



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RAQUEL MIRANDA DOS SANTOS

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE
***Cochlospermum regium* E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS UTILIZANDO**
REDES MOLECULARES

Gurupi, TO

2025

Raquel Miranda dos Santos

**Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de *Cochlospermum regium* e
caracterização de compostos utilizando redes moleculares**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Dr^a. Vanessa Mara Chapla

Gurupi, TO

2025

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

M672a Miranda dos Santos, Raquel.

Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de *Cochlospermum regium* e caracterização de compostos utilizando redes moleculares. / Raquel Miranda dos Santos. – Gurupi, TO, 2025.

81 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Química, 2025.

Orientadora : Vanessa Mara Chapla

1. Biotecnologia. 2. Química dos produtos naturais. 3. Redes moleculares. 4. Metabólitos secundários. I. Título

CDD 540

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).

Raquel Miranda dos Santos

**Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de *Cochlospermum regium* e
caracterização de compostos utilizando redes moleculares**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química. Foi avaliado para a obtenção do título de Mestre em Química e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 16/05/2025

Banca Examinadora

Prof.º Dr.º Fernando Cotinguiba, UFRJ

Prof.ª Dr.ª Melissa Budke Rodrigues, UFT

Prof.ª Dr.ª Vanessa Mara Chapla, UFT

Sem a química, a vida como a conhecemos não existiria.

(Richard Feynman, 1959)

*Dedico este trabalho aos meus queridos
pais, João e Angela, aos meus irmãos
Michel e Vitorio, ao meu companheiro
Geyson, ao meu filho Benjamim e à
minha filha Laura, é por vocês que vou
à luta todos os dias.*

AGRADECIMENTOS

A palavra que me define é GRATIDÃO. Muitas vezes me pergunto: como uma menina do interior, filha de pais lavradores, sem grandes perspectivas de crescimento, conseguiu chegar até aqui? A resposta é simples, mas profunda: fé, determinação, confiança e a constante luta pelos meus sonhos. Essa menina sou eu. Sou imensamente grata a Deus por me sustentar durante toda essa jornada e por conceder a realização de um sonho que, embora tenha sido desafiador, foi conquistado com muita perseverança. E o sabor da vitória é simplesmente indescritível. Hoje, escrevo essas palavras com lágrimas nos olhos e o coração cheio de emoção, por ter conquistado esse momento, apesar de todas as dificuldades. Foram 8 horas de trabalho por dia, atuando em dois empregos, com uma criança de 2 anos em casa e outra a caminho. Em resumo, nada foi fácil para alcançar o que tenho hoje, e é por isso que, com um sorriso no rosto, posso dizer: eu

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Ângela Batista Miranda e João Lúcio dos Santos, que depositaram em mim todas as suas esperanças e expectativas. Vocês são a base de tudo. Aos meus irmãos, Michel Miranda e Vítório Miranda, meu reconhecimento por terem sido fundamentais em meu crescimento e desenvolvimento.

Minha gratidão especial vai para minha família: ao meu companheiro Geyson Luís e ao meu filho Benjamim, e a minha tão esperada, filha, Laura, que está a caminho ainda, mas que já faz parte desta trajetória que foram a minha maior motivação para ingressar no mestrado e agora concluí-lo. Tudo o que sou e faço é por vocês, meus filhos. Amo vocês. Agradeço também aos meus amigos, que, mesmo à distância, me incentivaram a completar esta etapa, em especial ao meu amigo Frank Bruno (*in memoriam*), que infelizmente já não está entre nós, mas sei que sempre torceu por mim. Sua presença foi essencial no início dessa trajetória, e levo comigo sua memória com carinho e

Expresso meu sincero agradecimento à minha orientadora, a professora Dr^a Vanessa Mara Chapla. Sua paciência e apoio foram imprescindíveis para o início e a conclusão deste mestrado. Obrigada por ser uma orientadora exemplar e por ser uma referência tanto como profissional quanto como pessoa.

Agradeço ao meu grupo de pesquisa de Produtos Naturais, em especial ao Me. Douglas Bessa e a graduanda Allice, do curso de Bioprocessos e Biotecnologia, por ter me auxiliado e me acompanhado durante toda essa trajetória de pesquisa. Você foi essencial para que essa pesquisa

Agradeço também à Universidade Federal do Tocantins (UFT), instituição que teve um papel essencial na minha formação profissional, pela dedicação e pelos aprendizados adquiridos

ao longo do curso. Por fim, deixo meu agradecimento ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFT, por me acolherem e por contribuírem para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional. Este programa transforma vidas e carreiras, e sou eternamente grata por fazer parte dele.

RESUMO

Diante da crescente demanda por alternativas sustentáveis no controle de fitopatógenos e microrganismos resistentes, os fungos endofíticos têm se destacado como fontes promissoras de compostos bioativos com potencial agrícola e biotecnológico. Neste contexto, esta dissertação teve como objetivo avaliar fungos endofíticos isolados da planta *Cochlospermum regium* e seus extratos brutos quanto à atividade antimicrobiana frente ao fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo branco) e a bactérias patogênicas, e atividade citotóxica, bem como caracterizar o perfil químico desses microrganismos por meio da construção de redes moleculares. Os isolados Cr-11 e Cr-12 se destacaram pelos elevados índices de inibição micelial de *S. sclerotiorum* em 85,25% e 78,10%, respectivamente, demonstrando potencial de biocontrole. A análise do perfil químico, realizada na plataforma GNPS2, resultou na anotação de 51 compostos, dos quais 15 apresentaram estruturas químicas sugeridas, enquanto os demais foram classificados nos níveis 4 e 5, evidenciando uma rica diversidade de metabólitos secundários. Os ensaios de citotoxicidade indicaram ausência de efeitos tóxicos em linhagens de células humanas, reforçando a segurança no uso dos microrganismos avaliados. Por outro lado, as frações testadas, nas concentrações de 20 mg/mL e 40 mg/mL, não apresentaram efeito inibitório frente às bactérias *Stenotrophomonas maltophilia* e *Escherichia coli*, o que ressalta a necessidade de estudos adicionais para aprofundar a compreensão sobre a atuação desses compostos frente a diferentes microrganismos. De modo geral, os resultados obtidos apontam os fungos endofíticos de *C. regium* como potenciais agentes no manejo de doenças agrícolas e como candidatos promissores para aplicações futuras em biotecnologia.

Palavras-chaves: Fungos Endofíticos. *Cochlospermum regium*. *Sclerotinia sclerotiorum*. Redes Moleculares.

ABSTRACT

Given the increasing demand for sustainable alternatives in the control of phytopathogens and resistant microorganisms, endophytic fungi have emerged as promising sources of bioactive compounds with agricultural and biotechnological potential. This dissertation aimed to evaluate endophytic fungi isolated from the plant *Cochlospermum regium* and their crude extracts for antimicrobial activity against the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (white mold) and pathogenic bacteria, and cytotoxic activity as well as to characterize their chemical profiles through molecular networking. Isolates Cr-11 and Cr-12 showed significant mycelial inhibition rates of *S. sclerotiorum*, at 85.25% and 78.10%, respectively, demonstrating biocontrol potential. Chemical profiling, performed on the GNPS2 platform, led to the annotation of 51 compounds, 15 of which had suggested chemical structures, while the remainder were classified at levels 4 and 5, indicating a rich diversity of secondary metabolites. Cytotoxicity assays showed no toxic effects on human cell lines, supporting the safety of the evaluated microorganisms. On the other hand, the tested fractions, at concentrations of 20 mg/mL and 40 mg/mL, did not exhibit inhibitory effects against *Stenotrophomonas maltophilia* and *Escherichia coli*, highlighting the need for further studies to better understand the activity of these compounds against different microorganisms. Overall, the results suggest that endophytic fungi from *C. regium* are potential agents for agricultural disease management and promising candidates for future biotechnological applications.

Key-words: Endophytic Fungi. *Cochlospermum regium*. *Sclerotinia sclerotiorum*. Molecular Networks.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Transmissão de fungos endofíticos em hospedeiros.....	26
Figura 2 – Estrutura química dos produtos naturais bioativos produzidos por fungos endofíticos.....	29
Figura 3 - Biomas do Brasil.Em rosa, área do Cerrado.....	31
Figura 4 - Planta adulta de <i>Cochlospermum regium</i> em diferentes estágios vegetativos: planta em floração, flores, folhas e xilopódio.....	33
Figura 5 – Locais de ocorrência de <i>Cochlospermum regium</i> , em verde são as espécies nativas.....	33
Figura 6 – Substâncias isoladas: tirosol (III), 4-hidroxibenzaldeído (IV), 2-fenilacetamida (V) e ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico (VI).....	35
Figura 7 – Substâncias isoladas: tirosol (VII) e p-hidroxifenilacetamida (VIII).....	36
Figura 8 - Folhas e mudas de feijoeiro infectadas com <i>Sclerotinia Sclerotiorum</i>	37
Figura 9 - Escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	37
Figura 10 – A. Confronto direto do <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com o endófito Cr-11.....	44
Figura 11 – Rede molecular das sub frações e do controle, editada pelo <i>Cytoscape</i>	47
Figura 12 - Diagrama de Venn representando a distribuição dos metabólitos anotados nas frações SFr1, SFr2, SFr3, SFr4 e Fr-80% do extrato bruto.....	53.
Figura 13 - Estrutura química dos compostos anotados.....	61
Figura 14 - Ensaio antibacteriano contra <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> e <i>Escherichia coli</i> ...66	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados do ensaio antagonista dos fungos endofíticos contra <i>Sclerotinia</i> <i>Sclerotiorum</i> obtido pelo programa SISVAR	43
Tabela 2. Massa das subfrações obtidas.....	46
Tabela 3. Metabólitos anotados das sub frações.....	49
Tabela 4. Resultados do ensaio de citotoxicidade das sub-frações.....	64
Tabela 5. Atividade antibacteriana qualitativa das frações obtidas do cultivo do fungo na concentração de 20 e 40 mg/mL.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de etila
BDA	Batata, Dextrose e Ágar
CAS	<i>Chemical Abstracts of American Chemical Society</i>
EMNPD	<i>Endophyte Microorganism Natural Product Database</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior
CDC	Centros de Controle e Prevenção de Doenças
CE ₅₀	Concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais de DPPH
CH ₂ O ₂	Ácido fórmico
CH ₃ CN	Acetonitrila
CH ₃ OH	Metanol
ChEBI	<i>Chemical Entities of Biological Interest</i>
CL	Cromatografia Líquida
CLAE	Cromatografia Líquida de alta eficiência
CNPEM	Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais
COCONUT	<i>Collection of Open Natural Products</i>
Cr	<i>Cochlospermum regium</i>
Cr11	<i>Cochlospermum regium</i> Cr-11
Dc	Diâmetro médio da colônia do patógeno
DMSO	Dimetilsulfóxido
Dr	Doutor
Dt	Diâmetro médio do patógeno em presença do antagonista endofítico
EC ₅₀	Concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo
FooDB	<i>Resource on food constituents</i>
Fr-80%	Fração de Metanol 80%
GNPS	<i>Global Natural Products Social Molecular Networking</i>
GNPS2	<i>Global Natural Products Social Molecular Networking 2</i>
H ₂ O	Água
HaCaT	Células queratinócitos humanos não tumorais
HCA	<i>Higt-Content Analysis</i>
HCT-116	Células epiteliais humanas de câncer de cólon
HTS	<i>High-Throughput Screening</i>

IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration 50%</i>
IPA	Ácido indol-3-propanoico
IS	Índice de Seletividade Inicial
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i>
IUCN	Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza
LGC/LNBio-CNPEN	Laboratório de Gestão de Compostos/ Laboratório Nacional de Biociências - Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais
MassIVE	<i>Mass Spectrometry Interactive Virtual Environment</i>
MCF-7	Carcinoma de Mama
MeOH 80%	Metanol 80%
MMA	Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima
MRSA	Meticilina
MS	<i>Mass Spectrum</i> - Espectrometria de massas
MS/MS	<i>Tandem Mass Spectrometry</i> - Espectrometria de massas em tandem
NAS	N-acetilserotonina
NLM	<i>National Library of Medicine</i>
NAtlas	<i>The Natural Products Atlas</i>
ND	Não determinado
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan Americana da Saúde
PI	Percentual de inibição
PPGQ	Programa de Pós-Graduação em Química
RT	<i>Retention Time</i>
SFr1	Sub-fração 1 (50% metanol e 50% água)
SFr2	Sub-fração 2 (75% metanol e 25% água)
SFr3	Sub-fração 3 (100% metanol)
SFr4	Sub-fração 4 (100% acetona)
SS	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
UFT	Universidade Federal do Tocantins
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> – Cromatografia Líquida de Ultra Performance
UPLC-MS/MS	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> – (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado à Espectrometria de Massas)

LISTA DE SÍMBOLOS

μL	Microlitro
$\mu\text{L}/\text{mL}$	Microlitro por mililitro
μm	Micrômetro
mm	Milímetro
mL	Mililitro
mg	Miligrama
g	Gramma
Hz	Hertz
v/v	Volume por volume
V	Volt
Bar	Pressão
min	Minuto
mM	milimolar
μM	micromolar
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
L/min	Litros por minuto
%	Porcentagem
Da	Dalton
L	Litro
xg	Unidades de gravidade
°C	Graus Celsius
pH	Potencial hidrogeniônico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivo geral.....	21
2.2	Objetivos específicos	21
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	22
3.1	Fungos.....	22
3.1.1	Fungos endofíticos	23
3.2	Compostos produzidos por fungos endofíticos com bioatividades antimicrobianas e antifúngicas.....	27
3.3	Redes moleculares e GNPS.....	29
3.4	Cerrado.....	30
3.4.1	Planta hospedeira <i>Cochlospermum regium</i>	32
3.5	Fitopatógeno <i>Sclerotinia Sclerotiorum</i>	36
4	METODOLOGIA.....	37
4.1	Cepas dos microrganismos	37
4.2	Cultivo dos microrganismos endofíticos	38
4.3	Ensaio Antagonista.....	38
4.4	Obtenção do extrato bruto da cultura do fungo endofítico	39
4.5	Fracionamento do extrato bruto	40
4.6	Análises Cromatográficas do extrato e frações.....	40
4.7	Análise de UPLC-MS/MS	40
4.8	Avaliação da citotoxicidade das frações.....	41
4.9	Construção de redes moleculares e anotação de compostos.....	41
4.10	Determinação da Atividade Antibacteriana	42
5	RESULTADOS E ANÁLISE.....	43
5.1	Avaliação do ensaio Antagonista.....	43
5.2	Construção das redes moleculares	46
5.3	Anotação de Compostos	49
5.4	Ensaio citotóxico	62
5.5	Ensaio antibacteriano	64
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66

REFERÊNCIAS.....68

1 INTRODUÇÃO

Os fungos endofíticos constituem microrganismos que residem internamente nas plantas, permeando o vegetal durante a totalidade ou parte de seu ciclo vital e estabelecendo uma relação simbiótica sem ocasionar danos aparentes (GUPTA *et al.*, 2020; MONTEL *et al.*, 2021). Essa simbiose proporciona aos fungos uma convivência harmoniosa com as plantas hospedeiras, geralmente de modo imperceptível, ao mesmo tempo em que cumprem funções essenciais na ecologia vegetal (FELIX, 2019a). Encontram-se distribuídos por distintos órgãos e tecidos das plantas, abrangendo folhas, ramos, caules e raízes, e configuram uma parte imprescindível da diversidade microbiana associada à flora terrestre (NOGUEIRA *et al.*, 2024). Estes organismos são tidos como componentes preponderantes da biodiversidade, sendo estimado que mais de um milhão de endófitos permeiam a natureza, com a maioria catalogada como Ascomycetos (RAJAMANIKYAM *et al.*, 2017; MONTEL *et al.*, 2021).

Os microrganismos endofíticos constituem fontes abundantes de bioativos naturais, englobando policetídeos, alcaloides, terpenos, peptídeos, esteroides, fenóis, quinonas e flavonoides. Esses compostos, assim como outros metabólitos secundários, emergem das interações metabólicas entre os fungos e as espécies vegetais que habitam (NOGUEIRA *et al.*, 2024). Tal diversidade bioquímica confere às espécies fúngicas endofíticas um potencial biotecnológico elevado, particularmente no desenvolvimento de antimicrobianos e em aplicações farmacêuticas, indústrias alimentícias e agrícolas (KUMAR *et al.*, 2020a; RANA *et al.*, 2019a; SINGH *et al.*, 2024a). Investigações enfatizam a importância desses fungos na descoberta de novos agentes terapêuticos, evidenciando sua relevância na luta contra patógenos resistentes e no fortalecimento da segurança alimentar (KAUL *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2023; GOMES & SANTOS, 2022).

Cochlospermum regium, Pilger (Cr) pertencente à família Bixaceae, conhecida popularmente como algodãozinho do cerrado ou algodãozinho do campo (MONTEL *et al.*, 2021), nativa do Brasil é encontrada majoritariamente no bioma Cerrado, segundo o Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima (MMA 2024), é o segundo maior bioma da América do Sul, ocupando 22% do Brasil. Predominante no Tocantins, destaca-se como a savana mais rica do mundo, com 11.627 espécies vegetais, muitas de uso medicinal e para recuperação de solos (ALVES; MORAIS, 2019; BRASIL, 2024; DE MELO; MARTINS, 2020; IBGE, 2019).

A *C. regium* é amplamente valorizada por suas propriedades terapêuticas, sendo utilizada no tratamento de variados tipos de inflamações e como regulador do ciclo menstrual. O estudo da diversidade de fungos endofíticos que habitam internamente a planta torna-se

premente, pois pode contribuir para a conservação da planta e para descobertas de novos compostos bioativos (CAMILLO *et al.*, 2018; SOLON, 2009; SANTOS *et al.*, 2021; OLIVEIRA & FREITAS, 2020).

O uso intensivo de fungicidas na agricultura pode exercer pressão seletiva sobre fungos ambientais, contribuindo para o surgimento de cepas resistentes que podem afetar a saúde humana. Estudos indicam que o uso amplo de fungicidas agrícolas pode selecionar isolados fúngicos resistentes, que podem ser inalados ou ingeridos por indivíduos, especialmente aqueles imunocomprometidos, levando a infecções difíceis de tratar (PERIÓDICOS SAÚDE SP, 2024).

Portanto, embora os antifúngicos sejam essenciais para a proteção das culturas agrícolas, é fundamental considerar estratégias de manejo que incluam o uso racional desses compostos e a integração de alternativas naturais, visando minimizar o desenvolvimento de resistência e promover uma agricultura mais sustentável (Secretaria Municipal de Agricultura, 2024).

Diante do impacto devastador nas lavouras, alternativas biológicas como o uso de agentes antifúngicos naturais provenientes de fungos endofíticos, tem ganhado destaque como abordagem promissora para mitigar a propagação e os danos causados por este patógeno (BANSAL *et al.*, 2023; SILVA *et al.*, 2023).

O mofo branco é uma das doenças mais devastadoras da agricultura mundial, sendo causado pelo fungo necrotrófico *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Com ampla distribuição geográfica e hospedeiros em mais de 400 espécies vegetais, incluindo cultivos economicamente importantes como soja, feijão, girassol e alface, essa fitopatologia representa um desafio significativo para a sanidade vegetal e a sustentabilidade da produção agrícola (ALEXANDER *et al.*, 2022).

O ciclo de vida do *S. sclerotiorum* é caracterizado pela produção de estruturas de resistência chamadas escleródios, que podem permanecer viáveis no solo por vários anos, mesmo na ausência do hospedeiro. Em condições favoráveis de alta umidade e temperaturas amenas (15 °C a 25 °C), os escleródios germinam formando apotécios, estruturas em forma de taça que liberam grande quantidade de esporos (ascósporos) no ambiente. A infecção geralmente se inicia a partir de restos culturais ou flores senescentes, penetrando no tecido vegetal e provocando podridões aquosas, seguido de crescimento micelial branco e formação de novos escleródios, visíveis nos tecidos afetados (MELO *et al.*, 2021).

Ademais, há uma miríade de endófitos que se destacam por produzir compostos bioativos, desempenhando um papel de suma importância no controle de doenças (RAI *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2022; SANTOS *et al.*, 2023a). Portanto, este trabalho se propõe em

avaliar os fungos endofíticos isolados da espécie medicinal *Cochlospermum regium*, investigando seu potencial antifúngico, no controle do mofo branco, e antibacteriano para utilização como antibiótico, além da avaliação do perfil químico e caracterização de compostos utilizando redes moleculares.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar fungos endofíticos, isolados da espécie vegetal *Cochlospermum regium*, contra o mofo branco e bactérias patogênicas, bem como realizar a avaliação do perfil químico utilizando redes moleculares.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade antagonista dos fungos endofíticos isolados de *Cochlospermum regium* contra o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* (SS);
- Obter extrato bruto do fungo endofítico que apresentar melhores resultados no ensaio antagonista;
- Realizar fracionamento cromatográfico do extrato ativo;
- Avaliar o perfil químico do extrato e frações por técnicas cromatográficas e redes moleculares;
- Avaliar as frações obtidas no ensaio citotóxico;
- Avaliar as frações obtidas nos ensaios antibacterianos;

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Fungos

Os fungos por possuírem uma alta importância biotecnológica estima-se uma representação de aproximadamente 120.000 espécies já conhecidas distribuídas em 19 filos (CARVALHO *et al.*, 2018a, WU *et al.*, 2019; ZHOU; MAY, 2023). Os fungos, organismos eucarióticos, desempenham papel imprescindível na decomposição da matéria orgânica. Ademais, possuem relevância nos âmbitos farmacológico (antibióticos), agrícola (controle biológico) e alimentício (fermentação) (HESHAM *et al.*, 2020; TORTORA; CASE; FUNKE, 2016). O Reino Fungi divide-se em nove Filos: *Opisthospordia*, *Chytridiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Blastocladiomycota*, *Zoopagomycota*, *Mucoromycota*, *Glomeromycota*, *Basidiomycota* e *Ascomycota* (LI *et al.*, 2021; NARANJO-ORTIZ; GABALDÓN, 2019).

