



**JULIA SUEMI OHOSEKI PEREIRA**

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS ANTIBACTERIANOS  
PELO FUNGO ENDOFÍTICO *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1  
ISOLADO DE *Langsdorffia hypogaea* MART. (BALANOPHORACEAE)**

**Campo Grande – MS**

**2025**



**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS ANTIBACTERIANOS  
PELO FUNGO ENDOFÍTICO *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1  
ISOLADO DE *Langsdorffia hypogaea* MART. (BALANOPHORACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Farmácia da Universidade Federal  
de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial  
para a obtenção do título de Farmacêutico.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Denise Brentan da  
Silva.

**Campo Grande – MS**  
**2025**

**Otimização da produção de metabólitos antibacterianos pelo fungo endofítico  
*Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 isolado de *Langsdorffia hypogaea* Mart.  
(Balanophoraceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Farmácia da Universidade Federal  
de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial  
para a obtenção do título de Farmacêutico.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Denise Brentan da  
Silva.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. <sup>a</sup> Dra. Denise Brentan da Silva (Presidente)  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

---

Dr. Arthur Ladeira Macedo (Membro Titular)  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

---

Prof. <sup>a</sup> Dra. Fabiana Fonseca Zanoelo (Membro Titular)  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

---

M. <sup>a</sup> Gabriela Dorn Nóbrega (Membro Suplente)  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, de coração, à minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Denise Brentan da Silva. Obrigada por toda a paciência, pelas conversas, pelas correções e por me orientar mesmo nos momentos em que eu estava perdida. Sua confiança e apoio fizeram muita diferença ao longo deste trabalho.

Às minhas coorientadoras Laís Azevedo Rodrigues, Caroline de Moura Costa e Katyuce de Souza Farias, sou muito grata por cada ajuda, pelas ideias compartilhadas e por sempre estarem disponíveis quando eu precisei. Vocês contribuíram demais para que esta pesquisa acontecesse.

Agradeço à minha família do fundo do coração por todo amor, compreensão e força nos momentos mais difíceis. Vocês sustentaram meus sonhos quando eu duvidei deles. Aos amigos que caminharam comigo, obrigada por cada gesto de apoio, pelas conversas, pela companhia e por me lembrarem que nenhum desafio é grande demais quando temos pessoas verdadeiras ao nosso lado.

À minha segunda família, o Atletismo de Mirandópolis, que mesmo longe nesse período de faculdade, ensinaram-me a nunca desistir e sempre fazer o meu melhor. Obrigada Roberto Kanda, nosso tio Su, por ser como um mentor e guia em toda a minha caminhada.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram, de maneira direta ou indireta, para que este trabalho se tornasse realidade. Levo comigo cada gesto, cada palavra e cada incentivo.

## RESUMO

O Brasil é um dos países com maior biodiversidade do mundo, embora sua diversidade microbiana ainda seja pouco explorada. Os fungos endofíticos destacam-se pela capacidade de produzir metabólitos secundários bioativos com potencial biotecnológico, incluindo compostos antibacterianos. Neste contexto, este estudo investigou o potencial do fungo endofítico *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1, isolado de *Langsdorffia hypogaea* Mart., na produção de metabólitos com atividade antibacteriana, aplicando a estratégia *One Strain Many Compounds* (OSMAC) para modular e otimizar seu metabolismo secundário. A atividade antibacteriana foi avaliada por ensaio de microdiluição em caldo, e a caracterização química dos extratos foi realizada por CLAE-DAD-EM e CG-EM. As variações nas condições de cultivo influenciaram diretamente a diversidade química dos metabólitos produzidos. O meio PDB apresentou maior diversidade de compostos, incluindo o dipeptídeo ciclo prolil-tirosina e o ácido fusárico, enquanto o meio MEB promoveu maior intensidade de metabólitos em tempos de retenção elevados, relacionados ao metabolismo secundário. A fração apolar (hexânica) do extrato de micélio cultivado em meio MEB revelou predominância de ésteres de ácidos graxos, como linoleato e oleato de etila, o qual foi semelhante ao observado para o cultivo em meio PDB, mas discrepante do observado para o meio YPD que foram majoritariamente encontrados ácido graxos livres. Nos ensaios antibacterianos, a fração metanólica do extrato do micélio cultivado em MEB (EBmic-MEB-Me) demonstrou a maior inibição de *Staphylococcus aureus* ATCC 25904 relevando uma inibição do crescimento bacteriano de mais de 93% nas concentrações avaliadas (1-0,25 mg/ml), enquanto o extrato do sobrenadante (EBsob-MEB-Me) também exibiu atividade significativa de inibição de 90,5%. Para *Escherichia coli* (ATCC 14458), apenas o extrato EBsob-MEB-Me apresentou inibição de crescimento bacteriano de 95,4% na maior concentração avaliada. Os resultados evidenciam a eficiência da estratégia OSMAC na modulação do metabolismo secundário de *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1 e destacam o cultivo em meio MEB como condição promissora para a produção de compostos antibacterianos contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, como *S. aureus* e *E. coli*.

**Palavras-chave:** *Fusarium pseudocircinatum*; fungos endofíticos; dicetopiperazinas; OSMAC; antibacterianos.

## ABSTRACT

Brazil is one of the countries with the greatest biodiversity in the world, although its microbial diversity remains little explored. In this context, endophytic fungi stand out for their ability to produce bioactive secondary metabolites with biotechnological potential, including antibacterial compounds. In this context, this study investigated the potential of the endophytic fungus *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1, isolated from *Langsdorffia hypogaea* Mart., to produce metabolites with antibacterial activity, applying the One Strain Many Compounds (OSMAC) strategy to modulate and optimize its secondary metabolism. Antibacterial activity was evaluated using a broth microdilution assay, and the chemical characterization of the extracts was performed by HPLC-DAD-MS and GC-MS. Variations in culture conditions directly influenced the chemical diversity of the metabolites produced. PDB medium showed greater compound diversity, including the dipeptide cyclo (Pro-Tyr) and fusaric acid, while MEB medium promoted higher intensity of metabolites at elevated retention times, associated with secondary metabolism. The apolar fraction (hexane) of the mycelial extract cultured in MEB revealed a predominance of fatty acid esters, such as ethyl linoleate and ethyl oleate, which was similar to that observed for PDB medium but differed from YPD medium, in which free fatty acids were predominantly detected. In the antibacterial assays, the methanolic fraction of the mycelial extract from MEB medium (EBmic-MEB-Me) showed the highest inhibition of *Staphylococcus aureus* ATCC 25904, revealing more than 93% inhibition of bacterial growth at the concentrations tested (1–0.25 mg/mL), while the supernatant extract (EBsob-MEB-Me) also exhibited significant activity, with 90.5% inhibition. For *Escherichia coli* (ATCC 14458), only the EBsob-MEB-Me extract showed bacterial growth inhibition, reaching 95.4% at the highest concentration tested. The results demonstrate the effectiveness of the OSMAC strategy in modulating the secondary metabolism of *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1 and highlight cultivation in MEB medium as a promising condition for producing antibacterial compounds against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, such as *S. aureus* and *E. coli*.

**Keywords:** *Fusarium* sp.; endophytic fungi; secondary metabolites; OSMAC; antibacterials.

## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES**

**AIA:** ácido indol-3-acético.

**BDA:** meio ágar batata dextrose.

**BHI:** Brain Heart Infusion.

**BLASTn:** Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides.

**B.O.D:** Biochemical Oxygen Demand.

**CG:** cromatografia em fase gasosa.

**CLAE:** cromatografia líquida de alta eficiência.

**CZA:** Czapek.

**DAD:** detector de arranjo de diodos.

**DKPs:** dicetopiperazinas.

**EBmic:** extrato bruto do micélio.

**EBmic-Hx:** frações hexânicas do extrato bruto do micélio.

**EBmic-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do micélio.

**EBsob:** extrato bruto do sobrenadante.

**EBsob-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do sobrenadante.

**EBmic-MEB-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do micélio do meio de extrato de malte.

**EBmic-PDB-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do micélio do meio batata dextrose.

**EBmic-YPD-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do micélio do meio de extrato de levedura peptona dextrose.

**EBsob-MEB-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do sobrenadante do meio de extrato de malte.

**EBsob-PDB-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do sobrenadante do meio batata dextrose.

**EBsob-YPD-Me:** frações hidrometanólicas do extrato bruto do sobrenadante do meio de extrato de levedura peptona dextrose.

**EI:** ionização eletrônica.

**EF1:** Translation Elongation Factor 1-alpha.

**EM:** espectrometria de massas.

**FFSC:** complexo de espécies do fungo *Fusarium fujikuroi*.

**GenBank:** Genetic Sequence Database.

**IaaH:** hidrolase de indol-3-acetamida.

**IaaM:** triptofano mono-oxigenase.

**IES:** ionização por eletrospray.

**IR:** índice de retenção.

**ITS:** Internal Transcribed Spacer.

**LaPNEM:** Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas.

**MEB:** meio de extrato de malte.

**MIC:** concentração inibitória mínima.

**MTT:** brometo de tiazolil azul tetrazólio.

**OSMAC:** *One Strain Many Compounds.*

**PDB:** meio batata dextrose.

**Pro-DKPs:** dicetopiperazinas derivadas de aminoácidos hidrofóbicos, especialmente prolina.

**Q-TOF:** analisador quadrupolo e tempo de voo em sequência.

**rDNA:** DNA ribossomal

**ROS:** espécies reativas de oxigênio.

**SB:** Sabouraud.

**TIC:** cromatograma de íons totais.

**TRA:** triptamina.

**YPD:** meio de extrato de levedura peptona dextrose.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas reprodutivas de *Langsdorffia hypogaea* Mart. (Balanophoraceae) em diferentes estágios de desenvolvimento, observadas no ambiente natural. (A) Inflorescência feminina em botão, com brácteas espessas e ápice serrilhado dispostas ao redor da cúpula pilosa avermelhada. (B) Inflorescência masculina em antese, exibindo estames agrupados com anteras amarelas e filamentos avermelhados. (C) Inflorescências feminina (superior) e masculina (inferior) próximas no solo, em diferentes fases de maturação, parcialmente cobertas por serapilheira.

Figura 2 – Estruturas de compostos descritos no gênero *Fusarium*.

Figura 3 – *Fusarium pseudocircinatum* em meio BDA.

Figura 4 – Meios de cultivo MEB, YPD, SB, CZA e PDB, respectivamente.

Figura 5 – *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 em meios de cultivo YPD (A), PDB (B) e MEB (C).

Figura 6 – Biomassa micelial média formada nos diferentes meios de cultura.

Figura 7 – Estruturas dos compostos anotados nos extratos de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Figura 8 – Gráfico da área integrada dos picos 1 e 2 observados nos extratos brutos de sobrenadante (EBsob) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 presentes nos 3 meios.

Figura 9 – Gráfico da área integrada dos picos 3 a 11 observados nos extratos brutos de sobrenadante (EBsob) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 presentes em 1 ou 2 meios.

Figura 10 – Cromatograma de íons totais (TIC) obtido por CG-EM da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio YPD (EBmic-Hx-YPD) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Figura 11 – Cromatograma de íons totais (TIC) obtido por CG-EM da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio PDB (EBmic-Hx-YPD) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Figura 12 – Cromatograma de íons totais (TIC) obtido por CG-EM da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio MEB (EBmic-Hx-MEB) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Figura 13 – Atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25904 dos extratos obtidos através do fungo *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Figura 14 – Atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* ATCC 14458 dos extratos obtidos através do fungo *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

## **LISTA DE QUADROS E TABELAS**

Quadro 1 – Compostos anotados nos extratos brutos de sobrenadante (Ebsob) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Tabela 1 – Biomassa micelial, rendimento do extrato bruto sobrenadante (EBsob) e produtividade específica do extrato bruto micelial (EBmic) produzidos por *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 cultivado em diferentes meios de cultura.

Tabela 2 – Massa e rendimentos dos extratos brutos de micélio (EBmic) e de suas frações metanólicas (EBmic-Me) e hexânica (EBmic-Hx).

Tabela 3 – Compostos anotados a partir da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio YPD (Ebmic-Hx-YPD) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Tabela 4 – Compostos anotados a partir da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio PDB (Ebmic-Hx-PDB) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Tabela 5 – Compostos anotados a partir da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio MEB (Ebmic-Hx-MEB) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	14
2.1. Infecções bacterianas .....	14
2.2. Fungos endofíticos como fonte de produção de metabólitos secundários .....	15
2.3. <i>Langsdorffia hypogaea</i> Mart. ....	17
2.4. Gênero <i>Fusarium</i> .....	19
2.4.0. <i>Fusarium pseudocircinatum</i> .....	21
3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Objetivo geral .....	23
3.2. Objetivos específicos .....	23
4. METODOLOGIA OU MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1. Cultivo e manutenção dos microrganismos .....	24
4.3. Cultivo de <i>Fusarium pseudocircinatum</i> 12IP3F4-1 em diferentes meios .....	24
4.4. Obtenção dos extratos brutos dos meios de cultivo .....	25
4.5. Partição líquido-líquido dos extratos brutos de micélio (Ebmic) .....	26
4.6. Análises dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD-EM).....	26
4.7. Análises dos extratos por cromatografia gasosa acoplada à espectrofotometria de massas (CG-EM).....	27
4.8. Ensaio de microdiluição para avaliação da atividade antibacteriana.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1. Rendimentos dos extratos .....	29
5.2. Análises químicas dos extratos e anotação dos metabólitos .....	31
5.3. Análises por cromatografia em fase gasosa acoplada a spectrometria de massas (CG-EM).....	36
5.4. Ensaio de microdiluição para avaliação da atividade antibacteriana.....	40
6. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS .....	44
ANEXO 1 .....	49

## **1. INTRODUÇÃO**

A biodiversidade pode ser definida como a variabilidade de organismos vivos de todas as origens presentes em diferentes ecossistemas (OMS, 2024). O Brasil destaca-se mundialmente por sua extensa diversidade biológica, concentrando cerca de 20% das espécies conhecidas distribuídas em seis biomas distintos, cada um com suas características ambientais únicas (MEIRELLES; RUPPELT, 2023). Apesar da ampla documentação sobre a fauna e a flora, a diversidade microbiana presente nesses biomas ainda é pouco explorada e frequentemente subestimada (ELLWANGER; NOBRE; CHIES, 2022).

Os produtos naturais extraídos de plantas, microrganismos e animais têm sido fundamentais para a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos. Cerca de 24% dos fármacos utilizados na terapêutica são derivados dessas fontes. Isso demonstra que quase um quarto desses fármacos disponíveis têm origem nessas fontes biológicas, como exemplos temos a daptomicina, a teicoplanina e a fidaxomicina, que são antibióticos obtidos de microrganismos (NEWMAN; CRAGG, 2020; KOECH, et al., 2025). Microrganismos como bactérias e fungos desempenham papéis ecológicos essenciais e representam uma fonte promissora para a descoberta de compostos bioativos com potencial biotecnológico (CONRADO et al., 2022).

