

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

MIKAELA FERNANDA DIAS VIEIRA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS SEPTADOS MELANIZADOS DE
GRAMÍNEAS EM ÁREA DEGRADADA**

Ilha Solteira - SP
2025



PROGRAMA DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MIKAELA FERNANDA DIAS VIEIRA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS SEPTADOS MELANIZADOS DE
GRAMÍNEAS EM ÁREA DEGRADADA**

Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas apresentado à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, para obtenção do título de Grau acadêmico de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Prof.a. Dr.a Ana Maria Rodrigues Cassiolato

Coorientador(a): Prof. Dr. Philippe Solano Toledo Silva

Ilha Solteira - SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Diretria Técnica de Biblioteca e Documentação

V658b Vieira, Mikaela Fernanda Dias.
Bioprospecção de fungos endofíticos septados melanizados de gramíneas
em área degradada / Mikaela Fernanda Dias Vieira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2025
39 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (GRaduação em Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2025

Orientadora: Ana Maria Rodrigues Cassiolato

Coorientador: Phillipe Solano Toledo Silva

Inclui bibliografia

1. Dark septate. 2. Inoculação. 3. Recuperação. 4. Cerrado.

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS SEPTADOS
MELANIZADOS DE GRAMÍNEAS EM ÁREA DEGRADADA**

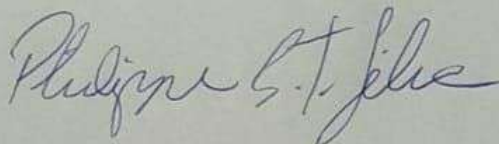
Mikaela Fernanda Dias Vieira

REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

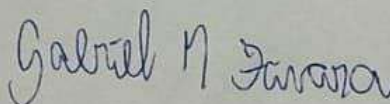
- ARTIGO 25° - § 2° A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máximo de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo, o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.
- ARTIGO 24° - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO ou REPROVADO.

COMISSÃO EXAMINADORA

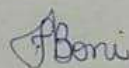
1º EXAMINADOR (Coorientador-Presidente)
Nome: Philippe Toledo Solano Silva



2º EXAMINADOR
Nome: Gabriel Madoglio Favara



3º EXAMINADOR
Nome: Thaís Soto Boni

**CONCEITO**☒ APROVADO☐ REPROVADO

Ilha Solteira-SP, 05 de dezembro de 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, meu alicerce. Agradeço em especial à minha mãe e aos meus irmãos por estarem ao meu lado em cada passo, por me apoiarem em todas as decisões e por serem a minha maior inspiração.

Ao Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, por ter me acolhido e me dado a força que eu precisava para seguir em frente. Foi nesse ambiente, no meio de tanto desafio, que encontrei um verdadeiro propósito para continuar no curso.

À minha orientadora, a Prof. Dra. Ana Maria R. Cassiolato, minha eterna gratidão. Além de uma profissional incrivelmente competente, ela foi a pessoa que viu em mim um potencial que eu mesma não enxergava, me guiando e me incentivando em cada etapa, especialmente nos momentos de maior dificuldade. O seu cuidado e a sua dedicação foram fundamentais para a conclusão deste trabalho e para a minha formação.

Ao meu coorientador, Philippe Solano Toledo Silva, que se dedicou de forma assídua a todo o experimento e me orientou com clareza e coerência. Seu apoio foi inestimável.

A UNESP, por ter me dado a oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas que me ajudaram a traçar meu caminho e principalmente por ter me fornecido ótimos anos de estudo na melhor Universidade do estado de São Paulo.

Aos meus amigos Maria Laura, Lívia Silvino, Laís Ventura, Gabriel Gerolim, Lívia Pimenta, Kaylane Gonçalves, Gabriela Garcia e Isabela Marques, por toda a amizade, carinho e parceria ao longo da graduação.

Às repúblicas "Saia Justa" e "Nada Santa", e a todas as pessoas que passaram por elas. A convivência e a ajuda mútua de vocês tornaram essa jornada mais leve e memorável.

Por fim, e com um carinho especial, à minha namorada, Daniela Ribeiro. Sua participação neste trabalho foi tão significativa quanto a minha, estando presente tanto nos momentos difíceis quanto nos de celebrações. O seu apoio e companheirismo foram essenciais.

RESUMO

O foco principal deste estudo recai sobre os fungos endofíticos septados escuros (DSE), os quais foram isolados de diferentes tecidos de gramíneas resilientes do Cerrado (*Andropogon selloanus*, *Aristida setifolia* e *Aristida adscensionis*) presentes em uma área degradada oriunda para a construção da Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira. Esta área passa por uma forte degradação devido a remoção de sua cobertura vegetal, fazendo com que esses solos sejam pobres em nutrientes, seco e com baixa disponibilidade em nutrientes. Os fungos endofíticos possuem características únicas, sendo a principal sua pigmentação melanizada que fornece a estes fungos uma capacidade superior de proteção contra situações adversas, como stress hídrico, radiação intensa e as altas temperaturas do solo exposto, como encontrado em áreas degradadas, tornando-os alternativas ideais de estudos em ambientes difíceis. A hipótese central do trabalho é que os fungos endofíticos septados melanizados em simbiose não patogênica com plantas, podem funcionar como promotores de crescimento vegetal para outras culturas, como a *Crotalaria juncea*. Diversos testes foram feitos para garantir o desenvolvimento e estabelecimento da crotalaria, sendo eles: i) teste de termotolerância, expondo os isolados a diferentes temperaturas e analisando seu desenvolvimento; ii) germinação das sementes em placas de Petri juntamente com os isolados selecionados afim de identificar os fungos patogênicos e não patogênicos, para inocula-los em sementes de *C. juncea*; iii) experimento em vasos, transplantando as sementes inoculadas para vasos em casa de vegetação, para garantir o crescimento e desenvolvimento das plantas. Os isolados DSE originários de gramíneas nativas do Cerrado em simbiose com a crotalaria, podem ajudar a promover o crescimento da crotalaria, sem causar danos ou sintomas fitopatogênicos tanto nas sementes quanto nas plantas, confirmando sua função como microrganismos benéficos. Ao investigar o potencial destes microrganismos, o ISO23 não prejudicou o crescimento inicial de *Crotalaria juncea* e demonstrou potencial como microrganismo promotor de crescimento; contudo, estudos mais aprofundados são necessários para elucidar seu papel.

Palavras-chave: *dark septate*; inoculação; recuperação; Cerrado.

ABSTRACT

The main focus of this study is on dark septate endophytic fungi (DSE), which were isolated from different tissues of resilient Cerrado grasses (*Andropogon selloanus*, *Aristida setifolia* and *Aristida adscensionis*) present in a degraded area resulting of the construction of the Ilha Solteira Hydroelectric Power Plant. This area is undergoing severe degradation due to the removal of its vegetation cover, resulting in nutrient-poor, dry soils with low nutrient availability. Endophytic fungi possess unique characteristics, the main one being their melanized pigmentation, which provides these fungi with a superior capacity for protection against adverse situations such as water stress, intense radiation, and the high temperatures of exposed soil, as found in degraded areas, making them ideal alternatives for studies in difficult environments. The central hypothesis of this work is that melanized septate endophytic fungi in non-pathogenic symbiosis with plants can function as plant growth promoters for other crops, such as *Crotalaria juncea*. Several tests were conducted to ensure the development and establishment of crotalaria, including: i) a thermotolerance test, exposing the isolates to different temperatures and analyzing their development; ii) seed germination in Petri dishes along with the selected isolates in order to identify pathogenic and non-pathogenic fungi, for inoculation into *C. juncea* seeds; iii) Experiment in pots, transplanting the inoculated seeds into pots in a greenhouse, to ensure the growth and development of the plants. The DSE isolates originating from native Cerrado grasses in symbiosis with crotalaria can help promote the growth of crotalaria, without causing damage or phytopathogenic symptoms in either the seeds or the plants, confirming their function as beneficial microorganisms. When investigating the potential of these microorganisms, ISO23 did not hinder the initial growth of *C. juncea* and demonstrated potential as a growth-promoting microorganism; however, further studies are needed to elucidate its role.

Keywords: dark septate; inoculation; recovery; Cerrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplo de cor de hifas e esporos de fungos endofíticos melanizados	15
Figura 2: Hifas e esporos dos fungos septados melanizados. Sendo (a) hifas septadas e (b) esporos melanizados	15
Figura 3: (a) Capim-pluma-branca (<i>Andropogon selloanus</i>); (b) Capim-pena-de-ema (<i>Aristida setifolia</i>); (c) Capim-panasco (<i>Aristida adscensionis</i>); Elaboração de (a) funga e flora do brasil; (b) BioDiversity4All; (c) wiktrop.	16
Figura 4: Área utilizada para o isolamento dos microrganismos e o plantio de <i>Crotalaria juncea</i> (Elaboração da autora)	17
Figura 5: (a) Folhas das gramíneas selecionadas em béqueres de vidro, em processo de desinfecção (Elaboração da autora).....	18
Figura 6: (b) Colmos das gramíneas selecionadas em béqueres de vidro, em processo de desinfecção (Elaboração da autora).....	18
Figura 7: (c) Raízes das gramíneas selecionadas em béqueres de vidro, em processo de desinfecção (Elaboração da autora).....	18
Figura 8: Amostras dos tecidos das gramíneas dispostas em placas de Petri, (a) Folhas	18
Figura 9: Amostras dos tecidos das gramíneas em placas de Petri, (b) Colmos	18
Figura 10: Amostras dos tecidos das gramíneas dispostas em placas de Petri, (c) Raízes.....	18
Figura 11: Isolados fúngicos com hifas melanizadas purificados (Elaboração da autora)	Erro! Indicador não definido.
Figura 12: Isolados fúngicos com hifas melanizadas purificados (Elaboração da autora)	21
Figura 13: Esquema de sementes de crotalária adicionadas em placas com e sem fungo DSE nos testes de germinação (Elaboração da autora)	23
Figura 14: Isolado 08 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)	24
Figura 15: Isolado 10 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)	24
Figura 16: Isolado 12 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)	24