Fungos produzem os metabólitos primários que são os compostos envolvidos nos processos de crescimento vegetativo fúngico, como armazenamento de energia e estrutural. Já os metabólitos secundários encontram-se envolvidos com a sobrevivência do organismo ao meio ambiente, ou seja, são responsáveis pela adaptação do fungo a estresses bióticos e abióticos (ANDRADE *et al.*, 2023a). A descoberta da penicilina por Alexander Fleming, em 1928, marcou um avanço crucial na medicina. Produzida por *Penicillium chrysogenum*, essa substância inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus*, tornando-se o primeiro antibiótico e salvando milhares de vidas na Segunda Guerra Mundial. Desde então, fungos e seus metabólitos secundários têm sido amplamente explorados pela indústria farmacêutica, resultando em compostos como a ciclosporina, um imunossupressor derivado de *Tolypocladium inflatum* (CHAPLA *et al.*, 2018; DURAND; RAOULT; DUBOURG, 2019).

Os fungos são conhecidos por atuarem como predadores, parasitas e patógenos para muitos microrganismos. Desempenham funções ecológicas, como reciclagem, transporte de nutrientes e decomposição de matéria orgânica, mas a sua função primordial é na ciclagem dos nutrientes (AL HUSNAIN *et al.*, 2023a; OMOMOWO *et al.*, 2023; AL-HARTHI *et al.*, 2023). Os fungos possuem papel na decomposição da madeira, mas também podem sobreviver como endófitos em tecidos vivos, como por exemplo na madeira, raízes, folhas e flores (MANICI *et al.*, 2023).

Fungos desempenham um papel essencial no controle biológico de pragas agrícolas,

oferecendo uma alternativa sustentável aos pesticidas químicos. Presentes em diversos ecossistemas, esses organismos reduzem populações de insetos em diferentes estágios de desenvolvimento, além de combaterem fungos e bactérias fitopatogênicos. Seu uso contribui para a preservação ambiental, minimizando os impactos negativos dos agroquímicos e promovendo um manejo integrado mais eficiente e ecológico das culturas (GRABKA *et al.*, 2022a).

O potencial dos fungos, um microorganismo eucariótico, isto é, aquele que possui uma membrana nuclear que envolve o núcleo, é bastante explorado pela humanidade desde a antiguidade, por possuírem uma vasta importância tanto no campo econômico, como no campo ecológico. Sua morfologia varia bastante pois podem apresentar forma unicelular (levedura) e/ou pluricelular (filamentosas). Alguns autores relatam que apesar da sua grande diversidade fúngica, existem muitas espécies que sequer foram estudadas. Estima-se que menos de 5% da real diversidade já foram estudadas desse grupo (ANDRADE *et al.*, 2023a).

O declínio acelerado das espécies fúngicas em risco de extinção tem se intensificado nos últimos anos, representando uma preocupação crescente para a conservação da biodiversidade. A Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) é a principal referência sobre espécies ameaçadas, abrangendo plantas e fungos. No entanto, a representatividade fúngica nessa classificação ainda é limitada, evidenciando a necessidade de maior atenção científica.

As principais ameaças às espécies fúngicas incluem mudanças climáticas e desmatamento, fatores que alteram drasticamente seus habitats naturais e comprometem sua sobrevivência. Diante de sua importância ecológica e aplicações em setores como saúde, agricultura e indústria, torna-se fundamental a implementação de estratégias de preservação para evitar a perda irreversível da biodiversidade essencial (MUELLER *et al.*, 2022; NIC LUGHADHA *et al.*, 2020).

3.1.1 Fungos endofíticos

Em 1809, surgiu a palavra endófito, que tem por significado os microorganismos que passam todo ou um estágio de seu ciclo de vida dentro do tecido vegetal da planta, termo qual o botânico alemão Johann Heinrich Friedrich Link os descreveu nas suas pesquisas (SODHI; SAXENA, 2023; OMOMOWO *et al.*, 2023). Estes microorganismos vem se destacando pela produção de metabólitos bioativos, pela sua biodiversidade tão rica e fonte genética para a biotecnologia (ANDRADE *et al.*, 2023b). Esses microorganismos endofíticos propiciam algo

que é benéfico para a plantas, no caso, sintetizam compostos bioativos dentro da planta hospedeira, onde o mesmo é considerado inofensivo. Com isso houve um aumento de estudos e pesquisas sobre a relação planta- microrganismo (OMOMOWO *et al.*, 2023).

Os endofíticos, também conhecidos como endófitos, ocorrem de forma natural no tecido vegetal (PEREIRA DOS SANTOS *et al.*, 2022; DAVIS; WEATHERHEAD; KOIDE, 2023), são um grupo mutualístico de organismos que invadem os tecidos internos das plantas sem ocasionar nenhum dano notável ou qualquer doença aparente nas plantas hospedeiras (DAVIS; WEATHERHEAD; KOIDE, 2023). Produzem metabólitos secundários bioativos que fornecem a planta hospedeira um mecanismo próprio de defesa contra fitopatógenos, ou seja, os fungos endofíticos são estudados exatamente por possuírem a capacidade de proteger as plantas contra pragas ou doenças que possam aparecer (AL HUSNAIN *et al.*, 2023b). A interação simbiótica entre microrganismos endofíticos e suas plantas hospedeiras resulta na formação de produtos naturais que desempenham um papel crucial no desenvolvimento e na sobrevivência das plantas com a vantagem de uma competição reduzida com outros microrganismos. Esses produtos incluem compostos que aumentam a resistência das plantas a fitopatógenos e insetos, além de atuarem como fitorreguladores, promovendo o crescimento saudável e a adaptação a condições ambientais adversas, ou seja, essa relação mútua beneficia tanto o fungo, que obtém recursos da planta, quanto a planta, que ganha proteção e potencial para melhor adaptação e defesa contra estressores bióticos e abióticos (KOUR *et al.*, 2023; RANA *et al.*, 2019b; TIWARI; BAE, 2022).

Há, aproximadamente 400 milhões de anos, registros relacionados à veracidade desses microrganismos endofíticos em quase todas as espécies de plantas (RAJENDRAN *et al.*, 2023). Podendo as mesmas serem de origem terrestre ou aquática, com um quantitativo aproximado em torno de 120.000 diferentes espécies, seja no caule, na folha, na semente e nas flores, seja no ecossistema silvestre até o agrícola (MOHAMED *et al.*, 2023).

Estudos apontam que os metabólitos secundários de fungos endofíticos pertencem a várias classes, sendo classificados por seus grupos funcionais como flavonoides, alcaloides, esteroides, polifenóis, ácidos fenólicos, benzopirranonas, quininas, taninos, xantonas, terpenoides e muitos outros (SODHI; SAXENA, 2023).

Esses produtos apresentam variedade de atividades biológicas que favorecem as plantas, tais quais, antimicrobiana, antioxidante, antiparasitária, além disso, podem favorecer a planta em relação a tolerância a estresses, como variação de pH, mudanças climáticas e presença de compostos tóxicos (ALAM *et al.*, 2021; RANA *et al.*, 2019b; SPORMANN, 2023). O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos é uma prática milenar, e o estudo de

microrganismos endofíticos associados a essas plantas têm se intensificado devido à sua capacidade de sintetizar compostos bioativos com atividade farmacológica. Esses fungos podem produzir substâncias de interesse terapêutico, como o taxol, originalmente obtido da *Taxus baccata*, mas também sintetizado por seu endófito *Alternaria alternata* (ADELEKE; BABALOLA, 2021; SINGH *et al.*, 2024b).

Além do setor farmacêutico, os fungos endofíticos apresentam grande potencial na agricultura sustentável. Eles promovem o crescimento vegetal, aumentam a resistência a estresses ambientais e atuam no controle biológico de fitopatógenos, insetos e pragas. Seus metabólitos secundários podem substituir defensivos químicos, tornando a agroindústria mais sustentável e economicamente viável (GRABKA *et al.*, 2022c; LATZ *et al.*, 2018; RANA *et al.*, 2019b; RIBEIRO *et al.*, 2021; SINGH *et al.*, 2024b).

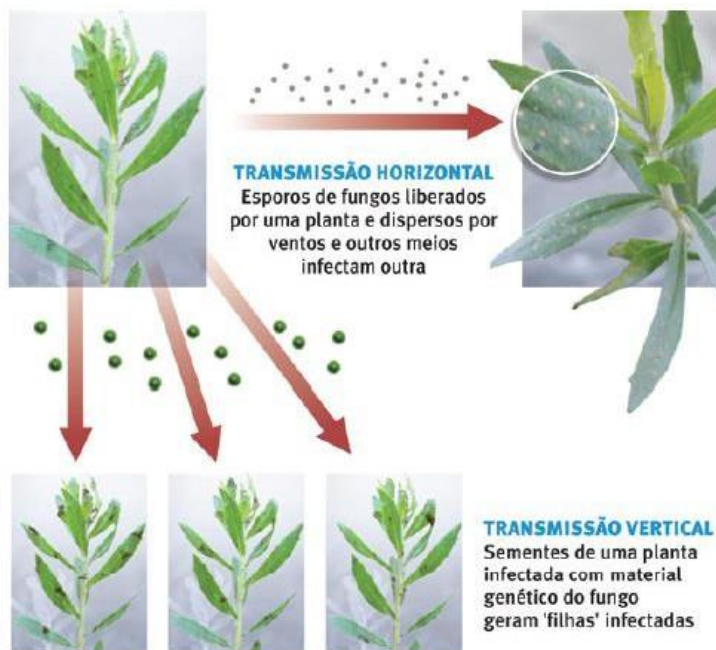
Grande parte das mudanças nos perfis de metabólitos de fungos endofíticos podem ser parcialmente devidas à diferença entre os nutrientes nos tecidos vegetais e nos meios de cultura de laboratório. Existem diversos fatores que prejudicam a eficácia e a viabilidade desses fungos endofíticos, sendo estes: o tipo e o meio de cultivo, densidade do inóculo e o método de inoculação. Isso apresenta características por serem consideradas bastante sensíveis aos meios de cultura para assim produzirem os metabólitos secundários e a mudança do meio de cultura pode levar a mudanças nos perfis dos metabólitos. Há estudos anteriores, que relatam que dependendo do meio de cultura que utilizava, afetava intrinsecamente quais os tipos de metabólitos secundários que alguns fungos endofíticos produziam (SODHI; SAXENA, 2023).

Os endófitos possuem enormes vantagens benéficas para o seu hospedeiro, dentre elas, existem duas prioritárias, como a prevenção de diversos tipos de doença e podem atuar como agentes de biocontrole, protegendo as plantas de muitas flutuações ambientais (AL HUSNAIN *et al.*, 2023). Como exemplo de aplicação como biocontrole, estudos com o fungo endofítico *Aspergillus capensis*, resultaram no isolamento e identificação do metabólito antifúngico *rosellichalasin*. Que teve um percentual de inibição bastante considerado frente aos fungos fitopatogênicos *Botrytis cinerea*, *Monilinia ructicola*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. trifoliorum*. E dentre deles, o fungo considerado mais sensível foi a espécie *S. sclerotiorum* (XU *et al.*, 2021).

Os fungos endofíticos podem ser transmitidos por dois mecanismos distintos: tanto horizontalmente (entre indivíduos) (SODHI; SAXENA, 2023), como verticalmente (de plantas para descendentes) (GRABKA *et al.*, 2022b). A transmissão horizontal ocorre quando o fungo penetra no hospedeiro por meio de estômatos, raízes ou lesões em diferentes partes da planta. Já a transmissão vertical ocorre através das sementes, garantindo a permanência do fungo nas

gerações subsequentes da planta (ALY *et al.*, 2011) (Figura 1).

Figura 1 - Transmissão de fungos endofíticos em hospedeiros.



Fonte: FÉLIX 2019b.

Os fungos endofíticos pertencem predominantemente aos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* (YU *et al.*, 2010) e são classificados em quatro classes, conforme o hospedeiro colonizado, modo de colonização, tipo de transmissão e função ecológica (RODRIGUEZ *et al.*, 2009; FÉLIX, 2019b).

A Classe 1 inclui os fungos endofíticos *Clavicipitaceus*, específicos de gramíneas, com transmissão vertical e horizontal. Esses fungos produzem alcaloides com atividade inseticida, conferindo resistência à herbivoria e reduzindo o ataque de herbívoros a gramíneas de interesse econômico (FAETH & SAARI, 2012; FÉLIX, 2019b).

Na Classe 2, a maioria dos fungos pertence ao filo *Ascomycota*, com algumas espécies do filo *Basidiomycota*. Esses organismos colonizam diversos órgãos e tecidos do hospedeiro, sendo transmitidos por sementes e rizomas. Além disso, proporcionam resistência a estresses ambientais, como variações de pH, temperatura e salinidade (FERNANDES, 2015; FÉLIX, 2019b). Os fungos da Classe 3 apresentam transmissão exclusivamente horizontal, ocorrendo principalmente em tecidos aéreos. São encontrados em árvores tropicais, coníferas e plantas não vasculares (FERNANDES, 2015; FÉLIX, 2019b).

Por fim, os fungos da Classe 4 também possuem transmissão horizontal e são caracterizados pela coloração escura. Estão associados a raízes e, muitas vezes, apresentam

especificidade de hospedeiro (FERNANDES, 2015; FÉLIX, 2019b). Os gêneros dominantes entre os fungos endofíticos isolados são *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Piriformospora* (RANA *et al.*, 2019b; FÉLIX, 2019b; SINGH *et al.*, 2024a; TIWARI; BAE, 2022).

3.2 Compostos produzidos por fungos endofíticos com bioatividades antimicrobianas e antifúngicas

Os fungos produzem compostos bioativos com diversas aplicações farmacêuticas, alimentícias e agrícolas, destacando-se por suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e antitumorais. Em virtude da inter-relação mutualística entre os fungos endofíticos e seus hospedeiros vegetais, tais microrganismos configuram-se como um arcabouço prolífico de metabólitos secundários, contabilizando aproximadamente 20 mil substâncias já elucidadas (ALAM *et al.*, 2021; RANA *et al.*, 2019a; SINGH *et al.*, 2024b; TIWARI; BAE, 2022). A fim de investigar as propriedades bioativas de microrganismos endofíticos, diversas pesquisas têm sido conduzidas com o objetivo de identificar novos metabólitos secundários de interesse biotecnológico. Os achados científicos até o momento demonstram resultados promissores, reforçando o potencial desses microrganismos na produção de compostos bioativos com aplicabilidades diversas (PAMPHILE *et al.*, 2014; FÉLIX, 2019b).

Estudos científicos têm se dedicado à identificação e caracterização de compostos bioativos com potencial antimicrobiano e antifúngico. A interação simbiótica entre fungos endofíticos e plantas hospedeiras é evidenciada pela produção de metabólitos secundários com funções protetoras e adaptativas. Um exemplo notável envolve fungos produtores de brefeldina A (I) (Figura 2), um macrolídeo bioativo sintetizado por *Aspergillus clavatus* e *Paecilomyces* sp., isolados das espécies vegetais *Taxus mairei* e *Torreya grandis*, respectivamente. Essa substância desempenha um papel essencial na defesa da planta contra infecções bacterianas, herbivoria e predação por insetos e animais. No entanto, sua ação sobre o sistema secretor vegetal também influencia a absorção de nutrientes pela planta hospedeira, demonstrando a complexidade das interações entre fungos e vegetais (GUNATILAKA, 2006).

Além da proteção contra agentes patogênicos, fungos endofíticos podem conferir resistência a condições ambientais extremas. O endófito *Curvularia* sp. demonstrou ser um elemento crucial na adaptação térmica da gramínea *Dichanthelium lanuginosum*. Essa tolerância ao estresse térmico é atribuída à biossíntese de melanina, um pigmento com propriedades antioxidantes, capaz de dissipar o calor excessivo ou neutralizar radicais livres gerados em resposta a altas temperaturas. Esse mecanismo de proteção evidencia a relevância

dos fungos endofíticos na promoção da resiliência vegetal frente a desafios ambientais (REDMAN *et al.*, 2002).

Além disso, Li *et al.* (2012) obtiveram 16 compostos com atividade antifúngica a partir de uma cepa de *Aspergillus fumigatus*, isolada da casca do caule de *Melia azedarach*. Esses metabólitos exibiram ação eficaz contra patógenos agrícolas de grande relevância, incluindo *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* e *Gibberella saubinetii*. Quatro dessas substâncias apresentaram desempenho comparável aos fungicidas comerciais carbendazim e himexazol, evidenciando o potencial de aplicação biotecnológica desses compostos no manejo de doenças fúngicas na agricultura. Adicionalmente, foram identificadas fumitremorgina e verruculogeno, substâncias que, além de suas propriedades antifúngicas, atuam como inibidores do apetite de larvas de *Mythimna separata*, uma praga de relevância econômica para diversas culturas (FÉLIX, 2019a).

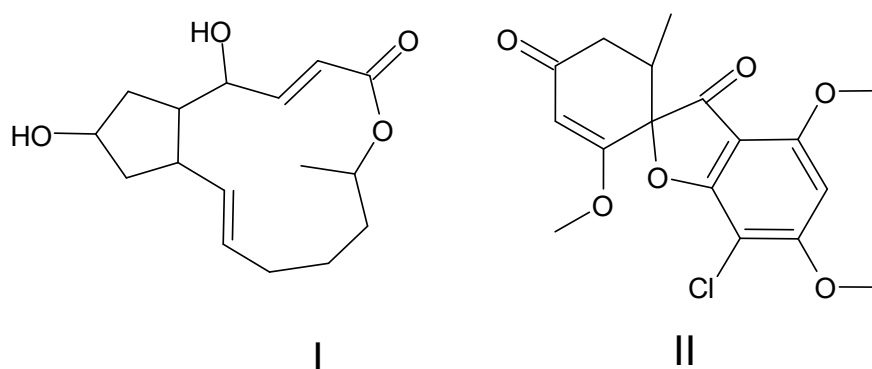
Por sua vez, Zhao *et al.* (2012) investigaram o fungo endofítico *Nigrospora* sp., isolado das raízes de *Moringa oleífera*, e identificaram a produção do metabólito griseofulvina (II) (Figura 2), um composto com conhecida ação antifúngica. Os ensaios biológicos demonstraram que essa substância apresentou forte atividade antagonista contra importantes fitopatógenos, incluindo *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum orbiculare*, *F. oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* e *S. sclerotium*, sugerindo sua aplicabilidade na formulação de defensivos naturais para o controle de doenças fúngicas em plantas cultivadas (FÉLIX, 2019a).

O urucum (*Bixa orellana* L.), planta nativa da América do Sul e pertencente à família Bixaceae, destaca-se não apenas pela produção do corante natural bixin, utilizado nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, mas também pelo seu potencial biotecnológico em associação com fungos endofíticos. Esses microrganismos, que vivem no interior dos tecidos vegetais sem causar danos aparentes, têm sido alvo de estudos por produzirem metabólitos bioativos com propriedades antimicrobianas, antioxidantes e enzimáticas. Em pesquisa publicada no *Journal of Fungi*, o fungo *Fusarium verticillioides*, isolado das folhas de urucum, demonstrou a capacidade de sintetizar pigmentos lactônicos com alta atividade antioxidante, sobretudo quando cultivado sob condições específicas de temperatura (33 °C), pH (6,5) e ausência de luz (PANDI *et al.*, 2021). Outro estudo revelou a presença de fungos como *Schizophyllum commune* e *Fusarium incarnatum*, também endófitos das folhas de B. orellana, com significativa atividade antibacteriana contra cepas patogênicas (PATEL *et al.*, 2022). Além disso, investigações mostraram que esses fungos apresentam atividades amilolíticas e celulolíticas relevantes, sugerindo seu uso potencial na produção de enzimas industriais (KUMARI *et al.*, 2021). A interação entre o urucum e sua microbiota endofítica amplia o valor

científico da planta, revelando novas possibilidades para o desenvolvimento de compostos bioativos e tecnologias sustentáveis.

Esses achados reforçam a relevância dos fungos endofíticos como fontes promissoras de compostos bioativos com potencial para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis na proteção de culturas agrícolas, reduzindo a dependência de agroquímicos sintéticos e promovendo práticas mais ecológicas no manejo de fitopatógenos e pragas.

Figura 2 – Estrutura química dos produtos naturais bioativos produzidos por fungos endofíticos



Legenda: I) Brefeldina A. II) Griseofulvina

Fonte: Autor, 2025.

3.3 Redes moleculares e GNPS

A caracterização de metabólitos secundários provenientes de microrganismos endofíticos requer a aplicação de metodologias analíticas avançadas, sendo a espectrometria de massas uma das técnicas mais empregadas para essa finalidade. Essa abordagem permite a identificação estrutural e a elucidação química de compostos bioativos com alta precisão e sensibilidade (COSTA, 2023).

Atualmente, a utilização de plataformas digitais e softwares especializados tem revolucionado a análise de dados espectrométricos, viabilizando a identificação e descoberta de novos metabólitos secundários. Ferramentas computacionais possibilitam a construção de redes moleculares, facilitando a correlação entre compostos de interesse e promovendo uma análise mais eficiente por meio da comparação com bibliotecas espectrais previamente estabelecidas (COSTA, 2023).

Nesse contexto, destaca-se a *Global Natural Products Social Molecular Networking*

(GNPS), uma plataforma colaborativa de acesso aberto baseada na web, desenvolvida com o intuito de otimizar a análise de dados espectrométricos. Conforme descrito por Wang (2022), essa infraestrutura funciona como um ecossistema global para espectrometria de massas, permitindo o compartilhamento e a comparação de dados de *espectrometria de massas tandem* (MS/MS) em tempo real. Por meio dessa rede, pesquisadores podem acessar, organizar e interpretar informações de compostos naturais de maneira integrada, promovendo o avanço no estudo de metabólitos bioativos e sua aplicação em diversas áreas, como biotecnologia, farmacologia e agricultura (COSTA, 2023).

O conceito de redes moleculares é amplamente aplicado na análise de dados complexos, desempenhando um papel essencial em diversas áreas interdisciplinares. Segundo Wang (2022), essas redes consistem na representação gráfica do espaço químico, sendo geradas a partir de espectros de massas e organizadas em agrupamentos de moléculas estruturalmente semelhantes, os quais são denominados famílias moleculares.

A plataforma *Global Natural Products Social Molecular Networking* (GNPS) se destaca nesse contexto ao processar conjuntos de dados provenientes da espectrometria de massas, analisando íons fragmentados para a construção das redes moleculares. Dentro desse sistema, os espectros gerados são representados por nós ou nodos, os quais estabelecem conexões com base no grau de similaridade espectral.

Para a categorização dos espectros obtidos, a plataforma GNPS aplica algoritmos de análise de similaridade, comparando os espectros amostrais com aqueles previamente armazenados em bibliotecas espectrais de referência. Esse processo é realizado por meio da avaliação do valor do cosseno, que quantifica a correlação entre os espectros analisados. Além disso, mesmo que determinados espectros não apresentem correspondência exata com compostos conhecidos, a ferramenta é capaz de detectar estruturas químicas análogas, permitindo inferências sobre a composição e possíveis propriedades das moléculas identificadas (PILON *et al.*, 2021; WANG, 2022; WANG *et al.*, 2016).

