



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

ARIANE FERNANDES FERREIRA SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE *Aspergillus nomiae* FRENTE AO FITOPATÓGENO DO MELÃO AMARELO *Fusarium jinanense*

**FORTALEZA
2025**

ARIANE FERNANDES FERREIRA SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE *Aspergillus nomiae*
FRENTE AO FITOPATÓGENO DO MELÃO AMARELO *Fusarium jinanense*

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biotecnologia do Centro de Ciências da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial à obtenção do grau de
Bacharelado em Biotecnologia.

Orientadora: Profª. Drª. Davila Zampieri

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S578a Silva, Ariane Fernandes Ferreira.

Avaliação da atividade antifúngica do extrato de *Aspergillus nomiae* frente ao fitopatógeno do melão amarelo *Fusarium jinanense* / Ariane Fernandes Ferreira Silva. – 2025.

39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Biotecnologia, Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Davila Zampieri.

1. Metabolômica. 2. Co-cultivo. 3. Ressonância magnética nuclear (RMN). 4. Endofítico. I. Título.
CDD 661

ARIANE FERNANDES FERREIRA SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE *Aspergillus nomiae*
FRENTE AO FITOPATÓGENO DO MELÃO AMARELO *Fusarium jinanense*

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biotecnologia do Centro de Ciências da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial à obtenção do grau de
Bacharelado em Biotecnologia.

Aprovada em 26/02/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Davila Zampieri (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a Daniele de Oliveira Bezerra de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Francisco Leomar da Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Primeiro, gostaria de agradecer meus pais, Andrea e Marcelo, por todo incentivo aos estudos, não estaria aqui se não fosse pela sua dedicação e suporte. Aos meus irmãos, Aline e Júnior, que são minhas maiores inspirações de vida, pelo apoio imensurável.

Agradeço também o Grupo de Pesquisa em Biotecnologia e Espectrometria de Massas, em especial à professora Dr^a Davila, ao Winston, ao Leomar, à Lethicia e à Emily. Só agradecer por tudo que aprendi aqui, tanto conteúdo científicos quanto coisas da vida. Prof^a Davila muito obrigada por toda a paciência e pela oportunidade de fazer parte do bioMASS.

Às minhas amigas Amanda e Ingrid agradeço por nossa amizade de quase uma vida e pelo encorajamento, que mesmo de longe, foi muito importante para mim.

Aos meus amigos Ariel, Bruno, Laís e Lina que estão comigo desde o inicio da graduação. Não existem palavras para descrever o quanto vocês foram essenciais para eu conseguir terminar o curso. A amizade de vocês, os conselhos, todo o apoio, sem isso eu acho que teria enlouquecido, então obrigada.

Ao grupo PdC: Amanda, Ariel, Dino, Fe, Gabriela, João Neto, Laís Leonardo, Luiz Gustavo, Mariana, Matheus e Fernando. Obrigada por todas as memórias, risadas e ajuda quando precisei. Vocês deixaram meus dias na universidade bem mais leves e suportáveis.

Por fim, agradeço à Universidade Federal do Ceará e ao Curso em Biotecnologia pela formação e ensinamentos. Agradeço as agências de fomento FUNCAP (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e CAPES (Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão de bolsas que viabilizaram a execução dessa pesquisa.

Que no caminho para casa hoje [digo para mim mesmo] “Eu fiz um bom trabalho.”
Não foi fácil, mas também não foi tão ruim
Neste mundo sufocante,
Sorri por um momento por causa de uma pequena coisa
Acontece que estamos enfrentando hoje pela primeira vez
[...]
Com nossas vozes, onde quer que estejamos,
vamos cantar
Um brinde à juventude. (CHEERS to youth.
Intérprete: SEVENTEEN. 2024.)

RESUMO

O Brasil apresenta um clima propício à fruticultura, sendo o melão (*Cucumis melo* L.) a fruta brasileira com maior parcela da produção voltada para a exportação. Entretanto, a presença de doenças pós-colheita causa grandes prejuízos econômicos, pois inviabiliza a comercialização da fruta. Nesse contexto, a principal fitopatologia que afeta o melão é a "podridão-do-pedúnculo" ou "podridão do fusarium", causada pelos fungos do gênero *Fusarium*. Atualmente, o método de controle mais utilizado é a aplicação de fungicidas sintéticos, no entanto, tem-se buscado alternativas menos agressivas ao ambiente, como produtos naturais. Dentro dos produtos naturais, os metabólitos secundários de microrganismos endofíticos se mostram como uma alternativa promissora. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica do endofítico *Aspergillus nomiae* (bM-03) cultivada em meio Czapek Ágar (CZA) frente ao fitopatógeno *Fusarium jinanense* (UFCM-0611) utilizando-se a técnica de co-cultivo, e, além disso, avaliar o perfil químico do extrato de acetato de etila de *A. nomiae* utilizando a Ressonância Magnética Nuclear de próton. Os fungos bM-03 e UFCM-0611 foram inoculados na forma de co-cultivo pelos períodos de 14 e 21 dias, em quadruplicada, em meio Czapek Ágar. Extratos em acetato de etila de bM-03, foram submetidos ao teste antifúngico, usando cinco concentrações de tratamento (0,050; 0,100; 0,150; 0,250 e 0,350 mg/mL) e após um período de incubação de 24 h a 25 °C, foram calculadas a porcentagem de inibição do crescimento micelial (%ICM). O extrato de 21 dias de bM-03 na concentração de 0,350 mg/mL, mostrou-se capaz de reduzir em 50,16% ($\pm 4,10$) o crescimento micelial de UFCM-0611. O presente trabalho é um dos primeiros registros da atividade antifúngica de *A. nomiae* e o primeiro com atividade anti *F. jinanense*. As análises em RMN de ^1H indicaram que houve um aumento na concentração de alguns metabólitos secundários ao comparar o perfil da monocultura versus co-cultura. Desta forma, este estudo mostra que a técnica de co-cultivo em Czapek Ágar pode ser uma alternativa para produção de metabólitos com atividade antifúngica frente ao *Fusarium jinanense*.

Palavras-chave: metabolômica; co-cultivo; ressonância magnética nuclear (RMN); endofítico.

ABSTRACT

Brazil has a climate that is highly favorable for fruit cultivation, with melon (*Cucumis melo* L.) standing out as the Brazilian fruit with the largest share of production aimed at export. However, the occurrence of post-harvest diseases has caused significant economic losses, as it compromises the fruit's quality and commercial viability. Among these issues, the main phytopathology affecting melons is "stem-end rot" or "fusarium rot," caused by fungi of the genus *Fusarium*. Currently, the most widely used control method is the application of synthetic fungicides. However, there has been a growing interest in less environmentally harmful alternatives, such as natural products. In this regard, secondary metabolites produced by endophytic microorganisms have emerged as a promising alternative. Thus, the objective of this study was to evaluate the antifungal activity of the endophytic fungus *Aspergillus nomiae* (bM-03), cultivated in Czapek Agar (CZA) medium, against the phytopathogen *Fusarium jinanense* (UFCM-0611), using the co-culture technique. In addition, the chemical profile of the ethyl acetate extract of *A. nomiae* was analyzed using proton nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. Fungi bM-03 and UFCM-0611 were inoculated in a co-culture system for periods of 14 and 21 days, in quadruplicate, using Czapek Agar medium. Ethyl acetate extracts of bM-03 were subjected to antifungal testing, employing five treatment concentrations (0.050, 0.100, 0.150, 0.250, and 0.350 mg/mL). After a 24-hour incubation period at 25 °C, the percentage of mycelial growth inhibition (%MGI) was calculated. The 21-day extract of bM-03, at a concentration of 0.350 mg/mL, was able to reduce the mycelial growth of UFCM-0611 by 50.16% (± 4.10). The present work is one of the first records of the antifungal activity of *A. nomiae* and the first with anti *F. jinanense* activity. ^1H NMR analyses indicated an increase in the concentration of some secondary metabolites when comparing the monoculture profile with that of the co-culture. Thus, this study demonstrates that the co-culture technique in Czapek Agar can be a viable alternative for the production of metabolites with antifungal activity against *Fusarium jinanense*.

Key words: metabolomics; co-culture; metabolomics; nuclear magnetic resonance (NMR); endophytic.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
1.1	Panorama do cultivo do melão.....	8
1.2	Doença pós-colheita.....	9
1.2.1	<i>Gênero Fusarium.....</i>	10
1.2.2	<i>Tratamentos das doenças.....</i>	11
1.3	Produtos naturais na agricultura.....	12
1.4	Metabolômica microbiana.....	13
1.5	Fungos endofíticos.....	14
1.6	<i>Gênero Aspergillus.....</i>	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo geral.....	17
2.2	Objetivos específicos.....	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1	Obtenção das cepas.....	18
3.2	Preservação das cepas.....	18
3.3	Ativação das cepas.....	19
3.4	Co-cultivo.....	20
3.5	Obtenção dos extratos brutos.....	21
3.6	Avaliação da atividade antifúngica.....	21
3.7	Análise do perfil químico em RMN de ^1H	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
4.1	Antagonismo das cepas fúngicas usando co-cultivo.....	25
4.2	Avaliação da atividade antifúngica dos extratos brutos.....	28
4.3	Perfil químico obtido por RMN de ^1H	30
5	CONCLUSÃO.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

1.1 Panorama do cultivo do melão

O setor da agropecuária está na base da economia brasileira. Em 2023, o Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil fechou com alta de 2,9% em relação ao ano anterior, influenciado principalmente pelo crescimento de 15% da agropecuária, sendo a produção e ganho de produtividade da agricultura a principal causa desse aumento (Belandi, 2024; Mesquita, 2024). Nesse cenário, o Brasil é o terceiro maior produtor de frutas com volume de exportação que ultrapassa um milhão de toneladas. Isso acontece devido ao clima favorável do país ao longo do ano, que possibilita uma produção variada de frutas, e ao investimento em tecnologia e infraestrutura (Kist et al., 2023).

Ao redor do mundo, o cultivo de melão (*Cucumis melo* L.) ultrapassou 1 milhão de hectares, com uma produção global maior que 28 milhões de toneladas em 2022, sendo a China a maior produtora com 14 milhões de toneladas, seguida pela Turquia e Índia. Segundo dados mais recentes, o Brasil é o oitavo maior produtor com 699.281 toneladas (FAOSTAT, 2024).