Figura 17: Isolado 23 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)	24
Figura 18: Isolado 26 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)	24
Figura 19: Vasos dispostos em casa de vegetação (elaboração da autora)	26
Figura 20: Etapas de coloração de raízes, (a) Descoloração das raízes, (b) Coloração, (c) Preservação em Lactoglicerol, (d) Montagem de lâminas para análise, (e) Análise em microscópio	27
Figura 21: Semente de crotalária germinada em placa (elaboração da autora)	30
Figura 22: Correlação de Pearson para as variáveis de crescimento de <i>Crotalaria juncea</i> sem (a) e com inoculação de DSE (b)	32
Figura 23: Nódulos viáveis presentes nas raízes de <i>Crotalaria juncea</i>	32
Figura 24: Raízes de <i>Crotalaria juncea</i> sem colonização	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Fotossíntese Líquida
ALT	Altura das Plantas
DSE	Dark Septate Endophytic Fungi
FBN	Fixação biológica de Nitrogênio
ISO	Isolado
ISO8	Isolado fúngico de número 8
ISO10	Isolado fúngico de número 10
ISO12	Isolado fúngico de número 12
ISO23	Isolado fúngico de número 23
ISO26	Isolado fúngico de número 26
MFPA	Massa fresca da parte aérea das plantas
MFR	Massa fresca das raízes
MS	Mato Grosso do Sul
NF	Número de folhas
NNV	Número de Nódulos viáveis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS GERAIS.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
3	REVISÃO SISTEMÁTICA	135
3.1	CERRADO	15
3.2	CROTALÁRIA	20
3.3	FUNGOS ENDOFÍTICOS SEPATADOS MELANIZADOS	16
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	22
4.2	TESTE DE TERMOTOLERÂNCIA	30
4.3	INOCULAÇÃO EM SEMENTES E TESTE DE GERMINAÇÃO	30
4.4	EXPERIMENTO EM VASOS	34
4.5	CLAREAMENTO E COLORAÇÃO DE RAIZES.....	35
4.6	DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	TESTE DE TERMOTOLERÂNCIA	37
5.2	INOCULAÇÃO EM SEMENTES E TESTE DE GERMINAÇÃO	39
5.3	EXPERIMENTO EM VASOS.....	40
5.4	TESTE DE PEARSON	42
5.3	ANÁLISE E COLORAÇÃO DE RAÍZES	40
6	CONCLUSÃO	42
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
	REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado, é um dos maiores biomas do Brasil, ocupando uma extensa área do território nacional, ficando atrás apenas da Amazônia em extensão. Ele abrange cerca de 23% do país, com mais de 2 milhões de km², e se destaca por sua notável diversidade climática, que varia entre climas equatoriais, tropicais e subtropicais. Essa variedade de climas contribui para a rica biodiversidade do Cerrado, que abriga milhares de espécies de plantas e animais (Silva *et al.*, 2020).

Apesar de sua diversidade, este bioma enfrenta ameaças constantes provocadas por ações humanas, como o desmatamento, a mineração e os impactos das mudanças climáticas, que comprometem seriamente a preservação de sua biodiversidade (Vieira; Felício *et al.*, 2025). Segundo o Mapbiomas (2024) entre 1985 e 2023, o Cerrado perdeu 27% de sua vegetação original - aproximadamente 38 milhões de hectares. Em 2023, o desmatamento aumentou 68%, ultrapassando 1,1 milhão de hectares e, pela primeira vez, superando as perdas registradas na Amazônia, o que aponta para uma preocupante mudança no padrão de destruição ambiental (Guaraldo, *et al.*, 2024).

A intensa degradação ambiental enfrentada pelo Cerrado pode ser observada em casos específicos, como na região entre os estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, onde se localiza a Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira (UHE Ilha Solteira). A construção da usina demandou a criação de uma área de empréstimo, na qual a camada superficial do solo e a vegetação foram removidas durante as obras, resultando em uma acentuada degradação ambiental, caracterizada por processos erosivos e perda de biodiversidade (Alves *et al.*, 2012). Essa área foi cedida pela CESP e, atualmente, integra a Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira. No local, são conduzidos pesquisas e experimentos voltados à recuperação da área degradada, com foco na restauração das condições do solo e da vegetação (Silva; Moraes; Buzetti *et al.*, 2011).

O crescimento e estabelecimento de plantas nas condições do solo e clima, são favorecidos pela simbiose com microrganismos, como os fungos endofíticos septados melanizados (DSE). Por meio de suas hifas, esses fungos podem auxiliar plantas em situações de estresse (como déficit hídrico, salinidade e ataques de patógenos), sendo capazes de transferir água e nutrientes e, assim, garantir a sobrevivência mesmo em ambientes desafiadores (Cruz *et al.*, 2024). Logo,

compreender o papel dos DSE no crescimento de plantas, é uma estratégia promissora para promover uma agricultura mais sustentável, beneficiando culturas como a crotalária (*Crotalaria juncea*), leguminosa amplamente empregada como planta de cobertura devido à sua capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e redução de nematoides no solo (Azevedo et al., 2021).

Assim, as hipóteses do trabalho foram: i) Fungos endofíticos septados melanizados isolados de folhas, colmo e raízes de gramíneas de crescimento espontâneo de *Andropogon selloanus*, *Aristidia setifolia* e *Aristida adscensionis*, dão capazes de colonizar raízes de crotalária (planta teste) sem causar danos e/ou sintomas fitopatogênicos a planta. ii) Avaliação do potencial dos isolados fúngicos na promoção do crescimento inicial da crotalária verificando a capacidade de colonização radicular, garantindo a ausência de danos ou sintomas fitopatogênicos na mesma.

2 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste estudo é investigar se os isolados DSE não causam lesões em sementes e em plantas de crotalária, garantindo o crescimento e desenvolvimento das plantas em seu estágio inicial, baseado no funcionamento dos fungos endofíticos septados melanizados escuros presentes em plantas de crescimento espontâneo no Cerrado. A partir disto, aplicar este estudo em culturas agrícolas priorizando o desenvolvimento e aprimoramento agrícola alimentar, visto que os endofíticos melanizados são possíveis promotores de crescimento inicial de plantas e podem ajuda-las a crescer, se desenvolver e se estabelecer no ambiente.

3 REVISÃO SISTEMÁTICA

3.1 CERRADO

O cerrado é o segundo maior bioma do Brasil, possuindo cerca de 2.000.000km² em extensão e correspondendo a aproximadamente 23% de todo o território brasileiro. Conhecido como “Oreades no sistema de Martius”, este bioma é localizado em áreas montanhosas, possuindo o caráter de savanas, com vegetação única de gramíneas se misturando com árvores e arbustos (Embrapa, 2008). Cerca de 40% deste território está comprometido com a agropecuária, enquanto 19% de toda vegetação brasileira está presente neste bioma (WWF-Brasil, 2018).

A interação entre a radiação solar incidente, a sazonalidade climática e a disponibilidade hídrica deste solo constituem um conjunto de fatores que modula os parâmetros biofísicos do Cerrado. Isso acontece devido ao balanço de radiação do bioma, sendo uma consequência direta da ampla diversidade de fitofisionomias que caracterizam este ecossistema (Querino *et al.*, 2021).

Além da importância econômica, este bioma tem uma importante atuação social. De acordo com estudos, há 216 terras indígenas com 83 etnias diferentes que vivem em sua extensão territorial, povos os quais utilizam seus recursos naturais para a sua sobrevivência (Belonia, 2018). O fato de ser utilizado para atividades econômicas e sociais, faz com que este bioma sofra diariamente adversos problemas, desde perda de biodiversidade, desmatamento, até mudanças climáticas, uso excessivo de recursos e garimpo (Geraque, 2023). De acordo com dados da MapBiomas (2022), o cerrado perdeu e perde diariamente sua vegetação, deixando clara grande urgência na recuperação do Cerrado, devido ao desmatamento e à alta degradação.

Com grande diversidade fisionômica, o Cerrado se destaca como um dos maiores pilares na produção de alimentos, principalmente na produção de alimentos, como algodão, sorgo, soja, cana-de-açúcar, feijão e milho. Inclusive, vem se demonstrando cada vez mais utilizado na geração de tecnologias sustentáveis, revelando grandes oportunidades na inserção de bioeconomia (Embrapa, 2023).

3.2 CROTALÁRIA

A *Crotalaria juncea* é uma espécie de leguminosa da família Fabaceae, é composta por centenas de espécies, sendo a maioria de climas sub tropicais e tropical, além de possuir boa adaptação a solos secos e arenosos. Possui crescimento herbáceo, os caules são eretos, ramificados e não lenhoso. No contexto agrícola, esta planta possui um ciclo curto de 60-90 dias (Cherubin *et al.*, 2022).

Ela é muito usada como adubo verde, pois esta leguminosa ajuda a realizar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio do solo, diminuindo a necessidade de fertilizantes nitrogenados o que acaba gerando economia em sua produção (Souza *et al.*, 2022).

O uso da crotalária em práticas de agricultura generativa e plantio direto, são formas que agregam valor e sustentabilidade na agricultura, se tornando uma alternativa para reduzir o uso de insumos químicos (Lima Filho *et al.*, 2023).

Desta forma, a crotalária como adubo verde se tornou frequente na produção agrícola, visto que é mais acessível, além de contribuir para o aumento dos níveis de matéria orgânica e atividade de microrganismos no solo (Ziblim; Paul; Timothy *et al.*, 2013). Ademais, esta espécie é uma forte controladora de fungos fitopatogênicos e nematoides, contribuindo com a multiplicação de bactérias e fungos capazes de promover a saúde dos solos e plantas (Grabau *et al.*, 2022).

3.3 FUNGOS ENDOFÍTICOS SEPTADOS MELANIZADOS

Os microrganismos podem estar presentes nos mais variados lugares, inclusive dentro dos tecidos de plantas, sendo eles, patógenos ou não. Os patógenos são conhecidos por serem prejudiciais às plantas, podendo causar dano aos tecidos e impedirem o crescimento das mesmas. Os não patogênicos não trazem malefícios às plantas e ainda podem produzir substâncias favoráveis ao seu desenvolvimento, podendo ser considerados microrganismos eficientes (Andrade *et al.*, 2020).

Os fungos endofíticos são um grupo de organismos que podem ser encontrados naturalmente, tanto no solo como também no tecido das plantas e que podem contribuir diretamente para a melhoria de produções agrícolas (Rocha *et al.*, 2023).

Dentre os microrganismos eficientes estão os fungos com hifas septadas e melanizadas, conhecidos como “dark septate” (DSE). Eles possuem esse nome devido a sua pigmentação escura, os quais seus filamentos variam entre preto e

marrom. Diferentemente das micorrizas, os DSE podem formar microesclerócios e são associados a ambientes desfavoráveis ao crescimento de plantas (Machado *et al.*, 2007).

As contribuições dos DSE podem partir desde ajudar na absorção de nutrientes, especialmente do fósforo (P) e nitrogênio (N), até de proteger as plantas de estresses e ajudá-las a se estabelecerem em ambientes adversos, garantindo maior produtividade e reduzindo perdas econômicas agrícolas (Huertas *et al.*, 2024).

O fato destes microrganismos ajudarem na absorção de nutrientes e viverem em simbiose com plantas, faz com que, os DSE tolerem quantidades de metais pesados acelerando a fitorremediação, sendo alternativas para melhoras agrícolas em solos degradados, pobres e de baixa qualidade (Ureta Suelgaray *et al.*, 2022).

Promover a qualidade de solo e desenvolvimento da agricultura é de grande importância atualmente, visto que a manter a segurança alimentar nacional vem sendo cada vez mais difícil devido ao alto custo de produção. Desta forma, com diferentes alternativas e desenvolvimento de biotecnologias orgânicas e sustentáveis, pode-se estabelecer melhorias de culturas agrícolas e melhorar a promoção e disponibilidade de alimentos no país (Borges *et al.*, 2021).