A implementação de sistemas como o GNPS representa um avanço significativo na pesquisa de produtos naturais, ampliando as possibilidades de descoberta de novos compostos com potencial terapêutico e agroindustrial, além de contribuir para a padronização e democratização do acesso a dados espectrométricos em nível global.

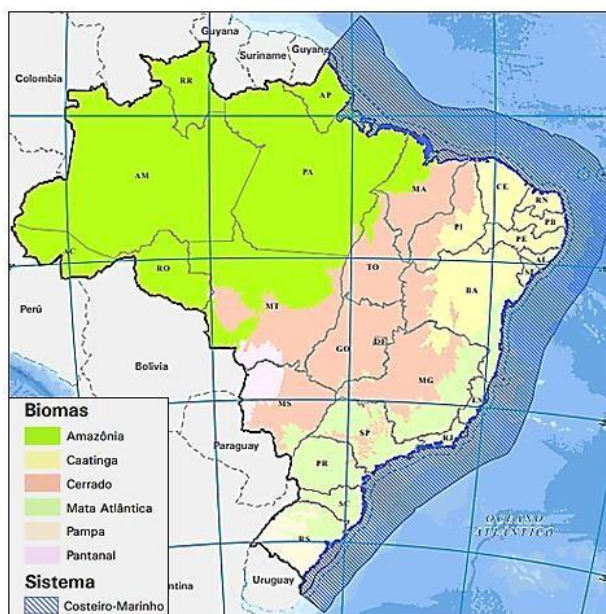
3.4 Cerrado

O Cerrado, por sua única e diferenciada é uma biodiversidade rica, tanto da fauna, como

da flora (DOS SANTOS *et al.*, 2020), é característico desse bioma grande diversidade de espécies justamente pela heterogeneidade de ambientes e suas áreas de transição serem com ambientes da Amazônia ou a Mata Atlântica (MARTELLI; ARIADNE FABIANA RODRIGUES ALVARENGA; SAMUDIO, 2023).

O Cerrado Brasileiro é considerado o segundo maior Bioma do Brasil, como apresentado na figura 3 destacado no mapa com a cor rosa, ocupando cerca de um quarto do território brasileiro, caracterizado por suas árvores de pequeno porte, as gramíneas (BRASIL *et al.*, 2022). Com a sua descoberta em meados do século XIX na realização de expedições por cientistas e pesquisadores europeus da época, que acreditavam de forma simultânea que a sua origem se dava pelas características bem específicas do clima, como chuvas e secas que predominavam nas duas estações do ano (BRASIL *et al.*, 2022), e um clima tropical árido (DOS SANTOS *et al.*, 2020; MARTELLI; ARIADNE FABIANA RODRIGUES ALVARENGA; SAMUDIO, 2023).

Figura 3 - Biomas do Brasil. Em rosa, área do Cerrado.



Fonte: MARTELLI; ARIADNE FABIANA RODRIGUES ALVARENGA; SAMUDIO (2023).

Este bioma tão vasto e importante possui quatro tipos de regiões, sendo a primeira chamada cerradão, por sua densidade florestal apresentada, a segunda, de campo limpo, por possuir uma pouca vegetação e as outras duas regiões de desérticas e veredas (POLIZEL *et al.*, 2021).

Um dos pontos cruciais e importantes para serem estudados é a ampla biodiversidade que este bioma possui, com fontes variadas de produtos medicinais, farmacêuticos, agrícolas,

sendo utilizado como uso das plantas medicinais na medicina popular. Aproximadamente 40% do uso de plantas medicinais presentes no Cerrado pela população são para tratamento de alguma doença ou dor infecciosa ou até mesmo problemas no sistema digestivo e respiratório (CHAER *et al.*, 2023).

Com a demanda da agricultura e pecuária, ou seja, a exploração e o desmatamento desenfreado por essas regiões do Cerrado, coloca-se em risco a biodiversidade que é tão rica, mas muito pouco estudada (POLIZEL *et al.*, 2021).

O Cerrado é um dos *hotspots* mundiais com menor cobertura de áreas protegidas. O desmatamento intenso resultou em impactos ambientais severos, como fragmentação de habitats, perda de biodiversidade, degradação dos ecossistemas e contaminação de aquíferos. Na década de 1970, a expansão da produção de grãos intensificou a ocupação do bioma, elevando as taxas de desmatamento, que chegaram a superar as da Amazônia (BRASIL, 2025; OLIVEIRA *et al.*, 2020; PMABB, 2022).

3.4.1 Planta hospedeira *Cochlospermum regium*

Cochlospermum regium (Figura 4), conhecida popularmente por algodãozinho do Cerrado, e em algumas regiões por algodãozinho do campo, algodão amarelo (GALVÃO *et al.*, 2020); algodão bravo, periquiteira, algodão-do-mato, algodãozinho, algodãozinho cravo, butua-de-corvo, periquiteira-do-campo, pacote, ruibarbo-do-campo e sumaúma-do-igapó (ARUNACHALAM *et al.*, 2019; WFO, 2023). As flores são amarelas, pentâmeras, com até seis centímetros de diâmetro, dispostas em panículas localizadas no ápice dos galhos; as sementes são espiraladas e ortodoxas (ARUNACHALAM *et al.*, 2019; SANTOS, 2024).

Figura 4 – Planta adulta de *Cochlospermum regium* em diferentes estágios vegetativos: planta em floração, flores, folhas e xilopódio.



Fonte: Autor, 2025.

C. regium é considerada uma planta nativa do Brasil, não endêmica (ARUNACHALAM *et al.*, 2019), pertencente a família Bixaceae, e gênero *Cochlospermum*. É uma planta que tem ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrada nos biomas Caatinga, Pantanal, campos da Amazônia e Cerrado (WFO, 2023; SANTOS, 2024). É encontrada predominantemente na região centro – oeste e norte do Brasil. É caracterizada por ser uma planta medicinal, ornamental, pela beleza de suas flores, e forragem animal (GALVÃO *et al.*, 2020; GALVÃO *et al.*, 2023).

Sua presença é registrada no Sudeste, nos estados de São Paulo e Minas Gerais, no Centro-Oeste, abrangendo o Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, no Nordeste, onde ocorre em Alagoas, Bahia, Sergipe, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Maranhão e Ceará, e no Norte, nos estados Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia e Tocantins, (LLERAS, 2016; LLERAS, 2024; SANTOS *et al.*, 2024), conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 5 – Locais de ocorrência de *Cochlospermum regium*, em verde são as espécies encontradas



Fonte: Adaptado por Santos et al.,(2024).

A espécie vegetal *C. regium* é utilizada desde a antiguidade, para tratar infecções, feridas, espinhas e afecções da pele, como agente analgésico, antibacteriano, anti-inflamatório, anti-tumorais e antimicrobianas (CARVALHO *et al.*, 2018b; ARUNACHALAM *et al.*, 2019; GALVÃO *et al.*, 2020; GALVÃO *et al.*, 2023; SANTOS, 2024), é usada também para tratar gastrite, úlceras, reumatismo, inchaço das pernas (GALVÃO *et al.*, 2020), infecções ginecológicas (OLIVEIRA *et al.*, 2020; SANTOS, 2024). Estudos apontam que na medicina tradicional africana, possuem aplicação medicinal em doenças, como malária, diarreia, icterícia, infecções e inflamações, uma espécie promissora para possuir compostos bioativos (DALL'ACQUA *et al.*, 2020).

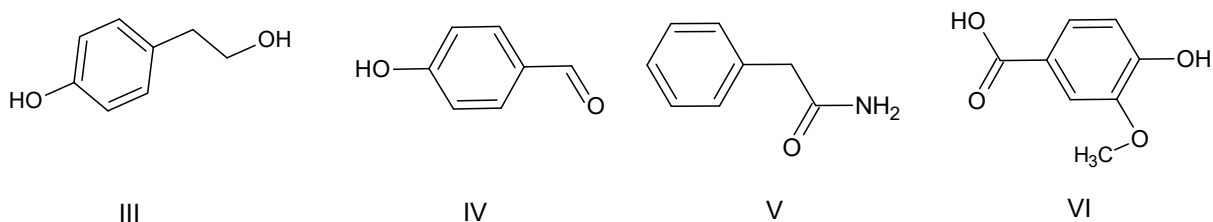
O xilopódio dessa espécie é amplamente empregado na medicina tradicional, sendo preparado em fatias, lascas ou pó para a formulação de decoctos, infusões e garrafadas. Seu uso está associado ao tratamento de diversas infecções, incluindo uterinas, ovarianas e intestinais, além de apresentar propriedades antibacterianas e analgésicas (ARUNACHALAM *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2024).

Estudos relatam que a mesma na triagem fitoquímica contém fenóis, flavonoides e taninos, incluindo os compostos ácido elágico e gálico (GALVÃO *et al.*, 2023). Sendo os principais constituintes, flavonoides e compostos fenólicos (MIRANDA PEDROSO *et al.*,

2019; SANTOS *et al.*, 2024). Possuindo propriedades farmacológicas, bem específicas, como antinociceptivas, antiinflamatórias, antipiréticas, antimutagênicas, antimicrobianas, gastroprotetoras, antioxidantes, genotóxicas e mutagênicas e atividades citotóxicas (ARUNACHALAM *et al.*, 2019).

Em relação ao estudo dos fungos endofíticos associados de *C. regium*, a investigação conduzida por Arruda *et al.* (2022), resultou no isolamento do fungo endofítico *Asordaria conoidea*, de *C. regium*, sendo avaliadas suas propriedades biológicas. Nos ensaios antioxidantes, o extrato do fungo demonstrou potencial antioxidante significativo. Além disso, no teste de atividade aleloquímica, foi observada uma ação inibitória atribuída exclusivamente à fração metanólica do extrato bruto, a qual reduziu o crescimento das plântulas em 65,5% e 51% nas maiores concentrações testadas. Esses achados indicam que *A. conoidea* pode representar uma fonte ainda inexplorada de compostos bioativos. O estudo também permitiu o isolamento e a identificação de quatro metabólitos identificados pelas estruturas da figura 6: tirosol (III), 4-hidroxibenzaldeído (IV), 2-fenilacetamida (V) e ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico (VI) (Figura 6).

Figura 6 - Substâncias isoladas: tirosol (III), 4-hidroxibenzaldeído (IV), 2-fenilacetamida (V) e ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico (VI).



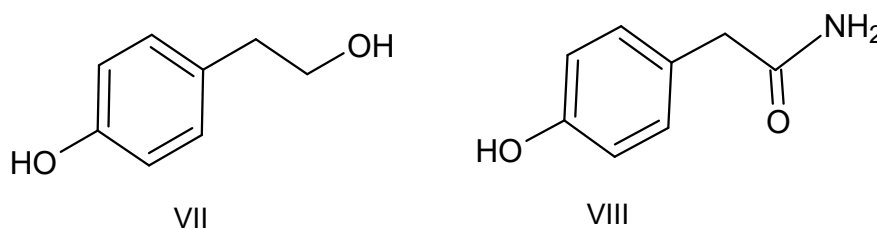
Fonte: Autor, 2025.

Outro estudo relevante sobre *C. regium*, realizado por Dantas *et al.* (2023), identificou a presença do fungo endofítico *Corioloropsis rigida*. A análise fitoquímica do extrato bruto em acetato de etila (AcOEt) revelou uma ampla diversidade metabólica, com a detecção de flavonas, flavonóis e xantonas. Esse extrato apresentou expressiva atividade antioxidante, com um percentual de inibição de 78,87% na concentração de 1000 mg.mL⁻¹ e um valor de CE50 de 0,33 mg.mL⁻¹, além de demonstrar efeitos aleloquímicos. A inibição do crescimento das plântulas de *Lactuca sativa L.* e *Raphanus sativus L.* foi de 63% e 55%, respectivamente. No entanto, o extrato não exibiu atividade antifúngica contra as cepas de *Candida carpophila* e *Candida viswanathii*, conforme determinado pelo ensaio de difusão em meio sólido.

Após o fracionamento cromatográfico do extrato bruto AcOEt do fungo, foram isoladas

duas substâncias, o tirosol (VII) e o novo produto natural isolado de fungos *p*-hidroxifenilacetamida (VIII) (figura 7). A elucidação estrutural dessas substâncias foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas.

Figura 7 - Substâncias isoladas: tirosol (VII), *p*-hidroxifenilacetamida (VIII)



Fonte: Autor, 2025.

Diante desses achados, o grupo de pesquisa em produtos naturais da Universidade Federal do Tocantins – Campus Gurupi tem se dedicado ao estudo de fungos endofíticos associados à espécie *C. regium*, buscando ampliar o conhecimento sobre seus metabólitos secundários e suas potenciais aplicações biotecnológicas.

3.5 Fitopatógeno *Sclerotinia Sclerotiorum*

Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Bary, é um fungo fitopatogênico do filo *Ascomycota*, subfilo *Pezizomycota*, Classe *Leotiomycetes*, ordem *Helotiales* e família *Sclerotineaceae*, (EMILIANO, 2020). De ampla distribuição geográfica e comportamento necrotrófico, sendo o agente causador da doença conhecida como mofo branco ou podridão branca, transmitida pelo solo. Sua característica de baixa especificidade permite que infecte uma vasta gama de hospedeiros, abrangendo mais de 400 espécies vegetais. Essa ampla adaptabilidade torna o fungo responsável por significativas perdas anuais em diversas culturas de grande relevância econômica, como soja, feijão, batata e canola (KABBAGE *et al.*, 2015; BOLTON *et al.*, 2006; BOLAND & HALL, 1994).

A sintomatologia da doença se manifesta pelo aparecimento de micélio branco sobre o caule e os frutos das plantas afetadas (Figura 8), além da formação de escleródios (Figura 9), que são estruturas resistentes compostas por hifas agregadas, recobertas por uma camada externa rica em melanina. Essas estruturas garantem a sobrevivência do fungo tanto nos tecidos infectados da planta quanto no solo. Os escleródios podem permanecer viáveis por um período

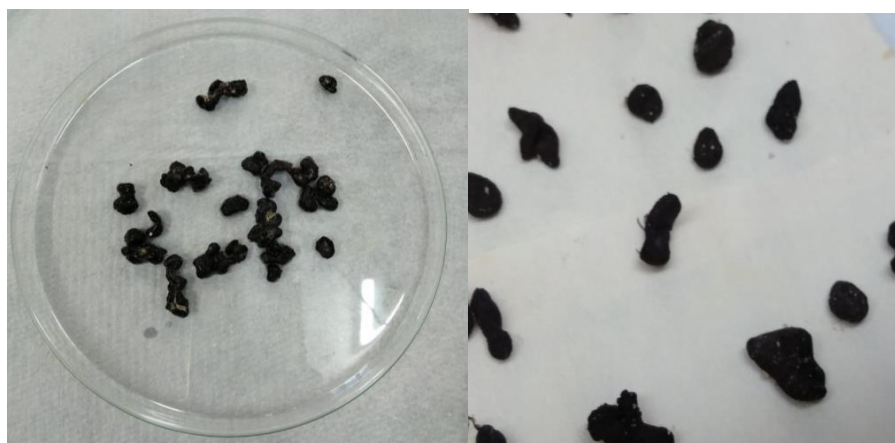
de até oito anos, aguardando condições ambientais favoráveis para a germinação, como alta umidade, temperaturas amenas (entre 18 e 22°C) e luminosidade moderada (EMILIANO, 2020).

Figura 8 - Folhas e mudas de feijoeiro infectadas com *Sclerotinia sclerotiorum*



Fonte: Emiliano, 2020.

Figura 9 – Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*



Fonte: EMILIANO, 2020.

4 METODOLOGIA

4.1 Cepas dos microrganismos

As cepas dos fungos endofíticos isolados da espécie *Cochlospermum regium* foram obtidas a partir do acervo do Laboratório de Reatividade dos Compostos Orgânicos da Universidade Federal do Tocantins – Campus Gurupi. Durante o processo de isolamento, foram identificadas um total de cinquenta e três cepas fúngicas provenientes das folhas e do caule da

planta (MORAES *et al.*, 2023). Para fins de catalogação e organização, cada fungo isolado recebeu uma designação específica, sendo nomeado com o código "Cr", correspondente à planta *C. regium*, seguido de um número sequencial (Cr-1 até Cr-53) (MORAES *et al.*, 2023). As cepas utilizadas no presente estudo foram: Cr-1, Cr-11, Cr-12, Cr-23, Cr-27 e Cr-32.

A identificação taxonômica dos fungos foi conduzida por meio de técnicas moleculares, utilizando a região ITS (Internal Transcribed Spacer). Essa região do DNA ribossomal apresenta elevada conservação dentro da mesma espécie, mas exibe variações significativas entre diferentes espécies, permitindo a identificação precisa tanto em nível de gênero quanto de espécie. A metodologia envolveu a amplificação e posterior sequenciamento da região ITS, cujos dados foram comparados com bancos de dados genéticos disponíveis, garantindo uma caracterização acurada das cepas (ALBERTO *et al.*, 2011; MORAES *et al.*, 2023).

A partir das análises moleculares, foi possível identificar dois fungos endofíticos que foram utilizados no trabalho, sendo eles: Cr-1 (*Coriopsis rigida*), Cr-32 (*Phomopsis* sp.) (MORAES *et al.* 2023). As demais cepas utilizadas seguem em processo de caracterização para identificação definitiva.

O fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* foi cedido pelo professor Dr. Geraldo Humberto Silva da Universidade Federal de Viçosa.

4.2 Cultivo dos microrganismos endofíticos

Para meio de cultivo BDA (batata, dextrose e ágar) foi preparado uma infusão de 200 g/L de batata para 20 g/L de ágar e dextrose, acrescidos de água destilada para completar 1000 mL do volume desejado. Com meio de cultura previamente pronto, a próxima etapa foi a esterilização empregando tratamento térmico (autoclave). Inicialmente foi realizada a ativação dos isolados da espécie vegetal *C. regium* em meio de cultivo BDA (batata-dextrose-ágar). Após a inoculação estes foram incubados em estufa bacteriológica por 7 dias a 25 °C no fotoperíodo de 12 horas de luz (MAIA & SILVA & CAVALCANTI, 2000).

4.3 Ensaio Antagonista

Para a realização do ensaio de antagonismo *in vitro*, foi adotada a metodologia de culturas pareadas em placas de Petri, conforme descrito por Mariano (1993). Essa técnica permite um confronto direto entre os fungos endofíticos e o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (SS). Foram utilizados discos de 6 mm de diâmetro, posicionados em pontos

equidistantes nas placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Um dos discos foi obtido da colônia do fitopatógeno e o outro da colônia do fungo endofítico, sendo ambos incubados por 7 dias. Após o pareamento, as placas de Petri foram incubadas a 25°C por um período de 7 a 10 dias, ou até o momento em que o fungo endofítico e o fitopatógeno entrassem em contato. Como controle, o fitopatógeno foi inoculado sem a presença do fungo endofítico.

A avaliação do ensaio antagonista foi realizada quando a colônia do fitopatógeno (controle) atingiu a borda da placa de Petri. Em seguida, os diâmetros das colônias do fitopatógeno foram medidos com o auxílio de um paquímetro manual. O ensaio foi realizado em triplicata, e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o software SISVAR 5.6. Para comparação das médias, aplicou-se o teste de Tukey ao nível de 5% de significância. O percentual de inibição do fitopatógeno SS foi calculado pela Equação 1:

$$\%PI = (Dc - Dt/Dc) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

%PI = percentual de inibição;

Dc = diâmetro médio da colônia do patógeno (placas controle SS);

Dt = diâmetro médio do patógeno em presença do antagonista endofítico (placas de confronto).

4.4 Obtenção do extrato bruto da cultura do fungo endofítico

O isolado fúngico codificado como Cr-11, o que apresentara melhores resultados frente ao ensaio antagonista, foi repicado em meio sólido BDA, e cultivado durante 7 dias para a obtenção da massa micelar. O meio de cultivo foi preparado utilizando 160 g de arroz e 160 mL de água destilada, e autoclavados por 2 vezes durante 40 minutos. Foi inoculado meia placa de Petri contendo o meio e os micélios do fungo em 1 saco de polietileno com arroz autoclavado, totalizando 6 sacos de polietileno. Foram deixados dois sacos de polietileno apenas com o meio para ser o branco. O fungo foi cultivado durante 21 dias, em temperatura ambiente (XU *et al.*, 2023a).

Após o cultivo de 21 dias, foi transferido a biomassa dos sacos de polietileno para um béquer, e adicionado 700 mL de metanol, para a biomassa ficar submersa por um período de 12 horas. E assim realizou-se a filtração convencional a vácuo, para obter apenas a parte líquida, colocando no rotoevaporador até a obtenção do extrato bruto. Solubilizou-se o extrato bruto em água destilada e foi feita a partição líquido/líquido do extrato aquoso com acetato de etila por 3 vezes. Logo após juntou-se a fração de acetato de etila (AcOEt) e rotoevaporou o solvente para

obtenção da fração acetato de etila, rotoevaporou a fração aquosa para obtenção do extrato polar aquoso. Por fim, solubilizou-se a fração do acetato de etila em solução aquosa de metanol (MeOH) 80% e realizou a partição líquido/líquido com hexano por 3 vezes. E logo após rotaevaporou o hexano e o metanol 80% para obter a fração hexânica e fração metanólica 80% respectivamente.

4.5 Fracionamento do extrato bruto

A fração metanólica 80% obtida foi submetida a fracionamento cromatográfico utilizando coluna de vidro. Foi realizado o fracionamento utilizando fase estacionária C18, e eluente um gradiente de água e metanol. Foram obtidas 4 sub-frações sendo a primeira fração (SFr1), 50% metanol e 50% água, a segunda fração (SFr2) 75% metanol e 25% água, a terceira fração (SFr3) 100% metanol e a quarta fração (SFr4) 100% acetona.

4.6 Análises Cromatográficas do extrato e frações

A fração metanólica a 80% foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), utilizando um sistema Shimadzu composto pela bomba LC-6AD, controlador CBM-20 e detector SPD-M20A. O perfil cromatográfico foi obtido por meio de um gradiente exploratório, empregando como fase estacionária uma coluna analítica Agilent Eclipse Plus C18 (150 × 4,6 mm, 5 µm). A eluição foi conduzida com uma fase móvel composta por uma mistura de água e metanol (H₂O:CH₃OH), variando de 50:50 (v/v) até 0:100% ao longo de 30 minutos, com vazão constante de 1,0 mL/min (CHAPLA *et al.*, 2013).

