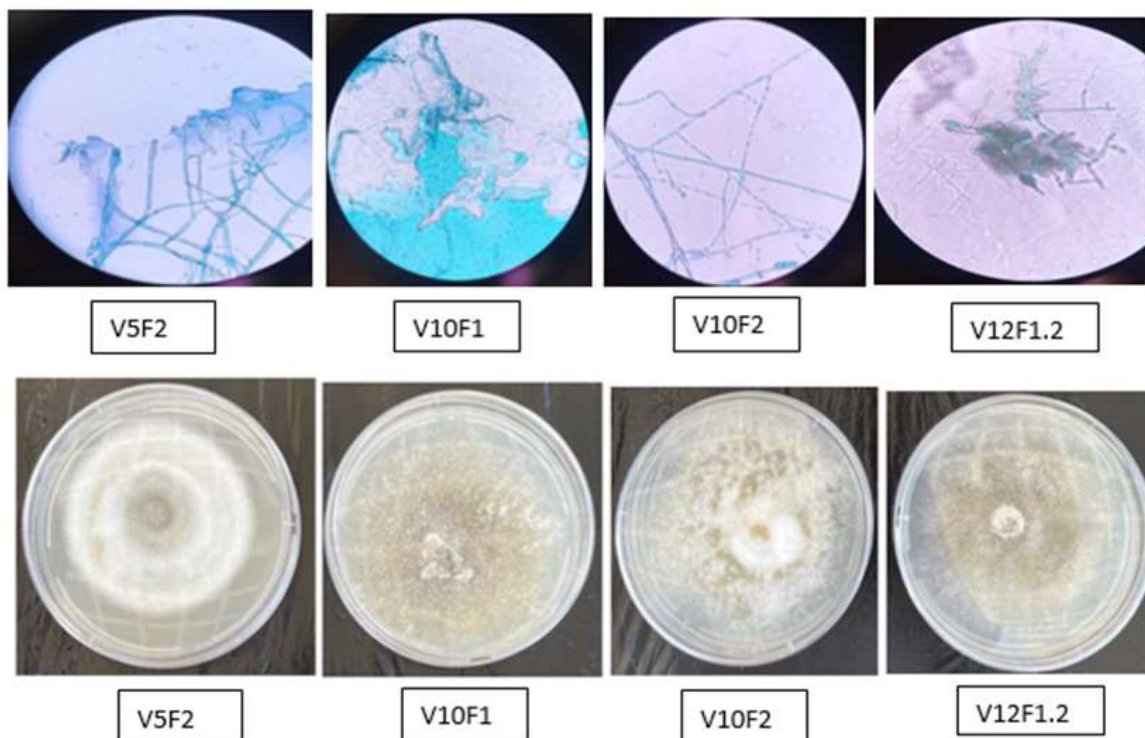


Figura 6: Caracterização dos fungos endofíticos micromorfológicamente

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo destacam a complexidade da interação entre fungos e seus ambientes, bem como a importância de uma abordagem multifacetada para compreender essas interações. A análise dos padrões de crescimento dos fungos em diferentes meios de cultura, condições de salinidade, temperatura e pH revela uma diversidade intrínseca nas respostas adaptativas dos microrganismos a fatores ambientais.

A identificação precisa dos fungos, particularmente evidenciada pela necessidade de recorrer a técnicas moleculares em conjunto com abordagens morfológicas, ressalta a complexidade da taxonomia fúngica e a importância de se manter atualizado com os avanços metodológicos na área.

Além disso, as variações na tolerância ao estresse salino, temperatura e pH entre os isolados fúngicos evidenciam adaptações específicas a diferentes condições ambientais. Ainda assim, recomendam-se avaliações em campo para comprovação de suas capacidades de crescimento.

8. REFERÊNCIAS

ALI, Abeer H. et al. Efeito do endófito fúngico *Thermomyces* isolado de planta adaptada ao deserto extremamente quente na tolerância ao estresse térmico do pepino. **Ecologia Aplicada do Solo** , v. 124, p. 155-162, 2018.

ALTIERI, M.A.; SILVA E.N., NICHOLLS, C.I. **O papel da biodiversidade no manejo de pragas**. Ribeirão Preto: Holos, 226p., 2003.

AZEVEDO, J. L. Endophytic fungi from Brazilian tropical hosts and their biotechnological applications. In: Kharwar RN, Upadhyay R, Dubey N, Raghuwansh R (eds) **microbial diversity and biotechnology in food security**, Springer, New Delhi, p. 17-22, 2014.