Figura 1: Exemplo de cor de hifas e esporos de fungos endofíticos melanizados

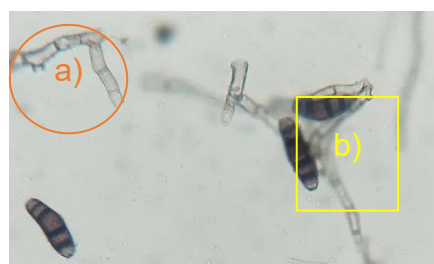


Figura 2: Hifas e esporos dos fungos septados melanizados. Sendo (a) hifas septadas e (b) esporos melanizados

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ISOLAMENTO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

As amostras de gramíneas de crescimento espontâneo foram coletadas em uma área degradada oriunda da construção da Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira, localizada na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP, que fica no

município de Selvíria, Mato Grosso do Sul (MS). As espécies coletadas foram: *Andropogon selloanus*, *Aristida setifolia* e *Aristida adscensionis* (Figura 3)

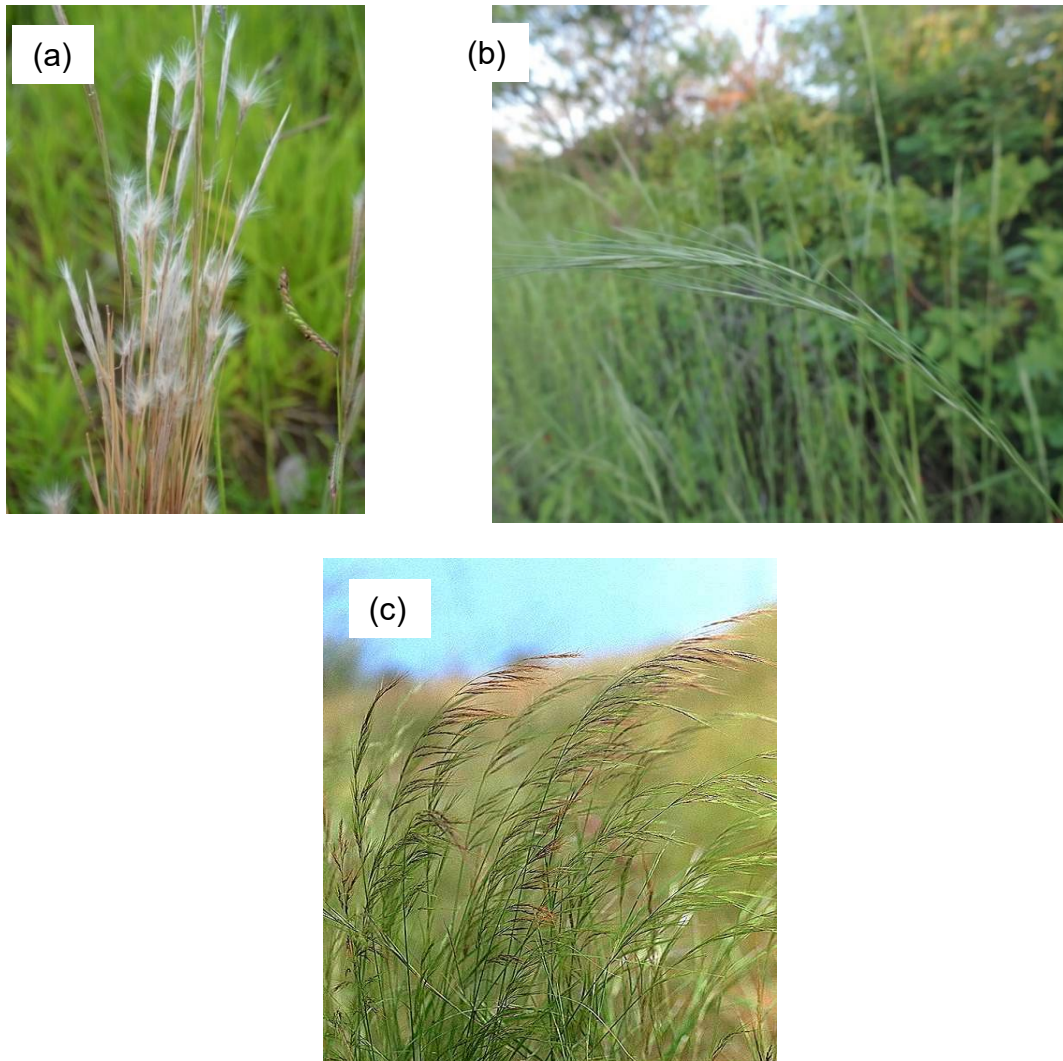
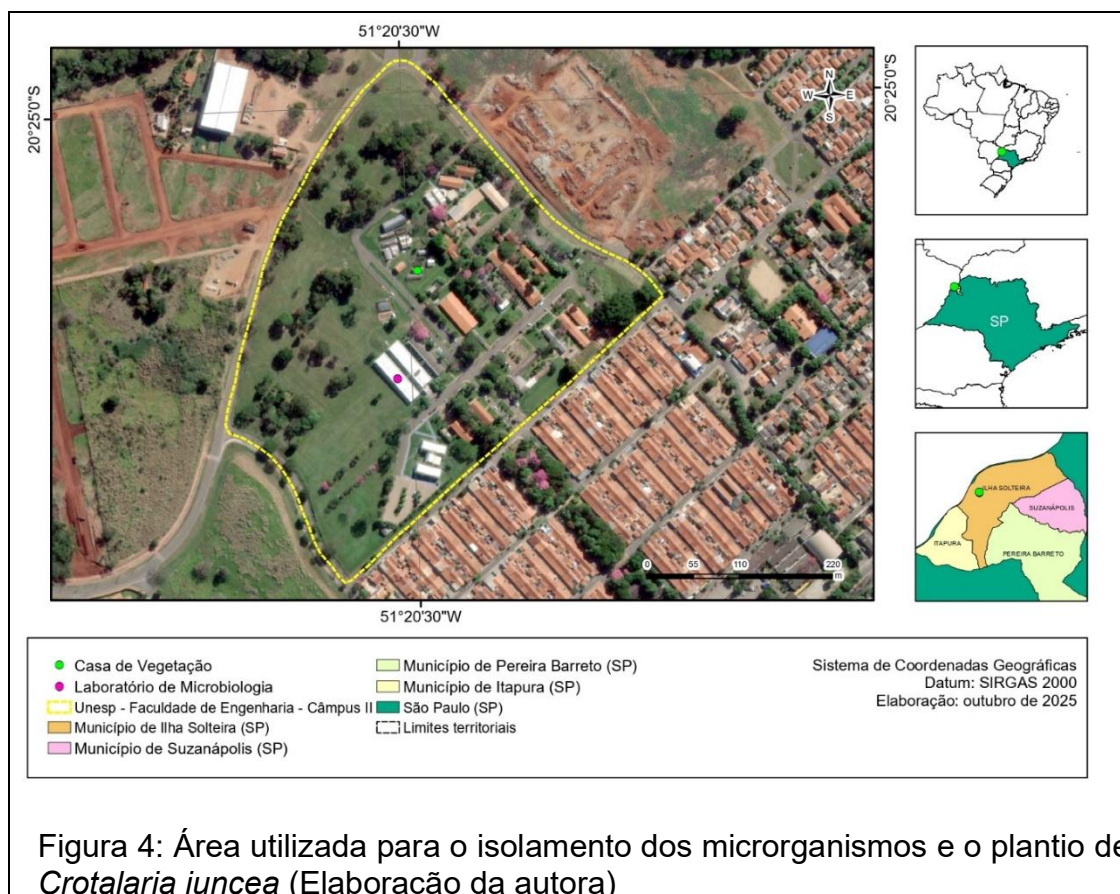


Figura 3: (a) Capim-pluma-branca (*Andropogon selloanus*); (b) Capim-pena-de-ema (*Aristida setifolia*); (c) Capim-panasco (*Aristida adscensionis*); Elaboração de (a) Funga e flora do brasil; (b) BioDiversity4All; (c) Wiktrop.

Todo o experimento foi conduzido na Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Ilha Solteira. O trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia e casa-de-vegetação, localizados no Campus II (Figura 4).



Para a execução do experimento foram utilizadas amostras de colmo, raiz e folhas das gramíneas nativas recolhidas na área degradada, presente em Selvíria, MS que foi usada durante a construção de Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira. Imediatamente após a coleta, as amostras foram submetidas a processos de desinfecção com álcool 70% e hipoclorito de sódio 2%, para remover microrganismos superficiais e assegurar que apenas os microrganismos internos (endofíticos) fossem analisados. Após a desinfecção, foi feito o isolamento das amostras para extrair e cultivar os microrganismos contidos no tecido vegetal (Figuras 5, 6 e 7).

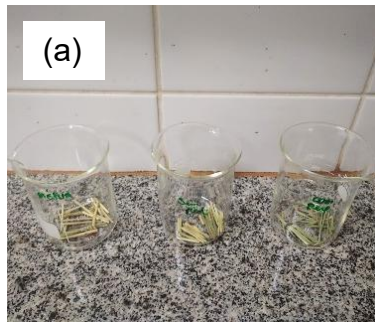


Figura 5: (a) Folhas das gramíneas selecionadas em béqueres de vidro, em processo de desinfecção (Elaboração da autora)

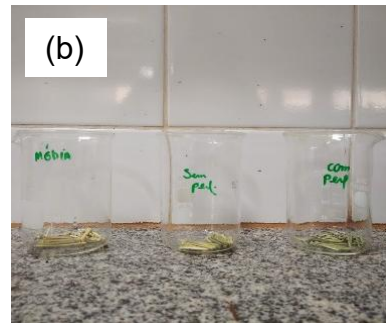


Figura 6: (b) Colmos das gramíneas selecionadas em béqueres de vidro, em processo de desinfecção (Elaboração da autora)

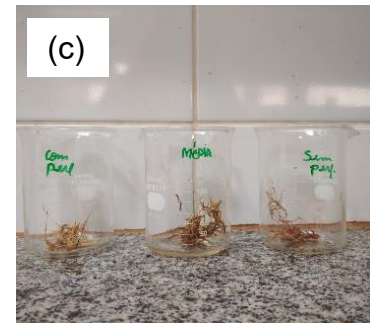
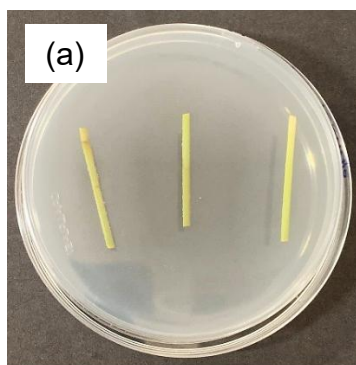


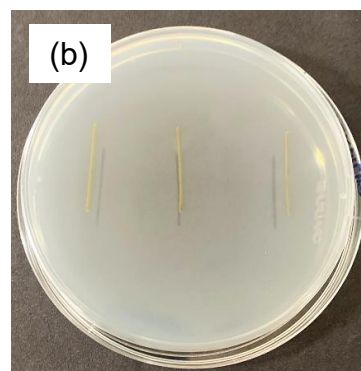
Figura 7: (c) Raízes das gramíneas selecionadas em béqueres de vidro, em processo de desinfecção (Elaboração da autora)

Após a desinfecção, foram colocadas 3 amostras de tecidos das plantas selecionadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata dextrose ágar - pH 6,8) com antibiótico Cloranfenicol, para possibilitar o crescimento apenas de fungos e, posterior, isolamento dos isolados fúngicos contidos no tecido vegetal (Figura 8, 9 e 10).