Na fruticultura brasileira, o melão é a segunda fruta com maior produção voltada para o mercado externo, exportando mais de 228 mil toneladas em 2023, o equivalente a 32% do produzido em 2023 (Kist et al., 2024)

A região Nordeste concentra 97% da produção nacional devido ao clima semiárido favorável ao cultivo, como elevados índices de radiação (2500-3000 horas de sol por ano) e temperatura (>30 °C), somados a uma escassez de precipitação (<600 mm por ano) e umidade relativa, além da falta de mosca-das-frutas (Queiroga et al., 2020, Costa, 2017). Os estados do Rio Grande do Norte e Ceará são os maiores produtores e exportadores, somando 15 mil hectares de área plantada e mais de 520 mil toneladas produzidas em 2022. Especificamente, o estado do Ceará é o segundo maior produtor de melão do Brasil com mais de 86 mil toneladas produzidas no mesmo ano. Bahia, Pernambuco e Piauí também são estados com produção expressiva de melão, porém com foco maior no mercado doméstico (Kist et al., 2024).

1.2 Doenças pós-colheita

Por ano, cerca de 1/3 dos alimentos produzidos para consumo humano são perdidos ou desperdiçados no mundo todo. As frutas e os vegetais têm o maior nível de perdas quando comparados com os outros alimentos, sendo de 40% a 50% perdido após a colheita, em que uma das principais causas são as doenças pós-colheita (Sawicka *et al.*, 2020).

Doenças pós-colheita são aquelas que se desenvolvem em partes das plantas que foram colhidas, por exemplo, sementes, frutas e vegetais (Gupta; Saxena, 2023) e podem se manifestar em qualquer momento durante a colheita até o consumo final (incluindo embalagem, armazenamento e comercialização) (Shakeel *et al.*, 2022). A infecção da planta pode ocorrer de duas formas: pré-colheita ou pós-colheita. Na pré-colheita ou quiescente, o patógeno ataca a planta durante o cultivo, porém permanece em estado dormente (latente) e o patógeno só se manifesta após a colheita, durante ou depois das etapas de aclimatação e armazenamento. Na outra forma de infecção, o patógeno penetra na planta por meio de danos na superfície do produto, causada por insetos ou lesões mecânicas, após a etapa da colheita. De forma geral, se a doença só se manifesta no fruto já colhido, ela é considerada doença pós-colheita, não importando se o patógeno infecta a planta antes, durante ou depois da colheita (Shakeel *et al.*, 2022; de Sousa; Granada, 2023).

O melão é acometido por doenças pós-colheita que afetam sua comercialização e causam prejuízos econômicos: cerca de 15% da produção brasileira de melão é perdida durante os trâmites de exportação devido a doenças pós-colheita, especialmente podridões nos frutos, sendo fungos do gênero *Fusarium* os principais agentes causadores dessas doenças (de Almeida Nogueira *et al.*, 2023).

No melão, a fitopatologia mais comum é a “podridão-do-pedúnculo” ou “podridão do fusarium”, causada por fungos do gênero *Fusarium* ainda durante o plantio, mas só detectável durante os procedimentos posteriores. O patógeno pode infectar o fruto por meio de qualquer ferimento, mas principalmente, no corte feito no pedúnculo durante os procedimentos de colheita (Wonglom; Sunpapao, 2020). Surge na superfície um intenso crescimento micelial parecido com algodão. Na parte interna dos frutos infectados as lesões são amarronzadas (Lima *et al.*, 2021) e há produção de micotoxinas prejudiciais à saúde humana e ao ambiente (Evangelista *et al.*, 2022).

1.2.1 Gênero *Fusarium*

Microrganismos do gênero *Fusarium* são fungos filamentosos pertencentes ao filo Ascomiceta, da ordem Hipocreales e família Nectriaceae (Crous *et al.*, 2021), com aproximadamente 300 espécies conhecidas, mas grande parte ainda não foi reconhecida formalmente. É um gênero diverso e presente em quase todos os ecossistemas da Terra, encontradas no ar, na água, no solo, nas plantas e em substratos orgânicos. Essa característica é possível graças a uma adaptação em diferentes condições ambientais, crescimento em diferentes substratos e seus mecanismos eficientes de dispersão. Incluem espécies com diferentes estilos de vida, como saprótrofos, parasitas, endófitos, fitopatógenos, mutualistas e patógenos de humanos e animais (Crous *et al.*, 2021, Ekwomadu *et al.*, 2023, Sánchez *et al.*, 2024).

Apesar da podridão do fusarium ser provocada por várias espécies do gênero, as espécies do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) têm se destacado por serem os mais frequentemente identificados como agentes causadores da doença no meloeiro (Medeiros Araújo *et al.*, 2021). A espécie *Fusarium equiseti* foi identificada como causa da podridão do pedúnculo na Tailândia (Nuangmek *et al.*, 2019) e na China (Li *et al.*, 2019). Wonglom e Sunpapao (2020) relataram que *F. incarnatum* causa podridão severa de frutos em melão. O primeiro estudo para determinar as espécies de *Fusarium* associadas à podridão do melão no nordeste brasileiro revalidado por Lima *et al.* (2021) identificaram *F. sulawense* e uma nova linhagem que pertence ao clado Equiseti. Medeiros Araújo *et al.*, 2021 também identificaram *F. sulawense* em melões doentes na região nordeste, além da espécie *F. pernambucanum*. Zhang *et al.* (2022) também identificaram *F. pernambucanum* como causa da podridão do melão na China. Khuna *et al.* (2022) identificaram uma nova espécie do complexo capaz de causar a doença no melão, *F. melonis*.

O Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* é um agrupamento filogeneticamente diversificado, com mais de 44 espécies identificadas. A maioria é classificada como filoespécie críptica, o que torna difícil a identificação apenas com base em características fenotípicas. Essa característica dificulta o emprego da nomenclatura binomial das espécies, porém foram atribuídos números para simplificar a comunicação entre especialistas. Espécies filogenéticas foram separadas nos clados *Equiseti* e *Incarnatum*. O clado *Equiseti* (FIESC 1 a 14, FIESC 30, FIESC 31, FIESC 33, FIESC 34 e FIESC 35) é cosmopolita que vive no solo e foi isolado de

raízes e outros tecidos vegetais de diversas regiões do globo. Por outro lado, o clado *Incarnatum* (FIESC 15 a 29, FIESC 32, FIESC 36, FIESC 37 e FIESC 38) prefere regiões tropicais e subtropicais com temperaturas mais elevadas (Han *et al.*, 2023, Xia *et al.*, 2019, Lu *et al.*, 2021, Ghosal; Datta, 2024)

1.2.2 Tratamentos das doenças

Dado o impacto negativo das doenças pós-colheita, estratégias e tecnologias são empregadas com o objetivo de reduzir seu desenvolvimento nos frutos. O manejo varia entre técnicas físicas e químicas, como os exemplos citados a seguir.

O tratamento térmico para o controle de fitopatologias pode contemplar tanto a refrigeração durante o armazenamento quanto o tratamento de calor. O armazenamento em baixa temperatura detém o desenvolvimento do patógeno e desacelera o metabolismo celular da fruta, aumentando seu tempo de prateleira (Evangelista *et al.*, 2022, Xia *et al.*, 2024). Entretanto, o uso de baixas temperaturas se torna mais caro quando comparado a tratamento de calor, por demandar mais tempo de exposição (de MOURA *et al.*, 2024). Termoterapia se utiliza de uma relação de uma elevada temperatura aplicada em um específico período de tempo para destruir os esporos do patógeno na superfície da fruta, além de induzir a resistência para futuras infecções. O tempo de exposição e a temperatura usados devem ser escolhidos com muito cuidado, pois pode afetar a qualidade da fruta (de Moura *et al.*, 2024).

A radiação ultravioleta já é usada em tratamentos de água, desinfecção de ar e descontaminação de superfícies e é capaz de interromper a infecção de microrganismos em alimentos frescos enquanto aumenta o tempo de prateleira da fruta (Sneha *et al.*, 2024). Essa tecnologia é empregada com a exposição do produto sob radiação específica por um período de tempo, que pode acontecer com ultravioleta pulsada, com liberação de flashes intermitentes, e com ultravioleta contínua, liberação de flashes de forma contínua (Evangelista *et al.*, 2022).

A ozonização é usada para a desinfecção de superfícies e ambientes e no saneamento de água e esgoto por ser um oxidante forte com baixo tempo de meia vida (Evangelista *et al.*, 2022). O ozônio (O_3) reduz a presença de patógenos em frutas e vegetais frescos por ser capaz de degradar estruturas celulares dos microrganismos

como parede celular, mitocôndria e esporos, além de ser capaz de retardar o processo de amadurecimento dos frutos, preservando sua qualidade. Seus principais empecilhos são os custos da maquinaria para produzir o ozônio (Tan; Ali; Siddiqui, 2022).

O controle de doenças mais comum é a aplicação de tratamentos químicos, como fungicidas sintéticos. Ao mesmo tempo que consegue aumentar o tempo de prateleira dos frutos, o fungicida é capaz de impedir a infecção dos patógenos por inibição da respiração mitocondrial, interrupção na síntese de microtúbulos e indução atividades antioxidantes, estimulando a resposta de defesa na fruta (Tan; Ali; Siddiqui, 2022, Oyom *et al.*, 2022). Porém, o uso contínuo desse tipo de produto levanta algumas preocupações, pois os resíduos dos pesticidas podem causar poluição ambiental, resistências dos patógenos aos químicos, além da preocupação dos consumidores quanto aos riscos à saúde humana (de Moura *et al.*, 2024, Palou *et al.*, 2016).

Diante de toda essa problemática, tem-se buscado alternativas mais eficazes com menos prejuízos ambientais e à saúde. Nesse contexto, os produtos naturais, como metabólitos extraídos de microrganismos, se destacam como a alternativa mais adequada, por serem mais seletivos/específicos e não deixarem resíduos tóxicos (Matrose *et al.*, 2021, Tripathi; Dubey, 2004).