Os fungos endofíticos habitam os tecidos internos das plantas sem causar danos aparentes a elas, e são capazes de produzir metabólitos secundários com diversas propriedades biológicas, incluindo antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, anticancerígena e antiviral (NGUYEN, et al., 2025; TUERDIBIEKE et al., 2024; EL-ZAWAWY, et al., 2022). Além disso, esses organismos representam um recurso promissor para estudos químicos e para o levantamento da biodiversidade microbiana, uma vez que sua variabilidade genética e metabólica pode revelar novos compostos bioativos com potencial terapêutico, além de contribuir para o desenvolvimento de processos e produtos (EL-ZAWAWY et al., 2022; GUPTA et al., 2023). Essa diversidade microbiana torna-se especialmente relevante diante do crescente desafio das infecções bacterianas, que representam um grave problema de saúde pública e têm se agravado devido à resistência aos antibióticos, resultando em elevadas taxas de mortalidade. Esses apontamentos destacam ainda mais a necessidade de se descobrir e desenvolver novas opções terapêuticas para combater bactérias patogênicas (NGUYEN et al., 2025, ZHONG et al., 2024).

Diante da necessidade de novos agentes bacterianos e da complexidade dos quadros clínicos das infecções, o potencial biotecnológico dos fungos endofíticos para a produção

de compostos com atividades antifúngicas, antibacterianas e antioxidantes vem sendo destacado em diversas pesquisas (STAROPOLI, et al., 2023; SONG, et al., 2024). Para ampliar essa diversidade química e ativar vias metabólicas silenciosas, são utilizadas estratégias como manipulação genética, co-cultivo, uso de elicidores e variações nas condições de cultivo (STAROPOLI, et al., 2023; HASHEM, et al., 2023). Dentre essas abordagens, a estratégia *One Strain Many Compounds* (OSMAC) tem sido aplicada para estimular a produção diversificada desses metabólitos, através da modificação das condições de cultivo, como temperatura, radiação, composição do meio, pH e agitação. Essa técnica permite ativar diferentes vias metabólicas e ampliar ou otimizar a biossíntese de compostos produzidos pelos fungos endofíticos, aumentando as chances de descoberta de moléculas bioativas relevantes para a indústria (FERREIRA; CRUZ; HAMERSKI, 2022).

Este estudo se propõe a investigar a capacidade do fungo endofítico *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 em produzir metabólitos secundários com atividade antibacteriana. Para isso, foi utilizada a técnica OSMAC para estimular a variedade biossintética. O isolado fúngico foi obtido através da micoteca mantida pelo grupo de pesquisa LaPNEM (Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas), o qual foi obtido da espécie vegetal *Langsdorffia hypogaea* Mart. (Balanophoraceae).

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1. *Infecções bacterianas***

As infecções bacterianas representam um dos maiores desafios globais à saúde pública. Elas são responsáveis por uma ampla variedade de doenças, incluindo pneumonia, tuberculose, gastroenterite e sepse, as quais podem ocorrer tanto em ambientes comunitários quanto hospitalares, causando complicações graves, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (LIU et al., 2022). Em muitos casos, patógenos oportunistas ou invasores conseguem migrar de áreas normalmente colonizadas, como o trato gastrointestinal e as mucosas, para locais estéreis, como pulmões, corrente sanguínea ou cérebro, desencadeando processos infecciosos potencialmente letais (ZHONG et al., 2024; DEUSENBERY; WANG; SHUKLA, 2021).

De acordo com estimativas globais publicadas no periódico *The Lancet*, as infecções causadas por 33 espécies bacterianas foram responsáveis por aproximadamente 7,7 milhões de mortes em 2019, o que corresponde a cerca de 13,6 % de todos os óbitos registrados mundialmente naquele ano. Entre as bactérias que mais contribuíram estão *Staphylococcus aureus* com mais de 1 milhão de mortes e *Escherichia coli* com 950 mil mortes, que juntas representam cerca de ¼ dos óbitos (IKUTA et al., 2022).

Apesar dos avanços na medicina, o uso excessivo e inadequado de antibióticos contribuiu significativamente para o surgimento de microrganismos multirresistentes, que desafiam os tratamentos disponíveis (TANG; MILLAR; MOORE, 2023; OMS, 2023). Em 2019, estimou-se que cerca de 4,95 milhões de mortes estavam relacionadas à resistência bacteriana, sendo que, desse total, 1,27 milhão ocorreu diretamente em decorrência de infecções causadas por bactérias resistentes, ou seja, nesses casos a resistência antimicrobiana foi o fator principal que levou ao óbito, e não apenas um agravante do quadro infeccioso (MURRAY et al., 2022). Além do impacto clínico, infecções bacterianas também impõem elevados custos aos sistemas de saúde, já que com o aumento de cepas resistentes, os tratamentos se tornam menos eficazes, o que exige o uso de medicamentos mais caros e por períodos mais longos, dificultando o acesso da população a terapias adequadas e contribuindo para o agravamento de infecções que antes eram facilmente tratáveis (HO et al., 2025; OMS, 2023).

Posto isso, os pesquisadores vêm buscando alternativas para o desenvolvimento de novos antibióticos. Uma das abordagens de pesquisa que se mostram promissoras é por meio da utilização de metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos por sua

diversidade e potencial terapêutico (NGUYEN et al., 2025).

## **2.2. Fungos endofíticos como fonte de produção de metabólitos secundários**

Os fungos endofíticos são microrganismos presentes nos tecidos vegetais, onde habitam de modo simbiótico e participam do ciclo de vida das plantas. Eles podem ser transmitidos para outras plantas vizinhas por meio de esporos (transmissão horizontal) ou para a geração seguinte, a partir das sementes (transmissão vertical) (BARON; RIGOBELO, 2022; SAHU; KHOBRAGADE; PATIL, 2024). A interação simbiótica caracteriza-se por uma relação de benefício mútuo, os fungos contribuem para o crescimento e a saúde das plantas por meio da produção de compostos bioativos que aumentam sua resistência a estresses bióticos e abióticos, enquanto as plantas fornecem um ambiente protegido e rico em nutrientes, favorecendo o desenvolvimento e a permanência dos fungos em seus tecidos (SINGH; KUMAR, 2023; NGUYEN et al., 2025).

Os fungos endofíticos têm se destacado pela capacidade de produzir uma ampla variedade de metabólitos primários e secundários, fundamentais para sua interação ecológica e frequentemente associados a atividades antimicrobianas. Esses organismos sintetizam compostos pertencentes a diversas classes químicas, como policetídeos, terpenoides e alcaloides, totalizando mais de 130 metabólitos antifúngicos já descritos, muitos com potencial para aplicação como biopesticidas (XU et al., 2021). Além de atuarem contra fungos fitopatogênicos, esses metabólitos evidenciam o papel dos endófitos como fontes naturais de moléculas bioativas. Estudos recentes mostram, ainda, que esses microrganismos produzem substâncias capazes de inibir bactérias e outros agentes patogênicos, ampliando seu potencial para o desenvolvimento de novos compostos terapêuticos e agrícolas (DIGRA; NONZOM, 2023). Complementando esse cenário, a prospecção química de endófitos tem revelado compostos inéditos com atividade antimicrobiana, incluindo xantonas, lactonas macrocíclicas, polissessquiterpenos e peptídeos não ribossomais, reforçando seu valor como fontes promissoras de produtos naturais inovadores (CARUSO et al., 2022).

Nos últimos anos, avanços significativos têm demonstrado o potencial biotecnológico dos fungos endofíticos como fontes de produtos naturais com aplicações promissoras nas áreas farmacêutica, agrícola, cosmética e alimentícia. Diversos estudos relatam a capacidade de fungos endofíticos de produzir uma ampla variedade de compostos bioativos. Entre eles, *Trichoderma harzianum* destaca-se pela síntese de um derivado

bioativo de metoxicromona, associado a atividades antimicrobiana e antitumoral. Da mesma forma, *Penicillium oxalicum* é reconhecido pela produção de alcaloides indólicos prenilados, como asperinamida B e peniocroloide B, os quais estão associados a atividades anticancerígenas, antimaláricas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antidiabéticas e imunorreguladoras (STAROPOLI et al., 2023; SONG et al., 2024).

Os metabólitos secundários são compostos de baixo peso molecular produzidos também por microrganismos, os quais são definidos como não essenciais para o crescimento dos fungos, mas são formados para garantir a sua sobrevivência, resistindo a situações de estresse bióticos ou abióticos, como insuficiência de água e nutrientes, além de mudanças de temperatura, pH e combate a patógenos (DIVEKAR et al., 2022; CONRADO et al., 2022; KUMAR et al., 2023). A biossíntese desses compostos está geralmente associada à presença de clusters gênicos, que consistem em conjuntos de genes agrupados no genoma. Cada gene possui seu próprio promotor, o que permite um controle individual da expressão gênica, ainda que ocorra de forma coordenada quando o fungo é exposto a determinados estímulos. A expressão desses genes é regulada por fatores de transcrição, que podem ser globais (atuando sobre múltiplas vias metabólicas) ou específicos, regulando diretamente a ativação ou inibição dos genes envolvidos na produção de um metabólito específico (EL HAJJ ASSA et al., 2020; JOHNSON et al., 2021).

A biossíntese de metabólitos secundários por microrganismos pode ser modulada por estratégias que estimulam a expressão de vias metabólicas silenciosas, promovendo a diversificação do perfil químico produzido. Entre essas abordagens biotecnológicas destacam-se a manipulação genética, o co-cultivo, o uso de elicitores e a modificação das condições de cultivo (STAROPOLI et al., 2023; HASHEM et al., 2023). Dentre elas, a variação das condições de cultivo, conhecida como estratégia *One Strain, Many Compounds* (OSMAC), é uma forma simples e eficaz de modular a produção de metabólitos pelas cepas microbianas (STAROPOLI et al., 2023). Um exemplo recente é o estudo com o fungo endofítico *Penicillium oxalicum* 2021CDF-3, no qual a mudança do meio de cultivo induziu a síntese de novos alcaloides indólicos, como a asperinamida B, uma substância com potente atividade citotóxica contra células FADU (SONG et al., 2024). Essa abordagem, além de acessível, permite explorar o potencial biossintético dos microrganismos por meio do ajuste de variáveis como temperatura, tipo de meio, luz, pH, fontes de carbono e nitrogênio ou salinidade, favorecendo a produção de novos metabólitos secundários com relevância biotecnológica (FERREIRA; CRUZ; HAMERSKI, 2022).

Uma forma promissora para avaliar de maneira mais abrangente as variações da composição química produzidas por cepas microbianas com aplicação de OSMAC é com a aplicação de ferramentas metabolômicas envolvendo técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas. Dentre os métodos analíticos mais utilizados pode-se citar a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia em fase gasosa (CG) acopladas a espectrometria de massas (EM). Essas combinações permitem não apenas separar os metabólitos presentes, mas também anotar as substâncias presentes em diferentes amostras, podendo também sugerir potenciais compostos bioativos a partir dos dados metabolômicos correlacionados com os de atividade biológica (CHEN; LI; XU, 2022; DA SILVA et al., 2023).

Diante desse panorama sobre a diversidade metabólica e o potencial biotecnológico dos fungos endofíticos, torna-se essencial relacionar essas características ao contexto das espécies vegetais estudadas, estabelecendo a conexão entre os endófitos e os aspectos ecológicos e funcionais do organismo hospedeiro.

### **2.3. *Langsdorffia hypogaea* Mart.**

*Langsdorffia hypogaea* (**Figura 1**) é pertencente à família Balanophoraceae, a qual é composta por plantas holoparasitas de raízes que vivem no subsolo. Esta família apresenta espécies que possuem distribuição predominantemente tropical e subtropical, compreendendo 13 gêneros, dos quais sete ocorrem nas Américas, com cerca de 18 espécies registradas. A espécie *L. Hypogaea*, utilizada para o isolamento do fungo endofítico do presente projeto, é frequentemente encontrada em diversos habitats, como savanas neotropicais e florestas tropicais úmidas, distribuindo-se do México até o sudeste do Brasil e Paraguai. Trata-se de uma planta dióica, com inflorescências de coloração avermelhada (VILLAFAÑE et al., 2024).

Além de sua ampla distribuição geográfica, *Langsdorffia hypogaea* apresenta um conjunto de características morfofisiológicas e ecológicas que reforçam sua singularidade entre as angiospermas holoparasitas. Estudos mostram que a espécie permanece grande parte do seu ciclo de vida no subsolo, formando extensos tubérculos parasitários resultantes da íntima integração entre seus tecidos e os do hospedeiro, o que demonstra elevado grau de especialização parasítica (YIRKA, 2020). As inflorescências, que emergem sazonalmente durante a estação seca, atuam como importantes recursos para a fauna local, já que oferecem alimento em um período de escassez, desempenhando papel ecológico relevante em ecossistemas como o Pantanal e o Cerrado (YIRKA, B., 2020; THOROGOOD; SANTOS,

2020; DA SILVA FREITAS, et al., 2017). A espécie também apresenta associação com uma microbiota diversa, incluindo bactérias promotoras de crescimento vegetal e microrganismos com potencial de proteção contra patógenos, indicando que sua biologia depende de interações complexas entre parasita, hospedeiro e microbioma (FELESTRINO, et al., 2017; MOLINA, et al., 2024).

Esse aspecto ressalta a importância de *L. Hypogaea* como modelo para estudos de parasitismo, ecologia subterrânea, microbiologia ambiental e bioprospecção. Considerando que a planta permanece grande parte do seu ciclo de vida no subsolo e mantém uma integração íntima com as raízes hospedeiras, é possível inferir que seu desenvolvimento ocorre em um microambiente complexo, influenciado tanto pelas condições edáficas quanto pela biologia das plantas associadas. Esse contexto subterrâneo ajuda a explicar a diversidade microbiana já observada em estudos anteriores (FELESTRINO et al., 2017; MOLINA et al., 2024). Embora avanços recentes tenham ampliado o entendimento sobre as associações bacterianas da espécie, ainda há escassez de informações sobre a composição e o papel dos fungos associados a *L. Hypogaea*. Essa lacuna torna especialmente relevante a investigação de endófitos fúngicos isolados de seus tecidos, permitindo explorar sua diversidade e avaliar seu potencial metabólico, como será abordado na seção seguinte.

**Figura 1** – Estruturas reprodutivas de *Langsdorffia hypogaea* Mart. (Balanophoraceae) em diferentes estágios de desenvolvimento, observadas no ambiente natural. (A) Inflorescência feminina em botão, com brácteas espessas e ápice serrilhado dispostas ao redor da cúpula pilosa avermelhada. (B) Inflorescência masculina em antese, exibindo estames agrupados com anteras amarelas e filamentos avermelhados. (C) Inflorescências feminina (superior) e masculina (inferior) próximas no solo, em diferentes fases de maturação, parcialmente cobertas por serapilheira.