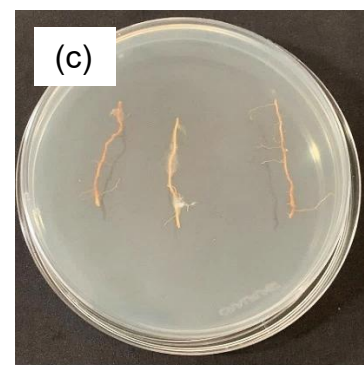
Colmo

Figura 8: Amostras dos tecidos das gramíneas dispostas em placas de Petri, (a) Folhas



Folha

Figura 9: Amostras dos tecidos das gramíneas em placas de Petri, (b) Colmos



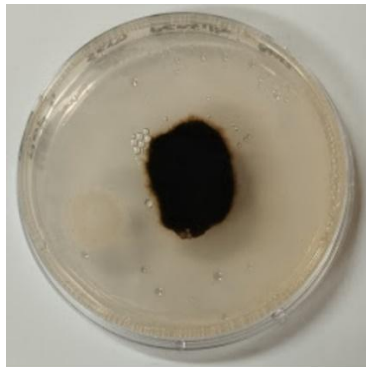
Raiz

Figura 10: Amostras dos tecidos das gramíneas dispostas em placas de Petri, (c) Raízes

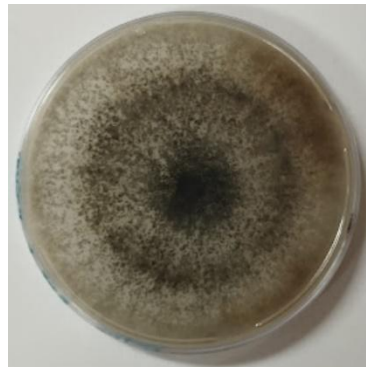
Após a coleta, o isolamento e purificação dos microrganismos das gramíneas seguiu as metodologias de isolamento adaptadas da pesquisa “Metodologias para isolamento, avaliação da colonização em plantas e manutenção de fungos endofíticos

DSE (SANTOS *et al.*, 2011). Foram utilizadas três plantas, com quatro placas de Petri para cada tecido de cada planta e o meio de cultura foi o BDA com o acréscimo de antibiótico.

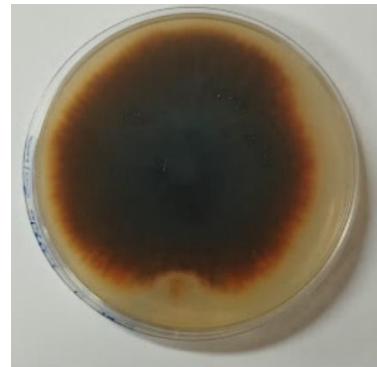
Inicialmente, o isolamento resultou na obtenção de 127 isolados fúngicos. Em seguida, uma seleção mais focada foi realizada, na qual isolados com hifas claras foram descartados, permanecendo apenas os fungos do tipo "dark septate" (fungos com hifas escuras), o que reduziu o número final para 26 isolados fúngicos.