4.7 Análise de UPLC-MS/MS

A fração metanólica 80% e as subfrações foram enviadas para o Laboratório de Gestão de Compostos (LGC/LNBio-CNPEM) e, conseguinte, foram solubilizadas com DMSO 100% a uma concentração de 10 mg/mL. As amostras foram centrifugadas a 990 xg por um minuto, agitadas e submetidas a um banho ultrassônico em potência mínima com água na temperatura ambiente por 5 minutos, para assegurar sua homogeneidade. Após esse processo, as amostras foram armazenadas em tubos de 1,4 mL codificados sob atmosfera de nitrogênio a -20°C (CAJKA, 2016).

O perfil cromatográfico das amostras foi obtido através de cromatografia líquida (CL) usando o sistema UPLC Acquity HClass (Waters), equipado com uma coluna C18 BEH Acquity de 1,7 μ m (2,1 x 100 mm, Waters). O gradiente de eluição foi programado da seguinte maneira: 90% de água, 5% de acetonitrila (CH₃CN) e 5% de solução de ácido fórmico a 2% (fase móvel inicial); aos 10 minutos, aumentando a concentração de CH₃CN para 95%, e mantendo 5% da solução de ácido fórmico a 2% (curva 6); aos 12 minutos, a fase móvel foi alterada para 100% de CH₃CN (curva 1); e 3 minutos de recalibração na fase móvel inicial (totalizando 15 minutos) (CAJKA, 2016).

Após a separação cromatográfica, os analitos foram analisados por espectrometria de massas em tandem uHR-ESI-QqTOF Impact II (Bruker), no modo positivo. O espectrômetro foi calibrado com formato de sódio 10mM para garantir alta precisão. Os parâmetros foram: aquisição de 8 Hz com um limite absoluto de 25 contagens; para a ionização os parâmetros foram deslocamento de placa de extremidade de 500 V, voltagem de capilar de 4500 V, pressão de nebulização de 4 Bar para o gás de secagem N₂, com fluxo de 10 L/min e uma temperatura de secagem de 200°C. O método MS/MS utilizou um ciclo de 1 segundo, com energia de colisão entre 20-70 V, e dados abaixo de 200 Da foram excluídos. Após a análise, os dados foram convertidos em formato mzXML para processamento posterior (CAJKA, 2016).

4.8 Avaliação da citotoxicidade das frações

A fração metanólica 80% e as sub-frações (SFr1-SFr4) foram avaliados em concentrações de 40 a 0,16 μ L/mL utilizando células aderentes HaCat (queratinócitos humanos não tumorais) e HCT-116 (células epiteliais humanas de câncer de cólon), seguindo a metodologia de triagem de alto desempenho (HTS - *High-Throughput Screening*). A contagem de núcleos em imagens de microscopia foi utilizada como parâmetro de análise, de acordo com a metodologia de Análise de Alto Conteúdo (HCA - *High-Content Analysis*) (INVITROGEN, 2020). O ensaio foi realizado em colaboração com a pesquisadora Daniella B. B. Trivella, do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM).

4.9 Construção de redes moleculares e anotação de compostos

Utilizou-se a plataforma de análise de espectrometria de massas baseadas na web, GNPS2 (*Global Natural Products Social Molecular Networking 2*) para construção das redes moleculares, e, análise química. Os dados foram filtrados removendo todos os íons de

fragmentos MS/MS dentro de +/- 17 Da do precursor m/z. Os espectros MS/MS foram filtrados em janela escolhendo apenas os 6 principais íons de fragmentos na janela +/- 50Da em todo o espectro. Definiu-se a tolerância à massa do íon precursor como 0,02 Da e uma tolerância ao íon do fragmento MS/MS de 0,02 Da. Dessa forma, criou-se uma rede onde as bordas foram filtradas para haver uma pontuação de cosseno acima de 0,90 e mais de 4 picos correspondentes, e intensidade mínima de picos em 100. Além disso, manteve-se as arestas entre dois nós na rede se e somente se cada um dos nós aparecesse nos 10 nós mais semelhantes um do outro. Finalmente, o tamanho máximo de uma família molecular foi definido como 100, e as bordas de pontuação mais baixa foram removidas das famílias moleculares até que o tamanho da família molecular estivesse abaixo deste limite.

Os espectros na rede foram então pesquisados nas bibliotecas espectrais do GNPS. Os espectros da biblioteca foram filtrados da mesma maneira que os dados de entrada. Todas as correspondências mantidas entre espectros de rede e espectros de biblioteca deveriam ter uma pontuação acima de 0,90 e pelo menos 4 picos correspondentes.

Com o intuito de aprimorar os critérios das anotações utilizou-se as seguintes bases de dados: COCONUT – *Collection of Open Natural Products* [[Link](#)]; ChEBI – *Chemical Entities of Biological Interest* [[Link](#)]; FooDB – *Resource on food constituents*; NPatlas – *The Natural Products Atlas* [[Link](#)]; CAS – *Chemical Abstracts of American Chemical Society* [[Link](#)]; MassIVE – *Mass Spectrometry Interactive Virtual Environment*; microbeMASST [[Link](#)]; EMNPD - *Endophyte Microorganism Natural Product Database*; MassBank [[Link](#)]; MetaboLights.

4.10 Determinação da Atividade Antibacteriana

Realizou-se o ensaio para detectar a atividade antibacteriana das frações obtidos do cultivo do fungo Cr-11.

O ensaio antibacteriano foi realizado baseado na metodologia do Teh (2017). Em primeira instância, preparou-se o meio líquido BHI (*Brain Heart Infusion*) e verteu 10 mL em seis tubos Falcon. Em seguida, adicionou 100 µL da suspensão bacterianas de *Stenotrophomonas maltophilia* e *Escherichia coli* cedidas pelo Laboratório de Biomoléculas e Vacinas (LABVAC-UFT). Foi utilizado 3 tubos para cada bactéria. Após inoculação, deixou em overnight a 37°C e, depois, foi feita a medição da absorbância no espectrofotômetro a 600 nm.

Ajustou a suspensão bacteriana até o Padrão 0,5 McFarland, após foi adicionado 100

μL da suspensão bacteriana nas placas contendo meio BHI e espalhou com o auxílio de uma alça de Drigalski em toda a placa. Em seguida, colocou-se discos de papel filtro esterilizados na superfície e pipetou-se 10 μL da solução das frações (20 e 40 mg/mL) em pontos equidistantes da placa juntamente com o DMSO, utilizado como controle negativo. O ensaio foi realizado em triplicata e analisou após 24 e 48h a inibição do crescimento das bactérias.

5 RESULTADOS E ANÁLISE

5.1 Avaliação do ensaio Antagonista

Os testes realizados por meio do método *in vitro* evidenciaram o potencial antagonista dos fungos endofíticos, avaliado por meio do pareamento direto. Uma técnica em que os fungos endofíticos e os patógenos são inoculados em pontos opostos de uma mesma placa de Petri contendo meio de cultura apropriado, permitindo a observação do crescimento em direção ao centro e da possível inibição do microrganismo alvo. Essa abordagem permite identificar interações antagonicas diretas, como a produção de metabólitos inibitórios, competição por nutrientes e espaço, ou outros mecanismos de supressão fúngica. Os fungos endofíticos isolados da planta hospedeira, identificados pelos códigos Cr-1, Cr-11, Cr-12, Cr-23, Cr-27 e Cr-32, demonstraram capacidade de inibir o crescimento de fitopatógenos em condições *in vitro*, quando comparados à testemunha (ausência de fungo endofítico). Para quantificar essa inibição, foram mensuradas as dimensões das colônias dos fitopatógenos em placas de Petri submetidas ao pareamento direto com cada fungo endofítico. Os dados obtidos foram organizados em uma tabela de porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM), gerada com auxílio do software estatístico SISVAR 5.6.

A análise estatística foi realizada utilizando o teste de Tukey (nível de significância de 5%), o que permitiu verificar diferenças significativas entre os tratamentos. Dentre os resultados, observou-se que todos os fungos endofíticos avaliados apresentaram atividade inibitória contra o fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, sendo possível evidenciar variações no grau de inibição entre os isolados. Tais resultados, apresentados na Tabela 1 e ilustrados na Figura 10, reforçam o potencial desses microrganismos endofíticos como agentes biocontroladores em estudos futuros voltados ao manejo alternativo de doenças fúngicas em plantas.

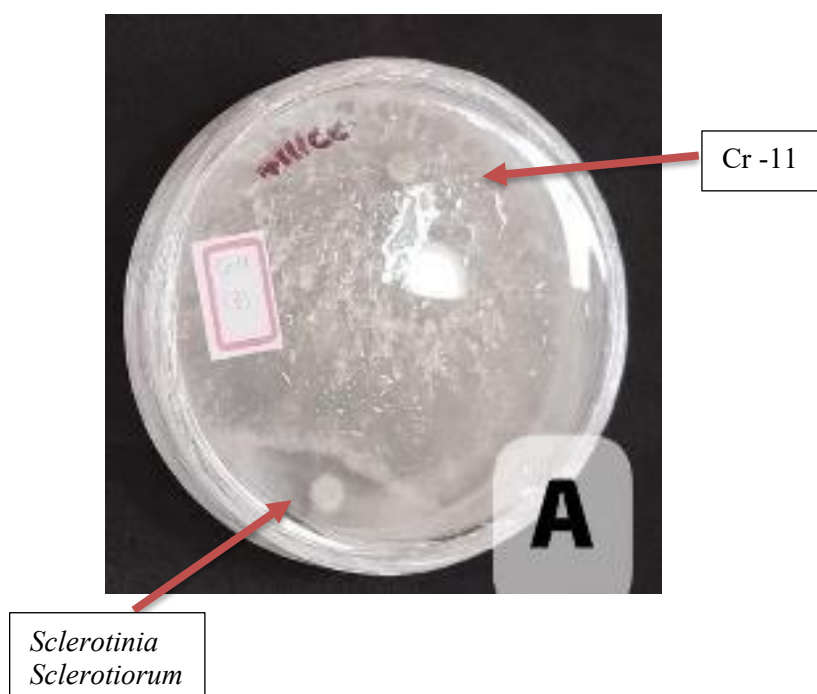
Tabela 1 - Resultados do ensaio antagonista dos fungos endofíticos contra *Sclerotinia sclerotiorum* obtido pelo programa SISVAR.

TRATAMENTOS	Médias (mm) ¹	Percentual de Inibição (%)
Controle	86,10 a4	-
Cr-1	48,71 a2	43,42
Cr-11	12,69 a1	85,25
Cr-12	18,85 a1	78,10
Cr-23	46,05 a2	46,50
Cr-27	42,67 a2	50,44
Cr-32	58,22 a3	32,37
CV(%) ²	8,53	

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula com mesmos números, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ²Coefficiente de variação

Fonte: Autor, 2025.

Figura 10 - Confronto direto do *Sclerotinia sclerotiorum* com o endófito Cr-11.



Legenda: (A) Confronto direto do *Sclerotinia sclerotiorum* com o endófito Cr-11

Fonte: Autor, 2025.

Dentre os isolados avaliados, os fungos endofíticos codificados como Cr-11 e Cr-12 destacaram-se por exibirem os maiores índices de inibição contra o fitopatógeno *S. sclerotiorum*, alcançando percentuais de inibição de 85,25% e 78,10%, respectivamente. Esses resultados estão alinhados com os dados reportados por Reis (2022), que também constatou a eficácia do endófito Cr-11 na inibição do crescimento de *S. sclerotiorum*.

Segundo Azevedo *et al.* (2002), os fungos endofíticos podem atuar na inibição de fitopatógenos através de diferentes mecanismos, incluindo a competição por nutrientes, a produção de substâncias antagonicas ou a indução de resistência na planta hospedeira.

Estudos realizados por Moraes *et al.* (2023), identificaram que os fungos endofíticos codificados como Cr-2, Cr-10, Cr-16, Cr-17, Cr-24, Cr-27, Cr-30, Cr-32, Cr-40, Cr-41, Cr-42, Cr-44, Cr-48 e Cr-50, isolados de *C. regium*, apresentaram capacidade de inibir o crescimento dos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Bipolaris oryzae* e *Curvularia lunata* quando comparados à testemunha (ausência de fungo endofítico). Demonstrando a alta capacidade dos fungos endofíticos isolados de *C. regium* em produzir compostos com atividade antagonista. (MORAES *et al.*, 2023).

Diversos estudos têm demonstrado a atividade antagonista de fungos endofíticos contra distintos fitopatógenos de interesse agrícola (GRABKA *et al.*, 2022c; SILVA-VALDERRAMA *et al.*, 2021; HUANG *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2017; SANTOS E CARVALHO, 2011; MORAES *et al.*, 2023). A utilização de microrganismos com propriedades de biocontrole e/ou promoção de crescimento tem sido considerada uma alternativa viável para sistemas agrícolas sustentáveis, tanto do ponto de vista ecológico quanto econômico.

O controle biológico, por meio do uso de microrganismos antagonistas, tem se consolidado como uma alternativa sustentável e eficaz no manejo de doenças fúngicas de difícil controle em diversas culturas agrícolas. Diversos estudos demonstram o sucesso da aplicação de fungos e bactérias antagonistas na supressão de patógenos como *Sclerotinia sclerotiorum*, causador da podridão branca; *Fusarium oxysporum*, agente da murcha vascular; e *Botrytis cinerea*, responsável pela podridão cinzenta (GRABKA *et al.*, 2022c; CHEN *et al.*, 2016; MORAES *et al.*, 2023). Esses microrganismos atuam por mecanismos como competição por espaço e nutrientes, produção de metabólitos antifúngicos, micoparasitismo e indução de resistência nas plantas hospedeiras, representando uma estratégia promissora para a redução do uso de fungicidas químicos e para o aumento da sustentabilidade agrícola.

O endófito Cr-11 foi selecionado para cultivo em larga escala, devido a atividade antagonista apresentada. A Tabela 2 apresenta os valores das massas obtidas para cada uma das subfrações obtidas no processo de fracionamento do extrato bruto. Ao todo, foram obtidas quatro subfrações, denominadas SFr1, SFr2, SFr3 e SFr4, utilizando solventes em diferentes proporções de polaridade crescente.

Tabela 2 – Massas das subfrações obtidas

Sub-Frações	Massa (g)
SFr1	0,2955
SFr2	0,0264
SFr3	0,3556
SFr4	0,0037

Fonte: Autor, 2025

A subfração SFr3, eluída com 100% metanol, apresentou a maior massa (0,3556 g), indicando uma maior concentração de compostos solúveis em solvente orgânico polar. Esse resultado sugere que a maior parte dos constituintes presentes no extrato bruto possui afinidade com metanol, o que pode incluir flavonoides, fenóis e outras substâncias polares.

Em seguida, a subfração SFr1, obtida com uma mistura de 50% metanol e 50% água, também apresentou um rendimento expressivo (0,2955 g). Essa fração representa compostos mais polares, que apresentam alguma solubilidade em meio aquoso. Já a subfração SFr2, obtida com 75% metanol e 25% água, apresentou massa significativamente menor (0,0264 g), o que pode indicar menor presença de compostos com essa afinidade intermediária.

Por fim, a subfração SFr4, eluída com 100% acetona, apresentou o menor rendimento (0,0037 g), evidenciando a baixa concentração de compostos com maior solubilidade em solventes menos polares, como a acetona. Esse dado reforça a predominância de compostos polares no extrato analisado.

5.2 Construção das redes moleculares

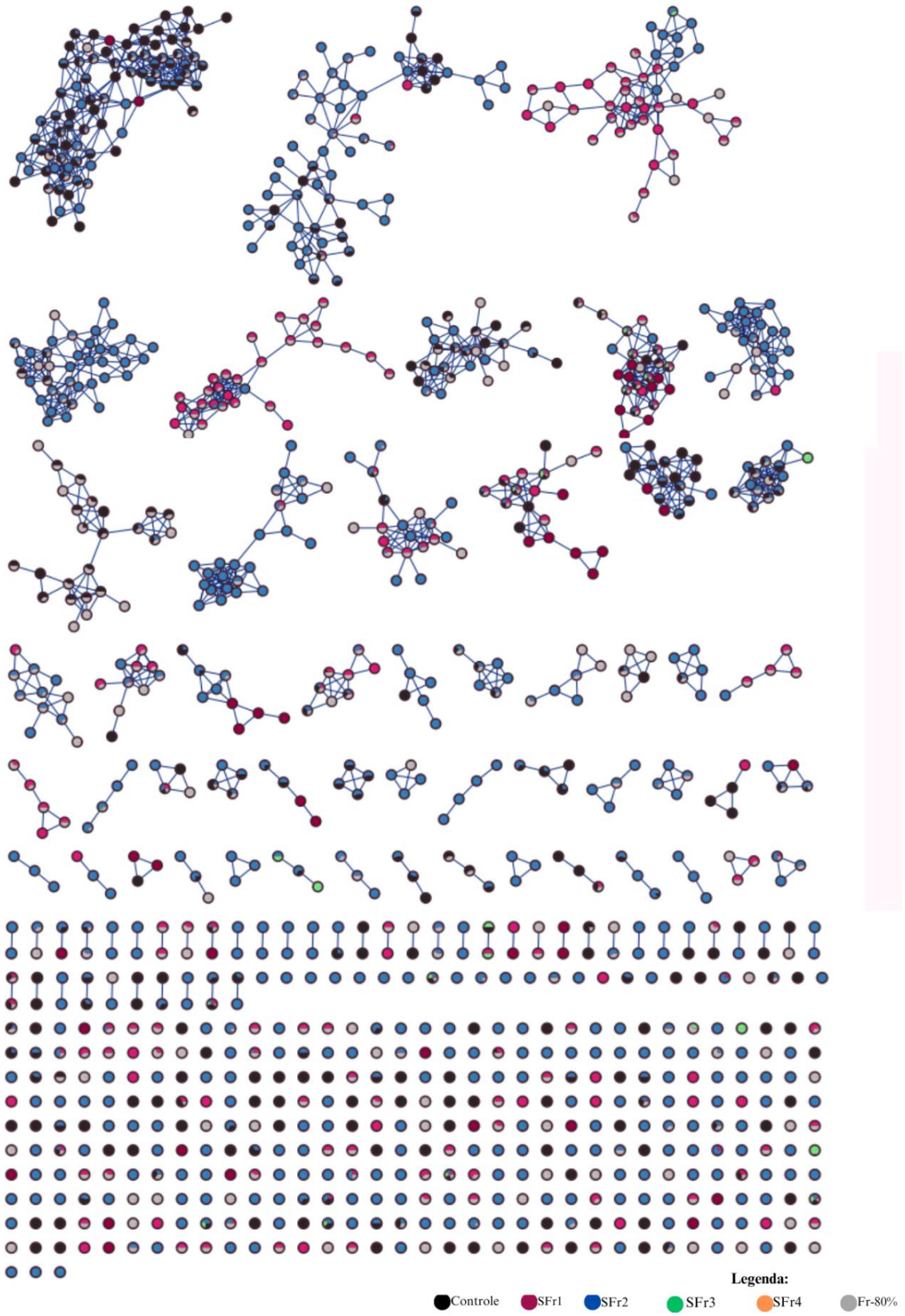
A metodologia denominada *Classical Networking Workflow* foi escolhida para a geração das redes moleculares devido à sua capacidade de eliminar a necessidade de etapas de pré-processamento, além de possuir uma interface intuitiva e de fácil utilização. Assim, a partir dos dados espectrais de MS/MS obtidos das sub frações correspondentes (SFr1 (50% metanol e 50% água, SFr2 (75% metanol e 25% água), SFr3 (100% metanol) e SFr4 (100% acetona) e ao grupo controle, foi possível construir a rede molecular na plarraforma GNPS2, que posteriormente foi visualizada por meio do software *Cytoscape* na figura 11 (SHANNON, 2003).

A análise da rede molecular revelou muita complexidade, abrangendo um total de 719 nós (desconsiderando os nós pertencentes ao grupo controle) e 1540 arestas, sendo que obteu-

se 719 nós nas subfrações 1 ao 4 e ao grupo controle. Cada nó representa um espectro de massas distinto, enquanto as arestas correspondem às conexões entre nós que apresentam similaridade espectral, mas não são idênticos (ARON *et al.*, 2020).

Para a anotação dos compostos, seguiu-se a abordagem proposta por Sumner *et al.* (2007) e Schymanski *et al.* (2014), na qual a determinação dos metabólitos ocorre em diferentes níveis de confiança. No nível 1, os metabólitos são confirmados com base em dados como tempo de retenção, espectro de massas e espectro MS/MS, geralmente correspondendo a compostos previamente relatados na literatura. No nível 2, a identificação ocorre através da comparação dos dados espectrais adquiridos com aqueles disponíveis em bancos de dados ou estudos anteriores. O nível 3 consiste na tentativa de inferir uma estrutura molecular para o composto, embora essa proposta não seja confirmada. No nível 4, determina-se apenas a fórmula molecular, sem informação suficiente para sugerir uma estrutura específica. Por fim, no nível 5, são disponibilizados apenas os dados referentes à relação massa/carga (m/z) e ao tempo de retenção, sem elementos adicionais para deduzir uma fórmula molecular (SCHYMANSKI *et al.*, 2014; SUMNER *et al.*, 2007).

Figura 11 – Rede molecular das sub frações e do controle, editada pelo *Cytoscape*



* Rede molecular incompleta, apenas para ilustração

Fonte: Autor, 2025.

5.3 Anotação de Compostos

Seguindo a proposta de identificação e anotação de compostos estabelecida por Sumner *et al.* (2007) e Schymanski *et al.* (2014), os seguintes compostos foram anotados conforme as recomendações para os níveis de anotação. Obteve-se 51 compostos correspondentes a espectros presentes na base de dados do GNPS2. Para a anotação dos compostos adotou-se as seguintes formas de exclusão e inclusão: os metabólitos relacionados com o espectro referente ao grupo controle foram desprezados; comparou-se os espelhos dos espectros de massas, os picos compartilhados entre espectros e a similaridade dos valores dos cossenos, sendo que valores próximos de 1 são ideais; com o painel *microbeMASST* pode-se determinar se os compostos correspondentes haviam sido previamente relatados como sendo produzidos por microrganismos (ARON *et al.*, 2020; ARRIEL-ELIAS *et al.*, 2023).