AZEVEDO, J.L; ARAÚJO, W. L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: GANGULI B. N; DESHMUKH, S.H. (Ed.). **Fungi: multifaceted microbes**. Boca Raton: CRC Press, chap.6, p. 189-207, 2007.

BAILEY, B. A. et al. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with **biological control** potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, v. 46, p. 24-35, 2008.

BALDWIN, B. C.; RATHMELL, W. G. Evolution of concepts for chemical control of plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 26, n. 1, p. 265-283, 1988.

BALTRUSCHAT, Helmut et al. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. **New Phytologist**, v. 180, n. 2, p. 501-510, 2008.

BARNETT, J.A.; PAYNE, R.W.; YARROW, D. **Yeasts, Characteristics and Identification**. 4^o edition, Cambridge University Press, Cambridge, 2000, 811p.

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

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.

BRAKHAGE, A. A. Regulation of fungal secondary metabolism. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 21-32, 2013.

BERNAL, Suzan Prado Fernandes. **Avaliação do potencial Biotecnológico de bactérias e fungos isolados de uma estação de tratamento de Indústria Têxtil**. 2020. Dissertação de Mestrado.

CAMPOS, Marcos Fontes et al. Isolamento, ensaios de germinabilidade de sementes e caracterização química preliminar de metabólitos secundários de *Preussia mínima*, fungo endofítico de *Vellozia nanuzae*, planta endêmica da Serra do Cipó-MG. 2017.

CANUTO, K.M. et al. Fungos mEndofíticos: Perspectiva de Descoberta e Aplicação de Compostos Bioativos na Agricultura. Embrapa, Documentos 154. 2012.

CARRAZZA, L.; FIGUEREDO, I. **Cerrado Que Te Vivo! – Produtos e Meios de Vida Sustentáveis Apoiados pelo Programa de Pequenos Projetos Ecosociais (PPPECOS)**. Brasília. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPEN). 2010. ISBN: 978-85-63288-00-4.

CARVALHO, D.D.C; MELLO, S.C.M; JÚNIOR, M.L. SILVA, M.C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp.phaseoli in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, 1, 028-034, 2011.

CARVALHO, N. L., BARCELLOS, Afonso Lopes. Adoção do manejo integrado de pragas baseado na percepção e educação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 5, n. 5, p. 749-766, 2012.

CASAS, Luana Lopes et al. *Colletotrichum siamense* como estratégia de controle biológico da antracnose em guaranazeiro. 2021.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 42, p. 225-226, 1939.

CECHINEL FILHO, Valdir; ZANCHETT, Camile Cecconi Cechinel. **Fitoterapia Avançada: uma abordagem química, biológica e nutricional**. Artmed Editora, 2020.

CHANDRA, M. Subhosh; VISWANATH, Buddolla; REDDY, B. Rajasekhar. Cellulolytic enzymes on lignocellulosic substrates in solid state fermentation by *Aspergillus niger*. *Indian Journal of Microbiology*, v. 47, p. 323-328, 2007.

COSTA, Mérida Layara Xavier; DA COSTA, Maria Dulcinéia. Biochemical and nutritional characterization of pequi (*Caryocar brasiliense*) for animal feeding: a review. 2023.

COUTINHO, L. M. 1978. O conceito de Cerrado. **Revista Brasileira de Botânica** v.1, p.17-23.

DA SILVA TEIXEIRA, Roberto; DA FONSECA, Valter Machado. A expansão da fronteira agrícola nos biomas brasileiros: O cerrado como laboratório para os pacotes tecnológicos da “revolução verde”. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 6416-6435, 2022.

DIANESE, J.C.; Medeiros, R.B.; Santos, L.T. 1997. Biodiversity of Microfungi Found on Native Plants of the Brazilian Cerrado. In: Hyde, K. D. **Biodiversity of Tropical Microfungi**. Hong Kong University Press. 367-417.

EITEN, G. The Cerrado vegetation of Brazil. **Botanical Review**, v.38, n.2, p.201-341, 1972.

EMBRAPA. Coleção de culturas de microrganismos multifuncionais da Embrapa clima temperado: métodos de preservação de culturas. Embrapa Temperate Agriculture, 2012. - Portal Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/948370/colecao-de-culturas-de-microrganismos-multifuncionais-da-embrapaclima-temperado-metodos-de-preservacao-de-culturas>. Acesso: 19 abr. 2024.