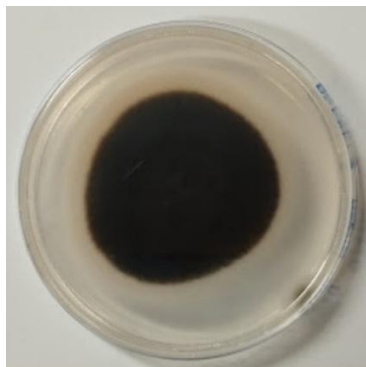
01



02



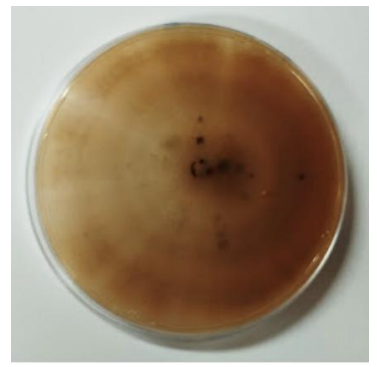
03



04



05



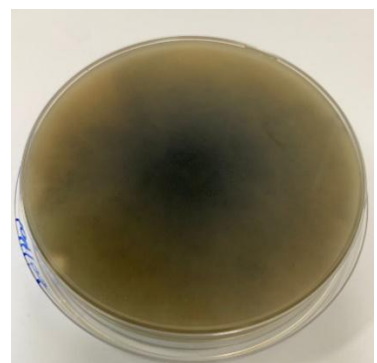
06



07



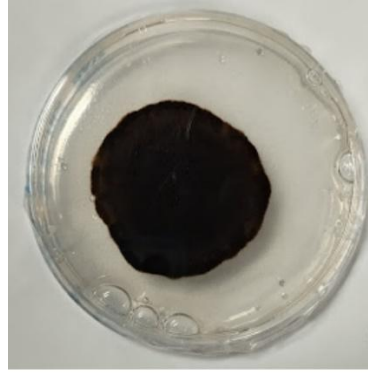
08



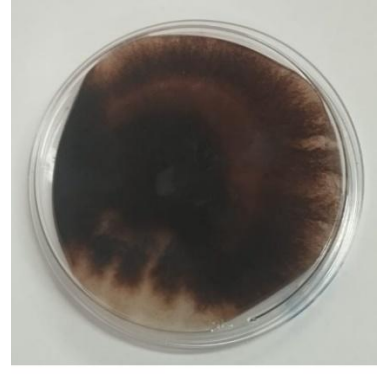
09



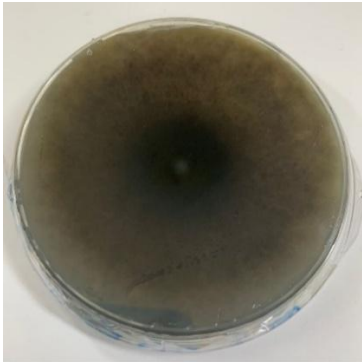
10



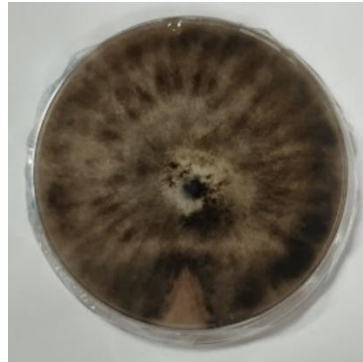
11



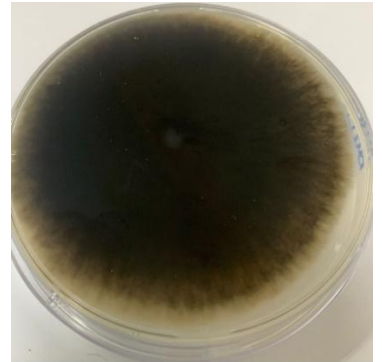
12



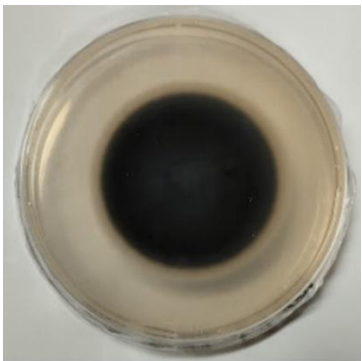
13



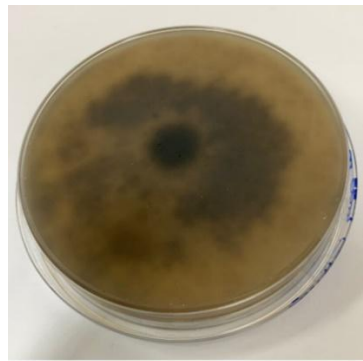
14



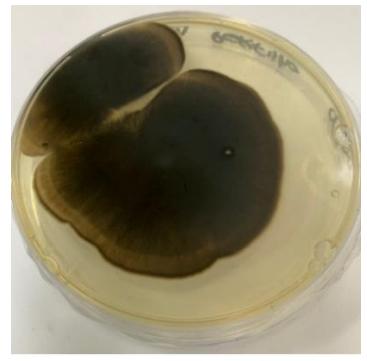
15



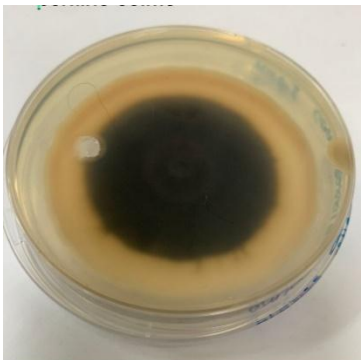
16



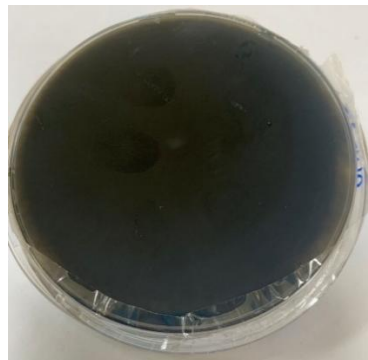
17



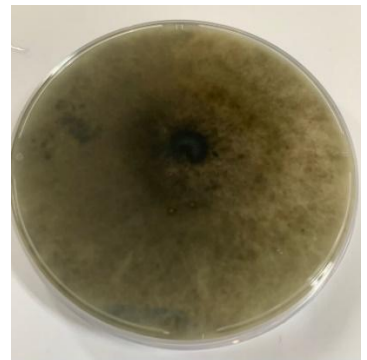
18



19



20



21

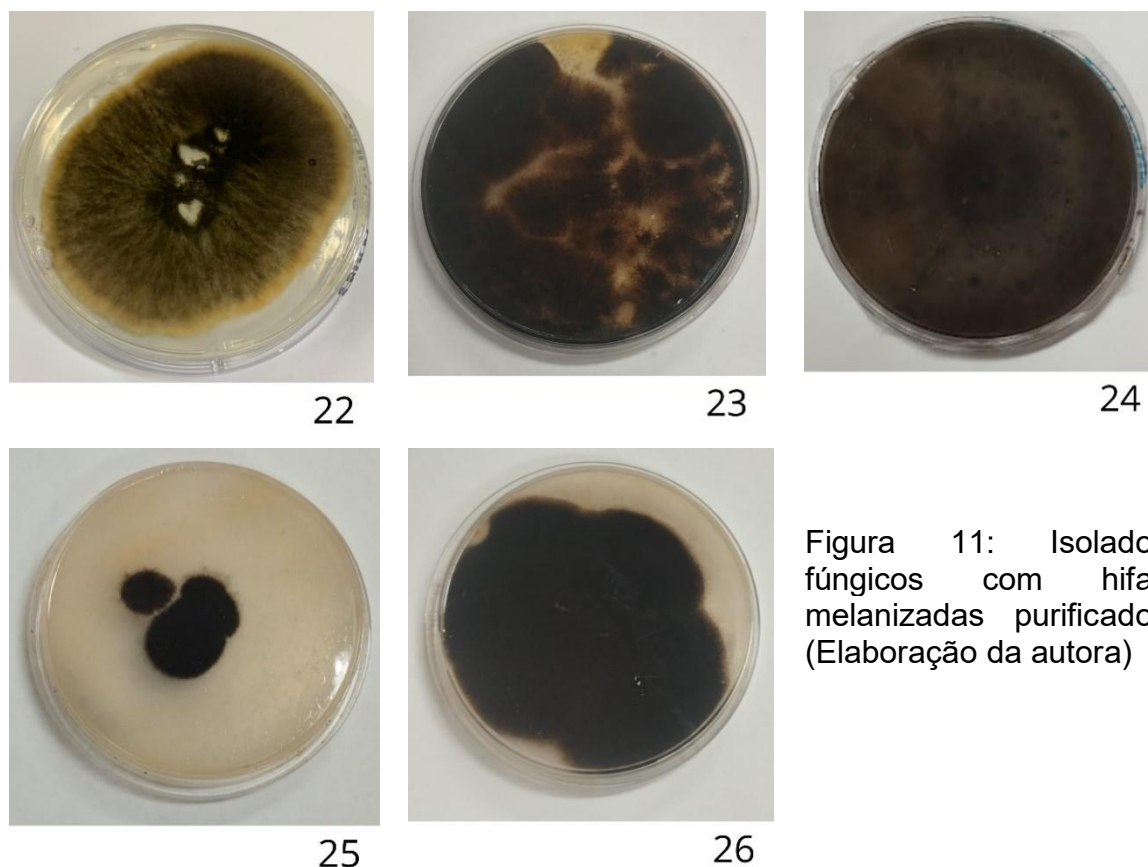


Figura 11: Isolados fúngicos com hifas melanizadas purificados (Elaboração da autora)

Os isolados foram organizados e listados de acordo com a repetição e a parte da planta que foi isolado (Tabela 1).

4.2 TESTE DE TERMOTOLERÂNCIA

A capacidade térmica de tolerância dos fungos é um fator de grande interesse, visto que alguns fungos tem a capacidade de se desenvolver em ambientes extremos, como em solos pobres em nutrientes e secos. Desta forma, testar os fungos DSE em altas temperaturas faz com que possamos criar um ambiente próximo ao do Cerrado.

Presente no sul de Mato Grosso, o Cerrado quando exposto a radiação solar, pode obter média entre 29 e 51 °C no período de seca (Biudes *et al.*, 2022). Utilizando desta informação, o teste de temperatura será realizado com os 26 isolados em dois ambientes controlados diferentes, sob 27 e 50 °C, um disco de 0,9 mm foi transferido para o centro da placa, em 6 repetições para cada isolado. As placas permaneceram na incubadora BOD por 7 dias, garantindo a estabilidade térmica nos dois ambientes criados. A análise foi realizada diariamente pelo diâmetro do crescimento de cada isolado, verificando quais conseguiram se adaptar as temperaturas.

Tabela 1. Lista dos Isolados, número de repetição, parte da planta do isolamento.

Tipo de Gramínea Usada	Parte da Planta	Repetição	Isolado
<i>A. selloanus</i>	Raiz	3	1
<i>A. setifolia</i>	Folha	2	2
<i>A. adscensionis</i>	Folha	2	3
<i>A. adscensionis</i>	Raiz	2	4
<i>A. selloanus</i>	Raiz	2	5
<i>A. selloanus</i>	Raiz	3	6
<i>A. setifolia</i>	Colmo	2	7
<i>A. selloanus</i>	Raiz	3	8
<i>A. setifolia</i>	Folha	2	9
<i>A. selloanus</i>	Raiz	1	10
<i>A. selloanus</i>	Raiz	3	11
<i>A. setifolia</i>	Colmo	2	12
<i>A. setifolia</i>	Colmo	3	13
<i>A. setifolia</i>	Folha	2	14
<i>A. setifolia</i>	Raiz	2	15
<i>A. selloanus</i>	Raiz	3	16
<i>A. selloanus</i>	Raiz	2	17
<i>A. setifolia</i>	Colmo	2	18
<i>A. setifolia</i>	Raiz	2	19
<i>A. setifolia</i>	Raiz	3	20
<i>A. adscensionis</i>	Raiz	2	21
<i>A. setifolia</i>	Colmo	1	22
<i>A. setifolia</i>	Colmo	2	23
<i>A. setifolia</i>	Folha	1	24
<i>A. selloanus</i>	Raiz	3	25
<i>A. selloanus</i>	Raiz	1	26

Fonte: Elaboração da autora.

4.3 INOCULAÇÃO EM SEMENTES E TESTE DE GERMINAÇÃO

Para avaliar o teste de patogenicidade (capacidade de causar doença) ou a simbiose (relação de benefício mútuo) dos isolados fúngicos com plantas, foi conduzido um teste simples de inoculação. Os isolados fúngico selecionados foram colocados em contato com um hospede sadio, ou seja, sementes da planta-teste saudáveis. A espécie escolhida para esse experimento foi a leguminosa crotalária.

O principal foco do teste foi analisar a germinação de sementes na presença dos fungos, permitindo observar como os isolados interagem com a planta hospedeira. A partir deste teste foram selecionados os isolados que não causarem patogenicidade nas sementes.

Neste teste, foram colocadas 50 sementes por placa, sendo 5 tratamentos (um para cada isolado) e 6 repetições para cada tratamento de placas de Petri. As sementes passaram pelo processo de desinfecção com álcool 70% e hipoclorito 2% durante 5 minutos, ficaram embebidas em água durante 24h antes de serem inseridas em placas com os isolados. Após este processo as sementes foram colocadas em placas com meio de cultura BDA, em contato com os 26 isolados fúngicos em culturas puras, afim de verificar a patogenicidade dos mesmos. As sementes permaneceram em contato com os fungos por 5 dias a 27° a fim de analisar a inoculação dos isolados e análise da integridade física das mesmas.

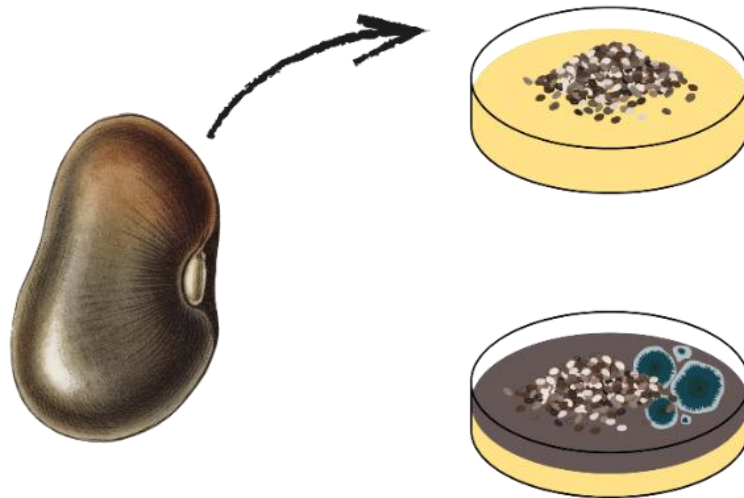
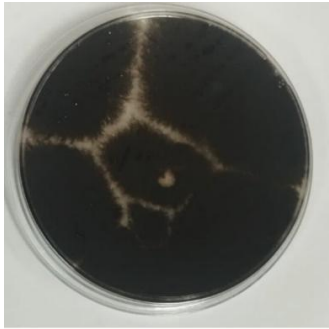


Figura 12: Esquema de sementes de crotalária adicionadas em placas com e sem fungo DSE nos testes de germinação (Elaboração da autora)

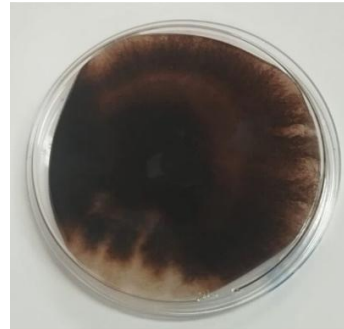
Após o teste inicial de germinação com os primeiros 26 isolados, os isolados considerados patogênicos (aqueles que causaram danos aparentes nos tecidos vegetais) foram descartados. Desse modo, apenas 5 isolados foram mantidos (Figura 13).



08



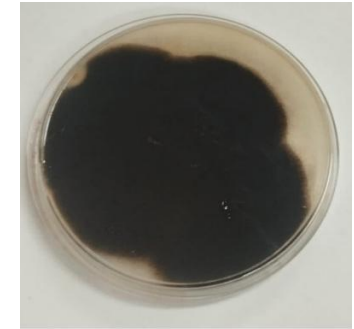
10



12



23



26



Figura 13: Isolado 08 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)

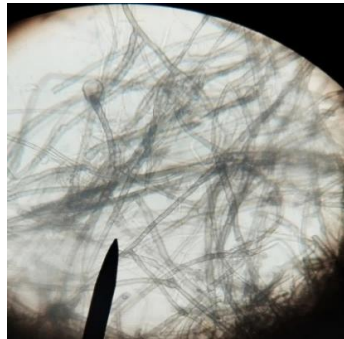


Figura 14: Isolado 10 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)



Figura 15: Isolado 12 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)

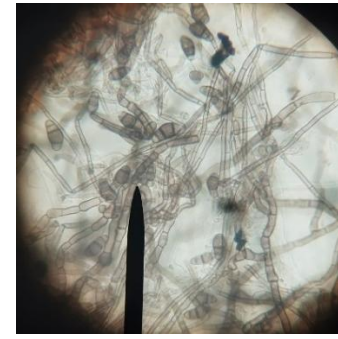


Figura 16: Isolado 23 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)

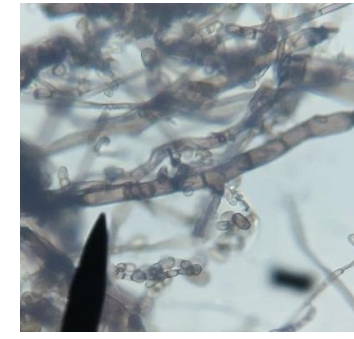


Figura 17: Isolado 26 e suas respectivas hifas e esporos em microscópio (elaboração da autora)

A germinação de sementes é o primeiro contato que a semente teve com os isolados fúngicos. O teste de germinação que foi feito com os 5 isolados endofíticos que apresentaram % de sementes germinadas semelhantes ao controle (sem isolado).

Para a inoculação foi utilizada da câmara de fluxo e placas de Petri esterilizadas contendo meio de cultura BDA com antibiótico. As sementes de crotalária passadas por assepsia superficial, ficando por 2 minutos em álcool 60% e hipoclorito de sódio 2%, logo após foram embebidas em água durante 24 horas, antes de serem colocadas em placas de Petri contendo meio BDA, sobre isolados fúngicos, onde permaneceram para invadir os tecidos da plântula. Após 5 dias de germinação foi analisado como a semente se desenvolveu na presença do fungo, ou seja, se houve alguma alteração na plântula, antes de serem transferidas para vasos.