A tabela 2 apresenta a relação entre os compostos anotados, havendo 15 entidades de massas com espectros semelhantes com os pertencentes às bibliotecas utilizadas. Foram anotados 51 compostos, dos quais 15 foram anotados no nível 2, sendo observado as suas estruturas na figura 13, trinta e três no nível 4 e apenas três no nível 5. A maioria dos compostos anotados no nível 4, apresentaram semelhanças espectrais com compostos pertencentes a classe dos fosfolipídios. As bibliotecas utilizadas para esse nível de anotação sugeriram até duas possíveis fórmulas moleculares. A figura 13 apresenta as estruturas químicas dos compostos anotados no nível 2.

Tabela 3 - Metabólitos anotados das sub frações

<i>m/z</i>	RT (min)	Fórmula molecular	Anotação*	Nível de anotação	Fração(s) atribuída(s)
(1) 509,288 [M+NH ₄] ⁺	7,91	C ₂₆ H ₃₇ NO ₈	Ácido 4-[5-[[4-[5-[acetil(hidroxi)amino]ptilamino]-4-oxobutanoil]-hidroxiamino]ptilamino]-4-oxobutanoico	Nível 2	SFr2 / Fr – 80%
(2) 1043,7 [2M+H] ⁺	8,65	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	1-(9Z-octadecenoil)-sn-glicero-3-fosfocolina	Nível 2	Fr – 80%

(3) 532,348 [M+H] ⁺	8,01	C ₂₇ H ₄₆ O ₉	[2-hidroxi-3-[3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxipropil](9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoato	Nível 2	SFr2
(4) 407,240 [M+H] ⁺	2,79	C ₁₈ H ₃₄ N ₂ O ₈	Ácido 3-metil-2-[[4-metil-2-[(2,3,4,5-tetrahidroxioxan-2-il)metilamino]pentanoil]amino]pentanoico	Nível 2	SFr1 / SFr2 / Fr – 80%
(5) 801,442 [M+NH ₄] ⁺	9,67	C ₄₅ H ₅₇ N ₃ O ₉	3,9,15-tribenzil-4,10,16-trimetil-6,12,18-tri(propan-2-il)-1,7,13-trioxa-4,10,16-triazaciclooctadecano-2,5,8,11,14,17-hexona	Nível 2	SFr2 / Fr – 80%
(6) 398,233 [M+H] ⁺	9,72	C ₂₄ H ₃₁ NO ₄	hexil 2-[4-(dietilamino)-2-hidroxibenzoil]benzoato	Nível 2	SFr2
(7) 203,118 [M+H] ⁺	5,22	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O	N-[2-(1H-indol-3-il)etil]acetamida	Nível 2	SFr1 / Fr – 80%
(8) 218,101 [M+H] ⁺	2,45	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂	Ácido 2-(5-metil-1-feniltriazol-4-il)acético	Nível 2	SFr1 / Fr – 80%
(9) 219,114 [M+H] ⁺	2,76	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	N-[2-(5-hidroxi-1H-indol-3-il)etil]acetamida	Nível 2	SFr1 / Fr – 80%
(10) 266,103 [M+H] ⁺	3,13	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅	Ácido-3-amino-4-[[1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-4-oxobutanoico	Nível 2	SFr1 / Fr – 80%
(11) 294,155 [M+NH ₄] ⁺	0,81	C ₁₂ H ₂₀ O ₇	hex-2-enoato de [3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]	Nível 2	SFr1 / Fr – 80%
(12) 291,156 [M+NH ₄] ⁺	0,88	C ₁₄ H ₂₄ N ₂ O ₇	Ácido Glicólico, Ácido 4-Acetilbutanoico e Ácido 4-Aminobutanoico	Nível 2	SFr1 / Fr – 80%

(13) 432,281 [M+H] ⁺	2,73	C ₁₈ H ₃₈ O ₁₀	Nonaetilenoglicol	Nível 2	SFr1
(14) 308,28 [M+H-2H ₂ O] ⁺	8,21	C ₁₁ H ₂₃ NOS	N-octil-3-sulfanilpropanamida	Nível 2	SFr1
(15) 205,098 [M+H] ⁺	1,97	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	Ácido-2-amino-3-(1 <i>H</i> -indol-3-il)propanoico	Nível 2	Fr - 80%
(16) 391,209 [M+H] ⁺	1,98	C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O ₈ / C ₂₂ H ₃₀ O ₆	Alcaloide	Nível 4	SFr1 / Fr - 80%
(17) 374,327 [M+H] ⁺	10,50	C ₂₁ H ₄₃ NO ₄	Lipídio	Nível 4	Fr - 80%
(18) 494,325 [M+H] ⁺	7,64	C ₂₄ H ₄₈ NO ₇ P	Fosfolipídio	Nível 4	SFr2 e Fr - 80%
(19) 480,308 [M+H] ⁺	8,62	C ₂₃ H ₄₆ NO ₇ P	Fosfolipídio	Nível 4	Fr - 80%
(20) 480,309 [M+H] ⁺	8,59	C ₂₃ H ₄₆ NO ₇ P	Fosfolipídio	Nível 4	Fr 80%
(21) 534,319 [M+H] ⁺	6,54	C ₂₈ H ₄₃ N ₃ O ₇	Alcaloide	Nível 4	SFr2
(22) 538, 351 [M+H] ⁺	6,37	C ₂₆ H ₅₂ NO ₈ P	Fosfolipídio	Nível 4	SFr2
(23) 550,316 [M+H] ⁺	5,76	C ₃₄ H ₃₉ N ₅ O ₂	Alcaloide	Nível 4	SFr3
(24) 452,277 [M+H] ⁺	7,59	C ₂₁ H ₄₂ NO ₇ P	Fosfolipídio	Nível 4	SFr2
(25) 452,278 [M+H] ⁺	7,61	C ₂₁ H ₄₂ NO ₇ P	Fosfolipídio	Nível 4	SFr2
(26) 476,274 [M+H] ⁺	8,36	C ₂₁ H ₄₁ N ₅ O ₃ S ₂	Peptídeo	Nível 4	Fr 80%
(27) 460,270 [M+C ₂ H ₃ N+H] ⁺	6,89	C ₂₄ H ₃₄ O ₆	Flavonoide prenilado	Nível 4	Fr 80% / SFr1
(28) 640,345 [M+NH ₄] ⁺	7,53	C ₃₆ H ₄₆ O ₉	Flavonoide glicosilado	Nível 4	Fr - 80%

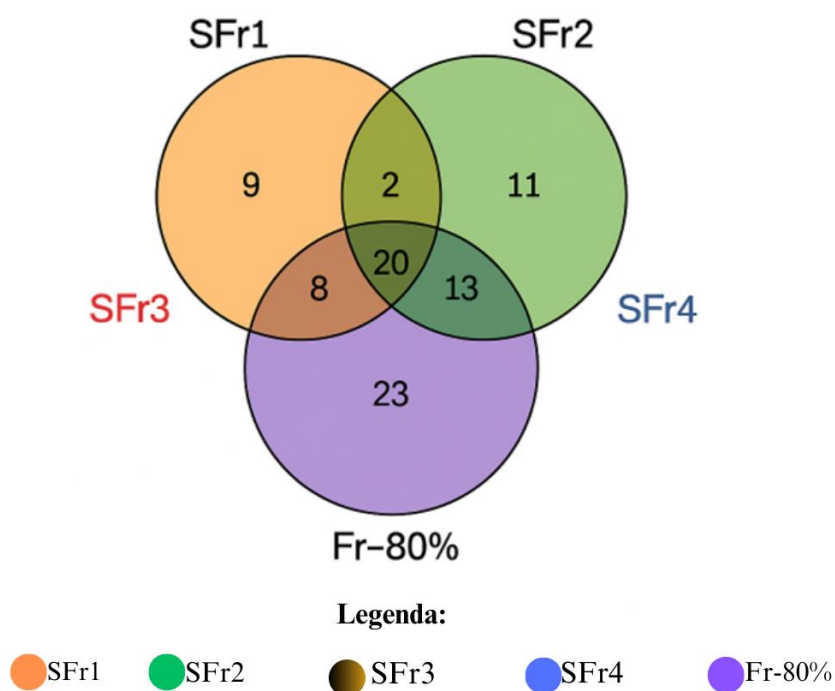
(29) 597,303 [M+NH ₄] ⁺	7,53	C ₃₅ H ₃₇ N ₃ O ₅	Alcaloide	Nível 4	SFr2
(30) 403,202 [M+H] ⁺	5,88	C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O ₃	Alcaloide	Nível 4	SFr2
(31) 491,277 [M- H ₂ O +H] ⁺	7,94	C ₃₁ H ₄₀ O ₆	Flavonoide prenilado	Nível 4	SFr2
(32) 485,288 [M- H ₂ O +H] ⁺	8,26	C ₂₉ H ₄₀ O ₆ / C ₂₉ H ₄₂ O ₇	Flavonoide glicosilado	Nível 4	SFr2 / Fr – 80%
(33) 599,320 [M+H] ⁺	8,13	C ₃₄ H ₄₆ O ₉	Flavonoide glicosilado	Nível 4	SFr2 / Fr – 80%
(34) 524,298 [M+H] ⁺	8,37	C ₂₃ H ₄₆ N ₃ O ₆ PS	Fosfolipídio	Nível 4	SFr2
(35) 454,293 [M+H] ⁺	9,34	C ₂₁ H ₄₄ NO ₇ P	Fosfolipídio	Nível 4	SFr2
(36) 679,390 9[M+H] ⁺	7,89	C ₃₃ H ₅₈ O ₁₄	Lipídio	Nível 4	SFr2
(37) 277,119 [M+H] ⁺	2,93	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₄	Aminoácido	Nível 4	SFr1
(38) 291,134 [M+H] ⁺	3,59	C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₄	Aminoácido	Nível 4	SFr1 / Fr – 80%
(39) 480,309 [M+H] ⁺	8,06	C ₂₂ H ₄₆ N ₃ O ₆ P	Fosfolipídio	Nível 4	SFr1
(40) 512, 335 [M+H] ⁺	7,43	C ₂₄ H ₅₀ NO ₈ P/ C ₂₆ H ₄₅ N ₃ O ₇	Fosfolipídio	Nível 4	SFr1
(41) 344,228 [M+H] ⁺	2,37	C ₁₄ H ₃₀ O ₈ / C ₁₅ H ₂₉ N ₅ O ₄	Fosfolipídio	Nível 4	SFr1
(42) 330,239 [M+H] ⁺	3,78	C ₁₆ H ₃₁ N ₃ O ₄	Alcaloide	Nível 4	SFr1
(43) 513,319 [M+H] ⁺	9,65	C ₂₀ H ₄₅ N ₆ O ₇ P / C ₂₄ H ₄₉ O ₉ P	Fosfolipídio	Nível 4	SFr2
(44) 279,232 [M- C ₂ H ₅ O ₂ N+H] ⁺	8.82	C ₂₀ H ₃₅ NO ₄	Lipídio	Nível 4	SFr1
(45) 570,341 [M+H] ⁺	4,24	C ₃₀ H ₅₂ NO ₇ P/ C ₃₂ H ₄₇ N ₃ O ₆	Alcaloide	Nível 4	SFr2/ SFr3
(46) 412,211 [M+H] ⁺	3,02	C ₁₇ H ₃₄ NO ₈ P/ C ₁₉ H ₂₉ N ₃ O ₇	Fosfolipídio	Nível 4	SFr3

(47) 516,306 [M+H] ⁺	7,63	C ₂₃ H ₄₈ N ₃ O ₆ P/ C ₂₅ H ₄₃ N ₅ O ₅	Fosfolípido	Nível 4	Fr – 80%
(48) 208,097 [M+H] ⁺	3,15	C ₉ H ₁₁ NO ₂	Aminoácido	Nível 4	SFr1 / Fr – 80%
(49) 293,247 [M+H] ⁺	9,31	-	Lípido	Nível 5	SFr1
(50) 293,175 [M+H] ⁺	8,98	-	Peptídeo	Nível 5	SFr1
(51) 307,19 [M+H] ⁺	9,40	-	Ftalato	Nível 5	SFr1

*Anotação: os compostos foram anotados conforme a classificação indicada pelo banco de dados do GNPS2 e outras bibliotecas; **Identificação feita através do espectro relacionado.

Fonte: Autor, 2025.

Figura 12 - Diagrama de Venn representando a distribuição dos metabólitos anotados nas frações SFr1, SFr2, SFr3, SFr4 e Fr-80% do extrato bruto.



Fonte: Autor, 2025.

A distribuição dos metabólitos anotados entre as frações SFr1, SFr2, SFr3, SFr4 e Fr-80% foi analisada por meio de um diagrama de Venn, permitindo avaliar a complexidade e a seletividade do fracionamento. A fração Fr-80% destacou-se com 23 metabólitos exclusivos,

sugerindo alta concentração de compostos específicos. SFr2 apresentou 11 metabólitos únicos, seguida de SFr1 com 9 e SFr3 com 8. SFr4 não exibiu metabólitos exclusivos, mas compartilha 13 compostos com outras frações, reforçando seu caráter complementar.

O diagrama evidenciou também compostos compartilhados entre diferentes frações, como os 13 metabólitos comuns a SFr2, SFr4 e Fr-80%, e os 8 presentes na interseção entre SFr1, SFr3 e Fr-80%. Além disso, 20 metabólitos foram encontrados em todas as frações, indicando a existência de uma base química comum nas frações.

A análise via espectrometria de massas revelou que SFr1 contém alcaloides e derivados fenólicos, apontando um perfil distinto e potencialmente bioativo. Já SFr2 e SFr3 compartilham flavonoides glicosilados e ácidos orgânicos com Fr-80%, refletindo similaridades em polaridade e composição. Apesar de não ter compostos exclusivos, SFr4 contém saponinas de alto peso molecular, ressaltando sua relevância.

Essa representação gráfica facilita a visualização da distribuição metabólica entre as frações e contribui para a escolha de amostras prioritárias em testes biológicos ou estudos estruturais futuros e orienta a seleção de alvos promissores para estudos posteriores de bioatividade e caracterização estrutural.

O composto Ácido 4-[5-[[4-[5-[acetil(hidroxi)amino]ptilamino]-4-oxobutanoil]-hidroxiamino]ptilamino]-4-oxobutanoico (**1**) foi anotado a nível 2, havendo um espectro correspondente em bases de dados que pudessem definir o composto. Embora não tenham sido encontrados estudos específicos sobre este composto, (REIS, 2024), pesquisas sobre compostos análogos indicam algumas possíveis atividades biológicas. Derivados de aminoálcoois lipofílicos, como a N-(2-hidroxi)etil)pentadecanamida, demonstraram capacidade de inibir a produção de óxido nítrico e citocinas pró-inflamatórias, sugerindo um potencial efeito anti-inflamatório (SILVA, 2014). Estudos com derivados carbazônicos, como a N-fenilcarbazona, indicaram que grupos funcionais semelhantes poderiam conferir ao composto estudado propriedades antitumorais (RABELO, 2016). Contudo, a literatura sobre esse composto é escassa, demandando investigações adicionais.

Anotou-se em nível 2 o composto 1-(9Z-octadecenoil)-sn-glicero-3-fosfocolina (**2**). A biblioteca sugeriu a fórmula molecular $C_{26}H_{52}NO_7P$, ao analisar dados da literatura e informações espectrais fornecidas pela *National Library of Medicine*, a primeira fórmula foi utilizada para propor a estrutura química. É um fosfolípido que desempenha um papel significativo na estrutura e função das membranas celulares. Este composto é amplamente utilizado em estudos relacionados à dinâmica de bicamadas lipídicas e propriedades de membranas. Além disso, derivados de lisoglicerofosfocolinas, como a 1-oleoil-sn-glicero-3-

fosfocolina, têm sido avaliados por suas propriedades biocidas, especialmente na inibição de processos de bioincrustação, como a proliferação do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*).

No campo cosmético, a fosfatidilcolina, um fosfolípido estruturalmente relacionado, é valorizada por suas propriedades de rejuvenescimento da pele. Ela atua aumentando a produção de ácido hialurônico e reduzindo a atividade de enzimas que degradam o colágeno, contribuindo para uma pele mais elástica e com menos rugas. Essas atividades biológicas destacam a importância dos fosfolípidos, como a 1-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina, em aplicações biomédicas e cosméticas. Estudos recentes indicam que ela está envolvida na sinalização celular, inflamação e aterosclerose. Além disso, foi observada sua participação na modulação do sistema imunológico e na promoção de respostas inflamatórias (NATIONAL, 2025).

O composto [2-hidroxi-3-[3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxipropil](9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoato (**3**), apresenta uma estrutura complexa com grupos funcionais que indicam potencial atividade biológica. Sua composição inclui ácidos graxos insaturados, como o octadeca-9,12,15-trienoato, e grupos fenólicos, como os encontrados na estrutura trihidroxi, o que sugere propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Além disso, a presença de grupos hidroxila e oxipropil pode conferir ao composto atividades adicionais, como ação antioxidante, antimicrobiana, seja bacteriana ou antifúngica, característica de compostos fenólicos e ácidos graxos em estudos recentes. O estudo de compostos como este é relevante, pois pode contribuir para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos com propriedades bioativas para aplicações em diversas áreas da saúde (SILVA & COSTA, 2021; LEMOS & PEREIRA, 2022; SOUZA & ALMEIDA 2023).

O composto 3-metil-2-[[4-metil-2-[(2,3,4,5-tetrahidroxioxan-2-il)metilamino]pentanoil]amino]pentanóico (**4**) foi anotado como nível 2, também conhecido como um éster de ácido graxo contendo uma unidade de glicose. Em relação às atividades biológicas, o composto exibe potencial para inibir diversas enzimas do sistema NTPDase, sugerindo propriedades antiparasitárias que podem ser úteis no tratamento de doenças como a doença de Chagas e leishmanioses. Além disso, estudos preveem que o composto seja absorvido no intestino humano, atravesse a barreira hematoencefálica e seja metabolizado pelo fígado, indicando uma ampla distribuição pelo organismo (FIETTO *et al.*, 2022).

O composto 3,9,15-tribenzil-4,10,16-trimetil-6,12,18-tri(propan-2-il)-1,7,13-trioxa-4,10,16 triazaciclooctadecano-2,5,8,11,14,17-hexona (**5**) possui uma estrutura complexa que envolve ciclos oxigenados e heterocíclicos, como triazóis e éteres, além de grupos aromáticos e substituintes alquila e propan-2-il. Não há detalhes específicos sobre suas atividades biológicas nas fontes atuais, há estudos de compostos com estrutura semelhante que tem

demonstrado efeitos anti-inflamatórios ao interferirem em vias inflamatórias, como a modulação da produção de citocinas, e propriedades antioxidantes, combatendo os danos causados por radicais livres. Essas características tornam os compostos dessa classe promissores para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, com potências multifacetadas, que podem atuar em diferentes mecanismos biológicos. A combinação de estruturas complexas, como o núcleo triazólico, com substituintes alquila e aromáticos, sugere que esses compostos podem ser estudados mais a fundo para otimizar sua atividade e aplicabilidade clínica, especialmente em doenças infecciosas, inflamatórias e neoplásicas. No entanto, mais pesquisas são necessárias para confirmar e explorar completamente seu potencial terapêutico (GAZOLLA, 2015; GAZOLLA et al., 2018; SILVA, 2021; EVANGELISTA, 2024).

O composto hexil 2-[4-(dietilamino)-2-hidroxibenzoil]benzoato (**6**) apresenta uma estrutura contendo grupos funcionais como benzoato, amina e fenol, sugerindo uma série de atividades biológicas potenciais. A presença do grupo 2-hidroxibenzoil confere ao composto propriedades antioxidantes, permitindo a neutralização de radicais livres e proteção celular contra danos oxidativos. Além disso, a combinação de grupos amina e fenólico pode proporcionar efeitos anti-inflamatórios, modulando a resposta inflamatória e os mediadores associados. Compostos com estruturas aromáticas semelhantes também têm sido investigados por suas propriedades fotoprotetoras, o que sugere que o hexil 2-[4-(dietilamino)-2-hidroxibenzoil]benzoato pode oferecer proteção contra danos causados pela radiação ultravioleta. Além disso, a estrutura do composto é compatível com atividades antimicrobianas, com potenciais efeitos contra diversas cepas bacterianas e fúngicas, tornando-o relevante para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (ALMEIDA & FERREIRA 2021; COSTA & LIMA 2022; SANTOS & OLIVEIRA 2023).

O composto *N*-[2-(1H-indol-3-il)etil]acetamida (**7**) mais conhecido como melatonina, é uma indolamina sintetizada principalmente pela glândula pineal a partir do aminoácido triptofano. Sua produção é regulada por estímulos luminosos, sendo liberada na corrente sanguínea em resposta à escuridão, o que a torna um marcador chave do ciclo claro-escuro e dos ritmos circadianos. Além de sua função como reguladora do sono, a melatonina exerce uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, neuroprotetoras e imunomoduladoras. Estudos recentes demonstram que a melatonina pode proteger contra danos causados por radicais livres, reduzir processos inflamatórios e modular a resposta imunológica, influenciando tanto a imunidade inata quanto a adquirida. Sua ação neuroprotetora tem sido investigada em condições como doenças neurodegenerativas,

mostrando potencial para atenuar o declínio cognitivo e melhorar a qualidade do sono em pacientes com Alzheimer. Além disso, a melatonina tem sido estudada por seus efeitos benéficos em diversas condições clínicas, incluindo distúrbios do sono, doenças cardiovasculares e metabólicas, e como potencial terapia adjuvante em tratamentos oncológicos. Sua administração exógena é geralmente bem tolerada, com poucos efeitos colaterais relatados, tornando-a uma opção terapêutica promissora em várias áreas da medicina (TAJALLI *et al.*, 2023 & JEONG *et al.*, 2024).

O composto Ácido 2-(5-metil-1-feniltriazol-4-il)acético (**8**) pertencente à classe dos derivados triazólicos, tem sido investigado por suas atividades biológicas potenciais. Estudos recentes demonstram que compostos com estrutura triazólica apresentam propriedades antioxidantes significativas, atuando na neutralização de radicais livres e na proteção celular contra danos oxidativos. Além disso, derivados triazólicos têm mostrado atividade citotóxica moderada contra linhagens de células cancerígenas, como MCF-7 (carcinoma de mama), com valores de IC₅₀ inferiores ao da cisplatina, um fármaco antitumoral comercial. Essas propriedades indicam que o ácido 2-(5-metil-1-feniltriazol-4-il)acético possui potencial terapêutico em áreas como oncologia e doenças neurodegenerativas (DIAS, 2018).