1.3 Produtos naturais na agricultura

Produtos naturais são todo e qualquer composto produzido por seres vivos, animais, plantas e microrganismos (Rutz *et al.*, 2022). Na agricultura, são aplicados como biocontrole, tanto de insetos como de fitopatógenos. Joo; Hussein (2023) comprovaram que os óleos essências de *neem*, de alecrim, de cravo e de gengibre foram fraco a altamente tóxicos para as larvas da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com a mortalidade geral variando entre 10 e 100%. Cheng *et al.* (2023) identificaram três cepas de *Bacillus*, *Bacillus velezebsis* (WZ-37), *Bacillus subtilis* subsp.*subtilis* (WXCDD105) e *Bacillus amyloliquefaciens* (SS), com significativa atividade antagonista contra *Botrytis cinerea* e capazes de formar um biofilme na superfície de frutos de tomate que aumenta a resistência a doenças pós-colheita e melhora a preservação. Wei *et al.* (2024) isolaram três compostos do fungo *Curvularia inaequalis* (curvularióxido, desidroradicinina e radicinina) que exibiram atividade

fitotóxica significativa sobre *Xanthium italicum* (carrapicho) e quatro outras ervas daninhas, sendo potenciais herbicidas para o manejo de espécies invasoras.

1.4 Metabolômica microbiana

A metabolômica é uma das ciências ômicas e diz respeito ao estudo qualitativo e quantitativo e identificação dos compostos presentes no metaboloma de organismos (Elshafie; Camele; Mohamed, 2023). Metaboloma é o conjunto de todos os metabólitos presentes em um ser vivo (Borges; Resende, 2021). Por sua vez, metabólitos são compostos menores que 1500 Da, resultantes de todas as reações químicas que acontecem no indivíduo, que podem ser primários, vitais para o crescimento e a reprodução, ou secundário, responsáveis por interações com o ambiente, como atrativos e mecanismos de defesa, mas não de aplicação indispensável no desenvolvimento do organismo (Geris *et al.*, 2024). Os metabólitos secundários chamam atenção por diversidade e complexidade estrutural e ampla atividade biológica (Twaij; Hasan, 2022) e por isso são aplicados na agricultura, descoberta de medicamentos (*drug discovery*), indústria de alimentos e cosméticos, bem como pigmentos e surfactantes (Geris *et al.*, 2024, Matrose *et al.*, 2021).

A metabolômica microbiana busca entender a conexão entre o metabolismo dos microrganismos e seus fenótipos e é usado para identificação e classificação de microrganismos, engenharia metabólica, microbiologia ambiental, astrobiologia, entre outras (Ye *et al.*, 2022). Para tal, as duas abordagens mais usadas são a *targeted* (direcionada) e a *untargeted* (não direcionada). Na abordagem direcionada os alvos são grupos específicos de metabólitos, sendo eles de uma via específica ou uma classe de compostos. Na abordagem não direcionada, o objetivo é estudar a resposta dos microrganismos, geralmente, a uma mudança ambiental (Xiao; Zhou; Ressom, 2012).

Por causa da grande complexidade química do metaboloma a metabolômica faz uso de técnicas analíticas multifacetadas para a separação e detecção afim de contemplar todos os metabólitos. A cromatografia, tanto líquida (CL) quanto gasosa (CG), é o método mais utilizado para separação e a espectrometria de massas (EM) para detecção. As duas técnicas acopladas (CL-EM ou CG-EM) potencializam a identificação de metabólitos. Outra técnica muito importante para a metabolômica é a ressonância magnética nuclear (RMN) que ajuda na identificação

de compostos em extratos. Análises em espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) também são empregadas (Ebrahimi; Tadayon Rad; Lotfi, 2023; Elshafie; Camele; Mohamed, 2023).

No setor agrícola se têm relatos de pesquisa e aplicação de metabólitos, principalmente para controle biológico. Bactérias do gênero *Bacillus* produzem lipopeptídeos antibióticos cíclicos, como surfactina, iturina e fengicina, que são secretadas e possuem ação antagonista contra 3 tipos de patógenos vegetais (Carmona-Hernandez *et al.*, 2019). Bian *et al.* (2021) constataram que o fungo *Epicoccum dendrobii* foi capaz de eliminar o crescimento do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* e o desenvolvimento de lesões nas plantas hospedeiras pela produção de metabólitos como flavipina e epirodina.

1.5 Fungos endofíticos

Microrganismos endofíticos são bactérias, fungos e vírus encontrados no interior de plantas durante todo seu ciclo ou uma parte dele sem causar nenhum prejuízo ao hospedeiro (Mattoo; Nonzom, 2021). Fungos endofíticos possuem uma ecologia especial por serem capazes de apresentar relações simbióticas com a planta hospedeira, podendo ser generalistas, capazes de colonizar várias espécies de plantas, ou especialistas, os quais só colonizam uma ou poucas espécies (Omomowo *et al.*, 2023; Ebrahimi; Tadayon Rad; Lotfi, 2023).

Fungos endofíticos penetram no hospedeiro por meio dos estômatos ou feridas e o mecanismo de defesa contra patógenos da planta é ativado, porém o endofítico consegue produzir substâncias que neutralizam essa ação, colonizando com sucesso o hospedeiro (Ebrahimi; Tadayon Rad; Lotfi, 2023). Há situações, no entanto, em que os fungos podem sair do estado endofítico para patogênico (Akram *et al.*, 2023). O endofítico beneficia a planta por fornecer compostos que melhoram seu crescimento, absorção de nutrientes e resistência a fatores bióticos e abióticos, como patógenos e secas, enquanto o hospedeiro fornece proteção estrutural, nutrientes, através da sua diversidade química, e disseminação de esporos (Omomowo *et al.*, 2023). A simbiose entre os dois organismos pode resultar no hospedeiro e microrganismos produzindo o mesmo composto, aumentando a diversidade química de ambos (Omomowo *et al.*, 2023).

Esses microrganismos são conhecidos por sua biodiversidade, ampla distribuição ecológica e múltiplas interações com plantas hospedeiras e outros microrganismos, tornando-os uma poderosa fonte de produtos naturais. Esses compostos bioativos são foco de estudos em diversas áreas, como *drug discovery*, agricultura, ecologia e biotecnologia (Ebrahimi; Tadayon Rad; Lotfi, 2023, Mattoo; Nonzom, 2021). Na agricultura, esses compostos podem ser usados para acelerar o crescimento da planta ou como controle biológico contra insetos, fitopatógenos e nematóides (Akram *et al.*, 2023, Fite *et al.*, 2023). Endófitos podem proteger a planta de diversas formas, sendo elas competição por nutriente e espaço com o invasor, produção de antibióticos, secreção de metabólitos primários e secundários que controlam o patógeno, parasitismo e indução de resistência no hospedeiro (Fenta; Mekonnen; Kabtimer, 2023).

1.6 Gênero *Aspergillus*

Os fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* são cosmopolitas estando presentes nos mais diversos ecossistemas como plantas, solo, poeiras no ar, sedimentos aquáticos e invertebrados marinhos (Hagag *et al.*, 2022). Espécies desse gênero desempenham diversas funções ecológicas como saprofíticos, parasitas, fitopatógenos, patógenos de animais e humanos e endófitos (El-Hawary *et al.*, 2020). Eles são capazes de se adaptar às mais diferentes condições ambientais e utilizar diversos substratos, incluindo ambientes extremos (Paulussen *et al.*, 2017). Muitas espécies são consideradas oligotróficas, capazes de sobreviver a ambientes pobres em nutrientes, e outras ainda foram cultivadas em uma ampla faixa de temperatura, pH e salinidade (Lee *et al.*, 2013, El-Hawary *et al.*, 2020).

Descrito em 1729 por Pier Antonio Micheli, o gênero *Aspergillus* (Reino Fungi, filo Ascomycota, classe Eurotiomycetes, ordem Eurotiales e família Aspergillaceae) apresenta mais de 400 espécies divididas em seis subgêneros e 27 seções (Hagag *et al.*, 2022, Steenwyk *et al.*, 2019 Wang; Zhuang, 2022). Esse gênero tem a capacidade de produzir uma extensa gama de compostos bioativos, de forma que somente entre os anos de 2004 e 2019 foram isolados mais de 500 metabólitos secundários com atividades antimicrobiana, anti-inflamatórias e anti câncer (El-Hawary *et al.*, 2020). Seus diversos papéis ecológicos, adaptabilidade e sua capacidade bioquímica tornam o gênero *Aspergillus* muito importante para áreas

como indústria, agricultura e saúde. *Aspergillus oryzae* é usado na fabricação de molho de soja, *A. niger* produz ácido cítrico e de *A. terreus* é isolado o lovastatina, fármaco usado para tratar colesterol alto (Houbraken *et al.*, 2020).

A espécie endofítica *Aspergillus nomiae* faz parte da seção Flavi, subgênero Circumdati. Foi identificada por Kurtzman; Horn; Hesseltine (1987) e inicialmente recebeu o nome de *Aspergillus nomius* (Frisvad; Larsen, 2015, Mageswari *et al.*, 2023). Neste trabalho, *A. nomiae*, foi isolada do fruto do buriti *Mauritia flexuosa*, presente na Amazônia brasileira.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar atividade antifúngica de uma cepa de *Aspergillus nomiae* (bM-03) cultivada em meio Czapek Ágar frente ao fitopatógeno *Fusarium jinanense* (UFCM-0611).

2.2 Objetivos específicos

- Verificar o antagonismo entre as cepas bM-03 e UFCM-0611 usando meio de cultura Czapek Ágar;
- Atestar a inibição da cepa bM-03 frente ao fitopatógeno UFCM-0611 por meio teste antifúngico;
- Análise do perfil químico da cepa bM-03 por RMN para observar mudanças na produção de metabólitos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção das cepas

A cepa de *Aspergillus nomiae*, identificada como bM-03, foi isolado do fruto do buriti (*Mauritia flexuosa*) pelo professor Dr. Héctor Henrique Ferreira Koolen do Grupo de Pesquisa em Metabolômica e Espectrometria de Massas (MMSRG) da Universidade do Estado do Amazonas (UEA).