4.4 EXPERIMENTO EM VASO

Essa etapa ocorreu em casa de vegetação. Para tal, foram selecionados vasos de 3L contendo terra vegetal para o plantio das sementes germinadas e inoculadas com os fungos endofíticos. Cada vaso recebeu 4 plântulas e, aos 10 dias após o plantio foi realizado um desbaste deixando apenas uma planta por vaso. A rega foi realizada 1x ao dia durante 90 dias, com o auxílio de um regador manual.

Após os 90 dias, as plantas foram retiradas dos vasos para as seguintes análises: *i)* separação da parte aérea e raízes para pesagem de massas fresca através de balança analítica, *ii)* medição de altura da parte aérea da planta, feito com trena e régua, *iii)* contagem de nódulos viáveis que foram removidos manualmente das raízes e colocados em papel filtro úmido, e por fim *iv)* a fotossíntese líquida utilizando o IRGA (*Infrared Gas Analyzer*), os testes foram feitos tanto nas plantas sem inoculo (controle) quanto nas plantas inoculadas com os endofíticos.



Figura 18: Vasos dispostos em casa de vegetação (elaboração da autora)

4.5 CLAREAMENTO E COLORAÇÃO DE RAÍZES

O clareamento e coloração de raízes são metodologias usadas para visualizar a estrutura de fungos em raízes de plantas. As etapas, seguem as metodologias propostas por Phillips; Hayman (1970). Estas, consistem em: i) lavagem e assepsia das raízes, ii) clareamento com KOH + peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ii) acidificação com HCl 1% e iii) coloração das raízes com azul de tripan permitindo a visualização das estruturas fúngicas. Após a coloração, as raízes foram armazenadas em lactoglicerol até o momento das análises no microscópio.

Para a análise realizou-se a montagem de duas (2) lâminas com cinco (5) raízes dispostas em 5cm de lâminas, com blocos de visualização de 0,5 cm cada (Figura 19 a, b, c, (d) e (e).

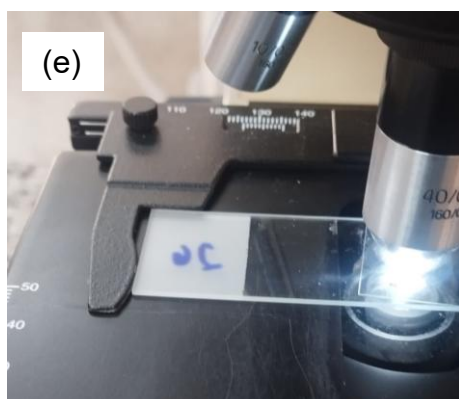
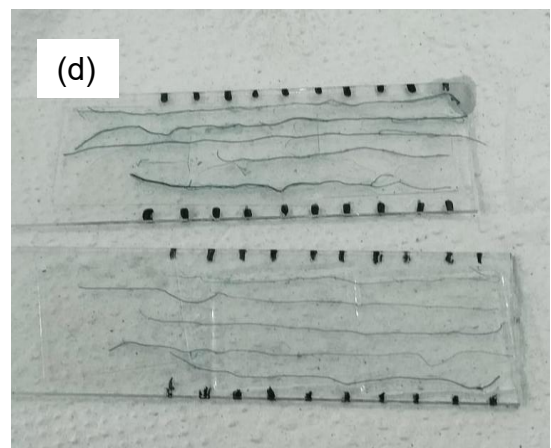
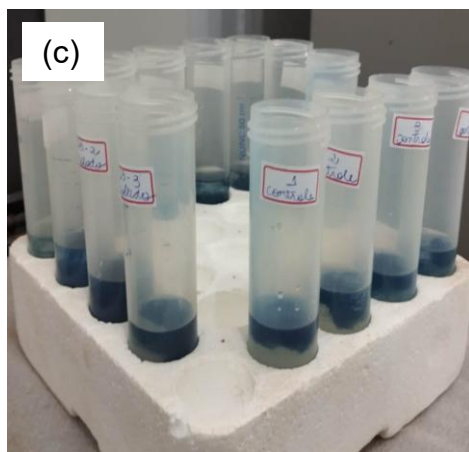
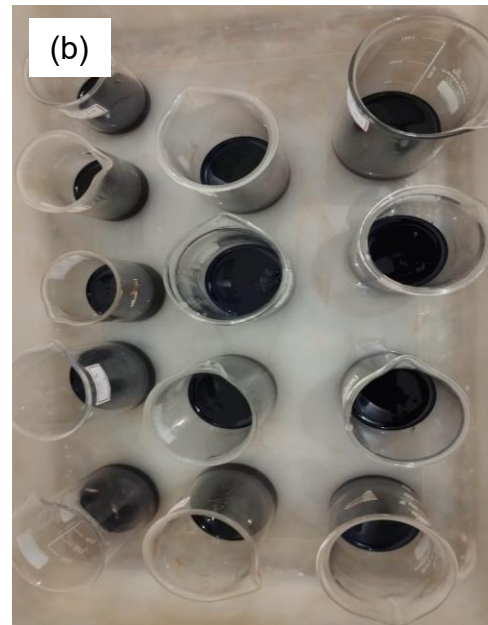
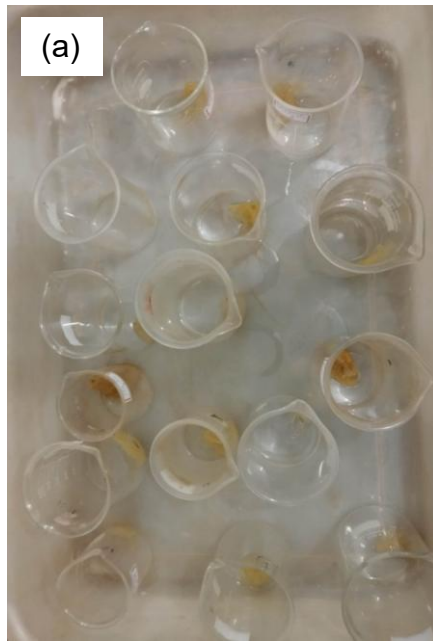


Figura 19: Etapas de coloração de raízes, (a) Descoloração das raízes, (b) Coloração, (c) Preservação em Lactoglicérol, (d) Montagem de lâminas para análise, (e) Análise em microscópio

4.6 DELINEAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos, ou seja, cinco isolados de DSE e um controle (Sem DSE) e 6 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando observada significância do teste F, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). Também foram realizados estudos de correlação (correlação de Pearson) para as variáveis de planta.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TESTE DE TERMOTOLERÂNCIA

O crescimento micelial dos isolados foram testados para as temperaturas de 25 e 50 °C. (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento micelial de isolados sob a temperatura de 25 °C

Isolados (ISO)	1º Dia	2º Dia	3º Dia	4º Dia	5º Dia	6º Dia
ISO 8	1,60 a	2,83 a	3,25 a	4,48 a	6,01 a	7,15 a
ISO 10	1,71 a	2,06 ab	3,16 a	3,98 b	4,58 b	5,23 b
ISO 12	1,40 a	1,85 bc	2,56 b	3,35 c	3,90 c	4,70 bc
ISO 23	1,18 a	1,56 c	2,33 b	2,83 d	3,91 c	4,81 b
ISO 26	1,21 a	1,65 c	2,30 b	2,88 d	3,55 c	4,13 c
Valor de F	1,22 ^{NS}	17,00 ^{**}	14,44 ^{**}	135,56 ^{**}	70,83 ^{**}	51,20 ^{**}
Média Geral	1,40	1,90	2,72	3,51	4,39	5,20
CV (%)	36,33	10,32	10,78	4,21	6,50	7,59

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{NS}: não significativo.

Os dados da tabela acima apresentam o crescimento micelial dos isolados sob a temperatura de 25°C, em placas. Durante o 1º dia os isolados não houve diferença estatística no crescimento dos isolados. Foi possível observar diferença no crescimento dos isolados a partir do 2º dia (Tabela 2). Assim que o fungo se adapta a temperatura e reconhece o meio nutriente em que está, ele começa se desenvolver

de acordo com a sua fisiologia e genética, tendo um crescimento lento ou rápido quando se comparado um com os outros. (Quevedo *et al.*, 2022).

No 6º dia, o ISO8 apresentou o maior crescimento, enquanto os ISO10 e ISO23, não diferiram entre si, mas apresentaram crescimento inferior ao ISO8. Ao final do período de avaliação do crescimento micelial, o ISO 26 apresentou o menor crescimento (Tabela 2).

Com estes resultados, entende-se que o ISO8 possui um crescimento mais rápido e efetivo que os demais isolados, enquanto o ISO26 possui o menor crescimento quando se comparado com os outros isolados. Esse resultado pode indicar que o fungo pode colonizar rapidamente os tecidos vegetais da planta hospedeira, contudo, também pode ser indicativo de patogenicidade, por serem decompositores (Lu *et al.*, 2024). O tempo de germinação das sementes é crucial quando se trata de inoculação com fungos, visto que, os mesmos, devem crescer em conjunto para que a inoculação aconteça sem que plântula morra, ou por patogenicidade ou por falta de nutrientes (Newshan *et al.*, 2016). Enquanto para o teste em BOD a 50º não houve nenhum crescimento micelial por parte de todos isolados fúngicos.

5.2 INOCULAÇÃO EM SEMENTES E TESTE DE GERMINAÇÃO

O Controle (sem fungo) e os isolados ISO 8, ISO 10, ISO 12, e ISO 26 apresentaram resultados de germinação entre 38 e 40 sementes, não havendo diferença estatística entre eles. O ISO 23 apresentou o menor número de sementes germinadas, uma média de 25 sementes, sendo estatisticamente inferior a todos os outros tratamentos.

A inoculação com o ISO 23 pode ter prejudicado a germinação das sementes de crotalária, sugerindo que este isolado pode ser um patógeno ou que produz metabólitos que inibem a germinação das sementes.

A germinação é um fator importante para analisar o crescimento e o desenvolvimento de plantas, pois é nesse teste o primeiro contato das sementes sadias com os isolados fúngicos (Martello *et al.*, 2015). Desta forma, com base nas Tabelas 2 e 3, o ISO 8 se destacou pelo maior crescimento micelial (Tabela 2) e não causou prejuízo na germinação das sementes (Tabela 3).

Tabela 3. Germinação de sementes de *Crotalaria juncea* (número de sementes = 50), inoculadas com os isolados fungícos

Isolados (ISO)	Germinação de sementes (%)
Controle	79,00 a
ISO 8	76,66 a
ISO 10	79,00 a
ISO 12	78,66 a
ISO 23	48,32 b
ISO 26	76,66 a
Valor de F	14,20**
Média Geral	72,76
CV (%)	10,75

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{NS}: não significativo. Controle = Sem inoculação.

Os fungos que causaram danos aparentes às sementes foram descartados e o experimento continuou com os demais isolados, que não causaram dano (figura 21 e 22).