O composto *N*-[2-(5-hidroxi-1H-indol-3-il)etil]acetamida (**9**) conhecido como *N*-acetilserotonina (NAS), é um intermediário na biossíntese da melatonina a partir da serotonina. Além de sua função como precursor, NAS possui atividades biológicas próprias, destacando-se por sua ação como agonista seletivo do receptor TrkB (tropomyosin receptor kinase B), o que lhe confere propriedades neuroprotetoras. Estudos indicam que NAS pode ativar o receptor TrkB e suas vias de sinalização associadas, promovendo efeitos benéficos no sistema nervoso central, como a proteção contra a excitotoxicidade induzida por glutamato, um mecanismo envolvido em diversas doenças neurodegenerativas. Adicionalmente, NAS apresenta propriedades antioxidantes, contribuindo para a neutralização de radicais livres e a proteção celular contra o estresse oxidativo. Essas características tornam o composto um candidato promissor para o desenvolvimento de terapias voltadas para distúrbios neurológicos e doenças relacionadas ao estresse oxidativo (JAN *et al.*, 2010 & YOO *et al.*, 2017).

O composto Ácido-3-amino-4-[[1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-4-oxobutanoico (**10**) é um derivado estruturalmente relacionado ao ácido glutâmico, apresentando modificações que podem influenciar suas propriedades farmacológicas. Tais alterações estruturais são frequentemente exploradas na busca por novos agentes terapêuticos com atividades específicas, como antioxidante, neuroprotetora ou antitumoral. Estudos envolvendo derivados do ácido glutâmico modificados têm demonstrado que a introdução de grupos

funcionais adicionais pode conferir novas atividades biológicas. Por exemplo, a síntese de aminoácidos isoxazolínicos de conformação restrita, derivados do ácido glutâmico, foi realizada com o objetivo de avaliar sua atividade antitumoral. Embora os compostos sintetizados não tenham apresentado atividade inibitória significativa contra linhagens de células tumorais, os resultados sugerem que tais modificações estruturais podem ser promissoras para a investigação de atividades neurotransmissoras, dado o papel central do ácido glutâmico no sistema nervoso central. Além disso, a introdução de grupos aromáticos e amidas em aminoácidos tem sido associada à modulação da interação com receptores específicos, como os receptores GABA, potencialmente conferindo propriedades ansiolíticas ou anticonvulsivantes (SANTANA, 2011).

O composto hex-2-enoato de [3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il] (**11**) é um éster glicosídico derivado do ácido hex-2-enoico (também conhecido como ácido sorbico) e de uma hexose, possivelmente a glicose. Esse tipo de estrutura é característico de glicosídeos fenólicos, amplamente distribuídos em plantas e associados a diversas atividades biológicas, como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas. Estudos recentes demonstraram que glicosídeos contendo a unidade hex-2-enoato apresentam atividade citotóxica significativa. Por exemplo, pesquisadores isolaram um novo glicosídeo de ácido hexenoico, identificado como 6-O- β -D-glucopiranosil- β -D-glucopiranosil (E)-hex-2-enoato, a partir das folhas de *Psychotria luzoniensis*. Este composto exibiu atividade citotóxica contra células de câncer colorretal HT29, com valores de IC₅₀ variando de 1,97 a 32,85 μ M, comparáveis ao fármaco antitumoral etoposídeo (IC₅₀ = 1,19 μ M). A presença de grupos glicosídicos, como os derivados da glicose, pode influenciar significativamente a solubilidade, biodisponibilidade e interação com alvos biológicos desses compostos. Além disso, a modificação de fenóis naturais, como a introdução de grupos glicosídicos, tem sido explorada para melhorar a bioatividade de compostos fenólicos, incluindo a melhoria de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (BALTAZAR *et al.*, 2022 & NGUYEN *et al.*, 2021).

O composto Ácido Glicólico, Ácido 4-Acetilbutanoico e Ácido 4-Aminobutanoico (**12**), O ácido glicólico é um α -hidroxiácido amplamente utilizado na dermatologia por suas propriedades esfoliantes e regenerativas. Estudos demonstram que, quando ajustado para pH 4, ele estimula a produção de colágeno e a renovação epidérmica sem induzir inflamação significativa. O ácido 4-Acetilbutanoico (Glurato) conhecido como glurato, este composto é utilizado na síntese de agentes antivirais, especialmente em derivados de nucleosídeos acíclicos. Sua estrutura permite a formação de ésteres que podem atuar como pró-fármacos, facilitando a entrega de agentes terapêuticos e o Ácido 4-Aminobutanoico é um neurotransmissor inibitório

crucial no sistema nervoso central, regulando a excitabilidade neuronal. Além disso, seus derivados, como o ácido 4-acetamidobutanoico, têm sido identificados como biomarcadores em condições como doença renal crônica (NARDA, 2021). O Nonaetilenoglicol (**13**) é amplamente utilizado em ensaios biológicos e culturas celulares devido às suas propriedades surfactantes, que incluem a redução da tensão superficial, a melhora da homogeneidade das soluções e a facilitação da interação entre componentes hidrofóbicos e hidrofílicos (CHEMSRC, 2025). Apesar do seu uso consolidado em procedimentos laboratoriais, até o momento não há registros na literatura científica que comprovem o isolamento desse composto a partir de microrganismos endofíticos. Diversos estudos relatam a capacidade de microrganismos endofíticos em produzir metabólitos bioativos, como alcaloides, flavonoides e terpenoides (CASTRO, 2020), mas o Nonaetilenoglicol não figura entre os compostos isolados dessas fontes naturais. Estudos indicam que tais modificações podem melhorar a estabilidade e a eficácia de peptídeos e proteínas, ampliando suas aplicações em sistemas de liberação controlada de fármacos (SILVA *et al.*, 2012; PEREIRA, 2014).

O composto *N*-octil-3-sulfanilpropanamida (**14**), também conhecido como *N*-octyl-3-[3-(octylamino)-3-oxopropyl]sulfanylpropanamida, é uma molécula orgânica que combina uma cadeia alifática octila com um grupo sulfanilpropanamida. Sua estrutura sugere potencial para aplicações nas áreas de química medicinal e farmacêutica (PUBCHEM, 2025). Estudos com compostos contendo estruturas semelhantes indicam que derivados de sulfonamidas podem apresentar atividades biológicas relevantes. Por exemplo, derivados de sulfonamidas metoxipiridinas foram sintetizados como inibidores duais de PI3K/mTOR, demonstrando promissora atividade antitumoral. A presença de cadeias alifáticas longas, como a octila, pode aumentar a lipofilicidade da molécula, favorecendo sua interação com membranas celulares e potencializando seus efeitos biológicos. Embora a *N*-octil-3-sulfanilpropanamida ainda não tenha sido isolada de microrganismos endofíticos, sua estrutura funcional — que reúne características associadas a atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e farmacológicas — a torna um alvo interessante para futuras investigações. Até o momento, não há registros científicos que relatem sua origem natural ou biossíntese por microrganismos, incluindo endofíticos, o que reforça a necessidade de estudos adicionais para explorar suas propriedades bioativas e potenciais fontes biológicas (MOLBASE, 2025).

O composto Ácido (2*S*)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)propanoico (**15**) O composto ácido (2*S*)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)propanoico, também conhecido como ácido 3-(indol-3-il)propanoico ou ácido indol-3-propanoico (IPA), é um metabólito endógeno derivado do triptofano, produzido por algumas cepas bacterianas intestinais, como *Clostridium sporogenes*.

Este composto é absorvido pelo epitélio intestinal e exerce diversos efeitos biológicos no organismo humano (JIANG et al., 2024). O IPA demonstrou propriedades antioxidantes significativas, sendo um potente sequestrador de radicais hidroxila, superando até a melatonina nesse aspecto. Além disso, apresenta atividade neuroprotetora, inibindo a agregação de proteínas β -amiloide, um dos principais fatores patológicos na doença de Alzheimer. Estudos também sugerem que níveis elevados de IPA no plasma sanguíneo estão associados a um menor risco de diabetes tipo 2 e a uma maior ingestão de alimentos ricos em fibras. Esses efeitos podem estar relacionados à modulação da microbiota intestinal e à redução da inflamação sistêmica (PUBCHEM, 2025). Além de suas funções no sistema nervoso e no metabolismo, o IPA também influencia o desenvolvimento radicular em plantas, atuando de maneira semelhante ao fitohormônio auxina. Em modelos vegetais, o IPA regula o desenvolvimento de raízes laterais e pelos radiculares, embora também interfira em alguns processos relacionados à auxina, como a gravidade da raiz. A estrutura química do IPA é caracterizada por um núcleo indólico ligado a uma cadeia propanoica, com um grupo carboxila (-COOH) e uma amina (-NH₂), configurando-se como um aminoácido aromático. (PUBCHEM, 2025).

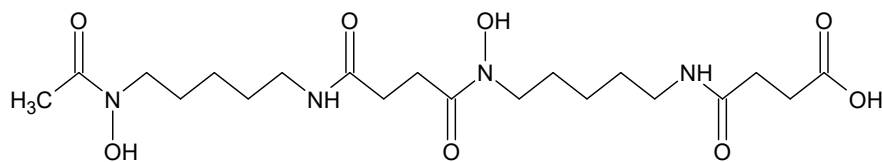
Os compostos **16, 21, 23, 29, 30, 42 e 45** pertencem à classe dos alcaloides, apresentando diversas atividades biológicas, como citotoxicidade (MENEZES, 2017), ação analgésica (FRANCO et al., 2021) e efeito antimalárico (ALMEIDA *et al.*, 2014; DEWICK, 2023).

Já os compostos **26 e 50**, classificados como peptídeos, demonstram propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anticancerígenas (KORHONEN & PIHLANTO, 2022). Os compostos **18, 19, 20, 22, 24, 25, 34, 35, 39, 40, 41, 46 e 47** são fosfolipídeos, com destaque para suas ações antioxidantes (CUI *et al.*, 2021), anti-inflamatória (KÜLLENBERG *et al.*, 2020) e neuroprotetora (VAKHAPOVA *et al.*, 2021).

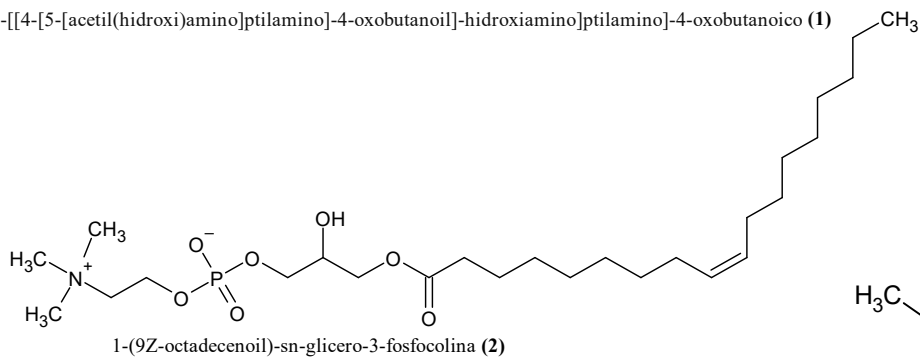
Por sua vez, os compostos **37, 38 e 48**, pertencentes ao grupo dos aminoácidos, apresentam atividades antioxidante e anti-inflamatória (LIÃO, 2021).

Os compostos **17, 36, 44 e 49**, identificados como lipídios, possuem efeitos anti-inflamatórios e contribuem para a proteção cardiovascular (CALDER, 2020). Por fim, os compostos **27, 28, 31 e 32**, integrantes da classe dos flavonoides, também se destacam pelas ações antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena.

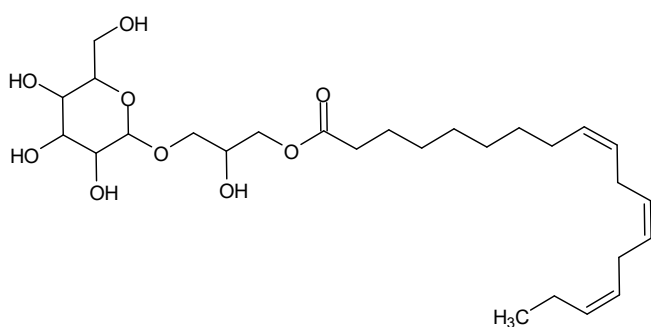
Figura 13 – Estrutura química dos compostos anotados



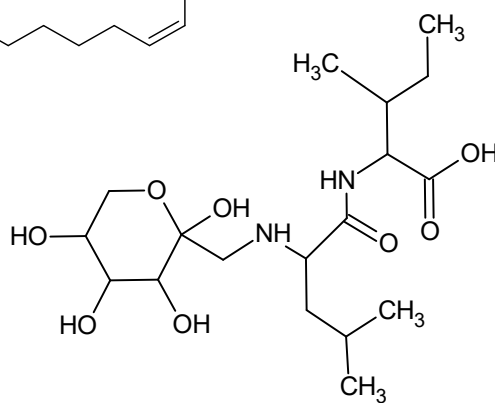
Ácido 4-[5-[4-[5-[acetil(hidroxi)amino]ptilamino]-4-oxobutanoil]-hidroxiamino]ptilamino]-4-oxobutanoico (1)



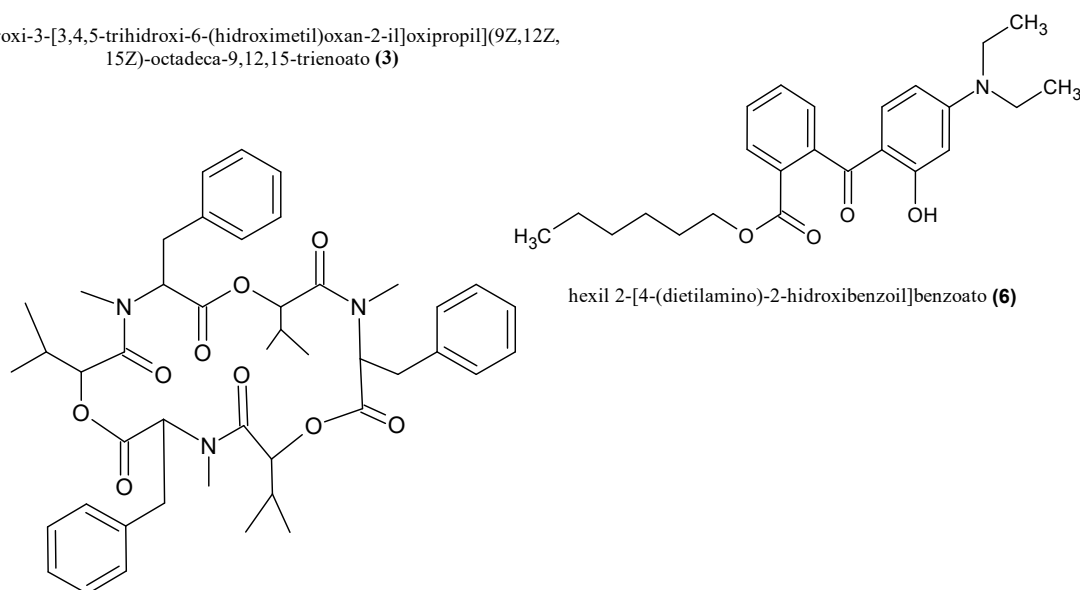
1-(9Z-octadecenoi)-sn-glicero-3-fosfocolina (2)



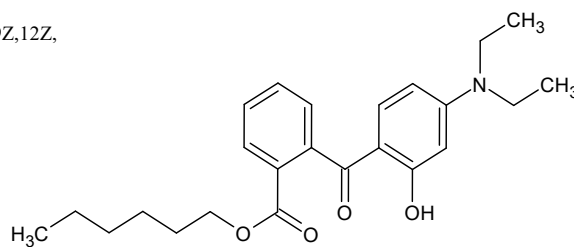
[2-hidroxi-3-[3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxipropil](9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoato (3)



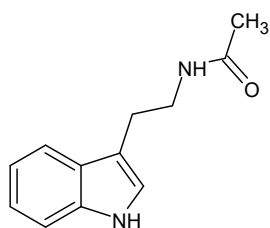
Ácido 3-metil-2-[4-metil-2-[(2,3,4,5-tetrahidroxioxan-2-il)metilamino]pentanoil]amino]pentanoico (4)



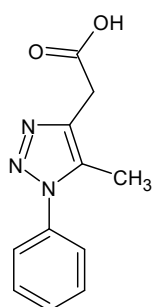
3,9,15-tribenzil-4,10,16-trimetil-6,12,18-tri(propan-2-il)-1,7,13-trioxa-4,10,16-triazaciclooctadecano-2,5,8,11,14,17-hexona (5)



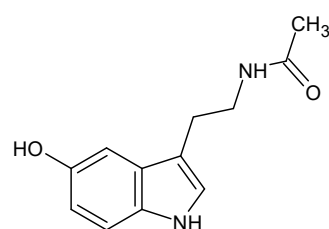
hexil 2-[4-(dietilamino)-2-hidroxi]benzoil]benzoato (6)



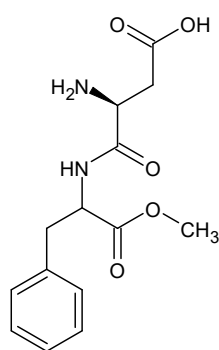
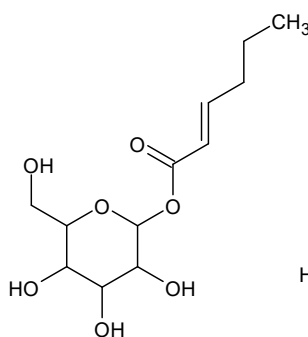
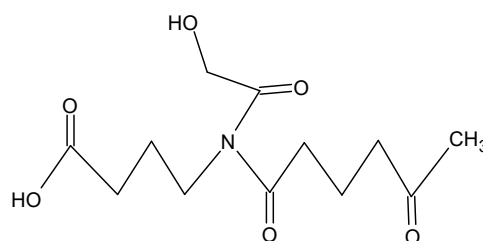
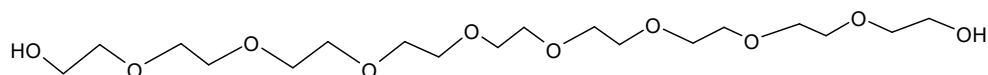
N-[2-(1H-indol-3-yl)etil]acetamida (7)



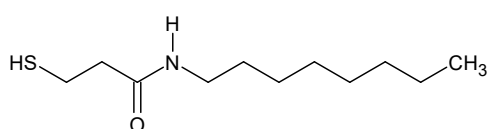
Ácido 2-(5-metil-1-feniltriazol-4-il)acético (8)



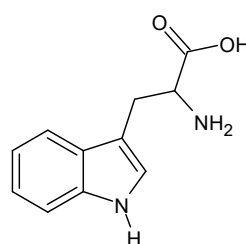
N-[2-(5-hidroxi-1H-indol-3-yl)etil]acetamida (9)

Ácido
(3S)-3-amino-4-[[1-metoxi-1-oxo-3-
-fenilpropan-2-il]amino]-4-oxobuta
noico (10)hex-2-enoato
de
[3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximet
il)oxan-2-il] (11)Ácido Glicólico, Ácido
4-Acetilbutanoico e Ácido
4-Aminobutanoico (12)

Nonaetilenoglicol (13)



N-octil-3-sulfanilpropanamida (14)



Ácido (2S)-2-amino-3-(1H-indol-3-il)propanoico (15)

Fonte: Autor, 2025.

5.4 Ensaio citotóxico

O ensaio de citotoxicidade utilizou as células HaCaT (queratinócitos humanos não tumorais) e HCT-116 (câncer de cólon). Observando os dados da tabela 3 notou-se que

nenhuma amostra apresentou citotoxicidade, já que para ser considerada citotóxica a fração precisaria causar 20% de morte celular em relação ao controle negativo (DMSO). O paclitaxel, controle positivo, induziu 95% de morte celular. As frações e microrganismos testados foram seguros para as duas linhagens celulares, indicando potencial de uso nas áreas farmacêutica e agrícola.

Tabela 4. Resultados do ensaio de citotoxicidade das sub-frações

Fração	Morte celular (%) a 4,5 μg/mL ou 4,5 μM*		Linhagem EC ₅₀ (g/mL)		
	HaCaT %	HCT-116 %	HaCaT	HCT-116	(IS)
1 Branco	0	1	> 39.8E-06	> 39.8E-06	N.D.
2 SFr1	0	3	> 39.8E-06	> 39.8E-06	N.D.
3 SFr2	0	0	> 39.8E-06	> 39.8E-06	N.D.
4 SFr3	0	11	> 39.8E-06	> 39.8E-06	N.D.
5 SFr4	0	0	> 39.8E-06	> 39.8E-06	N.D.
6 Fr-80%	0	0	> 39.8E-06	> 39.8E-06	N.D.
7 Paclitaxel	97	95	2,7E-09	2,5E-09	1,1

(EC₅₀) concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo; (IS) índice de seletividade inicial; (ND) não determinado.

Fonte: Autor, 2025.

As análises de citotoxicidade realizadas com as subfrações obtidas da fração metanólica a 80% demonstraram ausência de atividade citotóxica significativa nas concentrações testadas (4,5 μg/mL ou 4,5 μM) frente às linhagens celulares humanas HaCaT (queratinócitos) e HCT-116 (carcinoma colorretal). Os valores de EC₅₀ (concentração efetiva para 50% de inibição) foram superiores a 39,8 μg/mL para todas as subfrações, indicando baixa ou nenhuma toxicidade nas condições experimentais. Em contraste, o paclitaxel — utilizado como controle positivo — apresentou elevada citotoxicidade, com EC₅₀ de 2,7 ng/mL para HaCaT e 2,5 ng/mL para HCT-116, confirmando sua potente ação antiproliferativa (VU *et al.*, 2023).

Embora as subfrações não tenham apresentado toxicidade nas condições avaliadas, diversos fungos são conhecidos por produzir metabólitos secundários com propriedades antitumorais. O paclitaxel, originalmente isolado da planta *Taxus brevifolia*, também é sintetizado por fungos endofíticos como *Taxomyces andreanae*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. e *Alternaria* spp., sendo um exemplo clássico de metabólito fúngico com ação anticâncer (ISMAIEL *et al.*, 2017; VU *et al.*, 2023).