Fonte: Caroline de Moura Costa (arquivo pessoal, 2025). Uso autorizado pela autora.

## 2.4. Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* compreende fungos filamentosos amplamente distribuídos em ecossistemas terrestres e aquáticos, com ocorrência comum em solos, restos vegetais, tecidos de plantas vivas e ambientes marinhos (ARMER et al., 2024). Espécies como *Fusarium oxysporum*, *F. Solani* e *F. Graminearum* são amplamente reconhecidas por seu papel como fitopatógenos, causando doenças como murcha vascular, podridões radiculares e giberela, com impacto direto na produtividade agrícola. Além disso, muitas dessas espécies produzem micotoxinas, como fumonisinas, tricotecenos e zearalenona, que representam sérios riscos à saúde humana e animal quando presentes em alimentos contaminados (MUNKVOLD; PROCTOR; MORETTI, 2021). Apesar desse histórico como agentes patogênicos, várias espécies de *Fusarium* também ocorrem como endófitos, vivendo em associação com plantas sem causar sintomas, ou sapróbios, colonizando matéria orgânica em decomposição (ARMER et al., 2024).

Neste contexto, o gênero também tem se revelado como uma fonte promissora de metabólitos secundários bioativos. Recentemente, um estudo descreveu cerca de 276 novos metabólitos isolados de 21 espécies de *Fusarium*. Esses compostos foram classificados principalmente como metabólitos contendo nitrogênio (aminas, amidas, peptídeos cíclicos e alcaloides indólicos, imidazólicos), policetídeos, terpenoides, esteróis e fenólicos. As atividades biológicas relatadas incluem ação antibacteriana, antifúngica, fitotóxica, antimalária, anti-inflamatória e citotóxica, sugerindo tanto aplicações agrícolas quanto farmacêuticas (AMUZU et al., 2024). Além desse trabalho, Xu et al. (2023) identificaram 185 metabólitos secundários produzidos por espécies do gênero *Fusarium* com propriedades antibacteriana, antifúngica, antiviral e antiparasitária. Esses compostos foram classificados conforme sua ação sobre diferentes grupos bacterianos, sendo ativos contra bactérias: Gram-positivas, Gram-negativas e de amplo espectro.

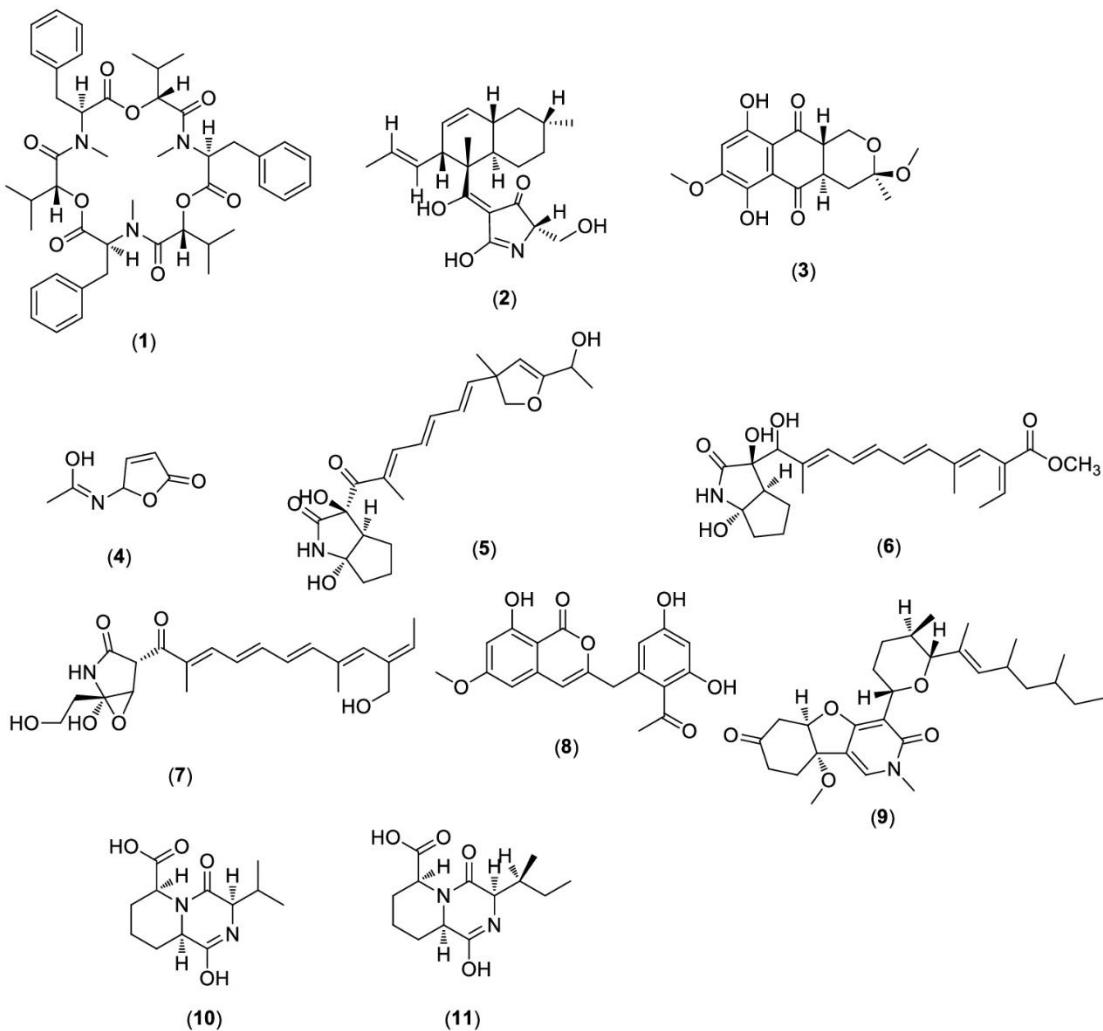
Os metabólitos ativos contra bactérias Gram-positivas apresentaram efeitos bactericidas sobre *Staphylococcus aureus* (inclusive cepas resistentes à meticilina), *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes* e *Mycobacterium tuberculosis*. Entre os compostos mais relevantes destacam-se policetídeos, triterpenos, depsipeptídeos cíclicos (como enniatinas e beauvericina) e alcaloides quinazolínicos. Os compostos enniatinas, a beauvericina (1) e a tricosetina (2) (**Figura 2**) demonstraram atividade antibacteriana moderada contra *Staphylococcus aureus* e sua cepa resistente à meticilina, apresentando valores de concentração inibitória mínima (MIC) entre 2 e 16 µg/mL. Os policetídeos aromáticos exibiram forte atividade contra *Bacillus subtilis*,

com MIC de 6,25 µg/mL. Em relação à ação frente a *Mycobacterium tuberculosis*, as naftoquinonas foram eficazes em concentrações de 25 a 50 µg/mL. Além disso, uma naftoquinona a *rel*-(3*R*,4*aR*,10*aS*)-3,4,4<sup>a</sup>,10<sup>a</sup>-Tetrahidro-6,9-dihidroxi-3,7-dimetoxi- 3-metill-1*H*-nafto[2,3-*c*]piran-5,10-diona (**3**) (**Figura 2**) apresentou uma atividade particularmente potente contra *Bacillus cereus* e *Streptococcus pyogenes*, apresentando valores de MIC inferiores a 1 µg/mL, possuindo desempenho comparável ou superior ao da ciprofloxacina, cujos MIC foram de 0,15 e 10 µg/mL, respectivamente.

Entre os metabólitos ativos contra bactérias Gram-negativas, destacam-se a butenolideo (**4**) (**Figura 2**), uma micotoxina tricoteceno com ação seletiva sobre *E. Coli*, e os derivados de 2-pirrolidona (**5-7**) (**Figura 2**) de *Fusarium solani* que são eficazes contra *E. Coli* e *Acinetobacter* sp. Apresentando valores de MIC entre 5 e 10 µg/mL. As 2-pirrolidonas constituem o tipo de γ-amidas mais comumente identificado em espécies do gênero *Fusarium* (LI et al., 2020). Além disso, o karimunona B (**8**) apresentou inibição de cepas multirresistentes de *Salmonella enterica*, enquanto o fusapiridona A (**9**) mostrou efeito moderado contra *Pseudomonas aeruginosa* (**Figura 2**). Já os compostos com atividade tanto sobre Gram-positivas quanto Gram-negativas incluem naftoquinonas, terpenoides policíclicos, cerebrosídeos e depsipeptídeos cíclicos. Esses metabólitos exibiram ampla ação antimicrobiana e, em alguns casos, atuaram induzindo a produção de espécies reativas de oxigênio, letais às células bacterianas.

Dentro desse conjunto de metabólitos, os peptídeos cíclicos também se destacam. Eles são formados por ligações amida entre aminoácidos e incluem variações, como os depsipeptídeos cíclicos. Uma classe importante é a dicetopiperazina, amplamente produzida por fungos. Entre elas, estão as gramipiperazinas A (**10**) e B (**11**), isoladas de *Fusarium graminearum* marinho (**Figura 2**). Essas moléculas derivam de combinações simples de aminoácidos e exibem atividade antibacteriana leve contra *Staphylococcus aureus*, complementando o repertório de compostos bioativos gerados por espécies de *Fusarium* (ZAMAN et al., 2022; AMUZU et al., 2024).

**Figura 2** – Estruturas de compostos descritos no gênero *Fusarium*.



#### 2.4.0. *Fusarium pseudocircinatum*

*Fusarium pseudocircinatum*, pertence ao complexo de espécies do fungo *Fusarium fujikuroi* (FFSC), um grupo reconhecido por sua grande diversidade genética e pela presença de numerosas espécies filogeneticamente próximas (YILMAZ et al., 2021). Dentro desse complexo, *F. Pseudocircinatum* tem sido relatado principalmente como patógeno de plantas, sendo responsável, por exemplo, pela malformação de *Tabebuia rosea*. Nesse estudo, além da confirmação da patogenicidade, os autores também identificaram metabólitos característicos do FFSC, como ácido fusárico e moniliformina, reforçando seu potencial toxigênico (MONTOYA-MARTÍNEZ et al., 2021). Mais recentemente, a espécie também foi encontrada atuando como endófito, o que mostra que ela consegue viver de formas diferentes dependendo

do ambiente, podendo tanto causar doença quanto permanecer no hospedeiro sem provocar sintomas (TERNA et al., 2024).

Embora ainda existam poucos estudos que descrevem em detalhe os metabólitos produzidos especificamente por *Fusarium pseudocircinatum*, sabe-se que espécies do FFSC possuem potencial para sintetizar micotoxinas e outros compostos bioativos (BAO; SUGA, 2021). Por isso, mesmo com essas lacunas, os dados disponíveis e sua relação com o FFSC indicam que *F. Pseudocircinatum* pode ter importância ecológica e potencial de interesse biotecnológico. Isso significa que, mesmo sem um perfil metabólico completamente elucidado, o histórico do grupo ao qual pertence aponta para a possibilidade de *F. Pseudocircinatum* produzir moléculas de interesse, seja pela atividade biológica, pela interação com plantas ou por seu comportamento dual como patógeno e endófito. Assim, esta espécie foi selecionada para o desenvolvimento deste estudo. Na **Figura 3**, encontra-se ilustrada uma foto de *F. Pseudocircinatum* 12IP3F4-1 isolado de *L. Hypogaea*.

**Figura 3 –** *Fusarium pseudocircinatum* em meio BDA.



BDA: meio Ágar Batata Dextrose. Fonte: Do próprio autor, 2025.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. *Objetivo geral***

Avaliar a produção e otimização de metabólitos secundários antibacterianos produzidos pelo fungo endofítico *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

#### **3.2. *Objetivos específicos***

- Cultivar o fungo endofítico *F. Pseudocircinatum* 12IP3F4-1 em diferentes meios líquidos, avaliando a diversidade química aplicando a técnica *One-Strain Many Compounds* (OSMAC);
- Obter os extratos do fungo endofítico *F. Pseudocircinatum* 12IP3F4-1 do sobrenadante e do micélio;
- Analisar os componentes químicos dos extratos brutos de sobrenadante do fungo endofítico *F. Pseudocircinatum* 12IP3F4-1 por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas (CLAE-DAD-EM);
- Analisar os componentes químicos das frações hexânicas de micélio do fungo endofítico *F. Pseudocircinatum* por cromatografia gasosa acoplada à espectrofotometria de massas (CG-EM);
- Anotar os compostos presentes nos extratos obtidos de *F. Pseudocircinatum* 12IP3F4-1;
- Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos obtidos através de um ensaio de microdiluição.

## **4. METODOLOGIA OU MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Cultivo e manutenção dos microrganismos**

A cepa fúngica de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1, já obtida em estudos prévios no LaPNEM a partir da espécie vegetal *Langsdorffia hypogaea*, foi cultivada em meio Batata Dextrose Ágar (BDA), tanto em tubos inclinados quanto em placas de Petri incubados a 37 °C. Para assegurar a viabilidade das cepas, o fungo foi re-inoculado periodicamente em novos meios de cultura.

As bactérias patogênicas utilizadas nos testes antibacterianos foram as estirpes Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* – ATCC 25904) e Gram-negativa (*Escherichia coli* – ATCC 14458). A manutenção e preservação dessas bactérias foi realizada utilizando o meio de cultura Mueller-Hinton. As bactérias foram cultivadas em placas contendo meio de cultura e incubadas a 37 °C. Para preservação a longo prazo, foram armazenadas em meio de cultura contendo 20% de glicerol, em freezer a -20 °C.

### **4.2. Identificação molecular do fungo endofítico**

A cepa fúngica 12IP3F4-1 foi submetida à identificação molecular. Esse processo foi realizado pela empresa GoGenetic (Paraná, Brasil) por meio do sequenciamento da região *Internal Transcribed Spacer* (ITS, do inglês “espaçador interno transcrito”) e EF1 (*Translation Elongation Factor 1-alpha*) do DNA ribossomal (rDNA). Para esse procedimento, foram utilizados os iniciadores (primers) ITS-1 (sentido forward), ITS-4 (sentido reverse) e EF1. As sequências obtidas foram então comparadas com aquelas depositadas no banco de dados GenBank (Genetic Sequence Database) utilizando-se a ferramenta BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides). O laudo de análise está ilustrado no **ANEXO I** e a cepa foi identificada como *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

### **4.3. Cultivo de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 em diferentes meios**

Os estudos foram realizados a partir de variações na composição do meio de cultura, sendo esta estratégia denominada de *One-Strain Many Compounds* (OSMAC). Foi realizado um screening inicial, utilizando 5 meios de cultura (**Figura 4**) que foram os seguintes: caldo Batata Dextrose (PDB), caldo de Extrato de Malte (MEB – dextrose 6 g/L, extrato de malte 6 g/L, maltose 1,8 g/L e extrato de levedura 1,2 g/L), Sabouraud (SB – peptona 10 g/L e dextrose 40 g/L), Czapek (CZA – sacarose 30 g/L, NaNO<sub>3</sub> 3 g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g/L, KCl 0,5 g/L, MgSO<sub>4</sub> 0,5 g/L e FeSO<sub>4</sub> 0,01 g/L) e caldo de Extrato de Levedura Peptona Dextrose (YPD – extrato de

levedura 10 g/L, peptona 20 g/L e dextrose 20 g/L).