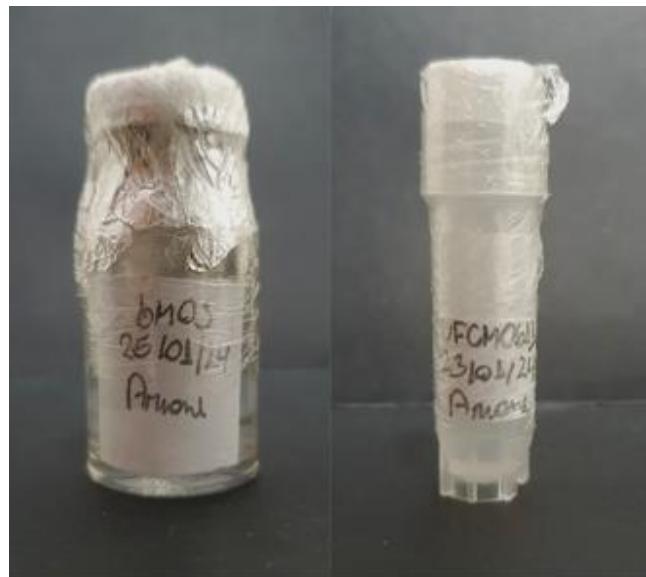
O fungo fitopatogênico *Fusarium jinanense*, codificado como UFCM-0611, foi obtido nas safras de 2015 a partir de frutos de melão amarelo apresentando sintomas típicos de podridão do *Fusarium* na cidade de Maracanaú, Ceará, Brasil.

3.2 Preservação das cepas

O fungo endófito *A. nomiae* (bM-03) e o fungo fitopatogênico *F. jinanense* (UFCM-0611) foram preservados usando água destilada estéril seguindo metodologia Castellani (CASTELLANI, 1963).

Para o fungo bM-03 foram utilizados frascos de penicilina com 5 mL de água destilada e para o fungo UFCM-0611 foram utilizados tubos criogênicos com 1 mL de água destilada. Os frascos e tubos foram levados para esterilização em autoclave a 121 °C por 15 min. Após esse período, os frascos foram levados à capela de fluxo laminar, onde inóculos da cultura pura dos fungos foram adicionados após a temperatura da água baixar. Os frascos foram devidamente identificados e então armazenados, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Método Castellani aplicado às cepas de *A. nomiae* (bM-03) e *F. jinanense* (UFCM-0611).

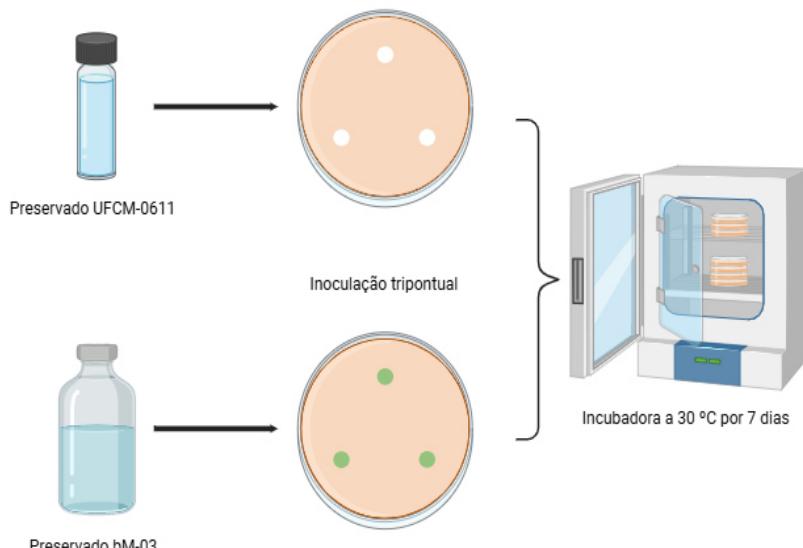


Fonte: elaborado pela autora.

3.3 Ativação das cepas

Para se atestar a pureza dos organismos preservados anteriormente e para futura utilização da cultura como material de partida para as repicagens, foi realizada a ativação dos fungos *A. nomiae* e *F. jinanense* em meio Batata Dextrose Ágar (BDA). O meio BDA foi preparado e esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 min, então posto em placas de Petri. Plugs provenientes dos preservados foram arranjados de forma tripontual (três pontos equidistantes), como demonstrado na Figura 2, nas placas de Petri contendo BDA e então incubados a 30 °C por 7 dias.

Figura 2 – Ativação das cepas de *A. nomiae* (bM-03) e *F. jinanense* (UFCM-0611) de forma tripontual.



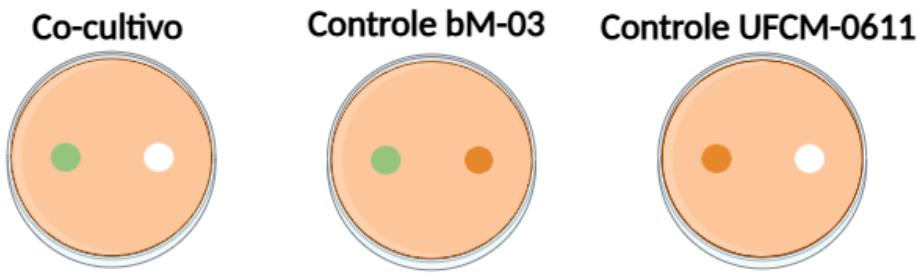
Fonte: elaborada pela autora, com auxílio do site BioRender.

3.4 Co-cultivo

No co-cultivo, um plug de cada um dos fungos foi inoculado em placas de Petri contendo meio Czapek Ágar a 4 cm de distância um do outro. Como controle, cada fungo foi inoculado também a 4 cm de distância de um plug de meio de cultura. A disposição dos plugs na placa de Petri está ilustrada na Figura 3. Os plugs mediam 9 mm e foram padronizados com auxílio de ponteira de 1000 µL para pipeta automática e de bisturi, ambos estéreis.

Para os tempos de crescimento de 14 e 21 dias foram preparadas as seguintes quantidades de placas de Petri: 4 placas somente meio de cultura (branco), 8 placas inoculadas somente com *A. nomiae* (controle bM-03), 8 placas inoculadas somente com *F. jinanense* (controle UFCM-0611) e 8 placas onde foram realizadas o co-cultivo das duas cepas.

Figura 3 – Disposição dos plugs de micélio dos fungos *A. nomiae* (bM-03) e *F. jinanense* (UFCM-0611) em meio Czapek Ágar para o co-cultivo.

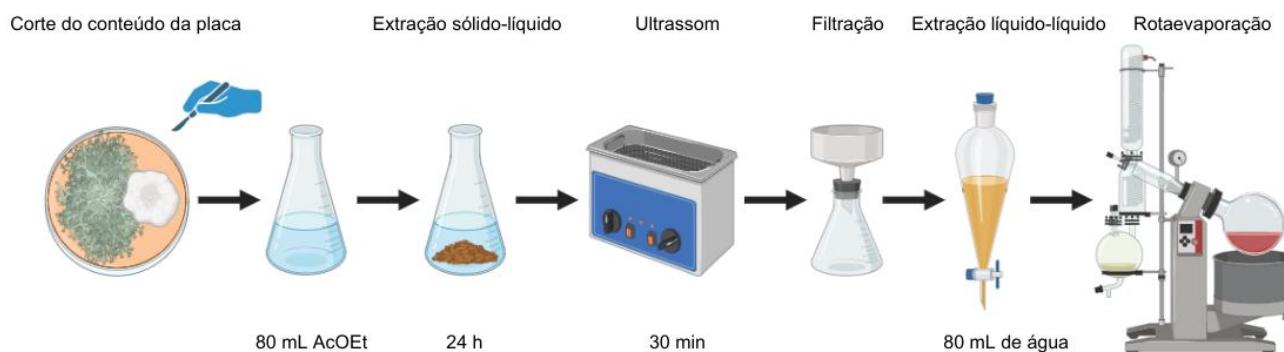


Fonte: elaborada pela autora, com auxílio do site BioRender

3.5 Obtenção dos extratos brutos

Na extração, todo o conteúdo das placas foi fragmentado e colocado em erlenmeyers contendo 80 mL de acetato de etila (AcOEt) e deixados em ambiente escuro por 24 h. Em seguida as amostras passaram por um procedimento de sonicação por 30 min e posterior filtração a vácuo, na qual a fração líquida das amostras passou por uma partição líquido-líquido com 80 mL de água destilada. Ao fim da partição líquido-líquido as amostras passaram pelo rota-evaporador até a evaporação completa do solvente e então o conteúdo transferido para vidros de penicilinas devidamente tarados. A Figura 4 é o esquema exemplificando a extração.

Figura 4 – Etapas para obtenção dos extratos brutos em acetato de etila



Fonte: elaborada pela autora, com auxílio do site BioRender.

3.6 Avaliação da atividade antifúngica

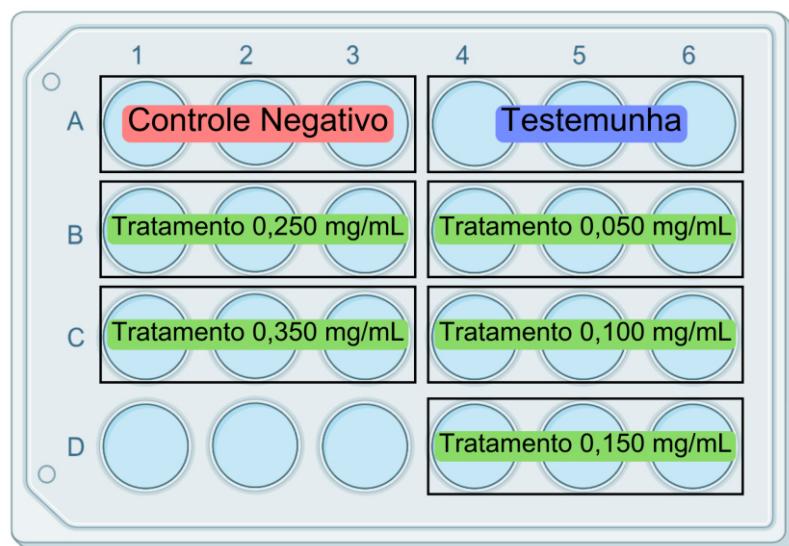
O ensaio da atividade antifúngica *in vitro* foi realizado pela determinação da porcentagem de inibição do crescimento micelial (%ICM) usando o método clássico

de diluição sucessiva (MERZ *et al.*, 1984). O teste foi executado na Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pela professora Dr^a. Eliane Mayumi Inokuti, parceira do grupo de pesquisa.