FERRAZ, Leila de Castro Louback; NASSER, Luiz Carlos Bhering; CAFÉ-FILHO, Adalberto Corrêa. Viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*

e incidência de fungos antagonistas em solo de Cerrado. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 208-210, 2011.

FLAUZINO, Camilla Aparecida de Oliveira. Avaliação do potencial nutricional e antioxidante de resíduos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) obtidos após extração do óleo. 2020.

FONTANA, Daniele Cristina et al. Endophytic fungi: Biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses. **Pathogens**, v. 10, n. 5, p. 570, 2021.

FRIAS, Vinícius Diniz et al. Efeito da concentração da soja e algodão na produtividade de culturas essencialmente dependentes da polinização animal no centro-oeste brasileiro. 2021.

GAO, F.; DAI, C.; LIU, X. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, n. 13, p. 1346–1351, 2010.

GONZAGA, L. L.; COSTA, L. E. O.; SANTOS, T. T.; ARAÚJO, E. F.; QUEIROZ, M. V. Endophytic fungi from the genus *Colletotrichum* are abundant in the *Phaseolus vulgaris* and have high genetic diversity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 118, n. 2, p. 485-496, 2014.

GUISELINI, Maria Catarina et al. Investigação de metabólitos de fungo endofítico isolado da planta medicinal *Porophyllum ruderale* Jacq. Cass (Asteraceae). 2023.

HARIDASAN, M. 2001. Solos. Pp: 12-17. In: Felfili, J. M.; Silva Júnior, M. C (orgs). **Biogeografia do bioma Cerrado: estudo fitofisionômico da Chapada do Espigão Mestre do São Francisco**. Brasília, Universidade de Brasília, Departamento de Engenharia Florestal.

HASSAN, Saad El-Din. Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L. **Journal of advanced research**, v. 8, n. 6, p. 687-695, 2017.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 1992. **Manual técnico da vegetação brasileira**. Rio de Janeiro, IBGE. 92p.

JALGAONWALA, Ruby Erach et al. Uma revisão: produtos naturais de fungos endofíticos associados a plantas. **J Microbiol Biotechnol Res** , v. 1, n. 2, pág. 21-32, 2011.

KAMEL, Noha M.; ABDEL-MOTAAL, Fatma F.; EL-ZAYAT, Soad A. Endophytic fungi from the medicinal herb *Euphorbia geniculata* as a potential source for bioactive metabolites. **Archives of microbiology**, v. 202, p. 247-255, 2020.

KELLER, Nancy P.; TURNER, Geoffrey; BENNETT, Joan W. Fungal secondary metabolism—from biochemistry to genomics. **Nature reviews microbiology**, v. 3, n. 12, p. 937-947, 2005.

KIRANMAYI, M. U. et al. Optimization of Culturing Conditions for Improved Production of Bioactive Metabolites by *Pseudonocardia* sp. VUK-10. **Mycobiology**, v. 39, n. 3, p. 174, 2011.

KOMÁREK, Michael et al. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. **Environment international**, v. 36, n. 1, p. 138-151, 2010.

KOSAWANG, C. et al. Fungal communities associated with species of *Fraxinus* tolerant to ash dieback, and their potential for biological control. **Fungal Biology**, v. 122, p. 110-120, 2018.

KUMAR, S. N. et al. Molecular characterization of forest soil based *Paenibacillus elgii* and optimization of various culture conditions for its improved antimicrobial activity. **Frontiers in microbiology**, v. 6, 2015.

KUSARI, Souvik; HERTWECK, Christian; SPITELLER, Michael. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. **Chemistry & biology**, v. 19, n. 7, p. 792-798, 2012.

LACAP, D. C., K. D. HYDE; E. C. Y. LIEW, 2003. An evaluation of the fungal 'morphotype' concept based on ribosomal DNA sequences. **Fungal Diversity** 12: 53-66.

LACAVA, P. T.; Sebastianes, F. L. S.; Azevedo, J. L. Fungos endofíticos: biodiversidade e aplicações biotecnológicas. . In: Esposito, E.; Azevedo, J. L. (eds.), **Fungos, uma introdução à biologia, química e biotecnologia, 2nd edn. Universidade Caxias do Sul, Rio Grande do Sul**, p. 533-569, 2010.