Após 18 dias de cultivo em estado estacionário, os meios foram avaliados em relação ao seu crescimento e foram escolhidos aqueles que apresentaram maiores massas miceliais formadas, sendo selecionados os meios submersos caldo PDB, MEB e YPD. Os meios foram preparados em triplicadas, utilizando Erlenmeyers de 500 mL, contendo 250 mL cada. Foram adicionados 3 fragmentos de micélio-ágar com 0,6 cm de diâmetro em cada Erlenmeyer. Foi realizado um cultivo estático, com duração de 18 dias, em uma temperatura de 28°C, os quais foram mantidos em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand).

**Figura 4** – Meios de cultivo MEB, YPD, SB, CZA e PDB, respectivamente.



Fonte: Do próprio autor, 2025.

#### **4.4.        *Obtenção dos extratos brutos dos meios de cultivo***

Ao final de 18 dias de cultivo em meios submersos, o micélio foi separado do sobrenadante por meio de filtração. Os sobrenadantes foram extraídos utilizando partição líquido-líquido com acetato de etila contendo 1% de ácido fórmico. A triplicata foi extraída de forma independente, passando por 3 extrações com 40 mL de solvente e as frações orgânicas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo e secas por liofilização (Martin Christ Alpha 2-4 LSCbasic – Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Alemanha), resultando no extrato bruto do sobrenadante (Ebsob). Os micélios foram liofilizados e posteriormente congelados com auxílio de nitrogênio líquido. Os micélios secos foram posteriormente fragmentados e extraídos com uma solução de acetato de etila e metanol

na proporção 1:1 (v/v), contendo 1% de ácido fórmico, utilizando um banho de ultrassom por 10 min em 3 ciclos subsequentes com renovação do solvente a cada ciclo. Foi utilizado 10 mL de solvente para 1 g de micélio. Após a filtração, os solventes orgânicos foram concentrados em evaporador rotativo e seco por liofilização para a obtenção do extrato bruto do micélio (Ebmic).

#### **4.5. Partição líquido-líquido dos extratos brutos de micélio (Ebmic)**

As extrações dos sobrenadantes dos cultivos foram realizadas conforme o método descrito no item 4.4. Os extratos brutos de micélio (Ebmic) foram submetidos a extração líquido-líquido com hexano resultando nas frações hexânicas (Ebmic-Hx) e hidrometanólicas (Ebmic-Me) para cada meio de cultivo. Esta etapa foi necessária para a remoção de substâncias lipofílicas presentes no Ebmic para melhor avaliação das atividades antibacterianas e redução de interferentes lipofílicos nas análises por CLAE-DAD-EM utilizando como fase estacionária uma coluna de fase reversa C18.

As amostras secas (Ebmic) foram inicialmente solubilizadas em 30 mL de metanol:água (9:1, v/v), e a extração líquido-líquido foi conduzida três vezes com um volume de 10 mL de hexano frio em cada etapa. Após o processo, as frações hexânicas e metanólicas obtidas foram manuseadas separadamente, sendo concentradas até a secura e, em seguida, pesadas para determinação do rendimento.

#### **4.6. Análises dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD-EM)**

As amostras foram solubilizadas em metanol e água (7:3, v/v), na concentração final de 4 mg/mL. As soluções resultantes foram filtradas por filtros de seringa de politetrafluoretileno (PTFE) com poro de 0,22 µm e 13 mm de diâmetro. Para cada análise, foram injetados 2 µL da amostra no sistema cromatográfico.

As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas (CLAE-DAD-EM), utilizando um sistema UFLC-20AD Prominence (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas com fonte de ionização por eletrospray (ESI) e analisadores sequenciais do tipo quadrupolo e tempo de voo (MicrOTOF-Q III, Bruker Daltonics). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Kinetex® C18 (2,6 µm, 100 Å, 150 × 2,1 mm; Phenomenex),

acoplada a uma pré-coluna do mesmo material. As análises foram conduzidas com uma vazão de 0,3 mL/min e a coluna foi mantida a 50 °C durante as análises.

A fase móvel utilizada foi composta por água (fase A) e acetonitrila (fase B), ambas contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico. O gradiente foi aplicado da seguinte forma: 0–2 min (3% B), 2–25 min (3–25% B), 25–40 min (25–80% B) e 40–43 min (80% B, isocrático). As análises foram conduzidas nos modos de ionização positivo e negativo. Os parâmetros operacionais do espectrômetro de massas incluíram gás nebulizador ( $N_2$ , 4 bar), gás de secagem ( $N_2$ , 9 L/min) e voltagem capilar de 2500 V.

A anotação das substâncias foi realizada com base nos dados de massas acuradas, padrões de fragmentação e espectros UV, por comparação com dados disponíveis na literatura. As fórmulas moleculares foram atribuídas considerando erro inferior a 8 ppm e valores de mSigma inferiores a 30.

#### **4.7. *Análises dos extratos por cromatografia gasosa acoplada à espectrofotometria de massas (CG-EM)***

As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa (Shimadzu QP2010) acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM) equipado com um autoinjetor COA-20i. O gás de arraste utilizado foi hélio com pressão de 79,7 kPa. A temperatura de injeção foi de 250 °C e o programa de gradiente de temperatura foi o seguinte: 60–240 °C com aumento de 3 °C.min<sup>-1</sup>; 240–310 °C com aumento de 5 °C.min<sup>-1</sup>; e manutenção a 310 °C por 10 minutos. Foi utilizada uma coluna capilar RTx-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), e os espectros de massa foram obtidos por ionização eletrônica (EI), aplicando energia de 70 eV. Os índices de retenção (IR) foram calculados utilizando padrões de alcanos C8–C40 (Sigma Aldrich). A identificação dos constituintes foi realizada por comparação dos espectros de massa registrados com as bibliotecas NIST, WILEY e FFNSC, bem como pela comparação dos IRs descritos na literatura (ADAMS, 2017).

#### **4.8. *Ensaio de microdiluição para avaliação da atividade antibacteriana***

O ensaio de microdiluição em caldo foi realizado em placas de 96 poços de fundo chato. Inicialmente, o meio de cultura foi distribuído nos poços juntamente com os extratos em avaliação, ajustando-se o volume final para 200 µL por poço. Foram testadas concentrações de

1, 0,5 e 0,25 mg/mL, obtidas por diluição seriada, para determinação da atividade antibacteriana de cada extrato bruto (Ebmic-Me e Ebsob). Em seguida, adicionou-se 100 µL do inóculo bacteriano em cada poço, previamente padronizado na turbidez correspondente ao padrão 0,5 da escala de McFarland. Como controle positivo, utilizou-se o antibiótico comercial Gentamicina, de eficácia antibacteriana estabelecida. O controle negativo foi constituído por poços contendo apenas o meio de cultura e o inóculo, sem adição de extratos ou antibiótico. Todos os ensaios foram conduzidos em triplicata. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h.

Após o período de incubação, o crescimento bacteriano foi avaliado pela adição de solução de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) em cada poço, seguida de uma nova incubação por 3 h a 37 °C. A viabilidade bacteriana foi inferida pela mudança de coloração da solução, com a formação de coloração característica indicativa de células viáveis, e posteriormente quantificada por meio de leitura em espectrofotômetro, utilizando comprimento de onda de 540nm em leitora multimodo Cytation 5 (Cytation 5 Cell Imaging Multimode Reader, Agilent BioTek, Winooski, VT, EUA).

#### **4.9.       *Análise estatística***

Os dados de biomassa micelial e rendimento dos extratos brutos (EBsob e EBmic) foram expressos como média ± desvio-padrão ( $n = 3$ ). As diferenças entre os meios de cultivo (YPD, PDB e MEB) foram avaliadas por análise de variância de uma via (one-way ANOVA), considerando o meio de cultivo como fator fixo. Quando detectada diferença significativa pelo teste F ( $p < 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey para comparações múltiplas.

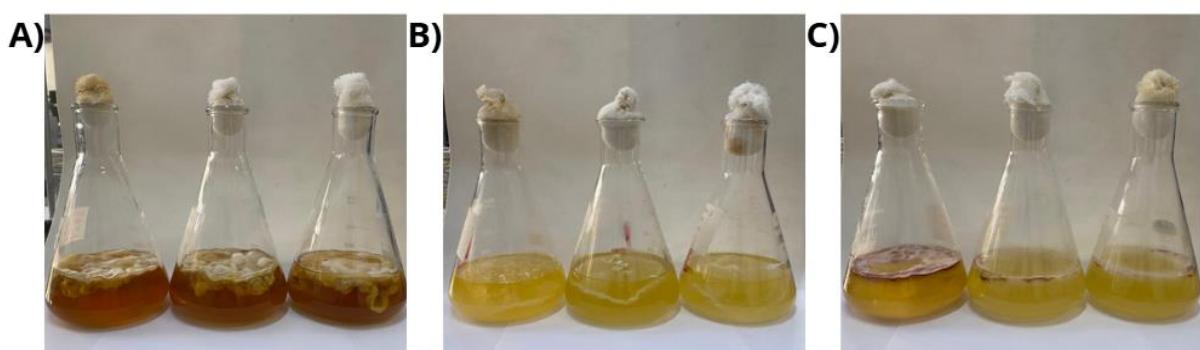
Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (versão 4.4.3, The R Foundation for Statistical Computing), utilizando-se os pacotes complementares dplyr, ggplot2 e multcompView. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Rendimentos dos extratos

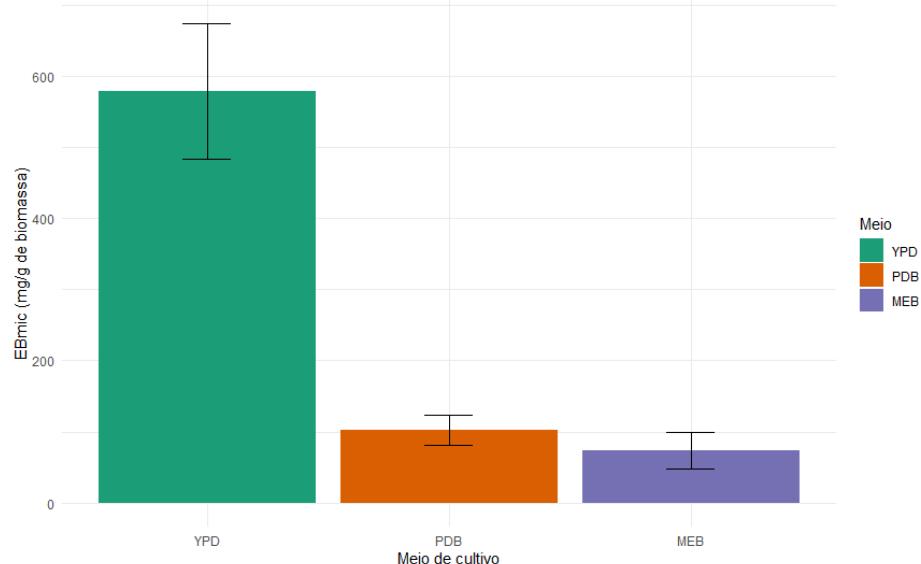
O cultivo da cepa *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 foi realizado em diferentes meios líquidos, apresentando variações na biomassa micelial formada (**Figura 6**) e também com relação ao aspecto visual (**Figura 5**). Observou-se que o cultivo em meio YPD apresentou desenvolvimento de uma maior massa micelial. Por outro lado, o cultivo em meio submerso PDB, composto por extrato de batata e dextrose, apresentou crescimento micelial reduzido em relação ao cultivo em YPD. Resultado semelhante foi obtido no cultivo em meio MEB que apresentou formação reduzida de biomassa micelial, porém foi o único que apresentou a formação de um pigmento avermelhado (**Figura 5.C**).

**Figura 5** – *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 em meios de cultivo YPD (A), PDB (B) e MEB (C).



Fonte: Do próprio autor, 2025.

**Figura 6** – Biomassa micelial média formada nos diferentes meios de cultura.



YPD: caldo de Extrato de Levedura Peptona Dextrose; PDB: caldo Batata Dextrose; MEB: caldo de Extrato de Malte. Fonte: Do próprio autor, 2025.

A biomassa micelial de *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1 foi significativamente influenciada pelo meio de cultivo (ANOVA de uma via,  $p = 0,0003$ ) (**Tabela 1**). O meio YPD apresentou os maiores valores de biomassa ( $5,60 \pm 0,88$  g), diferindo significativamente de PDB e MEB, que exibiram valores semelhantes entre si ( $\leq 0,77$  g;  $p < 0,05$ ) (Tabela X). Para o rendimento do extrato bruto sobrenadante (EBsob), também foi observada influência do meio ( $p = 0,0063$ ), com MEB apresentando rendimento significativamente inferior ( $67,61 \pm 4,02$  mg/L) em comparação a YPD e PDB, que não diferiram entre si ( $113,97 \pm 13,51$  e  $104,31 \pm 14,40$  mg/L, respectivamente). Em termos de produtividade específica, expressa como EBmic por grama de biomassa, o meio YPD promoveu valores substancialmente mais elevados ( $578,88 \pm 95,03$  mg/g), significativamente superiores aos obtidos em PDB ( $102,90 \pm 21,10$  mg/g) e MEB ( $73,55 \pm 26,05$  mg/g) ( $p < 0,001$ ). Esses resultados indicam que, embora o meio de cultivo YPD favoreça um crescimento micelial mais intenso, PDB e MEB foram mais eficientes na produção de metabólitos por unidade de biomassa, evidenciando que a produtividade específica depende mais da resposta metabólica do fungo do que da biomassa total formada.

**Tabela 1** – Biomassa micelial, rendimento do extrato bruto sobrenadante (EBsob) e produtividade específica do extrato bruto micelial (EBmic) produzidos por *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 cultivado em diferentes meios de cultura.