Outro composto fúngico de relevância é a fumonisina B₁, micotoxina produzida por espécies do gênero *Fusarium*, como *F. verticillioides* e *F. moniliforme*. Apesar de seu conhecido potencial tóxico, a fumonisina B₁ tem sido estudada por seus efeitos antitumorais, especialmente contra o câncer hepático. Esse efeito se deve à sua capacidade de inibir a enzima ceramida sintase, essencial na biossíntese de esfingolípídios, o que pode induzir apoptose em células neoplásicas (ZHANG et al., 2022).

A lacase, uma enzima oxidativa amplamente produzida por basidiomicetos como *Trametes versicolor*, também tem demonstrado atividade antitumoral. Estudos indicam que a lacase pode inibir a proliferação de células tumorais de pulmão e mama, promovendo apoptose e alterando vias de sinalização celular associadas ao crescimento e sobrevivência das células cancerígenas (LI et al., 2020).

Adicionalmente, a griseofulvina, um metabólito secundário isolado de *Penicillium griseofulvum* e amplamente utilizada como antifúngico, também tem demonstrado efeitos citotóxicos em modelos de câncer hepático e de próstata. A griseofulvina atua por meio da indução de parada do ciclo celular e apoptose, sendo considerada um candidato promissor para aplicações oncológicas (ZHU et al., 2021).

Esses exemplos reforçam o potencial de microrganismos fúngicos como fontes de novos compostos bioativos, com implicações terapêuticas significativas para o desenvolvimento de agentes antitumorais inovadores

5.5 Ensaio antibacteriano

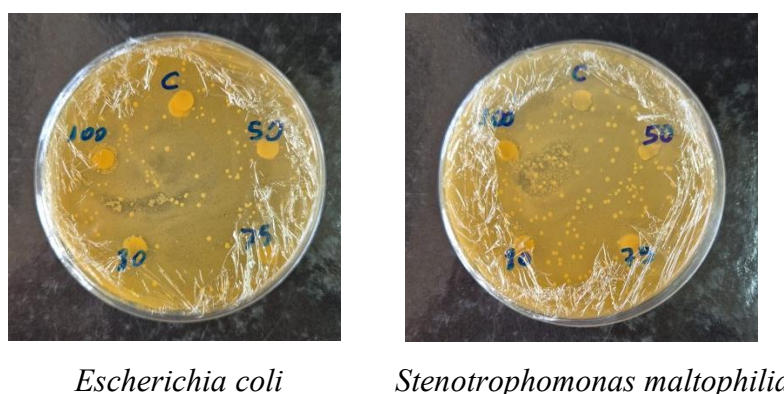
Em relação à atividade antibacteriana, testou-se as frações frente às bactérias gram-negativas *Escherichia coli* e *Stenotrophomonas maltophilia*. A crescente resistência da *Escherichia coli* a antibióticos tem se tornado uma séria ameaça à saúde pública global, sendo destacada por organismos internacionais como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). Estudos recentes apontam que cepas de *E. coli* têm apresentado resistência a medicamentos amplamente utilizados, como ampicilina, cefalosporinas de terceira geração, fluoroquinolonas e carbapenêmicos, comprometendo o tratamento de infecções urinárias, gastrointestinais e até sistêmicas (WHO, 2023; CDC, 2023).

A *Stenotrophomonas maltophilia* é uma bactéria gram-negativa, em forma de bacilo, não fermentadora de glicose, que tem se destacado como um importante patógeno oportunista, especialmente em ambientes hospitalares. Sua capacidade de aderir e persistir em superfícies de dispositivos médicos, como cateteres e ventiladores mecânicos, além de provocar infecções

em pacientes imunocomprometidos ou submetidos a longos períodos de internação, torna-a um agente de preocupação crescente nos ambientes clínicos. Um dos principais desafios relacionados a essa bactéria é sua resistência intrínseca e adquirida a uma ampla variedade de antimicrobianos, o que restringe consideravelmente as opções terapêuticas disponíveis. Embora ainda relativamente subexplorada em comparação a outros patógenos multirresistentes, a *Stenotrophomonas maltophilia* foi recentemente incluída pela Organização Mundial da Saúde (OMS) na lista de patógenos emergentes prioritários, em razão de sua relevância clínica e aumento progressivo da incidência. O tratamento padrão envolve a administração de trimetoprima-sulfametoxazol, uma associação de fármacos pertencentes às classes dos éteres fenólicos e das sulfonamidas, considerada eficaz frente à maioria das cepas. No entanto, evidências recentes vêm sinalizando o surgimento de isolados resistentes a essa combinação, o que agrava ainda mais o cenário terapêutico e evidencia a necessidade urgente de novos estudos e estratégias antimicrobianas (MOJICA *et al.*, 2022; SAID; TIRTHANI; LESHO, 2024).

Na avaliação da atividade antimicrobiana das frações obtidas a partir dos cultivos fúngicos, observou-se que, nas concentrações de 20 mg/mL e 40 mg/mL, nenhuma das amostras testadas apresentou efeito inibitório frente às bactérias *Stenotrophomonas maltophilia* e *Escherichia coli*, conforme demonstrado na Figura 14 e nas Tabelas 4 e 5. Todas as frações, independentemente do percentual de pureza (50% a 100%), resultaram em ausência de halo de inibição, caracterizando uma atividade antimicrobiana nula contra as cepas testadas.

Figura 14 – Ensaio antibacteriano contra *Stenotrophomonas maltophilia* e *Escherichia coli*



Fonte: Autor, 2025.

Tabela 5. Atividade antibacteriana qualitativa das frações obtidas do cultivo do fungo na concentração de 20 e 40mg/mL

Frações	Concentração (mg/mL)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
DMSO	20 / 40	- / -	- / -
Fr 100%	20 / 40	- / -	- / -
Fr 80%	20 / 40	- / -	- / -
Fr 75%	20 / 40	- / -	- / -
Fr 50%	20 / 40	- / -	- / -

(-) não houve inibição; (+) pouca inibição; (++) houve inibição; (+++) inibição considerável.

Fonte: Autor, 2025.

Esse resultado pode ser atribuído a diversos fatores relacionados tanto à composição química das frações quanto às características intrínsecas das bactérias-alvo. *Escherichia coli*, por ser uma bactéria gram-negativa, possui uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos, que confere baixa permeabilidade a diversas substâncias, dificultando a ação de compostos antimicrobianos (NIKAIDO, 2003). *Stenotrophomonas maltophilia*, por sua vez, é uma bactéria oportunista emergente, amplamente resistente, com múltiplos mecanismos de defesa, incluindo bombas de efluxo e enzimas inativadoras de antibióticos, o que reduz significativamente a eficácia de compostos naturais com potencial antimicrobiano (BROOKE, 2012).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fungos endofíticos isolados da planta *Cochlospermum regium*, popularmente conhecida como algodãozinho-do-cerrado, evidenciaram um potencial expressivo no controle biológico do fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal do mofo branco. Tal capacidade foi observada a partir da realização de confrontos diretos, nos quais se constatou a eficiência dos endófitos em inibir o crescimento e a proliferação do patógeno, indicando, assim, a possibilidade de seu uso como uma estratégia sustentável no manejo de doenças agrícolas.

Dentre os isolados avaliados (Cr-1, Cr-11, Cr-12, Cr-23, Cr-27 e Cr-32), destacaram-se os fungos endofíticos identificados como Cr-11 e Cr-12, os quais exibiram os maiores índices de inibição contra *Sclerotinia sclerotiorum*, atingindo percentuais de inibição de 85,25% e

78,10%, respectivamente. Esses dados apontam para o potencial desses isolados como biofungicidas naturais, incentivando investigações adicionais para validar sua eficácia em condições de campo.

Por meio da construção de redes moleculares utilizando a plataforma GNPS2, foram anotados 51 compostos em diferentes níveis de identificação. Dentre esses, foi possível sugerir, 15 compostos com estrutura química, classificados no nível 2, (Ácido 4-[5-[[4-[5-[acetil(hidroxi)amino]ptilamino]-4-oxobutanoil]-hidroxiamino]ptilamino]-4-oxobutanoico) **(1)**, 1-(9Z-octadecenoil)-sn-glicero-3-fosfocolina) **(2)**, (2-hidroxi-3-[3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxipropil](9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoato) **(3)**, Ácido 3-metil-2-[[4-metil-2-[(2,3,4,5-tetrahidroxioxan-2-il)metilamino]pentanoil]amino]pentanóico **(4)**, (2,3,4,5-tetra-hidroxioxan-2-il]metilamino]pentanoil]amino]pentanóico, 3,9,15-tribenzil-4,10,16-trimetil-6,12,18-tri(propan-2-il)-1,7,13-trioxa-4,10,16-triazaciclooctadecano 2,5,8,11,14,17-hexona) **(5)**, (hexil 2-[4-(dietilamino)-2-hidroxibenzoil]benzoato) **(6)**, *N*-[2-(1*H*-indol-3-il)etil]acetamida **(7)**, Ácido 2-(5-metil-1-feniltriazol-4-il)acético **(8)**, *N*-[2-(5-hidroxi-1*H*-indol-3-il)etil]acetamida **(9)**, Ácido-3-amino-4-[-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-4-oxobutanóico **(10)**, hex-2-enoato de [3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il] **(11)**, Ácido *N*-(1-carbóxi-2-hidroxi-etil)-*N*-octanoilglutâmico **(12)**, Ácido *N*-(1-carboxi-2-hidroxi-etil)-*N*-octanoilglutâmico **(13)**, *N*-octil-3-sulfanilpropanamida **(14)** e Ácido (2*S*)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)propanoico **(15)** e a classe de 36 compostos, os quais foram classificados nos níveis 4 ou 5 de anotação. Esses achados reforçam a diversidade metabólica dos fungos endofíticos avaliados e a potencialidade de seus metabólitos secundários.

Por fim, os resultados demonstram que a ausência de citotoxicidade contra linhagens de células humanas reforça o potencial dos microrganismos estudados como agentes de biocontrole. Os ensaios de citotoxicidade, utilizados para avaliar possíveis efeitos tóxicos em células humanas, são fundamentais para garantir a segurança no uso de produtos biológicos. Assim, a inexistência de toxicidade observada confirma a viabilidade do uso desses fungos endofíticos como alternativas sustentáveis para o manejo de fitopatógenos e para futuras aplicações biotecnológicas. No que se refere à atividade antimicrobiana, verificou-se que as frações obtidas a partir dos cultivos fúngicos, nas concentrações de 20 e 40 mg/mL, não apresentaram efeito inibitório frente às bactérias *Stenotrophomonas maltophilia* e *Escherichia coli*, o que indica a necessidade de estudos adicionais para melhor compreensão de sua atuação frente a diferentes microrganismos.

REFERÊNCIAS

- ADELEKE, B. S.; BABALOLA, O. O. Pharmacological potential of fungal endophytes associated with medicinal plants: a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1-18, 2021.
- AL HUSNAIN, M. et al. Fungi as nutrient recyclers in ecosystems: An overview. **Environmental Microbiology Reports**, v. 15, n. 3, p. 112-127, 2023a.
- AL HUSNAIN, M. et al. Endophytic fungi as biocontrol agents: a sustainable approach for crop protection. **Microbiological Research**, v. 265, p. 127233, 2023b.
- ALAM, M. Z. et al. Secondary metabolites from endophytic fungi and their biological activities. **Microbial Biotechnology**, v. 14, p. 1356-1380, 2021.
- ALBERTO, P. R.; SILVA, E. P.; PINHEIRO, J. L. Aplicação de sequenciamento de DNA para identificação de fungos endofíticos: análise da região ITS. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 42, n. 1, p. 12-19, 2011.
- ALEXANDER, T. M. et al. Integrated management of *Sclerotinia sclerotiorum*: recent advances and future perspectives. **Plant Disease**, St. Paul, v. 106, n. 5, p. 1220-1230, 2022. DOI: 10.1094/PDIS-06-21-1193-FE.
- AL-HARTHI, H. S. et al. Fungal diversity and their ecological roles in nutrient cycling. **Journal of Mycology**, v. 23, n. 4, p. 215-230, 2023.
- ALMEIDA, A.; FERREIRA, L. Propriedades antioxidantes de compostos aromáticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 12, n. 3, p. 150-162, 2021.
- ALVES, F.; MORAIS, L. **Biodiversidade e recursos naturais do Cerrado**. Brasília: Editora Cerrado, 2019.
- ALY, A. H. et al. Microbial endophytes: sources of bioactive compounds with potential therapeutic applications. **Fungal Diversity**, v. 50, p. 3-25, 2011.
- ANDRADE, M. T. et al. Secondary metabolites of fungi: Roles in ecological interactions and biotechnology applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, n. 2, p. 321-345, 2023a.
- ANDRADE, G. et al. Endophytic fungi: biological potential and applications in biotechnology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, p. 1-19, 2023b.
- ARON, A. et al. Redes moleculares em espectrometria de massas: Análise de dados espectrais. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 123-130, 2020.
- ARRIEL-ELIAS, M. et al. Identificação de compostos bioativos a partir de espectros de massas. **Journal of Molecular Biology**, v. 48, n. 2, p. 89-95, 2023.
- ARRUDA, J. T. et al. Isolamento e caracterização de fungos endofíticos de *Cochlospermum regium* e suas atividades biológicas. **Revista Brasileira de Fitoquímica**, v. 19, p. 135-146, 2022.

- ARUNACHALAM, S. et al. *Cochlospermum regium*: uma planta medicinal com propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias. **Journal of Medicinal Plants**, v. 22, n. 3, p. 150-165, 2019.
- AZEVEDO, J. et al. Fungos endofíticos e suas interações com fitopatógenos: Mecanismos e aplicações. **Journal of Fungal Biology**, v. 25, n. 1, p. 48-56, 2002.
- AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos: interações com plantas, patógenos e herbívoros. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 67, n. 4, p. 551-559, 2007.
- BANSAL, K. et al. Endophytic fungi as potential biocontrol agents: A new paradigm in agriculture. **Biotechnology Advances**, v. 55, p. 107-123, 2023.
- BALTAZAR, K. N. G. et al. A new hexenoic acid glycoside with cytotoxic activity from the leaves of *Psychotria luzoniensis*. **Natural Product Research**, v. 36, n. 3, p. 390–396, 2022. Disponível em: . Acesso em: 1 maio 2025.
- BDTA. **Banco de Dados de Teses e Artigos sobre resistência antimicrobiana**. Disponível em: <https://bdta.saude.gov.br/>. Acesso em: 20 mar. 2024.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. *Sclerotinia sclerotiorum*: Impactos na agricultura e estratégias de controle. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-101, 1994.
- BOLTON, M. D.; LIU, Z. H.; ZHOU, T.; GONÇALVES, S. Epidemiology and management of *Sclerotinia sclerotiorum* in crop plants. **Phytopathology**, v. 96, p. 1480-1488, 2006.
- BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima**. O Cerrado e sua biodiversidade. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/mma>. Acesso em: 20 mar. 2024.
- BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente**. Os biomas do Brasil: Cerrado. Brasília: **Ministério do Meio Ambiente**, 2022. Disponível em: <www.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acesso em: 23 mar. 2025.
- BROOKE, J. S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 25, n. 1, p. 2–41, 2012.
- CAJKA, T.; FIEHN, O. Toward Merging Untargeted and Targeted Methods in Mass Spectrometry-Based Metabolomics and Lipidomics. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 524–545, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04491>.
- CALDER, P. C. Omega-3 fatty acids and inflammation. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1-20, 2020.
- CAMILLO, E. et al. Fungos endofíticos de plantas medicinais: diversidade e potencial biotecnológico. **Revista Brasileira de Biotecnologia**, v. 19, n. 2, p. 89-101, 2018.
- CARVALHO, L. M. et al. Diversity and classification of fungi: Insights into molecular phylogenetics. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 4, p. 235-250, 2018a.

CARVALHO, C. et al. Propriedades terapêuticas de *Cochlospermum regium* no tratamento de afecções da pele e infecções. **Brazilian Journal of Phytomedicine**, v. 15, n. 4, p. 210-219, 2018b.

CASTRO, P. L. S. Produção de metabólitos bioativos por microrganismos endofíticos: perspectivas para o desenvolvimento de agentes antimicrobianos. 2020. 122 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2020. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64133/tde-13112018-144821/pt-br.php>. Acesso em: 25 maio 2025.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2023. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2023-ar-threats-report.pdf>. Acesso em: 2 maio 2025.

CHAER, M.; SILVA, A. P.; SOUZA, F. J. Uso de plantas medicinais no Cerrado: um estudo sobre as propriedades terapêuticas. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 40, n. 3, p. 235-248, 2023.

CHAPLA, A. P. et al. Análise de compostos bioativos de plantas através de cromatografia líquida. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 49, n. 2, p. 203-211, 2013.

CHAPLA, V. M. et al. Fungal bioactive compounds: Potential sources for novel antibiotics and immunosuppressants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 5, p. 1345-1360, 2018.

CHEMSRC. Nonaethylene glycol | CAS#: 3386-18-3. Disponível em: https://www.chemsrc.com/en/cas/3386-18-3_756684.html. Acesso em: 22 maio 2025.

CHEN, H. et al. Controle biológico de fitopatógenos: Perspectivas e avanços. **Plant Disease Management**, v. 38, n. 1, p. 42-50, 2016.

COSTA, Maria. **Avanços no uso de plataformas digitais na análise de dados espectrométricos**. *Jornal de Tecnologias Computacionais*, v. 10, n. 2, p. 50-62, 2023.

CUI, Y. et al. Effects of phospholipids on oxidative stress and their potential applications. **Food & Function**, [S.l.], v. 12, n. 4, p. 1357–1365, 2021. DOI: 10.1039/D0FO02954C. Acesso em: 2 maio 2025.

DALL'ACQUA, S. et al. Aplicações medicinais de *Cochlospermum regium* na medicina tradicional africana. **African Journal of Medicinal Plants**, v. 28, p. 122-130, 2020.

DANTAS, R. et al. Fungos endofíticos associados a *Cochlospermum regium*: atividades antioxidantes e aleloquímicas. **Journal of Fungal Research**, v. 18, n. 2, p. 98-107, 2023.

DAVIS, E. W.; WEATHERHEAD, M. A.; KOIDE, R. T. Mutualistic interactions between endophytic fungi and plants: an ecological perspective. **Journal of Fungal Biology**, v. 30, p. 456-472, 2023.

DE MELO, J. F.; MARTINS, L. P. Biodiversidade do Cerrado: Uma abordagem sobre plantas medicinais e seu uso sustentável. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 43, n. 2, p. 123-145, 2020.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 4. ed. Chichester: Wiley, 2023.

DIAS, Maria Cecília Fernandes. Síntese e avaliação de bioatividades de derivados triazólicos de benzofenonas hidroxiladas. 2018. 268 f. Tese (Doutorado em Agroquímica) –Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018. Disponível em: <https://locus.ufv.br/handle/123456789/29007>. Acesso em: 1 maio 2025.

DOS SANTOS, A. et al. A biodiversidade do Cerrado e seus recursos naturais. **Revista de Ecologia Brasileira**, v. 15, n. 4, p. 104-118, 2020.

DURAND, G.; RAOULT, D.; DUBOURG, G. Advances in fungal infection treatments: A review of new antifungal agents and resistance mechanisms. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 4, p. e00056-19, 2019.

EMBRAPA. *Espécies do Cerrado: importância e conservação*. Brasília, DF: **Embrapa Cerrados**, 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cerrados>. Acesso em: 30 abr. 2025.

EMILIANO, R. C. Caracterização de *Sclerotinia sclerotiorum* e seus impactos econômicos nas principais culturas agrícolas. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 42, p. 115-121, 2020.

FAETH, S. H.; SAARI, S. The role of endophytic fungi in plant ecology: interactions, biodiversity, and ecosystem function. **Fungal Ecology**, v. 5, p. 89-98, 2012.

FELIX, J. L. Importância ecológica dos fungos endofíticos e suas aplicações biotecnológicas. **Ciência & Tecnologia**, v. 7, n. 1, p. 13-25, 2019a.

FÉLIX, C. P. Endofíticos: diversidade, funções e aplicações biotecnológicas. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019b.

FERNANDES, G. W. Fungos endofíticos e suas interações com plantas hospedeiras. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 75, p. 112-130, 2015.

FRANCO, D. et al. Propriedades anti-inflamatórias de carboidratos. **International Journal of Inflammation**, v. 10, p. 65-72, 2021.

GALVÃO, M. et al. Estudo fitoquímico e farmacológico de *Cochlospermum regium*: uma planta medicinal promissora. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 34, p. 200-210, 2023.

GALVÃO, M. et al. Propriedades farmacológicas de *Cochlospermum regium* e sua aplicação na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 30, n. 2, p. 88-95, 2020.

GAZOLLA, F. et al. Análise química de compostos triazólicos com atividade anti-inflamatória. **Brazilian Journal of Organic Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 1305-1312, 2015.

GAZOLLA, F. et al. Propriedades farmacológicas de compostos heterocíclicos. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 9, p. 3567-3575, 2018.

GNPS2. *Global Natural Products Social Molecular Networking 2*: plataforma de análise espectrométrica. Disponível em: <https://gnps.ucsd.edu>. Acesso em: 23 mar. 2025.

GOMES, M.; SANTOS, F. L. Fungos endofíticos: potenciais fontes de novos metabólitos bioativos. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 53, n. 4, p. 122-138, 2022.

GRABKA, J. et al. Fungal biocontrol agents: Sustainable solutions for plant disease management. **Agriculture and Environment**, v. 45, n. 1, p. 101-119, 2022a.

GRABKA, M. et al. Endophytic fungi and their metabolites: potential applications in agriculture and medicine. **Biotechnology Advances**, v. 54, p. 107856, 2022b.

GRABKA, D. et al. Fungos endofíticos como agentes de biocontrole de fitopatógenos. **Journal of Agricultural Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 330-338, 2022c.

GUPTA, R. K. et al. Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance and potential industrial applications. **Fungal Biology Reviews**, v. 34, p. 1-19, 2020.

HESHAM, A. et al. The significance of fungi in medicine, agriculture, and biotechnology. **Mycological Research**, v. 124, n. 6, p. 567-582, 2020.

HUANG, C. et al. Estudos sobre a inibição de fitopatógenos com fungos endofíticos. **Phytopathology Research Journal**, v. 34, n. 6, p. 415-423, 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. O Cerrado brasileiro e suas características. Brasília, 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 mar. 2024.

INVITROGEN. Protocolos de análise de células aderentes HaCat e HCT-116 por microscopia. 2020. Disponível em: <https://www.invitrogen.com/protocols>. Acesso em: 23 mar. 2025.