LI, G. Q. et al. Effectiveness of *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma atroviride* in suppression of sclerotinia blossom blight of alfalfa. **Plant Pathology**, v. 54, n. 2, p. 204-211, 2005.

LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food chemistry**, v. 93, n. 1, p. 47-56, 2005.

LÓCIO, Camila Joyce Ferreira de et al. Avaliação das atividades antibióticas e antiparasitária de metabólitos secundários de fungos endofíticos da *Anadenanthera macrocarpa*. 2019.

MACHADO, Débora Sally Peres. Avaliação da acurácia do sistema de monitoramento do desmatamento Prodes-Cerrado: estudo de caso do estado de Goiás. 2023.

MAIA, Vitor Rafael Oliveira et al. Fungos endofíticos como promotores de resistência a estresse hídrico e salino: o caso do *Piriformospora indica*. **Brazilian Applied Science Review**, v. 4, n. 2, p. 621-633, 2020.

MEJÍA LC, ROJAS EI, MAYNARD Z, BAEL SV, ARNOLD AE, HEBBAR P, SAMUELS GJ, ROBBINS N, HERRE EA. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control* 46: 4–14.

MEYER, Maurício Conrado et al. Ensaios cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012. 2014.

MIAO, L. I.; KWONG, T.; QIAN, P. Effect of culture conditions on mycelial growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus

Arthrinium cf saccharicola. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 72, n. 5, p. 1063-1073, 2006.

MICHEREFF FILHO, M. Manejo integrado de pragas em hortaliças. In: **Embrapa Hortaliças-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA HORTALIÇAS, 3., 2013, Brasília, DF. Anais... Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013., 2013.

MILANESI, Paola M. et al. Biocontrole de Fusarium spp. com Trichoderma spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 347-356, 2013.

MONTE, Enrique; BETTIOL, Wagner; HERMOSA, Rosa. Trichoderma e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. **Trichoderma: uso na agricultura. Brasília: Embrapa**, p. 181-199, 2019.

MÜLLER, Gabriela V.; LOVINO, Miguel A.; SGROI, Leandro C. Observed and projected changes in temperature and precipitation in the Core crop region of the humid pampa, Argentina. *Climate*, v. 9, n. 3, p. 40, 2021.

NUNES, Carolina Benevides Stefanoviciaus. Diversidade e patogenicidade de fungos endofíticos em cafeeiro, e sua interação com produtos fitossanitários, visando ao controle do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae)(Guérin-Méneville, 1842). 2021.

MURPHY, Brian R.; DOOHAN, Fiona M.; HODKINSON, Trevor R. From concept to commerce: developing a successful fungal endophyte inoculant for agricultural crops. *Journal of Fungi*, v. 4, n. 1, p. 24, 2018.

NAIK, Sachin et al. How and why do endophytes produce plant secondary metabolites?. **Symbiosis**, v. 78, p. 193-201, 2019.

NOBRE, Janaina da Costa Nogueira et al. Diversidade e identificação do potencial antagonista de fungos endofíticos cultiváveis de variedades de *Capsicum chinense* Jacquin. 2021.

OLIVEIRA-FILHO A. T. e RATTER J. A. (1995). A study of the origin the Central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. *Edinburgh Journal of Botany*, v.52, p.141-194, 1995.

OLIVEIRA JÚNIOR, Antônio Alves de. Fatores que influenciam no sucesso da alporquia em pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). 2022.

PALKOVÁ, Z.; Multicelular microorganism: laboratory versus nature. **EMBO Reports**, v.5, p.470-476, 2004.

PARRA, J. R. P. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole Ltda, 2021.

PASCHOALATI, S. F. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outro agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos**. Piracicaba, 1998. 123p. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PEIXOTO, Pedro Accioly Neto Sá; DE AZEVEDO, João Lúcio; CAETANO, Luiz Carlos. Microrganismos endofíticos em plantas: status atual e perspectivas. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas**, v. 3, n. 4, p. 69-72, 2004.

POTSHANGBAM, Momota et al. Functional characterization of endophytic fungal community associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 325, 2017.

PUNJA, Z. K.; UTKHEDE, R. S. Using fungi and yeasts to manage vegetable cropdiseases. **Trends in Biotechnology**, v.21, p.400-407, 2003.

RIDDELL, R.W. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. *Mycologia*, v. 42, p. 265–270, 1950.