<b>Meio de cultura</b>	<b>Biomassa micelial (g)</b>	<b>EBsob (mg/L)</b>	<b>EBmic (mg/g de biomassa)</b>
<b>YPD</b>	$5,60 \pm 0,88^a$	$113,97 \pm 13,51^a$	$578,88 \pm 95,03^a$
<b>PDB</b>	$0,71 \pm 0,46^b$	$104,31 \pm 14,40^a$	$102,90 \pm 21,10^b$
<b>MEB</b>	$0,77 \pm 0,85^b$	$67,61 \pm 4,02^b$	$73,55 \pm 26,05^b$

YDP: caldo de Extrato de Levedura Peptona Dextrose; PDB: caldo Batata Dextrose; MEB: caldo de Extrato de Malte. Fonte: Do próprio autor, 2025. Nota: Valores expressos como média  $\pm$  desvio-padrão ( $n = 3$ ). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os meios de cultivo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), após ANOVA de uma via.

**Tabela 2** – Massa e rendimentos dos extratos brutos de micélio (Ebmic) e de suas frações metanólicas (Ebmic-Me) e hexânica (Ebmic-Hx).

Meio de cultura	Massa média dos extratos brutos de micélio (Ebmic) (mg)	Massa média das frações metanólicas (Me) do Ebmic (Ebmic-Me) (mg)	Massa média das frações hexânicas (Hex) do Ebmic (Ebmic-Hx) (mg)	Ebmic-Me Rendimento (%)	Ebmic-Hx Rendimento (%)
<b>YPD</b>	681,34	578,88	71,19	89,05	10,95
<b>PDB</b>	107,72	92,19	9,72	90,46	9,54
<b>MEB</b>	83,99	73,88	27,27	73,04	26,96

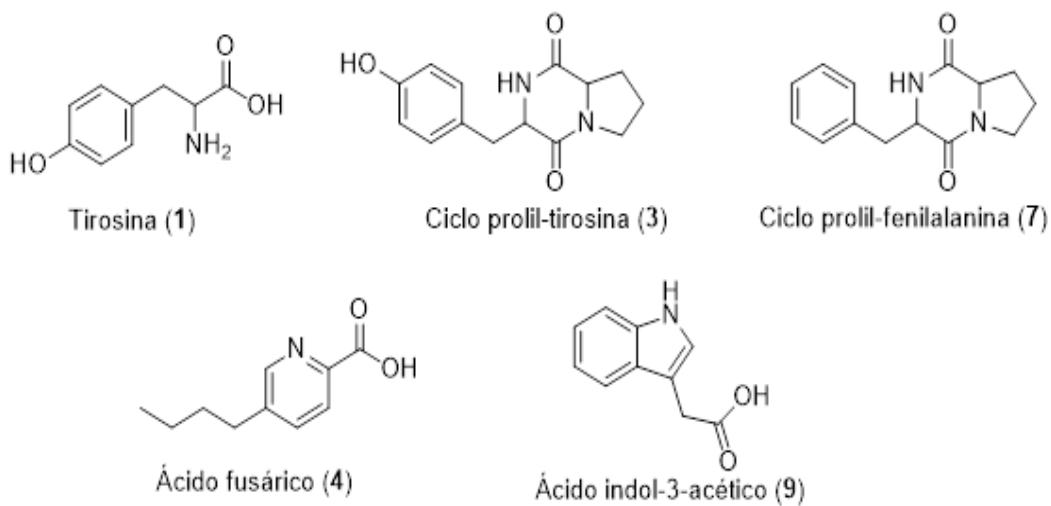
YPD: caldo de Extrato de Levedura Peptona Dextrose; PDB: caldo Batata Dextrose; MEB: caldo de Extrato de Malte. Fonte: Do próprio autor, 2025.

A análise das frações metanólica (EBmic-Me) e hexânica (EBmic-Hex) também evidenciou diferenças relevantes entre os meios (**Tabela 2**). A fração metanólica apresentou maior massa no YPD (578,88 mg), seguida pelo PDB (92,19 mg) e pelo MEB (73,88 mg). Em termos percentuais, essa fração foi ligeiramente mais representativa no PDB (90,46%), valor próximo ao observado no YPD (89,05%), enquanto no MEB a proporção foi menor (73,04%). Já a fração hexânica apresentou comportamento inverso; o MEB mostrou a maior proporção relativa (26,96%), contrastando com os valores menores no YPD (10,95%) e no PDB (9,54%). Esses resultados indicam que, embora o MEB produza menores quantidades absolutas de extrato, ele favorece a síntese de compostos de caráter mais apolar.

## 5.2. Análises químicas dos extratos e anotação dos metabólitos

Os extratos obtidos a partir do cultivo em diferentes meios submersos (PDB, YPD e MEB) foram obtidos a partir do sobrenadante (Ebsob) e da biomassa micelial (Ebmic-Me) foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos e espectrometria de massas (CLAE-DAD-EM). Na **tabela 3**, encontram-se os dados relativos aos compostos anotados, bem como seus dados espectrais e a ocorrência nos meios de cultivo utilizados.

**Figura 7** – Estruturas dos compostos anotados nos extratos de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.



**Quadro 1** – Compostos anotados nos extratos brutos de sobrenadante (Ebsob) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Pico	TR (min)	UV (nm)	Composto	FM	EM	EM/EM	MEB	YPD	PDB
pico 1	1,6	272	Tirosina	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	182,0806 (+)	-	X	X	X
pico 2	2,0	272	NI	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>8</sub>	268,1022 (+)	-	X	X	X
pico 3	14,1	279	Ciclo prolil- tirosina	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	259,1103 (-)	167, 153	-	-	X
pico 4	22,2	249, 303	Ácido fusárico	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	180,1016 (+)	162	-	-	X
pico 5	23,9	232, 271	NI	-	-		X	-	-
pico 6	25,9	268, 371	NI	-	-		-	X	-
pico 7	29,2	260	Ciclo prolil fenilalanina	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	245,1278 (+)	-	X	-	X
pico 8	29,5	282	NI	-	-	-	X	X	-
pico 9	30,0	270, 280, 288	Ácido indol-3- acético	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	174,0571 (-)	-	X	-	X

TR: tempo de retenção; NI: não identificado; (+) modo de ionização positivo; (-) modo de ionização negativo. YDP: caldo de Extrato de Levedura Peptona Dextrose; PDB: caldo Batata Dextrose; MEB: caldo de Extrato de Malte. Fonte: Do próprio autor, 2025.

O pico **1** exibiu uma banda de absorção máxima no espectro de UV de 272 nm e íon protonado intenso de  $m/z$  182,0806, o qual foi compatível com a fórmula molecular C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (**Quadro 1**). Assim, a partir de levantamentos na literatura esse composto foi sugerido ser o aminoácido tirosina (**Figura 7**) (CONVENTZ et al., 2007). Enquanto que o pico **2**, apresentou semelhante espectro de UV, mas com um íon protonado de  $m/z$  268,1022 relativo a C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>8</sub>, mas não foi possível sua anotação.

Os compostos **3** e **7** exibiram em seus espectros de UV as bandas de absorção máxima em 279 e 260 nm, respectivamente. O menor valor de  $\lambda_{max}$  observado para o composto **7** é condizente com a ausência de um grupo auxocromo no cromóforo, como observado em comparação entre os aminoácidos tirosina e fenilalanina. Adicionalmente, os compostos **3** e **7** revelaram íons intensos de  $m/z$  259,1103 [M-H]<sup>-</sup> e 245,1278 [M+H]<sup>+</sup> compatíveis com as fórmulas moleculares C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A partir do íon  $m/z$  259 foram observados os íons fragmento  $m/z$  167 e 153 relativos a perdas da parte contendo o anel aromático do aminoácido. Assim, o composto **3** foi anotado como a dicetopiperazina ciclo prolil-tirosina, a qual já foi descrita para o gênero *Fusarium* (HAWAS et al., 2016), e o composto **7** como ciclo prolil-fenilalanina (STARK; HOFMANN, 2005).

O composto **4** revelou bandas de absorção em 249 e 303 nm, além disso exibiu um íon intenso de  $m/z$  180,1016 [M+H]<sup>+</sup> compatível com a fórmula molecular C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>. A partir deste íon, foi observada a perda de uma molécula de água (18 u) formando o íon acílio  $m/z$  162 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (GHULE et al., 2022). Este composto foi anotado como ácido fusárico (**4**), um composto já descrito no gênero *Fusarium* (GHULE et al., 2022, BOHNI et al., 2016).

O ácido fusárico (5-butilpicolínico) é uma micotoxina produzida por diversas espécies do gênero *Fusarium*, especialmente *Fusarium oxysporum*, sendo reconhecida como um importante fator de virulência fúngica e um metabólito-chave nas interações patógeno-hospedeiro. Esse composto é amplamente estudado devido à sua capacidade de modular processos fisiológicos e bioquímicos em plantas e microrganismos, além de atuar como defesa em ambientes competitivos. Estudos mostraram que sua produção pode ser induzida em co-cultivo com outras espécies fúngicas, o que revela seu papel na comunicação e competição microbiana em ecossistemas naturais e patológicos (BOHNI et al., 2016).

Em plantas, o ácido fusárico está relacionado ao desenvolvimento de murchas vasculares, alterações no metabolismo energético e inibição de enzimas antioxidantes. Ele causa aumento da permeabilidade da membrana, extravasamento de íons potássio e cálcio, redução da atividade respiratória e diminuição dos níveis de ATP, comprometendo a viabilidade celular.

Além disso, o ácido fusárico pode quesar metais essenciais como ferro, zinco, cobre e cobalto, tornando-os indisponíveis para processos metabólicos das plantas. Essas ações levam à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e à disfunção mitocondrial, fatores que agravam os sintomas de infecção por *Fusarium* (RAJESWARI, 2019). Assim, o ácido fusárico é não apenas um marcador de virulência fúngica, mas também um alvo estratégico em programas de manejo sustentável de doenças agrícolas e um modelo relevante em estudos de ecologia química e metabolômica microbiana.

Além dos compostos anotados, o composto **9** apresentou em seu espectro de UV bandas de absorção em 270, 280 e 288 nm, enquanto que seu íon desprotonado *m/z* 174,0571 mostrou compatibilidade com a fórmula molecular C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub> (CAI et al., 2015). Assim este composto foi anotado como ácido indol-3-acético (**9**), o qual já foi descrito para algumas espécies de *Fusarium* (LUO et al., 2016, TSAVKELOVA et al., 2012).

Diversas espécies do gênero *Fusarium* são capazes de sintetizar o ácido indol-3-acético (AIA), principal auxina vegetal, a partir do aminoácido triptofano, desempenhando papel importante nas interações entre fungos e plantas. Estudos demonstram que a produção de AIA em *Fusarium proliferatum*, *F. Verticilliodes*, *F. Fujikuroi* e *F. Oryxporum* ocorre, principalmente, por meio da via do indol-3-acetamida, mediada pelos genes *IaaM* (triptofano mono-oxigenase) e *IaaH* (hidrolase de indol-3-acetamida). Esses genes convertem o triptofano em indol-3-acetamida e, subsequentemente, em AIA, e estão organizados em orientação oposta (“head-to-head”) nos genomas dessas espécies. Em *F. Proliferatum* endofítico, por exemplo, o sistema é totalmente funcional, resultando em altas concentrações de indol-3-acetamida e AIA, enquanto em espécies patogênicas o sistema pode estar inativo ou regulado diferencialmente (TSAVKELOVA et al., 2012).

Já em *Fusarium delphinoides*, agente causal da murcha em grão-de-bico, a biossíntese de AIA envolve múltiplas vias dependentes de triptofano, incluindo as rotas do ácido indol-3-pirúvico, indol-3-acetamida e triptamina (TRA). Ensaios enzimáticos confirmaram a presença de atividades de aminotransferase de aminoácidos aromáticos, triptofano-2-mono-oxigenase e triptofano descarboxilase, demonstrando que diferentes rotas podem operar em paralelo na mesma linhagem. Além disso, o AIA exógeno regula o crescimento fúngico de forma dose-dependente; em baixas concentrações, estimula o crescimento micelial, enquanto em altas concentrações o inibe, sugerindo um papel autorregulatório dessa auxina nos processos de colonização e patogenicidade (KULKARNI et al., 2013). Assim, a produção de ácido indol-3-

acético (AIA) por *Fusarium* representa uma importante estratégia química de adaptação, modulando o desenvolvimento vegetal, a colonização radicular e as interações simbióticas ou patogênicas. A compreensão dessas vias biossintéticas é essencial para elucidar o papel ecológico e biotecnológico das auxinas fúngicas em sistemas agrícolas e naturais.

As análises por CLAE-DAD permitiram observar a diversidade de compostos produzidos em cada meio (**Quadro 1**), bem como o monitoramento das áreas integradas permitiram também a visualização da intensidade com compostos biossintetizados em cada meio (**Figuras 8 e 9**). De maneira geral no meio de cultivo PDB, uma maior diversidade de compostos biossintetizados foi observado com relação aos compostos selecionados (**Quadro 1**).

Os compostos **1** (tirosina) e **2** (não identificado) foram observados todos os meios de cultura avaliados, porém apresentaram com áreas maiores no meio de cultivo MEB quando comparados com os meios PDB e YPD. Representam compostos básicos do metabolismo. As diferenças mais importantes aparecem nos picos de maior tempo de retenção (14–30 min) (**Quadro 1**), que correspondem principalmente a metabólitos secundários. Nessa faixa, a diversidade química aumenta e ficam evidentes os efeitos da composição do meio.

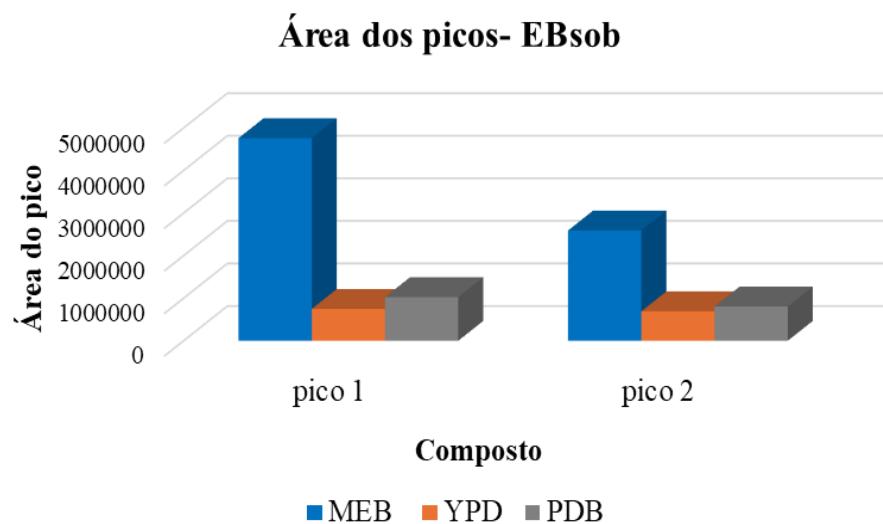
O cultivo de *F. Pseudocircinatum* 12IP3F4-1 em meio PDB apresentou os compostos exclusivos, como o dipeptídeo ciclo prolil-tirosina (**3**) e o ácido fusárico (**4**). Enquanto que, a dicetopiperazina ciclo prolil-fenilalanina (**7**) foi similarmente produzida nos meios de cultivo MEB e PDB. O ácido indol-3-acético (**9**) foi produzido somente nos meios MEB e PDB, sendo que essa produção foi de maneira semelhante com relação à área deste composto.