Para o experimento, os extratos brutos obtidos dos controles de *A. nomiae* (bM-03) foram solubilizados separadamente em 100 µL metanol estéril e adicionadas ao meio BDA estéril fundido, em uma placa de 24 poços, em cinco concentrações: 0,050; 0,100; 0,150; 0,250 e 0,350 mg/mL. O fungicida de princípio ativo tiofanato metílico foi utilizado como controle positivo. Para isso, o fungicida foi dissolvido em água destilada esterilizada para se obter as mesmas cinco concentrações de tiofanato metílico (0,050; 0,100; 0,150; 0,250 e 0,350 mg/mL). Para controle negativo foi utilizado meio BDA com metanol estéril. Um poço contendo meio BDA, um plug de micélio do fitopatógeno *F. jinanense* (UFCM-0611) e metanol estéril foi usado como testemunha. O arranjo do controle negativo, da testemunha e dos tratamentos na placa de 24 poços está esquematizado na Figura 5.

O fitopatógeno foi cultivado em BDA e, após quatro dias de crescimento, plugs do micélio com 3 mm de diâmetro foram colocadas no centro dos poços que continham as diferentes concentrações dos extratos e do fungicida sintético. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

Figura 5 – Esquema do teste antifúngico em placas de 24 poços: controle negativo; testemunha; tratamentos com tiofanato metílico; extratos brutos de 14 e 21 dias de *A. nomiae*.



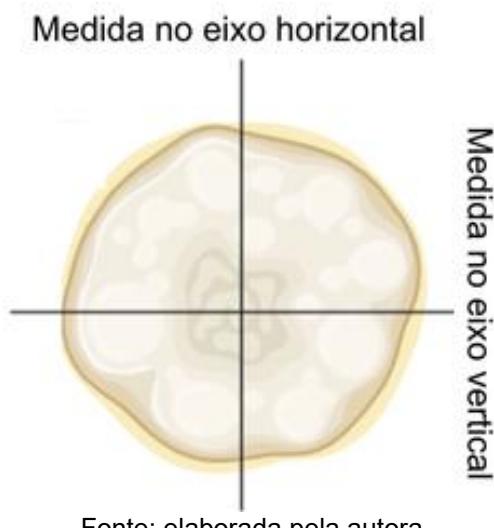
Fonte: elaborado pela autora.

Após um período de incubação de 24 h a 25 °C, e sob fotoperíodo de 12 h, foi medido o diâmetro das colônias no eixo horizontal e no eixo vertical (diâmetros perpendiculares) e realizada a média das duas medidas para determinar o crescimento micelial, conforme simulado na Figura 6. O diâmetro original do plug micelial (3 mm) foi subtraído desta medida. A %ICM em relação a testemunha foi calculada para todas as concentrações dos extratos. A taxa de inibição do crescimento micelial (%ICM) foi determinada de acordo com Simionato *et al.* (2017) usando a fórmula abaixo:

$$\%ICM = \left[\frac{Dc - Dt}{Dc} \right] \times 100$$

Onde: Dc = diâmetro médio do micélio fúngico da testemunha e Dt = diâmetro médio do micélio fúngico do tratamento (concentrações dos extratos e do fungicida).

Figura 6 – Representação de como foram realizadas as medidas para determinar o crescimento micelial após o período de 24 h.



Fonte: elaborada pela autora.

3.7 Análise do perfil químico em RMN de ^1H

Para análise em Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , 5 mg de extrato bruto obtido no item 3.4 foram dissolvidos em 500 μL em D_2O .

Os experimentos de RMN de ^1H foram realizados nas instalações do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) na UFC, em um espectrômetro Bruker DPX AVANCE500, operando na frequência de 500 MHz para o núcleo de hidrogênio, utilizando sonda BBFO direta de 5 mm de diâmetro para análises.

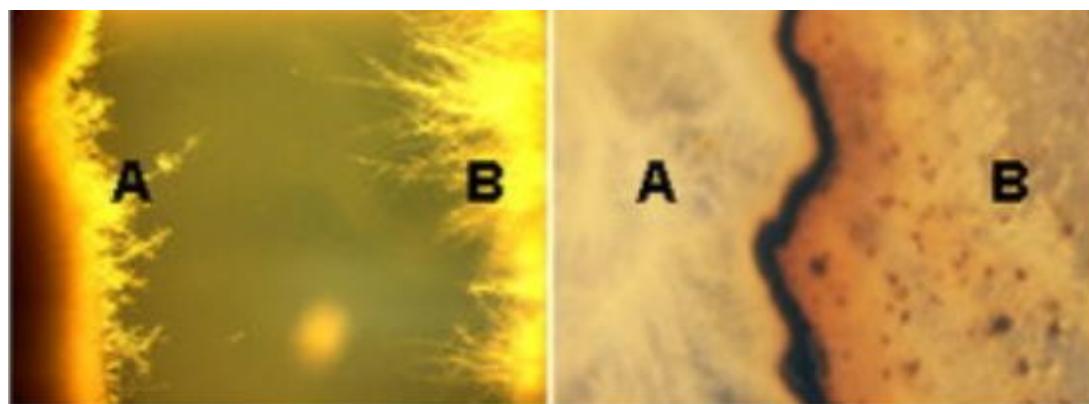
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Antagonismo das cepas fúngicas usando o co-cultivo

Condições normais de cultivo de fungos em laboratório não são capazes de ativar todo o potencial de produção de metabólitos do microrganismo. Uma forma de contornar esse empecilho é o uso da técnica de co-cultivo, cujo objetivo é tentar simular as condições naturais em que o fungo vive e para isso essa técnica prevê o cultivo de duas cepas de microrganismos com restrição de espaço e, consequentemente, de nutrientes. Dessa forma, uma cepa pode produzir metabólitos que impeçam o crescimento da outra (Knowles *et al.*, 2022).

Nesse trabalho, então, a técnica foi utilizada para confirmar que o fungo *Aspergillus nomiae* (bM-03) era capaz de inibir o crescimento do fitopatógeno *Fusarium jinanense* (UFCM-0611). Segundo Bertrand *et al.* (2013), existem 4 possibilidades de inibição entre dois fungos em uma co-cultura, exemplificadas na Figura 7: 1) inibição à distância: as duas cepas permanecem afastadas provavelmente devido a presença de compostos antifúngicos no meio produzidas por uma ou ambas as espécies; 2) linha de zona: as cepas crescem o suficiente para se encostarem e há a formação de uma linha visível delimitando seu crescimento. Essa linha seria um local onde as duas cepas expeliram substâncias antifúngicas; 3) inibição por contato: as cepas se tocam, sem se sobrepor uma sobre a outra e sem evidência visível de produção de compostos; e, por último, 4) sobreposição: uma espécie apresenta crescimento excessivo e é capaz de se justapor sobre a outra espécie.

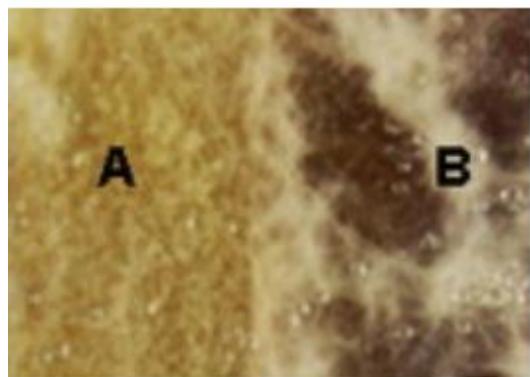
Figura 7 – Os quatros tipos de interação entre fungos no co-cultivo em meio sólido, segundo Bertrand *et al.* (2013)



Inibição à distância



Linha de zona



Inibição por contato

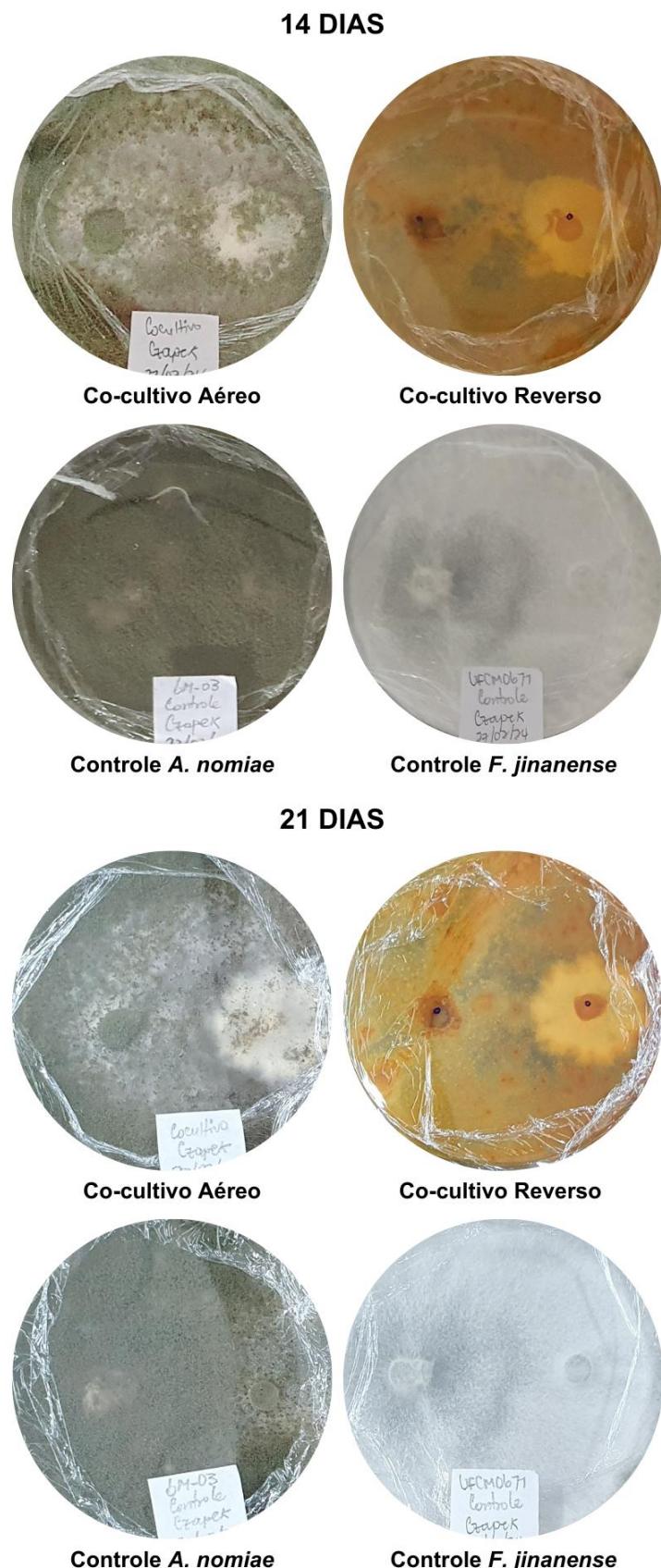


Sobreposição

Fonte: adaptado de Bertrand *et al.* (2013)

A cepa *A. nomiae* (bM-03) foi capaz de inibir o crescimento da cepa *F. jinanense* (UFCM-0611) em meio Czapek Ágar por sobreposição, conforme observado na Figura 8.