RODRIGUES, G.S.; MAGALHÃES, D.M.A.; COSTA, A.M.; LUZ, E.D.M.N. Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacaueiro. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, p.72-78, 2018.

SAAD, M. M. G.; GHAREEB, R. Y.; SAEED, A. A. The potential of endophytic fungi as bio-control agents against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v 29, n. 7, p. 1-7, 2019.

SADEGHI, Fatemeh et al. Endófitos fúngicos aliviam o estresse oxidativo induzido pela seca na tangerina (*Citrus reticulata* L.): para regular o ciclo ascorbato-glutationa. *Scientia Horticulturae* , v. 108991, 2020.

SADRATI, Nouari et al. Screening of antimicrobial and antioxidant secondary metabolites from endophytic fungi isolated from wheat (*Triticum durum*). **Journal of plant protection research**, v. 53, n. 2, 2013.

SANTOS, L.S et al. A interação harmônica entre fungos e plantas: aspectos da relação endófito/hospedeiro. *SaBiosÇ Revista Saúde e Biologia*, v.8, n.1, p.92-101, 2013.

SARAIVA, R. M et al. Uso e perspectiva de *Clonostachys rosea* como agente de biocontrole. **Revista de Ciências Agrícolas**, v. 31, n. 1, p. 78-91, 2014.

SELIM, K. et al. Biology of Endophytic Fungi. **Current Research in Environmental & Applied Microbiology**, Cairo, v. 1, p. 31-82, 2012.

SILVA, Rejane Maria Ferreira da. Diversidade de fungos endofíticos em cucurbitáceas de interesse econômico em Pernambuco, Brasil. 2020.

SILVA, Lucas Guedes. Desenvolvimento de formulações de *Trichoderma* para uso na promoção de crescimento de plantas e controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. 2022.

SINGH, Rajnish P. et al. Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to “stress ethylene” produced in plants. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 937, 2015.

SMITH, William H. **Air pollution and forests: interactions between air contaminants and forest ecosystems**. Springer Science & Business Media, 2012.

TORRES, F. L.; LACAVALA, P. T.; SOUZA, C. P. Isolamento, caracterização e potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados à plantas do cerrado. **Universidade federal de São Carlos-UFSCar**. P.11-23. São Paulo, março de 2018.

TORRES, Flavia Luana et al. Bioprospecção e potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados a plantas do Cerrado. **Concilium**, v. 22, n. 2, p. 256-272, 2022.

VANDERMOLEN, K. M. et al. Evaluation of culture media for the production of secondary metabolites in a natural products screening program. **AMB Express**, v. 3, n. 1, p. 71, 2013.

WANG, Y. et al. Improvement of antibiotic activity of *Xenorhabdus bovienii* by medium optimization using response surface methodology. **Microbial cell factories**, v. 10, n. 98, p. 1-15, 2011.

YADAV, A.; YADAV, K. Exploring the potential of endophytes in agriculture: a minireview. *Adv PlantsAgric Res* 6: 102–106. 2017.

YUNG, Loïc et al. Natural fungal endophytes from *Noccaea caerulescens* mediate neutral to positive effects on plant biomass, mineral nutrition and Zn Phytoextraction. **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 689367, 2021.

ZANETTI, Cediane et al. Monitoramento de entomofauna em sistema agroflorestal sucessional em Curitiba, SC. 2021.

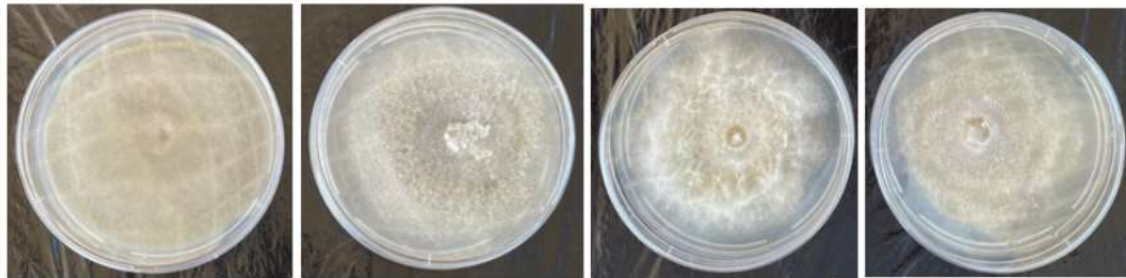
ZANIRATO, Sílvia Helena. O patrimônio mundial em território brasileiro: vulnerabilidades à conservação em um cenário de mudanças climáticas. **Percursos**, v. 22, n. 49, p. 95-123, 2021.