As dicetopiperazinas (DKPs) representam a menor classe de peptídeos cíclicos naturais, formados pela ciclização intramolecular de dois resíduos de aminoácidos. Esses compostos são amplamente encontrados em bactérias e fungos, incluindo espécies do gênero *Fusarium*. Também pode ser encontrado em plantas e alimentos fermentados, onde podem se originar tanto por rotas biossintéticas microbianas quanto por reações químicas associadas ao processamento térmico de proteínas (BORTHWICK; DA COSTA, 2017).

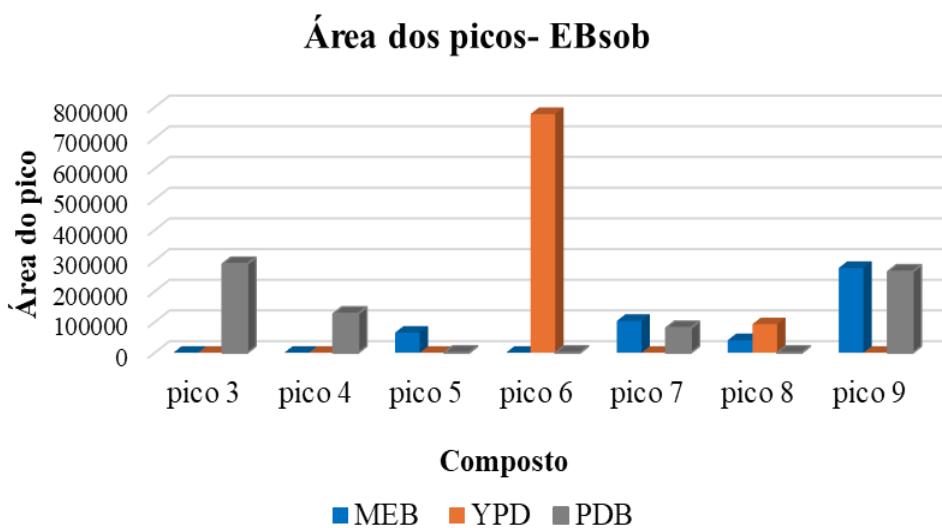
No gênero *Fusarium*, as DKPs têm despertado interesse por atuarem como metabólitos secundários multifuncionais, associados a processos de competição microbiana, sinalização química e defesa ambiental. Muitas delas derivam de aminoácidos hidrofóbicos, especialmente prolina, formando as chamadas Pro-DKPs (como ciclo prolil-leucina, ciclo prolil-fenilalanina, ciclo prolil-tisorina), que são frequentemente detectadas em extratos fúngicos e em produtos fermentados. Essas moléculas exibem ampla variedade de atividades biológicas, incluindo

efeitos antibacteriana, antifúngica, antioxidante e citotóxica, além de participarem de mecanismos de *quorum sensing* e inibição de biofilmes em microrganismos patogênicos (BENES et al., 2025).

**Figura 8** – Gráfico da área integrada dos picos 1 e 2 observados nos extratos brutos de sobrenadante (Ebsob) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 presentes nos 3 meios.



**Figura 9** – Gráfico da área integrada dos picos 3 a 11 observados nos extratos brutos de sobrenadante (Ebsob) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 presentes em 1 ou 2 meios.



### 5.3. Análises por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

As análises realizadas por CG-EM mostraram a composição dos perfis químicos entre as frações hexânicas dos extratos brutos de micélio (Ebmic-Hx) cultivados nos diferentes meios

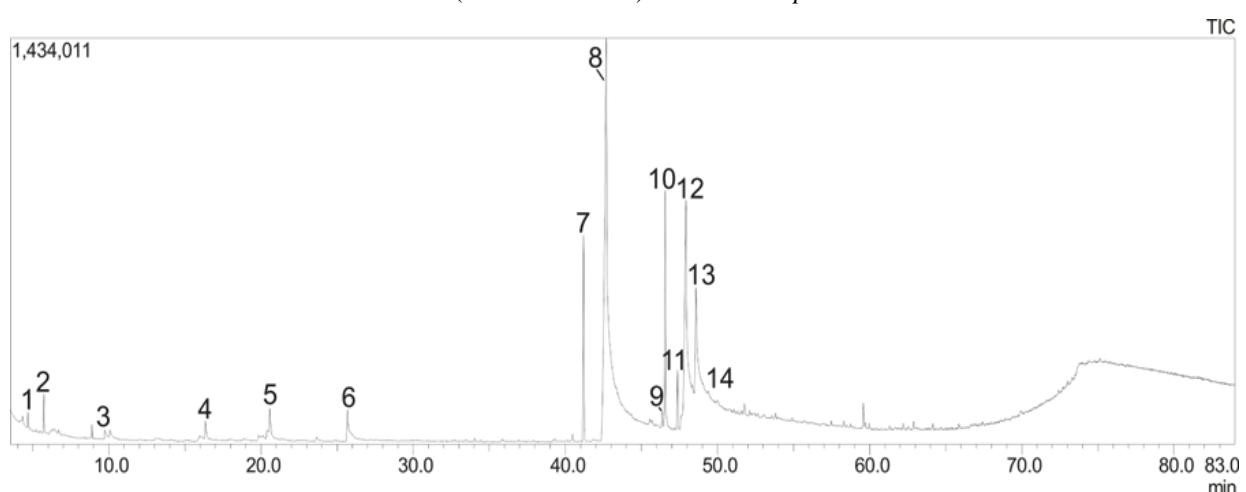
de cultura (**Figuras 10-12**). Os perfis observados nessas frações apolares obtidas dos meios de cultivo PDB e MEB mostraram maiores semelhanças, enquanto que o perfil obtido do meio de cultivo em YPD mostrou-se mais diferente (**Tabelas 3-5**).

No cultivo em meio YPD (**Tabela 3**), observou-se predominância de ácidos graxos e seus ésteres metílicos, com destaque para o ácido hexadecanóico (49,99%), o ácido oleico (20,49%), ácido esteárico (7,07%) e o oleato de metila (8,02%), além de menores proporções de hexadecanoato (6,60%) e octadecanoato de metila (1,96%). O cultivo de *F. Pseudocircinatum* 12IP3F4-1 em meio PDB (**Tabela 4**) resultou na presença abundante de ésteres etílicos, especialmente linoleato de etila (52,7%) e oleato de etila (35,3%), além de menores teores de palmitato (3,03%) e estearato de etila (1,25%). Já o cultivo em meio MEB (**Tabela 5**), observou-se composição semelhante, porém com maior concentração relativa de oleato de etila (43,68%) e linoleato de etila (37,72%), indicando que a natureza do meio de cultura modulou o metabolismo secundário do fungo e favoreceu a síntese de compostos insaturados de cadeia longa.

Os compostos obtidos (ácido hexadecanoico, ácido oleico, oleato de metila, linoleato de etila, palmitato e estearato de etila) são amplamente reconhecidos na literatura como metabólitos lipofílicos produzidos por diferentes espécies de *Fusarium*, tanto como componentes estruturais quanto como derivados de rotas biossintéticas secundárias (RASMEY; TAWFIK; ABDEL-KAREEM, 2020; SHALAPY; KANG, 2022). Estudo realizado com *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* confirmou a presença de ácidos graxos saturados (como ácido hexadecanóico e estearato) e insaturados (como oleico e linoleico), bem como seus ésteres metílicos e etílicos, frequentemente detectados por CG-EM em extratos hexânicos e frações derivatizadas (SHALAPY; KANG, 2022). A literatura reforça que a nutrição do meio de cultura pode ter um impacto profundo no metabolismo lipídico das espécies de *Fusarium*. Por exemplo, em *Fusarium* sp. 3<sup>a</sup>00501, uma razão C/N (carbono/nitrogênio) elevada favoreceu um conteúdo lipídico quase máximo, e os ácidos insaturados (linoleico e oleico) corresponderam a cerca de 70% do total (ZHONG et al., 2017). Outros estudos com *Fusarium oxysporum* também indicam que a composição do meio, especialmente a concentração de nutrientes, influencia a proporção de ácidos saturados e insaturados (MATSAKAS; GIANNAKOU; VÖRÖS, 2017). Ademais, evidências de regulação por limitação de nitrogênio mostram que a deficiência desse nutriente pode aumentar significativamente a síntese de ácidos como o oleico e o linoleico (SAYEDA et al., 2019; LV et al., 2021). Esses achados empíricos sustentam a ideia de que mudanças na composição nutricional ativam vias biossintéticas que

modulam tanto a extensão da dessaturação quanto a acumulação de lipídios esterificados em *Fusarium*.

**Figura 10** – Cromatograma de íons totais (TIC) obtido por CG-EM da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio YPD (Ebmic-Hx-YPD) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

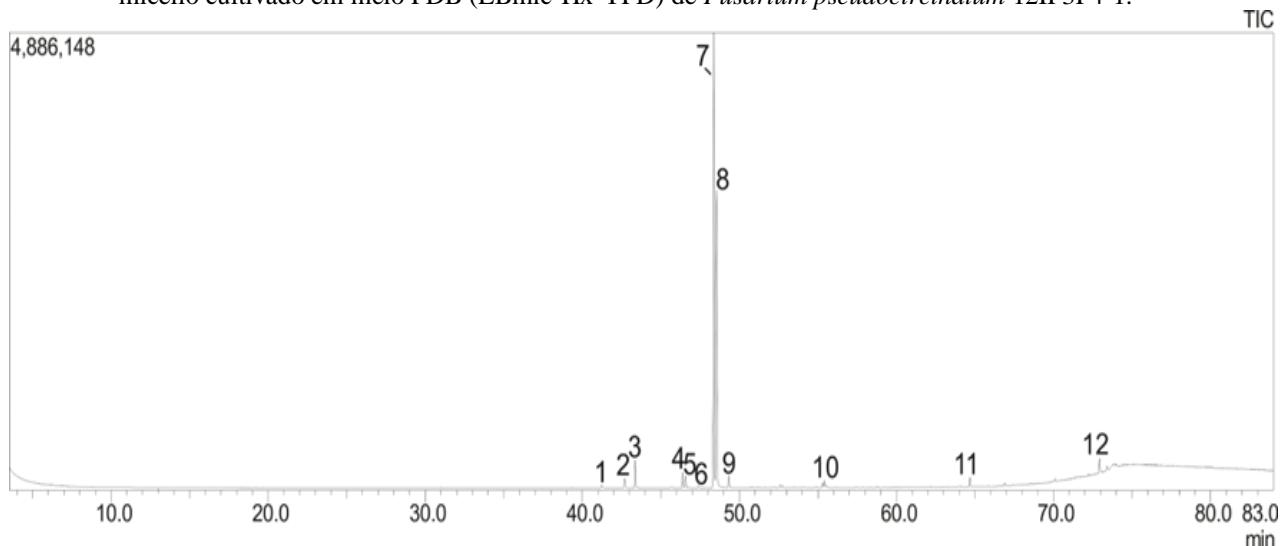


**Tabela 3** – Compostos anotados a partir da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio YPD (Ebmic-Hx-YPD) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Pico	TR (min)	Composto	IR	%
1	4,68	NI	740	0,36
2	5,72	NI	801	0,97
3	9,72	NI	998	0,54
4	16,34	1-Nonanol	1167	0,82
5	20,57	(2E)-2-Decenal	1269	1,48
6	25,69	NI	1393	1,24
7	41,19	Hexadecanoato de metila	1929	6,60
8	42,69	Ácido hexadecanóico	1976	49,99
9	46,37	Linoleato de metila	2095	0,46
10	46,56	9-Octadecenoato de metila (Oleato de metila)	2102	8,02
11	47,37	Octadecanoato de metila (Esterato de metila)	2130	1,96
12	47,92	Ácido oleico (ácido (Z)-9-Octadecenóico)	2149	20,49
13	48,59	Ácido octadecanóico (ácido esteárico)	2172	7,07

TR: Tempo de retenção; IR: índice de retenção; NI: não identificado.

**Figura 11** – Cromatograma de íons totais (TIC) obtido por CG-EM da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio PDB (EBmic-Hx-YPD) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

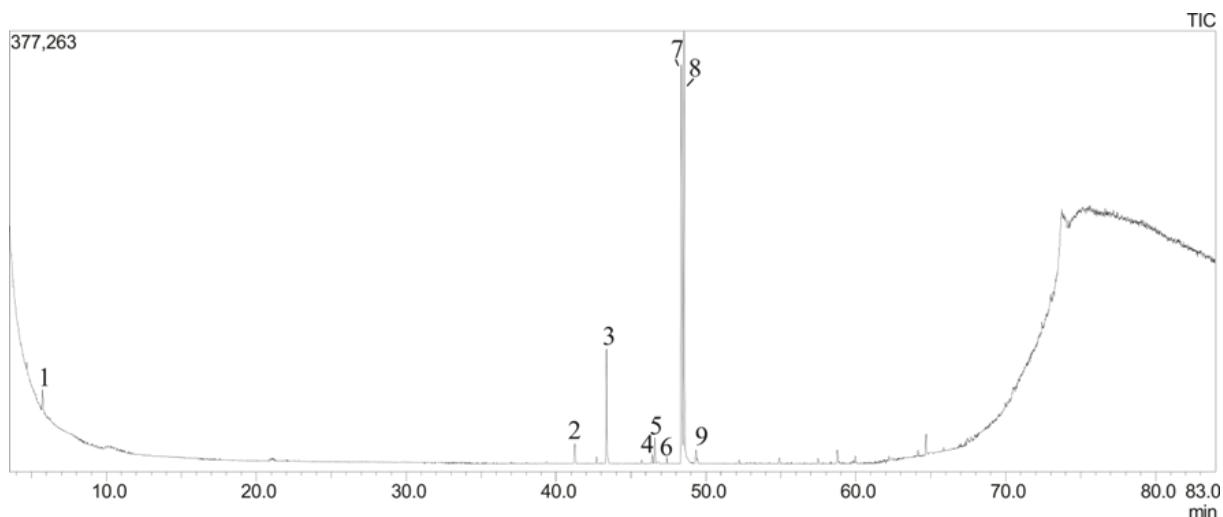


**Tabela 4** – Compostos anotados a partir da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio PDB (Ebmic-Hx-PDB) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Pico	TR (min)	Composto	IR	%
1	41,24	Hexadecanoato de metila	1930	0,35
2	42,68	Ácido hexadecanóico	1976	1,05
3	43,36	Hexadecanoato de etila (Palmitato de etila)	1996	3,03
4	46,39	9,12-Octadecadienoato de metila	2096	1,63
5	46,57	9-Octadecenoato de metila (Oleato de metila)	2102	1,31
6	47,39	Heptadecanoato de metila	2131	0,29
7	48,37	Linoleato de etila	2164	52,70
8	48,54	Oleato de etila (9-Octadecenoato de etila)	2170	35,30
9	49,33	Estearato de etila (Octadecanoato de etila)	2196	1,25
10	55,41	NI	2420	0,69
11	64,68	NI	2832	0,80
12	72,93	NI	3062	1,60

TR: Tempo de retenção; IR: índice de retenção; NI: não identificado.