Figura 8 – Antagonismo das cepas *A. nomiae* (bM-03) e *F. jinanense* (UFCM-0611) obtido no co-cultivo após 14 e 21 dias em meio Czapek Ágar.



Fonte: elaborada pela autora.

4.2 Avaliação da atividade antifúngica dos extratos brutos

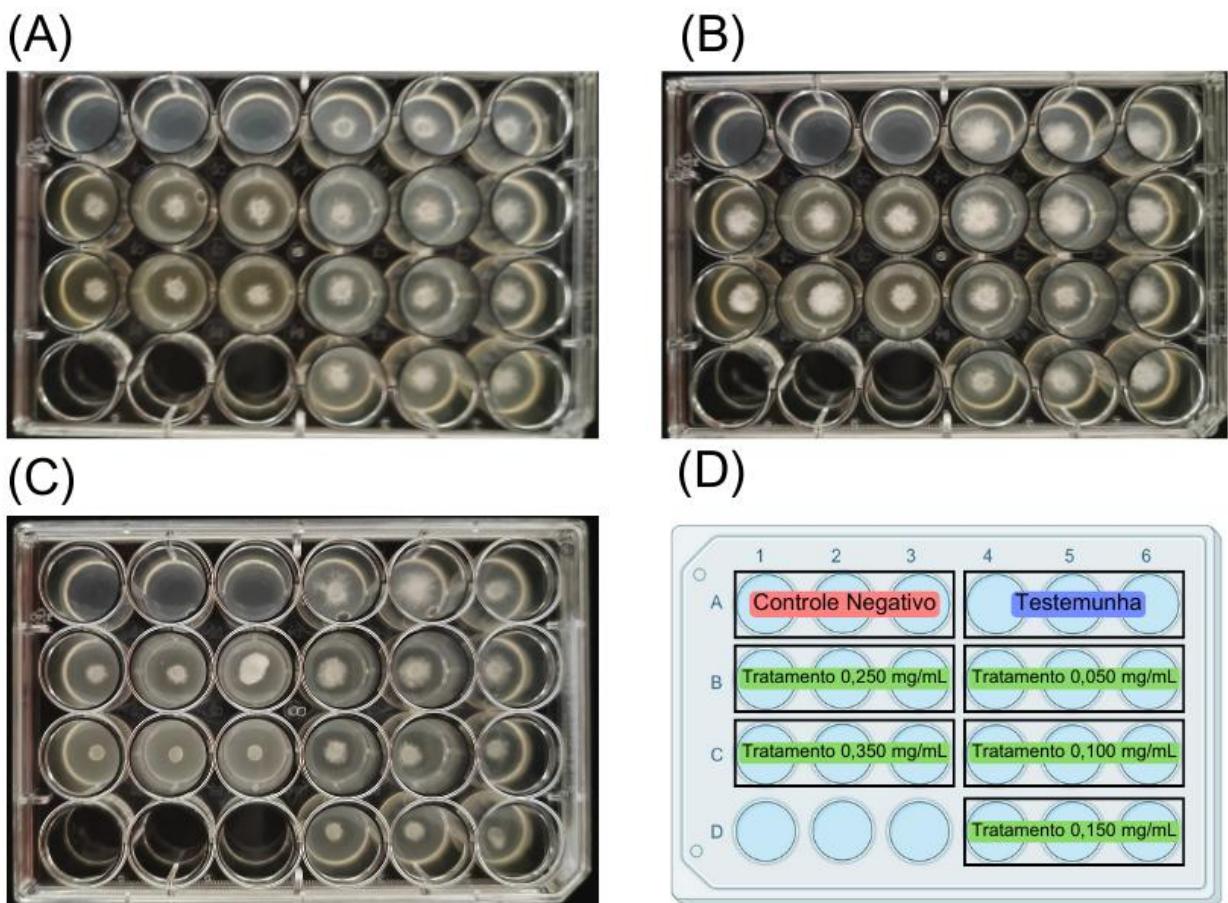
Os resultados da atividade antifúngica estão dispostos nas Figura 9 e Tabela 1. Enquanto a maior porcentagem de inibição do crescimento micelial (%ICM) fungicida sintético, tiofanato metílico, foi de 71,43% (3,02) com 0,350 mg/mL, as concentrações de 0,250 e 0,350 mg/mL do extrato bruto de *A. nomiae* (bM-03) 14 dias se destacam por apresentarem as maiores %ICM com 41,04% ($\pm 2,28$) e 40,46% ($\pm 6,03$), respectivamente. Também se destacam as concentrações de 0,250 e 0,350 mg/mL do extrato bruto de *A. nomiae* (bM-03) 21 dias também se destacam com maiores valores de %ICM, com 41,56% ($\pm 1,97$) e 50,16% ($\pm 4,10$).

Tabela 1 – Porcentagens de inibição do crescimento micelial (%ICM) dos tratamentos com tiofanato metílico e extratos brutos de *A. nomiae* (bM-03).

Tratamento	Concentração (mg/mL)	ICM (% \pm DP)
Tiofanato Metílico	0,050	40,42 \pm 6,99
	0,100	57,14 \pm 2,35
	0,150	63,89 \pm 1,76
	0,250	60,64 \pm 8,82
	0,350	71,43 \pm 3,02
Extrato bM-03 14 dias	0,050	15,72 \pm 4,08
	0,100	35,75 \pm 1,58
	0,150	35,71 \pm 4,55
	0,250	41,04 \pm 2,28
	0,350	40,46 \pm 6,03
Extrato bM-03 21 dias	0,050	26,37 \pm 3,33
	0,100	34,76 \pm 2,47
	0,150	35,66 \pm 3,65
	0,250	41,56 \pm 1,97
	0,350	50,16 \pm 4,1

Fonte: elaborada pela autora.

Figura 9 – Avaliação do crescimento micelial do *F. jinanense* (UFCM-0611) após os tratamentos com tiofanato metílico (A) e extratos brutos de *A. nomiae* (bM-03) com 21 (B) e 14 dias (C).



Fonte: elaborada pela autora. (A) é o tratamento com extrato de 14 dias, (B) é o tratamento com extrato de 21 dias, (C) é o tratamento com tiofanato metílico e (D) Representação do arranjo do controle negativo, da testemunha e dos tratamentos na placa de 24 poços

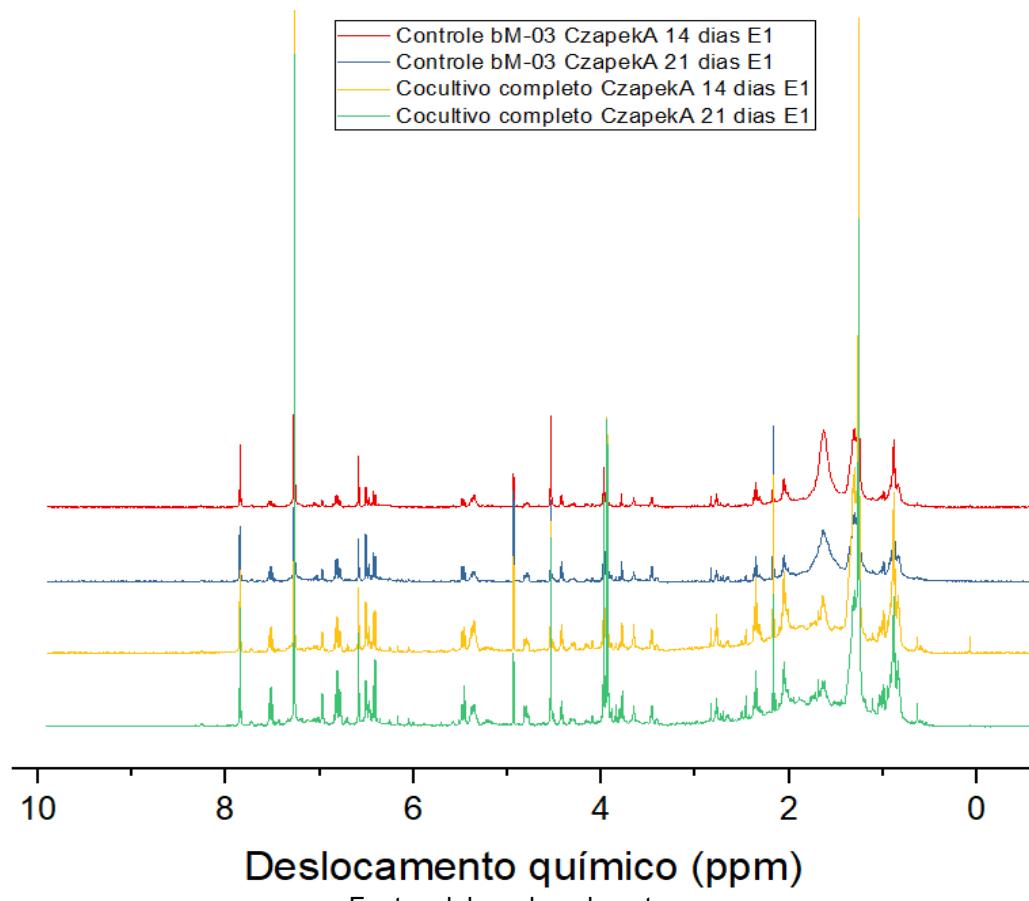
Kong *et al.* (2022) testaram a atividade antifúngica da cânfora, composto isolado de plantas aromáticas já conhecido por sua atividade inseticida, contra quatro espécies fitopatogênicas pertencentes ao gênero *Fusarium* (*F. oxysporum* G5, *F. solani* G9, *F. verticillioide* e *F. graminearum*) e concluiu que a taxa de inibição absoluta contra os fungos testados passa de 80% com 2 mg/mL do composto. Segundo uma busca na plataforma Agrolink, a recomendação de uso no campo do princípio ativo tiofanato metílico varia entre 0,7 mg/mL a 1 mg/mL (Agrolink, [s.d.]).