ZHANG, Hua Wei; SONG, Yong Chun; TAN, Ren Xiang. Biology and chemistry of endophytes. **Natural product reports**, v. 23, n. 5, p. 753-771, 2006.

ZHAO, J. et al. Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. **Curr Res, Technol Educ Trop Appl Microbiol Microbial Biotechnol**, v. 1, p. 567-576, 2010.

APÊNDICE I

Crescimento dos fungos endofíticos em três diferentes meios de cultura.

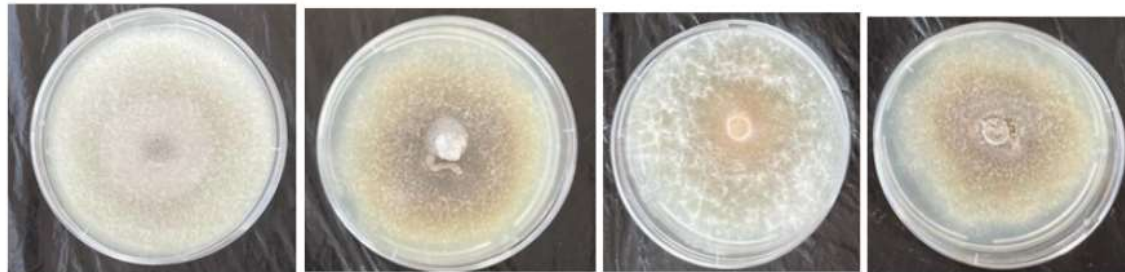


BDA V5F2

BDA V10F1

BDA V10F2

BDA V12F1.2



SDA V5F2

SDA V10F1

SDA V10F2

SDA V12F1.2



Czapek V5F2

Czapek V10F1

Czapek V10F2

Czapek V12F1.2

Crescimento dos fungos endofítico em condições de estresse salino.

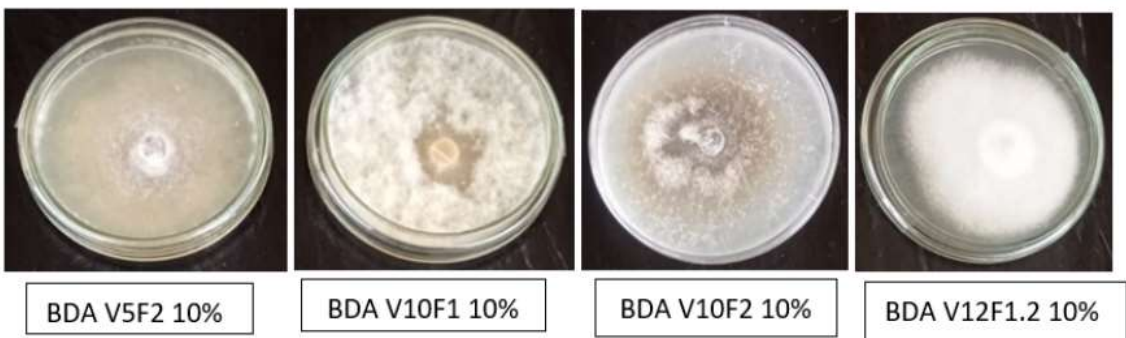
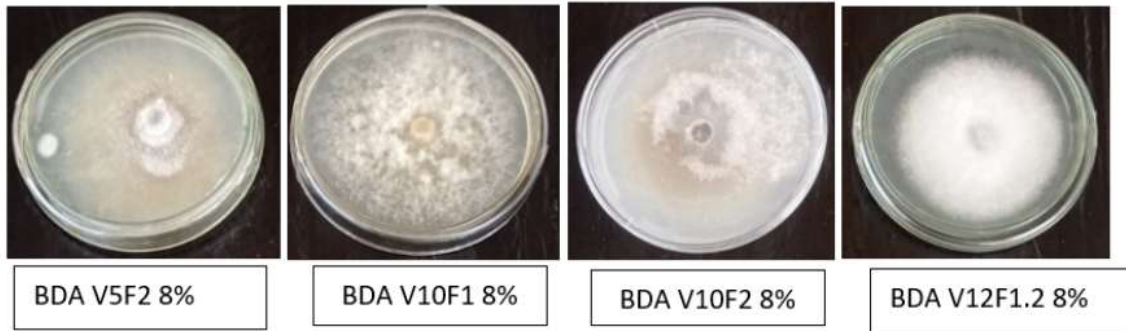
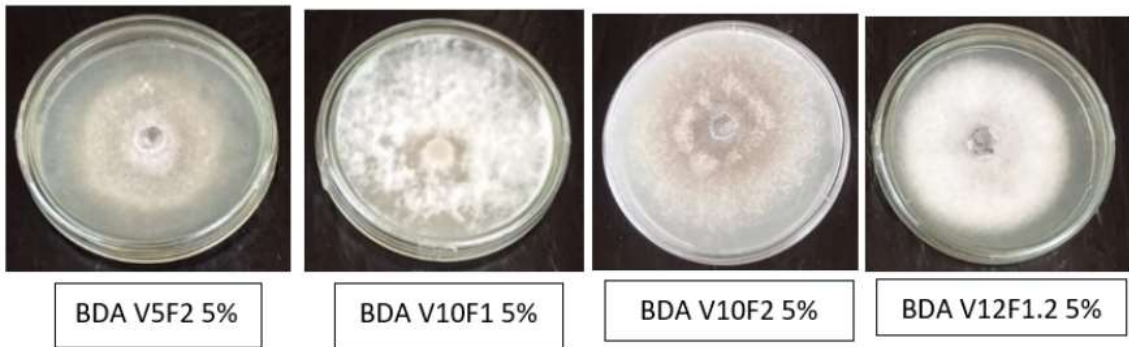