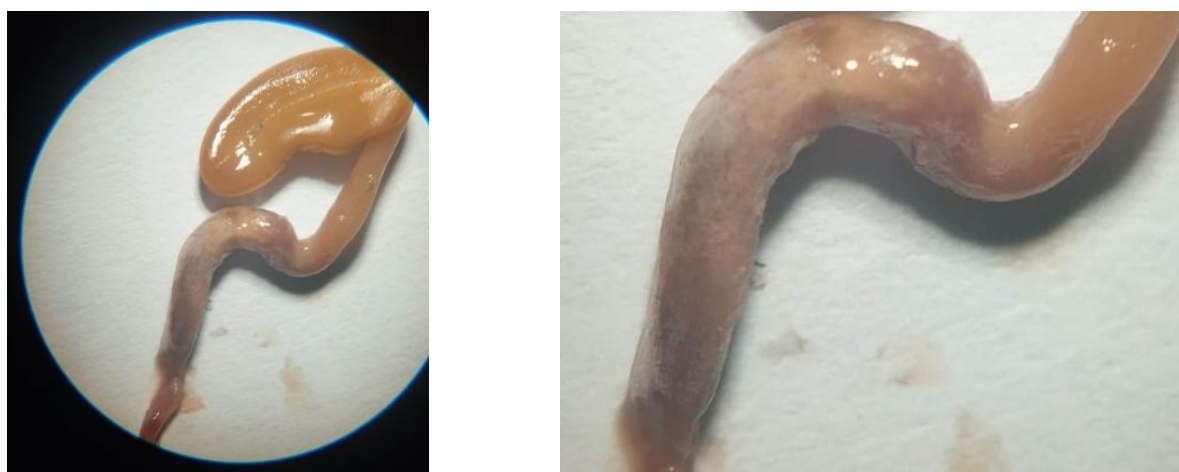


Figura 19: Semente de crotalaria germinada em placa (elaboração da autora)

5.3 EXPERIMENTO EM VASOS

Após o teste de germinação, as sementes inoculadas com os isolados foram transferidas para os vasos. Vinte dias após a emergência, apenas as plantas inoculadas com o isolado 23 se desenvolveram. Ao final do período de crescimento

determinado para esse teste (30 dias), os resultados para MFPA, MFR, ALT, NF, NNV e A não diferiram do tratamento controle (Tabela 4).

Tabela 4. Médias, valores de F e coeficientes de variação (CV) para os atributos massa fresca da parte aérea (MFPA) e raízes (MFR), altura de plantas (ALT), número de folhas (NF), número de nódulos viáveis (NNV) e fotossíntese líquida (A), para plantas de *C. juncea* aos 30 dias após emergência

Trat.	MFPA	MFR	ALT	NF	NNV	A
	G	g	mm	-	-	@
Controle	1,5 a	0,4 a	29,6 a	11,0 a	35,5 a	3,8 a
ISO23	1,5 a	0,2 a	29,3 a	12,0 a	40,4 a	4,6 a
Valores F	0,2 ^{NS}	4,3 ^{NS}	0,0 ^{NS}	0,5 ^{NS}	0,2 ^{NS}	0,4 ^{NS}
CV (%)	14,7	37,6	29,3	20,2	36,8	44,0

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ** e *: significativos a 1 e 5%, respectivamente; ^{NS}: não significativo. @ = $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

5.4 TESTE DE PEARSON

A análise foi realizada para as plantas sem (a) e com inoculação (b) do ISO23 (Figura 10). Quando não houve inoculação, observou-se correlação positiva entre NNV x MFR e correlação negativa forte entre ALT x A (Figura 10a). Quando houve inoculação com o ISO23 houve correlação positiva entre NNV x ALT; MFR x MFPA; A x NF e negativa para MFPA x A e NNV x A (Figura 10b).

Quanto mais nódulos viáveis (Figura 16), melhor é a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) no solo/substrato.

O isolado ISO23 não apresentou diferença estatística em relação ao controle, confirmando que não houve prejuízo ao crescimento da crotalária. No entanto, as correlações positivas detectadas após a inoculação indicam um potencial de contribuição indireta para o crescimento inicial da planta. Para identificar os possíveis benefícios, estudos adicionais serão necessários.

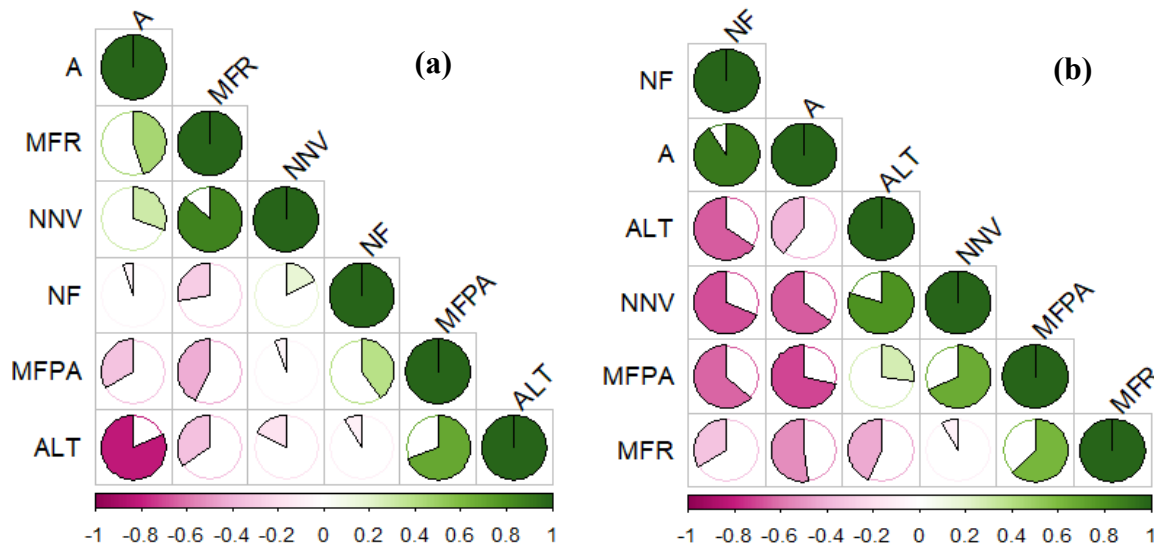


Figura 20: Correlação de Pearson para as variáveis de crescimento de *Crotalaria juncea* sem (a) e b) com inoculação de DSE

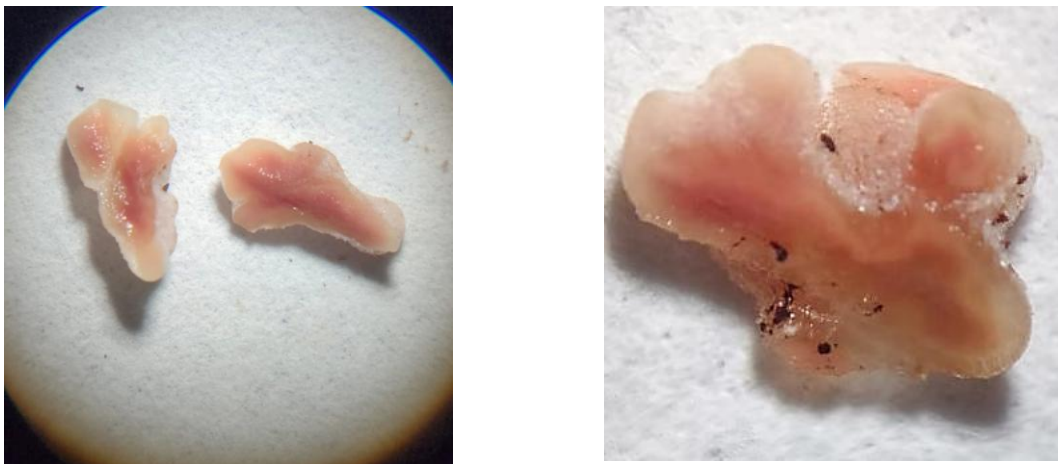


Figura 21: Nódulos viáveis presentes nas raízes de *Crotalaria juncea*

5.5 ANÁLISE E COLORAÇÃO DE RAÍZES

Não foi observado colonização de fungos nas raízes. Quando a colonização em raízes é inexistente há a possibilidade dos fungos terem estabelecido uma interação uma interação em outros tecidos. Alguns fungos, podem colonizar primeiramente as folhas e colmos, em vez de, ou além de, raízes. A ausência de colonização das raízes

não exclui que o DSE esteja presente e funcional na parte aérea da planta, porém, mais estudos são necessários (Santos *et al.*, 2021).

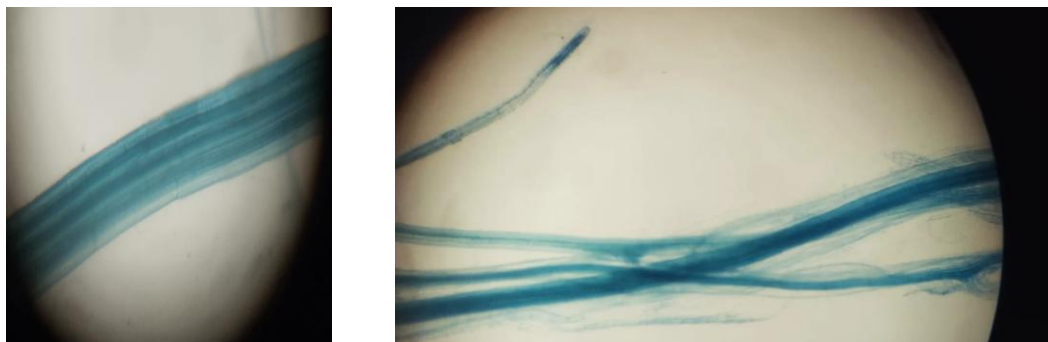


Figura 22: Raízes de *Crotalaria juncea* sem colonização

6 CONCLUSÃO

Os isolados DSE originários de gramíneas nativas do Cerrado em simbiose com a crotalaria, podem ajudar a promover o crescimento da crotalaria, sem causar danos ou sintomas fitopatogênicos tanto nas sementes quanto nas plantas, confirmando sua função como microrganismos benéficos. Ao investigar o potencial destes microrganismos, o ISO23 não prejudicou o crescimento inicial de *Crotalaria juncea* e demonstrou potencial como microrganismo promotor de crescimento; contudo, estudos mais aprofundados são necessários para elucidar seu papel.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desta forma identificar novos DSE que favoreçam o desenvolvimento de plantas, tendo em vista sua relevância. Sendo assim, a identificação e separação de DSE eficientes representa uma estratégia inovadora para a bioeconomia e a agricultura sustentável na área. Ao facilitar a instalação da crotalaria em condições adversas, a utilização desses inoculantes microbianos diminui a dependência de insumos químicos, alinhando a produção agrícola com ações de recuperação ambiental.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, F. M. C; Caderno dos microrganismos eficientes (E.M.): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. 3. ed. Viçosa - MG: UFV, IPPDS, 2020. Disponível em: <https://bibliotecasemiarios.ufv.br/jspui/handle/123456789/96>. Acesso em: 14 out. 2025.

ANDRADE, L. B.; SILVA, F. de A. M.; PEREIRA, G. E.; OLIVEIRA, L. F. C. de; LIMA, R. P. Atributos Físico-Hídricos de Solos do Cerrado. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v. 12, n. 1, p. 80-91, 2021.