ISMAIEL, A. A. et al. Fungus-derived paclitaxel: Isolation, production, and its anticancer properties. **Journal of Fungal Research**, 2017.

JANG, S.-W. et al. N-acetylserotonin activates TrkB receptor in a circadian rhythm. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 8, p. 3876-3881, 2010. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/107/8/3876>. Acesso em: 1 maio 2025.

JEONG, H. et al. Could Melatonin Protect Your Eyes as You Get Older?. *Verywell Health*, 2024. Disponível em: https://www.verywellhealth.com/could-melatonin-protect-your-eyes-as-you-get-older-8693661?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 1 maio 2025.

JIANG, J. et al. The gut metabolite indole-3-propionic acid activates ERK1 to restore social function and hippocampal inhibitory synaptic transmission in a 16p11.2 microdeletion mouse model. *Microbiome*, v. 12, p. 66, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01755-7>. Acesso em: 1 maio 2025.

- KABBAGE, M.; RICHARDSON, E. A.; HERTWECK, C. *Sclerotinia sclerotiorum*: Pathogenesis, molecular mechanisms, and strategies for control. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2015.
- KAUL, S. et al. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure trove of bioactive secondary metabolites. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 4, p. 487-505, 2012.
- KAUL, S. et al. Endophytic fungi: Metabolites and applications in biotechnology. **Microbiological Research**, v. 167, n. 9, p. 487-495, 2012.
- KORHONEN, H.; PIHLANTO, A. Bioactive peptides: Production and potential health effects. **Current Pharmaceutical Design**, [S.l.], v. 28, n. 2, p. [número de páginas], 2022.
- KOUR, D. et al. Role of endophytic fungi in plant health improvement and stress tolerance: an overview. **Fungal Biology Reviews**, v. 37, p. 100-120, 2023.
- KÜLLENBERG, D. et al. Health effects of dietary phospholipids. **Lipids in Health and Disease**, [S.l.], v. 11, n. 3, p. 1-9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-3>. Acesso em: 2 maio 2025.
- KUMAR, S. et al. Endophytic fungi: untapped potential for biotechnology and molecular studies. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, p. 1-19, 2020a.
- KUMAR, R. et al. Fungal metabolites in medicine: An untapped resource for novel drug discovery. **Journal of Fungal Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 87-104, 2020b.
- KUMARI, S. *et al.* Amylolytic and cellulolytic activities of endophytic fungi from *Bixa orellana* L. **International Journal of Botany Studies**, Delhi, v. 6, n. 3, p. 137-143, 2021. Disponível em: <https://www.botanyjournals.com/assets/archives/2021/vol6issue3/6-3-137-237.pdf>. Acesso em: 2 maio 2025.
- LATZ, M. A. et al. Fungal endophytes in agriculture: role in plant growth, stress tolerance, and disease resistance. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1-10, 2018.
- LEMOS, A.; PEREIRA, R. Potenciais terapêuticos de compostos fenólicos e ácidos graxos. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, n. 2, p. 502-510, 2022.
- LI, S. et al. Espectrometria de massas e a identificação de compostos bioativos em fungos do filo Ascomycota. **Fungal Biology Review**, v. 14, n. 3, p. 218-226, 2024.
- LI, Y. et al. Antitumoral activity of laccase from *Trametes versicolor* on lung and breast cancer cells. **Fungal Biotechnology**, 2020.
- LI, Y. et al. Phylogenetic classification and taxonomy of fungi: Updates and perspectives. **Fungal Diversity**, v. 112, n. 1, p. 123-140, 2021.
- LIAO, L. *et al.* Amino acids and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 344, p. 128621, 2021.

- LLERAS, C. A presença de *Cochlospermum regium* nos biomas brasileiros e suas implicações ambientais. **Journal of Biogeography**, v. 12, p. 80-85, 2024.
- LLERAS, C. Distribuição geográfica de *Cochlospermum regium* no Brasil e sua importância ecológica. **Revista Brasileira de Ecologia**, v. 10, n. 4, p. 150-158, 2016.
- LOPES, M. et al. Antagonismo de fungos endofíticos contra fitopatógenos. **Journal of Microbial Biotechnology**, v. 36, n. 5, p. 740-748, 2017.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. v. 1.
- LUCENA, R. Agricultural fungicides and antifungal resistance: A growing concern. **Journal of Agricultural Science**, v. 98, n. 3, p. 201-215, 2022.
- LUCENA, R. Resistência de *Aspergillus fumigatus* a triazóis: impacto ambiental e clínico. **Revista Brasileira de Micologia Médica**, v. 28, n. 3, p. 145-159, 2022.
- MANICI, L. et al. Fungal endophytes in plant tissues: Ecological interactions and potential applications. **Fungal Ecology**, v. 58, p. 101-118, 2023.
- MARIANO, R. L. Métodos para estudo de antagonismo de fungos fitopatogênicos in vitro. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 1993, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1993. p. 15-20.
- MARTELLI, A.; RODRIGUES ALVARENGA, A. F.; SAMUDIO, L. Diversidade do Cerrado e suas áreas de transição. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 19, n. 1, p. 45-59, 2023.
- MELO, L. N. et al. Biologia e manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* em culturas de inverno. **Cadernos de Agroecologia**, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2021. Disponível em: <https://cadernos.aba-agroecologia.org.br>. Acesso em: 30 abr. 2025.
- MENEZES, S. Propriedades anti-inflamatórias e citotóxicas de carboidratos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 2, p. 92-98, 2017.
- MICROBEMASST. **MicrobeMASST**. 2024. Disponível em: <https://www.microbemasst.org>. Acesso em: 23 mar. 2025.
- MIRANDA PEDROSO, A. et al. Compostos fenólicos e flavonoides de *Cochlospermum regium*: uma análise fitoquímica. **Phytochemical Analysis**, v. 21, p. 110-118, 2019.
- MOHAMED, A. H. et al. Diversity and bioactive potential of fungal endophytes from medicinal plants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 135, p. 1121-1134, 2023.
- MOJICA, M. F. et al. Clinical challenges treating *Stenotrophomonas maltophilia* infections: an update. **JAC-Antimicrobial Resistance**, v. 4, n. 3, p. dlac040, 1 jun. 2022.
- MOLBASE. *N-octyl-3-[[3-(octylamino)-3-oxopropyl]disulfanyl]propanamide*. 2025. Disponível em: <https://www.molbase.com/cas/33312-01-5.html>. Acesso em: 25 maio 2025.

- MONTEL, C. et al. Fungal endophytes of medicinal plants: a sustainable source of bioactive compounds. **Biotechnology Advances**, v. 50, p. 107-120, 2021.
- MONTEL, M. et al. Endophytic fungi: An overview of their diversity and applications. **Mycological Progress**, v. 20, n. 5, p. 601-620, 2021.
- MORAES, D. L.; SILVA, A. T.; SOUZA, F. C. Isolamento e caracterização de cepas fúngicas endofíticas de *Cochlospermum regium*. **Journal of Fungal Research**, v. 45, p. 301-309, 2023.
- MORAES, R. et al. Atividade antagonista de fungos endofíticos isolados de *C. regium* contra fitopatógenos. **Journal of Agricultural Research**, v. 18, n. 3, p. 225-231, 2023.
- MUELLER, G. M. et al. Threats to fungal diversity: Conservation strategies and research priorities. **Conservation Biology**, v. 36, n. 3, p. 412-429, 2022.
- NARANJO-ORTIZ, M. A.; GABALDÓN, T. Fungal phylogenomics and evolution: A comprehensive perspective. **Annual Review of Microbiology**, v. 73, p. 327-346, 2019.
- NARDA, M. et al. Glycolic acid adjusted to pH 4 stimulates collagen production and epidermal renewal without affecting levels of proinflammatory TNF-alpha in human skin explants. *Journal of Cosmetic Dermatology*, [S.l.], v. 20, n. 2, p. 513-521, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32583600>. Acesso em: 22 maio 2025.
- NGUYEN, H. V. H. et al. Glycosylation of phenolic compounds: synthesis, characterization, and biological activity. *Molecules*, v. 26, n. 19, p. 5958, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8467377>. Acesso em: 1 maio 2025.
- NIC LUGHADHA, E. et al. Extinction risk and threats to plant and fungal species worldwide. **Nature Ecology & Evolution**, v. 4, p. 1015-1023, 2020.
- NIKAIDO, H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 67, n. 4, p. 593-656, 2003. DOI:10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003.
- NOGUEIRA, J. et al. Endophytic fungi: Diversity and potential applications in biotechnology. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 45-67, 2024.
- NOGUEIRA, V. et al. A diversidade dos fungos endofíticos e sua relevância ecológica. **Microbial Ecology**, v. 85, p. 112-128, 2024.
- OLIVEIRA, F. et al. Desmatamento e impactos ambientais no Cerrado: uma análise crítica. **Revista de Meio Ambiente**, v. 29, n. 2, p. 111-123, 2020.
- OLIVEIRA, F. et al. Propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias de *Cochlospermum regium* no tratamento de infecções ginecológicas. **Brazilian Journal of Gynecology**, v. 45, p. 25-31, 2020.
- OLIVEIRA, L.; FREITAS, R. Fungos endofíticos e suas aplicações na biotecnologia ambiental. **Revista de Biotecnologia Aplicada**, v. 18, n. 1, p. 35-49, 2020.

OLIVEIRA, R.; FREITAS, M. Fungal secondary metabolites and their biotechnological potential. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 5, p. 1347-1361, 2020.

OLIVEIRA, T. et al. Secondary metabolites of endophytic fungi: sources of new bioactive compounds. **Journal of Fungal Research**, v. 15, n. 2, p. 97-110, 2022.

OMOMOWO, O. et al. Fungi in ecosystems: Ecological roles and applications in biotechnology. **Fungal Biology Reviews**, v. 42, p. 79-98, 2023.

OMOMOWO, O. I. et al. Endophytic fungi: interactions, ecological significance, and applications in agriculture and medicine. **Microbial Ecology**, v. 85, p. 1-19, 2023.

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. Resistência antimicrobiana: um desafio global. Disponível em: <https://www.paho.org>. Acesso em: 20 mar. 2024.

PAHO – Pan American Health Organization. Antimicrobial resistance and fungal infections. Disponível em: <https://www.paho.org>. Acesso em: 20 mar. 2024.

PANDI, A. *et al.* Production of antioxidant pigment by endophytic *Fusarium verticillioides* isolated from *Bixa orellana* leaves. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7782618>. Acesso em: 2 maio 2025.

PATEL, J. H. *et al.* Antibacterial potential of endophytic fungi from *Bixa orellana*. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy Sciences**, Hyderabad, v. 10, n. 1, p. 10–13, 2022. Disponível em: <https://jpps.ukaazpublications.com/wp-content/uploads/2022/02/Jatin-H-Patel-10-13-1.pdf>. Acesso em: 2 maio 2025.

PEREIRA DOS SANTOS, A. et al. Endophytic fungi: ecological functions, interactions, and potential applications. **Mycological Research**, v. 27, p. 345-360, 2022.

PEREIRA, C. et al. Endophytic fungi as a source of novel antibiotics. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 58, n. 2, p. 152-166, 2021.

PEREIRA, M. et al. Antimicrobial potential of fungal metabolites against multidrug-resistant pathogens. **Biotechnology Reports**, v. 31, p. e00567, 2021.

PEREIRA, M. M.; OLIVEIRA, L. C. Modificação de aminoácidos para aplicações farmacêuticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 48, n. 3, p. 345-356, 2014.

PERIÓDICOS SAÚDE SP. Uso de fungicidas e resistência fúngica: impactos na saúde humana. Disponível em: <https://saudesp.gov.br/>. Acesso em: 20 mar. 2024.

PILON, A. C. *et al.* REDES MOLECULARES: UMA ANÁLISE SOBRE ANOTAÇÕES E DESCOBERTA DE NOVOS ATIVOS. **Química Nova**, v. 44, p. 1168–1179, 8 nov. 2021.

PMABB. Programa de Monitoramento Ambiental do Bioma Cerrado: Relatório de 2022. Brasília: PMABB, 2022. Disponível em: <www.pmabb.org.br/relatorio-2022>. Acesso em: 23 mar. 2025.

POLIZEL, R. et al. Classificação das regiões do Cerrado: cerradão, campo limpo e veredas. **Ecologia e Biodiversidade**, v. 34, n. 5, p. 200-210, 2021.

PUBCHEM. Propanamide, 3-mercapto-N-octyl-. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11687178>. Acesso em: 1 maio 2025.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 875–880, 1979. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-69-875>.

RABELO, F. Propriedades anti-tumorais de compostos derivados de aminoácidos lipofílicos. **Cancer Research Journal**, v. 60, p. 132-140, 2016.

RAI, M. et al. Endophytic fungi and their potential for novel bioactive compounds discovery. **Fungal Biology Reviews**, v. 35, n. 2, p. 90-103, 2021.

RAJAMANIKYAM, S. et al. Endophytic fungi: biodiversity, secondary metabolites and their role in agriculture. **Microbial Biotechnology**, v. 10, p. 75-87, 2017.

RAJENDRAN, S. et al. Endophytic fungi and their potential in agriculture and biotechnology. **Fungal Diversity**, v. 45, p. 567-589, 2023.

RANA, K. et al. Secondary metabolites of endophytic fungi: potential applications in agriculture and medicine. **Applied Microbiology**, v. 72, n. 1, p. 45-61, 2019a.

RANA, A. et al. Fungal metabolites with potential applications in agriculture and medicine. **Microbiological Research**, v. 215, p. 101-118, 2019b.

REIS, A. Eficácia de fungos endofíticos na inibição de fitopatógenos. **Phytopathology Studies**, v. 29, n. 1, p. 45-51, 2022.

RIBEIRO, S. M. et al. Biocontrol potential of fungal endophytes: mechanisms and applications in sustainable agriculture. **Biological Control**, v. 153, p. 104500, 2021.

RODRIGUEZ, R. J. et al. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**, v. 182, p. 314-330, 2009.

SAID, M. S.; TIRTHANI, E.; LESHU, E. *Stenotrophomonas Maltophilia*. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

SANTANA, Maria Leilane Souza. **Síntese e avaliação da atividade antitumoral de novos aminoácidos isoxazolinicos de conformação restringida**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/3665>. Acesso em: 1 maio 2025.

SANTOS, C.; VARAVALHO, P. Controle biológico com fungos endofíticos: Aplicações e desafios. **Mycology Journal**, v. 21, n. 4, p. 215-223, 2011.

SANTOS, J. et al. *Cochlospermum regium*: uma planta com grande potencial farmacológico. **Revista Brasileira de Ciências Naturais**, v. 33, n. 6, p. 98-110, 2024.

SANTOS, J. et al. Fungal endophytes and their bioactive potential: an ecological perspective. **Microbiology and Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 345-362, 2023a.

SANTOS, L. et al. Fungal secondary metabolites and their role in medicine and agriculture. **Mycological Research**, v. 128, n. 5, p. 98-115, 2023b.

SANTOS, J. et al. O uso do xilopódio de *Cochlospermum regium* na medicina tradicional e suas propriedades terapêuticas. **Journal of Traditional Medicine**, v. 11, p. 45-52, 2018.

SANTOS, R. et al. A diversidade dos fungos endofíticos e sua importância na biotecnologia. **Brazilian Journal of Mycology**, v. 28, p. 89-101, 2021.

SCHYMANSKI, E.; SUMNER, L. Metabolômica: Identificação de compostos e anotação de espectros de massas. **Analytical Chemistry Journal**, v. 85, n. 4, p. 1456-1464, 2014.

SECRETARIA MUNICIPAL DE AGRICULTURA. **Relatório sobre o uso racional de antifúngicos e alternativas naturais**. Palmas: Secretaria Municipal de Agricultura, 2024.

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE. Relatório técnico sobre resistência antimicrobiana. São Paulo, 2024. Disponível em: <https://saude.sp.gov.br>. Acesso em: 20 mar. 2024.

SHANNON, Paul et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*, v. 13, n. 11, p. 2498-2504, 2003.

SILVA, A.; COSTA, S. Propriedades biológicas de compostos fenólicos. **Journal of Pharmacology**, v. 41, n. 3, p. 234-241, 2021.

SILVA, C. et al. Fungal bioactive compounds: Therapeutic applications and potential in drug discovery. **Pharmaceutical Biotechnology**, v. 57, p. 110-127, 2023.

SILVA, D. Aminoácidos e suas atividades biológicas: Potenciais terapêuticos. **Journal of Biochemistry**, v. 23, n. 1, p. 90-97, 2014.

SILVA, E. et al. Endophytic fungi as a source of novel antimicrobial compounds. **Journal of Applied Mycology**, v. 60, n. 3, p. 223-237, 2023.

SILVA, G. H. Fungos fitopatogênicos no controle de doenças agrícolas: uma abordagem integrativa. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2020, Viçosa. Anais... Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2020. p. 45-50.

SILVA-VALDERRAMA, A. et al. Estudos de fungos endofíticos na agricultura: Uma revisão. **Journal of Plant Pathology**, v. 26, n. 2, p. 310-317, 2021.

SILVA, R. C. et al. Surfactantes à base de aminoácidos: síntese enzimática, propriedades e aplicações potenciais. *Química Nova*, v. 35, n. 6, p. 1234-1240, 2012.

SINGH, P. et al. Endophytic fungi: biodiversity, bioactive compounds and potential biotechnological applications. ***Applied Microbiology and Biotechnology***, v. 108, p. 543-562, 2024a.

SINGH, P. et al. Fungal metabolites: Potential biotechnological applications in medicine and agriculture. ***Microbial Biotechnology***, v. 19, n. 1, p. 99-118, 2024b.

SISVAR. Análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias. Software de estatística, versão 5.6, 2021

SODHI, H. K.; SAXENA, R. K. Endophytic fungi: diversity, ecological roles, and biotechnological potential. ***Fungal Biology Reviews***, v. 40, p. 23-45, 2023.

SOLOMONS, T. *Química Orgânica: Fundamentos e Aplicações*. 12. ed. São Paulo: Editora Pearson, 2017.

SOLON, A. Endophytic fungi and their role in plant health and disease resistance. ***Plant Pathology Journal***, v. 23, p. 45-78, 2009.

SOLON, M. Diversidade e bioprospecção de fungos endofíticos. ***Revista Brasileira de Biotecnologia***, v. 17, n. 1, p. 33-47, 2009.

SOUZA, A.; ALMEIDA, C. Compostos bioativos e suas atividades antioxidantes e antimicrobianas. ***Journal of Medicinal Chemistry***, v. 70, n. 6, p. 1112-1120, 2023.

SPORMANN, A. M. Biotechnological applications of microbial secondary metabolites. ***Trends in Biotechnology***, v. 41, p. 214-230, 2023.

SUMNER, L.; SCHYMANSKI, E. Anotação de compostos químicos utilizando espectrometria de massas. ***Metabolomics Journal***, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2007.

TAJALLI-NEZHAD, S. et al. Melatonin: a promising neuroprotective agent for cerebral ischemia. ***Frontiers in Aging Neuroscience***, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/agingneuroscience/articles/10.3389/fnagi.2023.1227513/full>. Acesso em: 1 maio 2025.

TEH, C. H. et al. Antibacterial activity of *Cassia spectabilis* extracts against *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus*. ***Saudi Journal of Biological Sciences***, v. 24, n. 6, p. 1212–1216, 2017.

TIWARI, R.; BAE, H. Endophytic fungi: their role in plant growth and stress resilience. ***Fungal Genetics and Biology***, v. 164, p. 103645, 2022.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. *Microbiology: An Introduction*. 12. ed. New York: Pearson, 2016.

VAKHAPOVA, V. et al. Phosphatidylserine treatment improves cognitive performance in Alzheimer's disease patients. *Alzheimer's & Dementia*, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 123–130, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/alz.12245>. Acesso em: 2 maio 2025.

VU, T. et al. Recent advances in the anticancer potential of paclitaxel derived from fungi. *Mycology*, 2023.

WANG, M. et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology*, v. 34, n. 8, p. 828–837, ago. 2016.

WANG, M. GNPS Documentation. *GNPS*, 2022. Disponível em: <<https://ccms-ucsd.github.io/GNPSDocumentation/gnpsanalysisoverview/>>. Acesso em: 27 set. 2024.

WFO. Distribuição geográfica de *Cochlospermum regium* no Brasil: informações atualizadas. World Flora Organization, 2023. Disponível em: <https://www.wfo.org/cochlospermum-regium>. Acesso em: 23 mar. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO bacterial priority pathogens list for R&D of new antibiotics. Geneva: WHO, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EMP-IAU-2017.12>. Acesso em: 2 maio 2025.

WU, X. et al. Fungal diversity and taxonomy: Advances and perspectives. *Journal of Fungal Research*, v. 15, n. 2, p. 78-96, 2019.

XIA, S. *et al.* The Notorious Soilborne Pathogenic Fungus *Sclerotinia sclerotiorum*: An Update on Genes Studied with Mutant Analysis. *Pathogens*, v. 9, n. 1, p. 27, 27 dez. 2019.

XU, L. et al. Biological characteristics and metabolite profiles of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 11, 595001, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.595001>.

XU, Y. et al. Antifungal metabolites from *Aspergillus capensis*: isolation and characterization. *Journal of Natural Products*, v. 84, p. 1234-1245, 2021.

XU, S. et al. The Potential Use of Fungal Co-Culture Strategy for Discovery of New Secondary Metabolites. *Microorganisms*, v. 11, n. 2, p. 464, fev. 2023a.

YOO, J.-M. et al. Neuroprotective action of N-acetyl serotonin in oxidative stress-induced apoptosis through the activation of both TrkB/CREB/BDNF pathway and Akt/Nrf2/Antioxidant enzyme in neuronal cells. *Redox Biology*, v. 11, p. 592–599, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231716303794>. Acesso em: 1 maio 2025.

YU, X. et al. Fungal endophytes in plants: an overview. *FEMS Microbiology Letters*, v. 312, p. 1-11, 2010

ZHANG, L. et al. Fumonisin B1 produced by *Fusarium* species as an anticancer agent in liver cancer. *Journal of Cancer Research*, 2022.

ZHOU, X.; MAY, T. Fungal biodiversity: Classification, phylogeny, and evolutionary perspectives. **Fungal Biology Reviews**, v. 40, n. 3, p. 123-145, 2023.

ZHU, X. et al. Griseofulvin from *Penicillium griseofulvum*: A promising anticancer compound for liver and prostate cancers. **International Journal of Cancer Research**, 2021.