Os resultados são promissores quando comparados ao fungicida sintético e aos dados da literatura, pois se trata de princípios ativos isolados, porém os extratos usados neste trabalho são uma mistura de compostos, na qual não se pode garantir que o composto antifúngico está em maior concentração.

4.3 Perfil químico obtido por RMN de ^1H

Os espectros obtidos após análise em RMN de ^1H estão compilados na Figura 10. Ao comparar os espectros obtidos do cultivo *A. nomiae* (bM-03) isolado (14 dias em vermelho e 21 dias em azul) com o co-cultivo entre *A. nomiae* (bM-03) e *F. jinanense* (UFCM-0611) (14 dias em amarelo e 21 dias em verde), observa-se que houve uma mudança no perfil químico obtido nas duas situações.

Figura 10 – Espectros de RMN de ^1H obtidos pela análise dos extratos brutos do controle de *A. nomiae* (bM-03) e co-cultivo de *A. nomiae* (bM-03) e *F. jinanense* (UFCM-0611).



Essas mudanças estão relacionadas principalmente pela concentração dos compostos presentes, evidenciadas pela intensidade dos sinais presentes. No espectro de RMN de ^1H , a área sob cada sinal é proporcional ao número de átomos de hidrogênio que geram esse pico, quantificando sua abundância na amostra (Solomons; Fryhle; Snyder, 2018). Nos espectros obtidos, os sinais presentes

próximos do deslocamento químico (δ) 7,2, 1,2, 4,0 possuem uma maior intensidade nos extratos de co-cultivo do que nos extratos de bM-03 usados, o que sugere que o(s) composto(s) com atividade antifúngica são encontrados nessas regiões.

Outro ponto que se destaca é aproximadamente 1,5 ppm no qual está em maior concentração os extratos de controle do que nos extratos do cultivo. Esse comportamento pode indicar que a cepa *A. nomiae*, ao estar em co-cultivo com *F. jinanense*, prioriza o gasto de energia para o antagonismo do UFCM-0611. Os fungos regulam rigorosamente os *clusters* de genes biossintéticos (BGCs) controlando a síntese de metabólitos secundários, uma vez que sua produção requer alta energia, e é ativada somente em condições específicas. Co-cultivo imita a competição natural e pode desencadear a biossíntese de metabólitos: alguns são regulados positivamente (*upregulated*) para mediar a competição, enquanto outros são regulados negativamente (*downregulated*) para conservar energia. Compostos que não contribuem para interações de antagonismo com pouca ou nenhuma atividade antimicrobiana tendem a reduzir significativamente a produção, como um meio de conservar recursos metabólicos durante condições estressantes (Mosunova; Navarro-Muñoz; Collemare, 2021, Wang *et al.*, 2022, Reza; Oppong-Danquah; Tasdemir, 2024).

Esse fenômeno é explorado pela técnica OSMAC, em que pequenas variações nas condições de cultivo (temperatura, pH, meio de cultura, co-cultivo, uso de meio sólido ou líquido) alteram o perfil metabólico dos microrganismos quando comparado a condições padrão de cultivo (Bode *et al.*, 2002, Pan *et al.*, 2019). González *et al.* (2024) testaram extratos brutos do monocultivo de *Trichoderma asperellum* T8a e do co-cultivo com *Neurospora crassa* contra os fitopatógenos *Botrytis cinerea* e *Fusarium solani*. Ambos os extratos inibiram o desenvolvimento dos patógenos, mas o co-cultivo foi mais eficaz. Nas concentrações de 10% e 20% (v/v) inibiu mais de 90% do crescimento de ambos patógenos, provavelmente porque *N. crassa* desencadeia a resposta micoparasitária de *T. asperellum*, aumentando a concentração de metabólitos inibitórios. Stierle *et al.* (2017) estudaram o perfil químico de dois fungos extremófilos, *Penicillium fuscum* e *P. camembertii/clavigerum*, tanto isolados como em co-cultura. O co-cultivo das duas espécies provocou a produção de compostos que não foram encontrados nos cultivos isolados, incluindo o antibiótico macrólido Berkeleylactona A que apresentou atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (SARM).

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, o fungo endofítico *A. nomiae* é um candidato em potencial como inibidor do crescimento do fitopatógeno estudado. Os experimentos de RMN de ^1H mostram a produção de metabólitos em maior concentração no co-cultivo, em relação ao isolado, indicando que a técnica influencia diretamente na produção de metabólitos que possuem atividade inibitória do crescimento micelial do fitopatógeno do melão amarelo *F. jinanense*. O presente trabalho é um dos primeiros registros da atividade antifúngica de *A. nomiae* e o primeiro com atividade anti *F. jinanense*. Como perspectiva, espera-se identificar e isolar o(s) composto(s) com atividade antagonista para se compreender melhor seu mecanismo de ação e estudar sua aplicação em campo.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAZEK, A. S. et al. Microbial Natural Products in Drug Discovery. **Processes**, v. 8, n. 4, p. 470, abr. 2020.
- AGROLINK. AGROLINK - Sistema de busca que localiza todas empresas, produtos e serviços no ramo agropecuário. Gratuito, rápido e inteligente. Telefone, email, site, endereço. Disponível em: <<https://www.agrolink.com.br/agrobusca>>. Acesso em: 12 fev. 2025.
- AKRAM, S. et al. Uniting the Role of Endophytic Fungi against Plant Pathogens and Their Interaction. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 72, 3 jan. 2023.
- BABY, A. R. et al. Azadirachta indica (Neem) as a Potential Natural Active for Dermocosmetic and Topical Products: A Narrative Review. **Cosmetics**, v. 9, n. 3, p. 58, jun. 2022.
- BELANDI, C. Com alta recorde da Agropecuária, PIB fecha 2023 em 2,9% | Agência de Notícias. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/39306-com-alta-recorde-da-agropecuaria-pib-fecha-2023-em-2-9#:~:text=A%20atividade%20Agropecu%C3%A1ria%20cresceu%2015,2%%20em%20rela%C3%A7%C3%A3o%20a%202022>. Acesso em: 10 jun. 2024.
- BERTRAND, S. et al. Detection of metabolite induction in fungal co-cultures on solid media by high-throughput differential ultra-high pressure liquid chromatography–time-of-flight mass spectrometry fingerprinting. **Journal of Chromatography A**, v. 1292, p. 219–228, maio 2013.
- BIAN, J.-Y. et al. The Fungal Endophyte Epicoccum dendrobii as a Potential Biocontrol Agent Against Colletotrichum gloeosporioides. **Phytopathology®**, v. 111, n. 2, p. 293–303, fev. 2021.
- BODE, H. B. et al. Big Effects from Small Changes: Possible Ways to Explore Nature's Chemical Diversity. **ChemBioChem**, v. 3, n. 7, p. 619–627, 2002.
- BORGES, R.; RESENDE, J. (DES)CONSTRUINDO A METABOLÔMICA EM PRODUTOS NATURAIS: UM CONVITE A DISCUSSÃO. **Química Nova**, 2021.
- CARMONA-HERNANDEZ, S. et al. Biocontrol of Postharvest Fruit Fungal Diseases by Bacterial Antagonists: A Review. **Agronomy**, v. 9, n. 3, p. 121, mar. 2019.
- CASTELLANI, A. Further researches on the long viability and growth of many pathogenic fungi and some bacteria in sterile distilled water. **Mycopathologia et mycologia applicata**, v. 20, n. 1, p. 1–6, 1 ago. 1963.
- CHENG, M. et al. Postharvest preservation effect of composite biocontrol agent on tomatoes. **Scientia Horticulturae**, v. 321, p. 112344, 1 nov. 2023.

COSTA, N. D. (ed.). **A cultura do melão**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2017. 202 p. (Coleção Plantar). Autores: Alessandra Monteiro Salviano *et al.*

CROUS, P. W. *et al.* Fusarium: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in Mycology**, v. 98, n. 1, p. 1–184, 1 mar. 2021.

DE ALMEIDA NOGUEIRA, G. *et al.* Aggressivity of Different Fusarium Species Causing Fruit Rot in Melons in Brazil. **Plant Disease**, v. 107, n. 3, p. 886–892, mar. 2023.

DE MOURA, A. P. *et al.* Thermotherapy in the management of galia melon rot caused by Fusarium falciforme and Fusarium sulawesiense. **European Journal of Plant Pathology**, v. 169, n. 4, p. 715–725, 1 ago. 2024.

DE SOUSA, M. A.; GRANADA, C. E. Biological control of pre- and post-harvest microbial diseases in Citrus by using beneficial microorganisms. **BioControl**, v. 68, n. 1, p. 75–86, 1 fev. 2023.

EBRAHIMI, L.; TADAYON RAD, F.; LOTFI, M. Antagonism of endophytic fungi depends on pathogen and host plant. **BioControl**, v. 68, n. 6, p. 655–668, 1 dez. 2023.

EKWOMADU, T. I.; MWANZA, M. Fusarium Fungi Pathogens, Identification, Adverse Effects, Disease Management, and Global Food Security: A Review of the Latest Research. **Agriculture**, v. 13, n. 9, p. 1810, 14 set. 2023.

EL-HAWARY, S. S. *et al.* Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus Aspergillus. **RSC Advances**, v. 10, n. 37, p. 22058–22079, 8 jun. 2020.

ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I.; MOHAMED, A. A. A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3266, jan. 2023.

EVANGELISTA, L. F. B. *et al.* Controles alternativos no manejo da podridão por Fusarium sp. em pós-colheita do melão: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e34811931940–e34811931940, 12 jul. 2022

FENTA, L.; MEKONNEN, H.; KABTIMER, N. The Exploitation of Microbial Antagonists against Postharvest Plant Pathogens. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1044, abr. 2023. FITE, T. *et al.* Endophytic fungi: versatile partners for pest biocontrol, growth promotion, and climate change resilience in plants. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 7, 21 dez. 2023.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>>. Acesso em: 11 nov. 2024.

FRISVAD, J. C.; LARSEN, T. O. Chemodiversity in the genus Aspergillus. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 19, p. 7859–7877, 1 out. 2015.