ALTHOFF, D., RODRIGUES, L. N., SANO, E. E., BETTIOL, G. M., DANIEL ALTHOFF, C. **O clima do Cerrado**. 2023. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1165575>

ALVES, M. C.; NASCIMENTO, V.; SOUZA, Z. M. Recuperação em área de empréstimo usada para construção de usina hidrelétrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 8, p. 887-893, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662012000800011>.

MARES GUIA, A. P. O. **Produtividade de milho verde cultivado em sucessão a adubação verde com aplicação de microrganismos eficientes, nas condições de Matias Barbosa, MG**. 2018. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Orgânica) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2018.

AZEVEDO, M. C. **Desenvolvimento e produtividade do milho (*Zea mays* L.) em resposta ao uso de plantas de cobertura morta**. 2021. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/29586>. Acesso em: 9 jul. 2025.

BELONIA, P. População do Cerrado: entenda a importância social desse bioma! **SaveCerrado**, 21 mar. 2018. Disponível em: <https://www.savecerrado.org/populacao-cerrado-importancia-social/>. Acesso em: 8 out. 2025.

BIUDES, M. S. *et al.* Parâmetros biofísicos de diferentes tipos de cobertura do solo em uma área de cerrado no sul de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Meteorologia**, São José dos Campos, v. 37, n. 1, p. 119-130, 2022. <https://doi.org/10.1590/0102-7786351021>

BORGES, J. R. J. **Agricultura brasileira: desafios e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. 30 p. (Documentos, 362). Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfindmkaj/https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1153216/1/FUTURO-AGRICULTURA-BRASILEIRA.pdf>.

CRUZ, I. L. da. **Fungos micorrízicos arbusculares e fungos endofíticos melanizados septados em gradiente de estresse abiótico no semiárido nordestino**. 2024. 39 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2024.

CTG BRASIL. **UHE Ilha Solteira**. [S. l.], [2024]. Disponível em: <https://www.ctgbr.com.br/unidade/uhe-ilha-solteira/>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Embrapa Cerrados. (s.d.). **Bioma Cerrado**. Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cerrados/colecao-entomologica/bioma-cerrado>. Acesso em: 06 mar. 2025.

EMBRAPA. **Cerrado revela diversas possibilidades de inserção na bioeconomia**. Brasília: Embrapa, 27 out. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/84506555/cerrado-revela-diversas-possibilidades-de-insercao-na-bioeconomia>. Acesso em: 8 out. 2025.

EMBRAPA. **Interferências do Homem**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/bioma-cerrado/ecologia/interferencias-do-homem>. Acesso em: 26 mar. 2025.

GERAQUE, E. O Cerrado em seu momento mais difícil. **Jornal da Unesp**, São Paulo, 26 out. 2023. Disponível em: <https://jornal.unesp.br/2023/10/26/o-cerrado-em-seu-momento-mais-dificil/>. Acesso em: 8 out. 2025.

GUARALDO, L. **Cerrado perde 1,1 milhão de hectares e supera desmatamento da Amazônia pela primeira vez**. IPAM, 28 de maio de 2024. Disponível em: <https://ipam.org.br/cerrado-perde-11-milhao-de-hectares-e-supera-desmatamento-da-amazonia-pela-primeira-vez/>. Acesso em: 30 mar. 2025.

GRABAU, Z. J. Manejo de Nematoides e Fertilidade do Solo com Crop de Cobertura de Crotalária: **EDIS**, Gainesville, FL. v. 1, 2022. <https://doi.org/10.32473/edis-ng043-2022>

HUERTAS, V.; JIMÉNEZ, A.; DIÁNEZ, F.; CHELHAOUI, R.; SANTOS, M. Importance of Dark Septate Endophytes in Agriculture in the Face of Climate Change. **Journal of Fungi**, Basel, v. 10, 5, p. 329, 2024. <https://doi.org/10.3390/jof10050329>

LU, W. *et al.* The pivotal role of plant defense response in shaping fungal endophyte ecology. **Frontiers in Fungal Biology**, Lausanne, v. 5, p. e1363460, 2024. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2024.1363460>.

MACHADO, P. L. *et al.* Efeitos de fungos micorrízicos arbusculares e **dark septate** endofíticos e de fontes de nitrogênio e fósforo no crescimento de *Panicum maximum* cv. Massai. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 257-268, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000500009>

MAPBIOMAS. Em 2023, a perda de áreas naturais no Brasil atinge a marca histórica de 3,3% do território. **MapBiomias**, 21 ago. 2024. Disponível em: <https://brasil.mapbiomas.org/2024/08/21/em-2023-a-perda-de-areas-naturais-no-brasil-atinge-a-marca-historica-de-33-do-territorio/>. Acesso em: 10 jul. 2025.

MAPBIOMAS ALERTA. **RAD 2022: Relatório Anual de Desmatamento no Brasil**. MapBiomias, 2023. Disponível em: <https://alerta.mapbiomas.org/2023/06/12/rad->

2022-desmatamento-nos-biomas-do-brasil-cresceu-223-no-ano-passado/. Acesso em: 18 nov. 2025.

MARTELLO, M. A. *et al.* Metodologias de avaliação da patogenicidade, crescimento, esporulação e atividade enzimática de isolados de *Trichoderma*. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 58, n. 1, p. 1-13, 2015.

NOVAIS, G. T. **Classificação climática aplicada ao Bioma Cerrado**. Tese (Doutorado em Geografia) - Instituto de Geociências, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/26606>.

NEWSHAM, K. K. *et al.* Host species controls the functional characteristics of root-colonizing dark septate endophytes. **Ecology**, Washington, v. 97, n. 11, p. 3089-3101, 2016.

DE OLIVEIRA, J. C.; BELCHIOR, F. N. Energia elétrica produzida por um sistema fotovoltaico versus dados meteorológicos – uma aplicação da correlação de pearson **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, 2021. <http://doi.org/10.34117/bjdv.v7i5.30314>.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots for rapid assessment of infection. **Transaction of British Mycology Society**, v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

QUERINO, C. A. S.; MUIRDES, M. S.; MACHADO, N. G.; QUERINO, J. K. A. da Silva; NETO, L. A. S.; SILVA, M. J. G.; ARRUDA, P.; NOGUEIRA, J. Balaço de ondas curtas sobre floresta sazonal alagável do Pantanal Mato-grossense **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 20, p., 2021. <http://doi.org/10.5380/abclima.v20i0.50701>

QUEVEDO, A. C.; MUNIZ, M. F. B.; SAVIAN, L. G.; SARZI, J. S.; SALDANHA, M. A. Ação antagonista *in vitro* de *Trichoderma spp.* sobre *Fusarium oxysporum*. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 4, p. 2288–2303, 2022. <http://doi.org/10.5902/1980509868437>.

RÁDIO BRASIL RURAL. **O desmatamento do Cerrado caiu 33%, mas ainda é elevada e traz riscos para o bioma**. 2025. Disponível em: <https://radios.ebc.com.br/brasil-rural/2025/02/o-desmatamento-do-cerrado-caiu-33mas-ainda-e-elevada-e-traz-riscos-para-o-bioma>. Acesso em: 05 abr. 2025.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de; RIBEIRO, J. F. (Ed.). **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 2 v. (1279 p.). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/570911>

SANTANA, M. D. F.; LARA, T. S.; COUCEIRO, S. R. M. Corantes alternativos e seguros para a coloração de fungos Micorrízicos Arbusculares. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 7, p. 400–408, 2020. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.007.0032>

SANTOS, M. *et al.* Advances in the Role of Dark Septate Endophytes in the Plant Resistance to Abiotic and Biotic Stresses. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 11, p. 939, 2021. <http://doi.org/10.3390/jof7110939>.

SANTOS, V. F. **Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium* e adubação nitrogenada: uma simbiose perfeita, porém cara!** São Luís: Embrapa, 2011. (Circular Técnica, 89). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/921084>. Acesso em: 18 nov. 2025.

SCHMIDT, S. K.; SOBIENIAK-WISEMAN, L. C.; KAGEYAMA, S. A.; HALLOY, S. R. P.; SCHADT, C. W. Mycorrhizal and Dark-Septate fungi in plant roots above 4270 meters elevation in the Andes and Rocky Mountains. **Arctic, Antarctic and Alpine Research**, Colorado, v. 40, p. 576-583, 2008.

SILVA, A. R. O.; SOUZA, P. E.; SANTOS, R. F. Isolamento, armazenamento e determinação da colonização por fungos “dark septate” a partir de plantas de arroz. **Revista Agro@ambiente on-line**, v. 5, n. 2, 2011.

SILVA, A. M.; MORAES, M. L. T.; BUZETTI, S. Propriedades químicas de solo sob reflorestamento ciliar após 20 anos de plantio em área de cerrado. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 97-106, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622011000100012>.

SILVA, F.P. da. **As Unidades de Conservação e as políticas públicas frente as altas taxas de desmatamento no Cerrado: Elaboração de material educativo.** Dissertação. Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/1909/1/Disserta%c3%a7%c3%a3o%20-%20Fernanda%20Paolla%20da%20Silva.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2025.

SILVA, J.; OLIVEIRA, M. O impacto da urbanização no Cerrado Goiano. **Revista Élisée**, v. 8, n. 1, p. 45-62, 2020.

SOUZA, J. J. S. V. D. D. S. F. T. K. et al. Renewable Energy Source Allocation with Battery Energy Storage Systems in a Remote Distribution Network: A Case Study in Brazil. **Energies**, Basel, v. 15, n. 19, p. 7425, out. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/en15197425>

SUEHARA, M. B.; SILVA, M. C. P. Prevalência de fungos anemófilos no Brasil e a correlação com doenças respiratórias e infecções fúngicas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 28, n. 1, p. 3289-3300. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-812320232811.08302022>.

TERAO, D. **Influência da temperatura no controle de fungos causadores de podridões em melão.** Fortaleza, CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/967743/1/Terao2013.pdf>

URETA SUELGARAY, F. J., AGUILAR BELTRAMO, D. M., LAVADO, R. S., CHIOCCIO, V. M. Dark septate endophytes (DSE): potential bioremedial promoters of oil derivatives. **International Journal of Phytoremediation**, v. 24, n. 3, p. 255–262, 2022. <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1932733>

VIEIRA, F. P. D.; MARIA FELÍCIO, C. (2025). *Explorando o Bioma Cerrado: abordagens contextualizadas no Ensino de Ecologia*. **Perspectivas em Diálogo: Revista De Educação E Sociedade**, v. 12, n. 30, p. 253-269.

WWF-BRASIL. **A savana mais biodiversa do mundo está ameaçada**. S.l.: WWF-Brasil, 2018. 8 p. Disponível em: https://wwfbr.awsassets.panda.org/downloads/wwf_livretoptfinal.pdf

ZIBLIM, I. A.; PAUL, G. S.; TIMOTHY, K. A. Assessing soil amendment potentials of *mucuna pruriens* and *crotalaria juncea* when used as fallow crops. **Journal of Soil Science and Environmental Management**, [v. 4, n. 2, p. 28-34, 2013. <https://doi.org/10.5897/JSSEM12.064>