**Figura 12** – Cromatograma de íons totais (TIC) obtido por CG-EM da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio MEB (EBmic-Hx-MEB) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.



**Tabela 5** – Compostos anotados a partir da fração hexânica do extrato bruto de micélio cultivado em meio MEB (EBmic-Hx-MEB) de *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.

Pico	TR (min)	Nome	IR	%
1	5,73	NI	802	1,35
2	41,24	Hexadecanoato de metila	1930	2,25
3	43,37	Hexadecanoato de etila (Palmitato de etila)	1997	10,37
4	46,40	9,12-Octadecadienoato de metila	2096	0,68
5	46,58	9-Octadecenoato de metila (Oleato de metila)	2103	2,41
6	47,40	Heptadecanoato de metila	2131	0,46
7	48,37	Linoleato de etila	2164	37,72
8	48,54	Oleato de etila (9-Octadecenoato de etila)	2170	43,68
9	49,34	Estearato de etila (Octadecanoato de etila)	2197	1,08

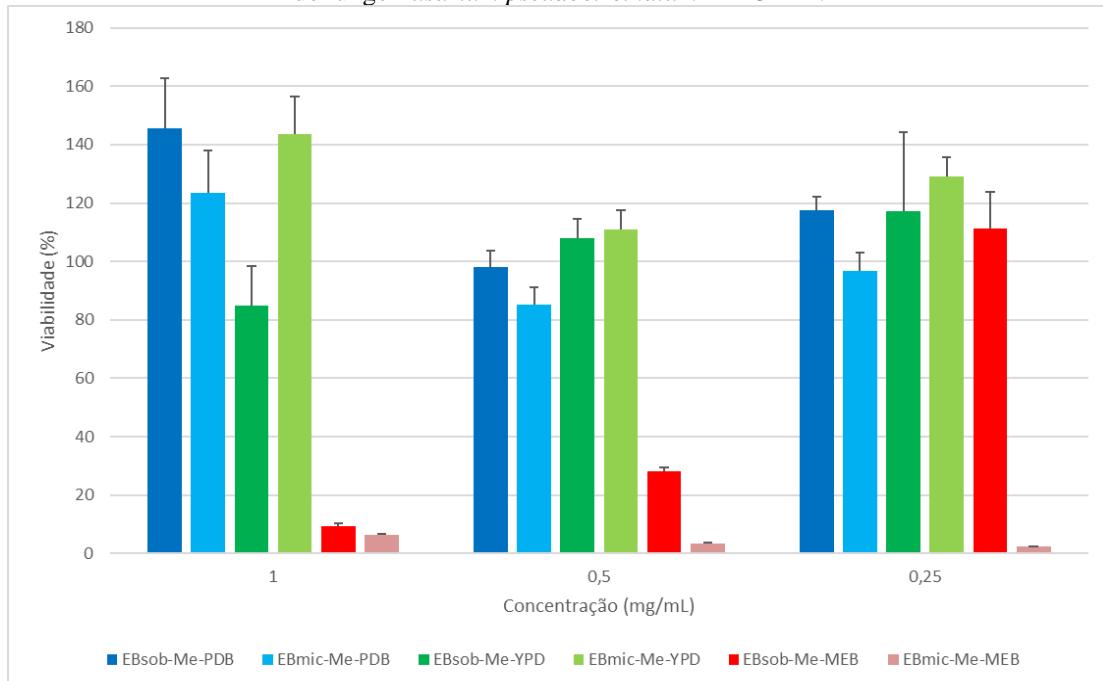
TR: Tempo de retenção; IR: índice de retenção; NI: não identificado.

#### 5.4. Ensaio de microdiluição para avaliação da atividade antibacteriana

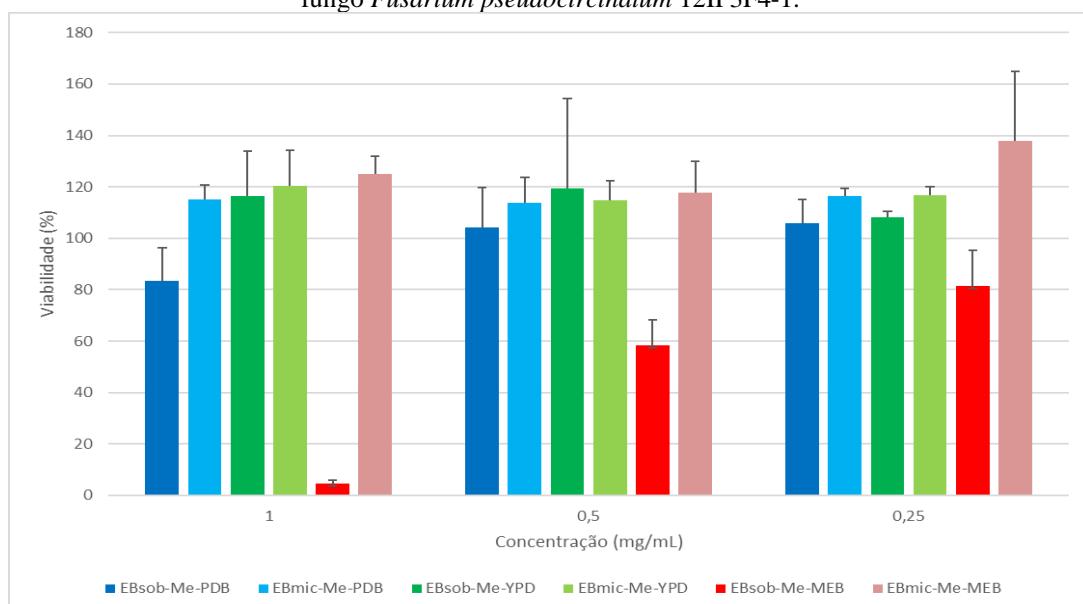
Os extratos obtidos do fungo endofítico *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1, cultivado sob diferentes meios da estratégia OSMAC, foram avaliados quanto à atividade antibacteriana

frente às bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25904 (Gram-positiva) e *Escherichia coli* ATCC 14458 (Gram-negativa). As análises foram realizadas nas concentrações de 1, 0,5 e 0,25 mg/mL (**Figuras 13 e 14**), com a utilização do antibiótico gentamicina como controle positivo.

**Figura 13** – Atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25904 dos extratos obtidos através do fungo *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.



**Figura 14** – Atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* ATCC 14458 dos extratos obtidos através do fungo *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1.



Para *S. aureus* (**Figura 13**), observou-se que a fração metanólica do extrato de micélio obtido no meio de cultivo MEB (EBmic-Me-MEB) apresentou a maior inibição do crescimento bacteriano em todas as concentrações testadas (1, 0,5 e 0,25 mg/mL), com valores médios de

viabilidade variando de 2,28% a 6,48%, o que confirma uma inibição de crescimento bacteriano mais do que 93%. O extrato obtido a partir do sobrenadante (EBsob-Me-MEB) também exibiu atividade antibacteriana com inibição do crescimento bacteriano de 90,59% na maior concentração avaliada (1 mg/mL). Em contraste, os extratos obtidos nos meios de cultivo PDB e YPD, tanto do sobrenadante (EBsob-Me-PDB e EBsob-Me-YPD) quanto micélio (EBmic-Me-YPD e EBmic-Me-YPD), apresentaram baixa inibição de crescimento bacteriano ou sem atividade. Esses resultados indicam que o cultivo em meio MEB favoreceu a produção de compostos bioativos com potente ação contra a bactéria Gram-positiva *S. aureus*.

As avaliações dos extratos de *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1 frente a bactéria Gram-negativa *E. coli* (**Figura 14**) revelaram grande atividade por meio do extrato de sobrenadante obtido em meio de cultivo MEB (EBsob-Me-MEB), porém todos os outros extratos não apresentaram atividade contra a bactéria. O EBsob-Me-MEB apresentou inibição do crescimento de *E. coli* de 95,4% na maior concentração avaliada (1 mg/mL). Além disso, nas concentrações de 0,5 e 0,25 mg/ml inibiu o crescimento de *E. coli* em aproximadamente 40 e 20%, respectivamente. Esses resultados em *E. coli* merecem destaque, pois identificar compostos ativos contra bactérias Gram-negativas é um grande desafio. Esse grupo bacteriano apresenta menor sensibilidade aos fármacos e substâncias devido à presença da membrana externa, característica das Gram-negativas, que funciona como uma barreira eficiente à entrada de antibióticos e outros metabólitos bioativos (ZHOU et al., 2023).

Os resultados demonstraram também que a variação das condições de cultivo influenciou diretamente a biossíntese de compostos com potencial antibacteriano de *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1, evidenciando a eficácia da estratégia OSMAC na modulação do metabolismo. Estudos prévios relatam que espécies de *Fusarium* são capazes de produzir substâncias como beauvericina e enniatinas, que são metabólitos conhecidos por sua atividade frente a bactérias Gram-positivas e cuja síntese pode ser induzida por mudanças nutricionais e ambientais (VÁSQUEZ-BONILLA, et al., 2022; CHAKROUN, et al., 2022; XU, et al., 2023).

## **6. CONCLUSÃO**

No presente trabalho, o fungo endofítico *Fusarium pseudocircinatum* 12IP3F4-1 mostrou-se uma fonte importante de metabólitos bioativos contra bactérias patogênicas de interesse em saúde pública, reforçando a necessidade de ampliar a pesquisa voltada à diversidade microbiana.

A estratégia OSMAC se destacou como uma abordagem eficiente para modular a biossíntese de compostos antibacterianos. A variação dos meios de cultivo alterou não apenas o rendimento dos extratos, mas também a diversidade química observada, incluindo dicetopiperazinas, derivados aromáticos e outros metabólitos característicos do gênero *Fusarium*. Essas modificações químicas tiveram impacto claro na atividade biológica. A resposta antibacteriana dos extratos variou conforme o meio de cultivo utilizado, evidenciando que condições ambientais distintas podem estimular ou inibir vias metabólicas importantes para a produção de compostos bioativos. Dessa forma, a aplicação de OSMAC permitiu não só ampliar o perfil químico detectado, mas também melhorar o desempenho biológico de determinados extratos.

Em conjunto, os resultados obtidos mostram que *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1 possui potencial para a produção de metabólitos antibacterianos e que a modulação oferecida pelo OSMAC é uma ferramenta valiosa para explorar esse potencial. Este estudo contribui para o conhecimento das capacidades biossintéticas de fungos endofíticos e reforça o papel desses microrganismos como fontes promissoras para a prospecção de novos compostos naturais com atividade biológica relevante. Além disso, este trabalho amplia o conhecimento químico de *F. pseudocircinatum* 12IP3F4-1, a qual é uma cepa ainda escassamente explorada do ponto de vista químico e biológico.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, ROBERT P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (ed. 4.1). **Allured Publ Crop Carol Steam**, IL, 2017.
- AHMED, A. et al. The endophytic Fusarium strains: a treasure trove of natural products. **RSC advances**, v. 13, n. 2, p. 1339-1369, 2023.
- AMUZU, Prosper et al. Recent updates on the secondary metabolites from Fusarium fungi and their biological activities (covering 2019 to 2024). **Journal of fungi**, v. 10, n. 11, p. 778, 2024.
- ARMER, V. J. et al. Navigating the Fusarium species complex: Host-range plasticity and genome variations. **Fungal Biology**, v. 128, n. 8, p. 2439-2459, 2024.
- BAO, WanXue; SUGA, Haruhisa. Genetic background of variable gibberellin production in the Fusarium fujikuroi species complex. **Reviews in Agricultural Science**, v. 9, p. 32-42, 2021.
- BARON, Noemi Carla; RIGOBELLO, Everlon Cid. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. **Mycology**, v. 13, n. 1, p. 39-55, 2022.
- BENEŠ, Radek et al. Antimicrobial and Antifungal Activities of Proline-Based 2, 5-Diketopiperazines Occurring in Food and Beverages and Their Synergism with Lactic Acid. **ACS Agricultural Science & Technology**, v. 5, n. 8, p. 1681-1692, 2025.
- BOHNI, Nadine et al. Production of fusaric acid by Fusarium spp. in pure culture and in solid medium co-cultures. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 370, 2016.
- BORTHWICK, Alan D.; DA COSTA, Neil C. 2, 5-diketopiperazines in food and beverages: Taste and bioactivity. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 4, p. 718-742, 2017.
- CAI, Bao-Dong et al. Sequential solvent induced phase transition extraction for profiling of endogenous phytohormones in plants by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 1004, p. 23-29, 2015.
- CARUSO, Daniel J. et al. Exploring the promise of endophytic fungi: a review of novel antimicrobial compounds. **Microorganisms**, v. 10, n. 10, p. 1990, 2022.
- CHAKROUN, Yasmine et al. Characterization of Fusarium acuminatum: A potential enniatins producer in Tunisian wheat. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p. 458, 2022.
- CHEN, Y.; LI, E.; XU, L. Guide to metabolomics analysis: a bioinformatics workflow. **Metabolites**, v. 12, n. 4, p. 357, 2022.
- CONRADO, Rafael et al. Overview of bioactive fungal secondary metabolites: cytotoxic and antimicrobial compounds. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, p. 1604, 2022.
- CONVENTZ, A. et al. Simultaneous determination of 3-nitrotyrosine, tyrosine, hydroxyproline and proline in exhaled breath condensate by hydrophilic interaction liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 860, n. 1, p. 78-85, 2007.
- DA SILVA, F. M. R. et al. Metabolomic strategies to improve chemical information from OSMAC studies of endophytic fungi. **Metabolites**, v. 13, n. 2, p. 236, 2023.
- DA SILVA FREITAS, Luana et al. Reproductive phenology and floral visitors of a Langsdorffia hypogaea (Balanophoraceae) population in Brazil. **Flora**, v. 233, p. 51-57, 2017.
- DEUSENBERY, C.; WANG, Y.; SHUKLA, A. Recent innovations in bacterial infection detection and treatment. **ACS Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p. 695-720, 2021.
- DIGRA, S.; NONZOM, S. An insight into endophytic antimicrobial compounds: an updated analysis. **Plant biotechnology reports**, v. 17, n. 4, p. 427-457, 2023.
- DIVEKAR, Pratap Adinath et al. Plant secondary metabolites as defense tools against herbivores for sustainable crop protection. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 5, p. 2690, 2022.