- GERIS, R. *et al.* Exploring Culture Media Diversity to Produce Fungal Secondary Metabolites and Cyborg Cells. **Chemistry & Biodiversity**, v. 21, n. 3, p. e202302066, 2024.
- GHOSAL, D.; DATTA, B. Characterization, phylogenetic analysis and toxigenic potential of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolates associated with root rot disease in vegetables. **Journal of Phytopathology**, v. 172, n. 4, p. e13362, 2024.
- GONZÁLEZ, Y. *et al.* Potential application of a fungal co-culture crude extract for the conservation of post-harvest fruits. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 1679–1691, jun. 2024.
- GUPTA, S.; SAXENA, S. Endophytes: Saviour of apples from post-harvest fungal pathogens. **Biological Control**, v. 182, p. 105234, jul. 2023.
- HAGAG, A. *et al.* The endophytic *Aspergillus* strains: A bountiful source of natural products. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 6, p. 4150–4169, 1 jun. 2022.
- HAN, S. L. *et al.* Fusarium diversity associated with diseased cereals in China, with an updated phylogenomic assessment of the genus. **Studies in Mycology**, v. 104, n. 1, p. 87–148, 15 mar. 2023.
- HOUBRAKEN, J. *et al.* Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Studies in Mycology**, v. 95, p. 5–169, mar. 2020.
- JOO, J. H.; HUSSEIN, K. A. Susceptibility of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to natural products and entomopathogenic fungi. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 43, n. 4, p. 1255–1261, 1 ago. 2023.
- KHUNA, S. *et al.* Morphology, Molecular Identification, and Pathogenicity of Two Novel *Fusarium* Species Associated with Postharvest Fruit Rot of Cucurbits in Northern Thailand. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 11, p. 1135, nov. 2022.
- KIST, B. B. *et al.* **Anuário Brasileiro de Horti&Fruti 2023**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2023.
- KIST, B. B. *et al.* **Anuário brasileiro de Horti&Fruti 2024**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2024.
- KNOWLES, S. L. *et al.* Fungal-fungal co-culture: a primer for generating chemical diversity. **Natural Product Reports**, v. 39, n. 8, p. 1557–1573, 17 ago. 2022.
- KONG, W. *et al.* Antifungal activity of camphor against four phytopathogens of *Fusarium*. **South African Journal of Botany**, v. 148, p. 437–445, ago. 2022.

KURTZMAN, C. P.; HORN, B. W.; HESSELTINE, C. W. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 53, n. 3, p. 147–158, 1 maio 1987.

LEE, Y. M. et al. Marine-Derived *Aspergillus* Species as a Source of Bioactive Secondary Metabolites. **Marine Biotechnology**, v. 15, n. 5, p. 499–519, 1 out. 2013.
LI, Y. G. et al. Occurrence of Fruit Rot of Cantaloupe Caused by *Fusarium equiseti* in China. **Plant Disease**, v. 103, n. 10, p. 2683–2683, out. 2019.

LIMA, E. N. et al. A novel lineage in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex is one of the causal agents of fusarium rot on melon fruits in Northeast Brazil. **Plant Pathology**, v. 70, n. 1, p. 133–143, 2021.

LU, Y. et al. Species Diversity and Toxigenic Potential of *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex Isolates from Rice and Soybean in China. **Plant Disease**, v. 105, n. 9, p. 2628–2636, set. 2021.

MAGESWARI, A. et al. Re-Identification of *Aspergillus* Subgenus Circumdati Strains in Korea Led to the Discovery of Three Unrecorded Species. **Mycobiology**, v. 51, n. 5, p. 288–299, 3 set. 2023.

MATROSE, N. A. et al. Plant extracts and other natural compounds as alternatives for post-harvest management of fruit fungal pathogens: A review. **Food Bioscience**, v. 41, p. 100840, jun. 2021.

MATTOO, A. J.; NONZOM, S. Endophytic fungi: understanding complex cross-talks. **Symbiosis**, v. 83, n. 3, p. 237–264, 1 abr. 2021.

MEDEIROS ARAÚJO, M. B. et al. Fusarium rot of melon is caused by several *Fusarium* species. **Plant Pathology**, v. 70, n. 3, p. 712–721, 2021.

MERZ, W. G. et al. Susceptibility testing of filamentous fungi to amphotericin B by a rapid radiometric method. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 54–56, jan. 1984.

MESQUITA, I. **Crescimento da economia brasileira é impulsionado pela alta de 15% da agropecuária em 2023**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/crescimento-da-economia-brasileira-e-impulsionado-pela-alta-de-15-da-agropecuaria-em-2023>. Acesso em: 10 jun. 2024.

MOSUNOVA, O.; NAVARRO-MUÑOZ, J. C.; COLLEMARE, J. The Biosynthesis of Fungal Secondary Metabolites: From Fundamentals to Biotechnological Applications. Em: ZARAGOZA, Ó.; CASADEVALL, A. (Eds.). **Encyclopedia of Mycology**. Oxford: Elsevier, 2021. p. 458–476.

NUANGMEK, W. et al. First report of fruit rot on cantaloupe caused by *Fusarium equiseti* in Thailand. **Journal of General Plant Pathology**, v. 85, n. 4, p. 295–300, 1 jul. 2019.

OMOMOWO, I. O. *et al.* A review on the trends of endophytic fungi bioactivities. **Scientific African**, v. 20, p. e01594, jul. 2023

OYOM, W. *et al.* Recent advances in postharvest technology of Asia pears fungi disease control: A review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 117, p. 101771, jan. 2022.

PALOU, L. *et al.* GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 41–52, dez. 2016.

PAN, R. *et al.* Exploring Structural Diversity of Microbe Secondary Metabolites Using OSMAC Strategy: A Literature Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 26 fev. 2019.

PAULUSSEN, C. *et al.* Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. **Microbial Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 296–322, 2017.

QUEIROGA, R. C. F. DE *et al.* Melon fruit yield and quality as a function of doses and times of biostimulant application. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e130973911–e130973911, 3 maio 2020.

REZA, M. Z.; OPPONG-DANQUAH, E.; TASDEMIR, D. The Impact of the Culture Regime on the Metabolome and Anti-Phytopathogenic Activity of Marine Fungal Co-Cultures. **Marine Drugs**, v. 22, n. 2, p. 66, fev. 2024.

RUTZ, A. *et al.* The LOTUS initiative for open knowledge management in natural products research. **eLife**, v. 11, p. e70780, 26 maio 2022.

SAINI, D. K. *et al.* Microalgal Metabolomes and Recent Biotechnological Advances for Their Industrial Application. **Microbiology Research**, v. 15, n. 4, p. 2056–2069, 5 out. 2024.

SÁNCHEZ, C. *Fusarium* as a promising fungal genus with potential application in bioremediation for pollutants mitigation: A review. **Biotechnology Advances**, v. 77, p. 108476, 1 dez. 2024.

SAWICKA, B. Post-Harvest Losses of Agricultural Produce. Em: LEAL FILHO, W. *et al.* (Eds.). **Zero Hunger**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 654–669.

SHAKEEL, Q. *et al.* Postharvest management of fruits and vegetables. In: INAMUDDIN; ADETUNJI, Charles Oluwaseun (ed.). **Applications of BIOSURFACTANT IN AGRICULTURE**. Nova Delhi: Elsevier, 2022. p. 1-16.

SIMIONATO, A. S. *et al.* The Effect of Phenazine-1-Carboxylic Acid on Mycelial Growth of *Botrytis cinerea* Produced by *Pseudomonas aeruginosa* LV Strain. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 14 jun. 2017.

SNEHA, K. B. et al. Exploring the non-chemical alternatives for the management of post-harvest fungal diseases of major tropical fruits- mango, banana and papaya. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 134, p. 102460, nov. 2024.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C. B.; SNYDER, S. A.. **Química orgânica: volume 1.** 12. ed. Rio de Janeiro: Ltc — Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., 2018.

STEENWYK, J. L. et al. A Robust Phylogenomic Time Tree for Biotechnologically and Medically Important Fungi in the Genera *Aspergillus* and *Penicillium*. **mBio**, v. 10, n. 4, p. 10.1128/mbio.00925-19, 9 jul. 2019.

STIERLE, A. A. et al. The Berkeleylactones, Antibiotic Macrolides from Fungal Coculture. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 4, p. 1150–1160, 28 abr. 2017.

TAN, G. H.; ALI, A.; SIDDIQUI, Y. Current strategies, perspectives and challenges in management and control of postharvest diseases of papaya. **Scientia Horticulturae**, v. 301, p. 111139, jul. 2022.

TRIPATHI, P.; DUBEY, N. K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, n. 3, p. 235–245, jun. 2004.

TWAIJ, B. M.; HASAN, M. N. Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. **International Journal of Plant Biology**, v. 13, n. 1, p. 4–14, mar. 2022.

WANG, X.-C.; ZHUANG, W.-Y. New Species of *Aspergillus* (Aspergillaceae) from Tropical Islands of China. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 3, p. 225, 24 fev. 2022.

WANG, Y. et al. Secondary Metabolite Variation and Bioactivities of Two Marine *Aspergillus* Strains in Static Co-Culture Investigated by Molecular Network Analysis and Multiple Database Mining Based on LC-PDA-MS/MS. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, p. 513, abr. 2022.

WEI, C. et al. Potential of utilizing pathogen-derived mycotoxins as alternatives to synthetic herbicides in controlling the noxious invasive plant *Xanthium italicum*. **Pest Management Science**, v. 80, n. 1, p. 122–132, 2024.

WONGLOM, P.; SUNPAPAO, A. *Fusarium incarnatum* is associated with postharvest fruit rot of muskmelon (*Cucumis melo*). **Journal of Phytopathology**, v. 168, n. 4, p. 204–210, 2020.

XIA, J. W. et al. Numbers to names - restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, n. 1, p. 186–221, 31 dez. 2019.

XIA, Y. et al. Innovative postharvest strategies for maintaining the quality of kiwifruit during storage: An updated review. **Food Frontiers**, v. 5, n. 5, p. 1933–1950, 2024.

XIAO, J. F.; ZHOU, B.; RESSOM, H. W. Metabolite identification and quantitation in LC-MS/MS-based metabolomics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 32, p. 1–14, fev. 2012.

YE, D. *et al.* Microbial metabolomics: From novel technologies to diversified applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 148, p. 116540, 1 mar. 2022.

ZHANG, X. P. *et al.* First Report of *Fusarium pernambucanum* Causing Fruit Rot of Muskmelon in China. **Plant Disease**, v. 106, n. 7, p. 1997, jul. 2022.