BDA V5F2 3%

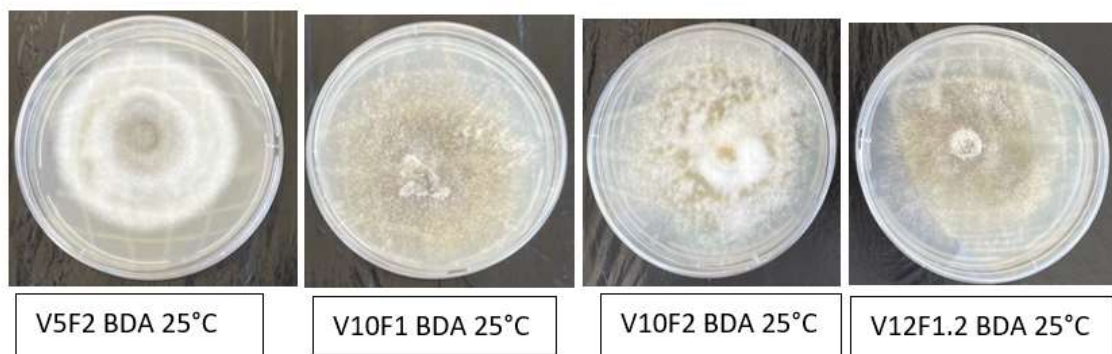
BDA V10F1 3%

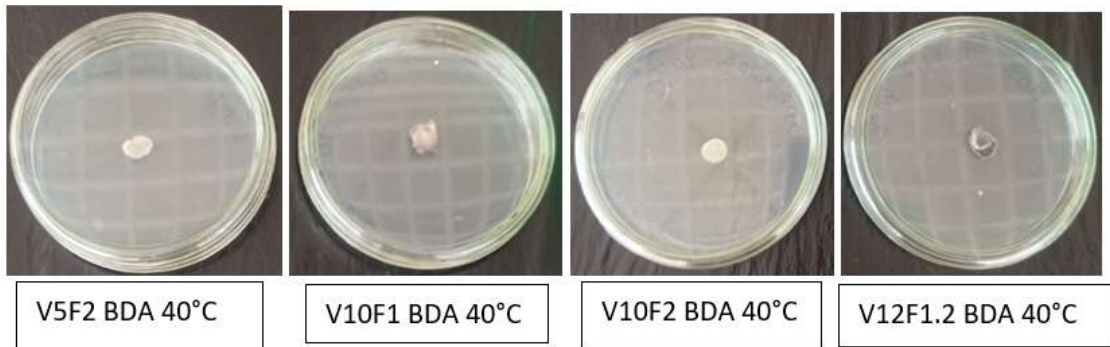
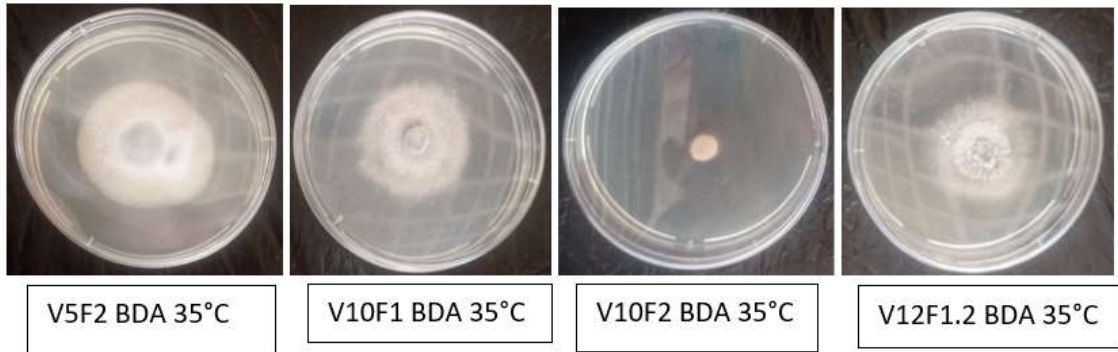
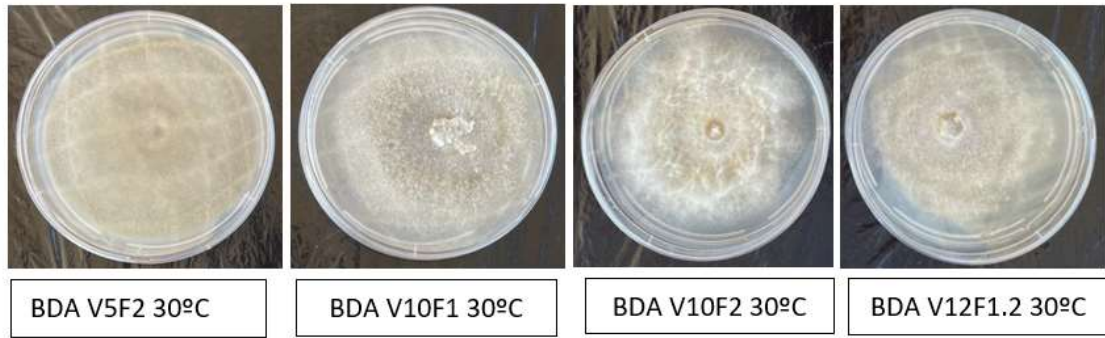
BDA V10F2 3%

BDA V12F1.2 3%

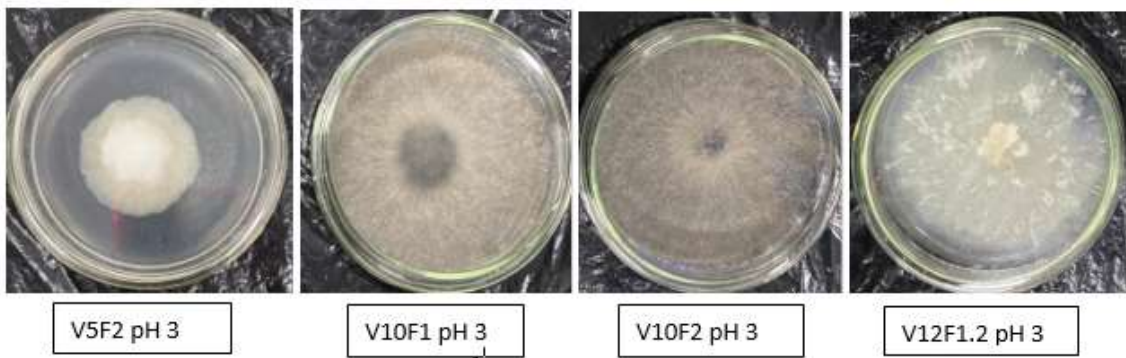


Crescimento dos fungos endofíticos em quatro diferentes temperaturas.





Crescimento dos fungos endofíticos em três diferentes pHs.





V5F2 pH 5



V10F1 pH 5



V10F2 pH 5



V12F1.2 pH 5



V5F2 pH 10



V10F1 pH 10



V10F2 pH 10



V12F1.2 pH 10