- EL HAJJ ASSAF, C. et al. Regulation of secondary metabolism in the Penicillium genus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. 9462, 2020.
- ELLWANGER, J. H.; NOBRE, C. A.; CHIES, J. A. B. Brazilian biodiversity as a source of power and sustainable development: a neglected opportunity. **Sustainability**, v. 15, n. 1, p. 482, 2022.
- EL-ZAWAWY, N. A. et al. Exploring the potential of benzoic acid derived from the endophytic fungus strain Neurospora crassa SSN01 as a promising antimicrobial agent in wound healing. **Microbiological Research**, v. 262, p. 127108, 2022.
- FELESTRINO, Érica B. et al. Plant growth promoting bacteria associated with Langsdorffia hypogaea-rhizosphere-host biological interface: a neglected model of bacterial prospection. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 172, 2017.
- FERREIRA, R.; CRUZ, J. S.; HAMERSKI, L. Estratégia OSMAC: Um Método Acessível para a Descoberta de Novas Substâncias Microbianas. **Revista Virtual de Química**, v. 14, n. 5, 2022.
- GHULE, Mahesh R. et al. Identification of secondary metabolites in mycoparasites Fusarium strains and antifungal activity of fusaric acid against Plasmopara viticola. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 55, n. 11, p. 1283-1297, 2022.
- GUPTA, Aditi et al. Fungal endophytes: Microfactories of novel bioactive compounds with therapeutic interventions; A comprehensive review on the biotechnological developments in the field of fungal endophytic biology over the last decade. **Biomolecules**, v. 13, n. 7, p. 1038, 2023.
- HASHEM, A. H. et al. Bioactive compounds and biomedical applications of endophytic fungi: a recent review. **Microbial cell factories**, v. 22, n. 1, p. 107, 2023.
- HAWAS, Usama W. et al. Different culture metabolites of the Red Sea fungus Fusarium equiseti optimize the inhibition of hepatitis C virus NS3/4A protease (HCV PR). **Marine drugs**, v. 14, n. 10, p. 190, 2016.
- HO, C. S. et al. Antimicrobial resistance: a concise update. **The Lancet Microbe**, v. 6, n. 1, HSIAO, Shu-Chuan; MAUSETH, James D.; GOMEZ, Luis D. Growth and anatomy of the vegetative body of the parasitic angiosperm Langsdorffia hypogaea (Balanophoraceae). **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, p. 24-39, 1994.
- IKUTA, Kevin S. et al. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 400, n. 10369, p. 2221-2248, 2022.
- JOHNSON, L. J. et al. The dynamic mechanisms underpinning symbiotic Epichloë-grass interactions: Implications for sustainable and resilient agriculture. In: *Microbiome stimulants for crops*. Woodhead Publishing, 2021. p. 73-108.
- KOECH, S. C. et al. Strategies for Actinobacteria Isolation, Cultivation, and Metabolite Production that Are Biologically Important. **ACS omega**, v. 10, n. 16, p. 15923-15934, 2025.
- KULKARNI, Guruprasad B. et al. Indole-3-acetic acid biosynthesis in Fusarium delphinoides strain GPK, a causal agent of wilt in chickpea. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 169, n. 4, p. 1292-1305, 2013.
- KUMAR, Sumit et al. Role of plant secondary metabolites in defence and transcriptional regulation in response to biotic stress. **Plant stress**, v. 8, p. 100154, 2023.
- LI, Mingzhu et al. Fusarium: a treasure trove of bioactive secondary metabolites. **Natural product reports**, v. 37, n. 12, p. 1568-1588, 2020.
- LIU, N. et al. The cGAS-STING pathway in bacterial infection and bacterial immunity. **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 814709, 2022.
- LUO, Kun et al. Indole-3-acetic acid in Fusarium graminearum: Identification of biosynthetic pathways and characterization of physiological effects. **Fungal biology**, v. 120, n. 9, p.

- 1135-1145, 2016.
- LV, Gongbo et al. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on fatty acid contents in *Aspergillus oryzae*. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 739569, 2021.
- MATSAKAS, Leonidas; GIANNAKOU, Maria; VÖRÖS, Dimitrij. Effect of synthetic and natural media on lipid production from *Fusarium oxysporum*. Electronic **Journal of Biotechnology**, v. 30, p. 95-102, 2017.
- MEIRELLES, G.; RUPPELT, B. M. Exploração da biodiversidade brasileira como fonte de insumos farmacêuticos ativos vegetais (IFAVs): desafios da indústria farmacêutica nacional. **Revista Fitos**, v. 17, n. 2, p. 236-259, 2023.
- MOLINA, Jeanmaire et al. The endophyte's endophytes: the microbial partners of the endangered plant parasite *Rafflesia speciosa* (Rafflesiaceae) reveal clues about its cryptic biology and cues for cultivation. **Journal of Plant Interactions**, v. 19, n. 1, p. 2304221, 2024.
- MONTOYA-MARTÍNEZ, Amelia C. et al. Malformation disease in *Tabebuia rosea* (rosy trumpet) caused by *Fusarium pseudocircinatum* in Mexico. **Plant Disease**, v. 105, n. 10, p. 2822-2829, 2021.
- MUNKVOLD, G. P.; PROCTOR, R. H.; MORETTI, A. Mycotoxin production in *Fusarium* according to contemporary species concepts. **Annual Review of Phytopathology**, v. 59, n. 1, p. 373-402, 2021.
- MURRAY, Christopher JL et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.
- NEWMAN, D.. Old and modern antibiotic structures with potential for today's infections. **ADMET and DMPK**, v. 10, n. 2, p. 131-146, 2022.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.
- NGUYEN, B. VG et al. Endophytic fungi isolated from Vietnamese nut grass (*Cyperus rotundus* L. Cyperaceae)—A promising solution to mitigate the prime phenomenon of antibiotic resistance. **Heliyon**, v. 11, n. 3, 2025.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Biodiversidade: ficha informativa. Genebra: **OMS**, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/biodiversity>
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Resistência antimicrobiana. Genebra: **OMS**, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- RASMEY, A.-HM; TAWFIK, M. A.; ABDEL-KAREEM, M. M. Direct transesterification of fatty acids produced by *Fusarium solani* for biodiesel production: effect of carbon and nitrogen on lipid accumulation in the fungal biomass. **Journal of applied microbiology**, v. 128, n. 4, p. 1074-1085, 2020.
- RAJESWARI, P. Assessment of combination of biocontrol strains on the fusaric acid and other toxins secreted from *Fusarium oxysporum* by HPLC-MS/MS method and differential expression profiling in *Arachis hypogaea* L. **Toxicology International**, v. 26, n. 3&4, p. 89-97, 2019.
- SAHU, K. G.; KHOBragade, D. S.; PATIL, S. P. Anticancer flavonoids producing endophytic fungi: A review. **Journal of Holistic Integrative Pharmacy**, v. 5, n. 4, p. 305-313, 2024.
- SAYEDA, A. Abdelhamid et al. Biodiesel production from Egyptian isolate *Fusarium oxysporum* NRC2017. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, p. 210, 2019.
- SHALAPY, Nashwa M.; KANG, Wenyi. *Fusarium oxysporum* & *Fusarium solani*:

- Identification, Characterization, and Differentiation the Fungal Phenolic Profiles by HPLC and the Fungal Lipid Profiles by GC-MS. **Journal of food quality**, v. 2022, n. 1, p. 4141480, 2022.
- SINGH, V.K., Kumar, A. Secondary metabolites from endophytic fungi: Production, methods of analysis, and diverse pharmaceutical potential. **Symbiosis**, v. 90, p. 111–125, 2023.
- SONG, Wei et al. New cytotoxic indole derivatives with anti-FADU potential produced by the endophytic fungus *Penicillium oxalicum* 2021CDF-3 through the OSMAC strategy. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1400803, 2024.
- STARK, Timo; HOFMANN, Thomas. Structures, sensory activity, and dose/response functions of 2, 5-diketopiperazines in roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 18, p. 7222-7231, 2005.
- STAROPOLI, A. et al. Induced secondary metabolites of the beneficial fungus *Trichoderma harzianum* M10 through OSMAC approach. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 28, 2023.
- TANG, K. W. K.; MILLAR, B. C.; MOORE, J. E. Antimicrobial resistance xu (AMR). **British journal of biomedical science**, v. 80, p. 11387, 2023.
- TERNA, Paul T. et al. Molecular identification and pathogenicity of endophytic fungi from corn ears. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 17146, 2024.
- THOROGOOD, C.; SANTOS, J. C. Langsdorffia: creatures from the deep? **Plants, People, Planet**, v. 2, p. 181, maio 2020. DOI: 10.1002/ppp3.10102.
- TSAVKELOVA, Elena et al. Identification and functional characterization of indole-3-acetamide-mediated IAA biosynthesis in plant-associated *Fusarium* species. **Fungal Genetics and Biology**, v. 49, n. 1, p. 48-57, 2012.
- TUERDIBIEKE, M.; TIAN, X.; AN, X.; FENG, Y.; LIU, W. Isolation and identification of endophytic fungi from *Alhagi sparsifolia* Shap. and their antibacterial activity. **Heliyon**, v. 10, n. 19, 15 out. 2024.
- VÁSQUEZ-BONILLA, J. Norberto et al. Improvement of beauvericin production by *Fusarium oxysporum* AB2 under solid-state fermentation using an optimised liquid medium and co-cultures. **Mycotoxin research**, v. 38, n. 3, p. 175-183, 2022.
- VILLAFAÑE, V. C. G. et al. Orbicules in south American Balanophoraceae: Analysis of its possible role and its taxonomic value in the family. **Flora**, v. 321, p. 152642, 2024.
- XU, K. et al. Antifungal secondary metabolites produced by the fungal endophytes: Chemical diversity and potential use in the development of biopesticides. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 689527, 2021.
- XU, M. et al. Fusarium-derived secondary metabolites with antimicrobial effects. **Molecules**, v. 28, n. 8, p. 3424, 2023.
- YILMAZ, Neriman et al. Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 46, n. 1, p. 129-162, 2021.
- YIRKA, Bob. An overview of the parasitic plant Langsdorffia. **The Global Plant Council**, 4 ago. 2020.
- ZAMAN, KH Ahammad Uz et al. Polyketides, diketopiperazines and an isochromanone from the marine-derived fungal strain *Fusarium graminearum* FM1010 from Hawaii. **Phytochemistry**, v. 198, p. 113138, 2022.
- ZHONG, Tian-Hua et al. Evaluating the effect of medium composition and fermentation conditions on microbial oil production by a *Fusarium* strain isolated from the open ocean. **Botanica Marina**, v. 60, n. 4, p. 393-400, 2017.
- ZHONG, W. et al. Miniature robots for battling bacterial infection. **ACS nano**, v. 18, n. 47, p. 32335-32363, 2024.
- ZHOU, Gang et al. Outer membrane porins contribute to antimicrobial resistance in gram-

negative bacteria. **Microorganisms**, v. 11, n. 7, p. 1690, 2023.

## ANEXO 1



# LAURO DE IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

REF | GoG#IDMOL\_1098/2025

DATA | 03/11/2025

### SOLICITANTE

**Cliente:** Fundação Federal de Mato Grosso do Sul

**Solicitante:** Denise Brentan da Silva

**Contato:** [caroline.moura@ufms.br](mailto:caroline.moura@ufms.br)

### INFORMAÇÕES DA

**Identificação:** 12IP3F4-1

**Tipo de amostra:** isolado de fungo em placa de cultivo

**Nº GoGenetic:** Go039144 – S5374

**Data de recebimento da amostra:** 23/10/2025

### RESULTADO

O isolado “12IP3F4-1” apresenta 99% (525/526 bases de ITS e 612/612 bases de EF1) de identidade com *Fusarium pseudocircinatum*.

### MÉTODO

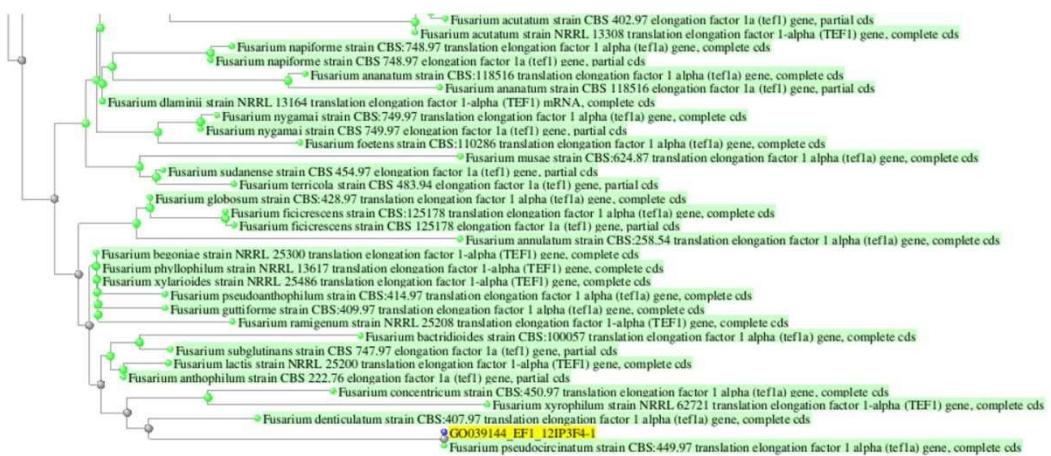
**Método:** Identificação de microrganismos por sequenciamento de DNA (ITS+EF1). Ref: GG-LAB009. **Confiança:** 99%

**Início:** 23/10/2025 | **Conclusão:** 03/11/2025

## CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA

Reino: Fungi  
Filho: Ascomycota  
Classe: Sordariomycetes  
Ordem: Hypocreales  
Família: Nectriaceae  
Gênero: *Fusarium*  
Espécie: *Fusarium pseudocircinatum*

Árvore de distância filogenética entre a sequência de DNA do isolado (em amarelo) e sequências similares do banco de dados nr do NCBI.



Nodes 201(0 selected) View port at (2599,889) of 4248x1304 0.002

As informações e resultados se aplicam somente à amostra conforme recebida.

Este documento não pode ser reproduzido, total ou em parte, sem aprovação prévia, exceto quando reproduzido em sua íntegra.

Eduardo Pimentel, PhD

CRBIO 53112/07-D

UARDO BALSANELLI:05230869976

2025.11.03 11:10:07 -03'00'

Eduardo Balsanelli  
Responsável Técnico - CRBio 83112/07-  
D

[contato@gogenetic.com.br](mailto:contato@gogenetic.com.br)

GG-FO056-01 - V1

CADASTRO NO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA Nº PR-01494.

Página 1/1

✉ [gogenetic.com.br](http://gogenetic.com.br)

👤 [@gogenetic](https://www.instagram.com/@gogenetic)

📍 R. Imac. Conceição, 1430 | Curitiba - PR | 80215-182

📞 41 3024-0660

