



AÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE OLIVEIRA (*Olea europaea*) SOBRE FORMIGAS-CORTADEIRAS (*Atta sexdens*) E SEU FUNGO MUTUALISTA (*Leucoagaricus gongylophorus*)

ANDRESA TOLEDO FUNG

**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO
PAULO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE, SEGURANÇA
ALIMENTAR E AMBIENTAL NO AGRONEGÓCIO**

AÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE OLIVEIRA (*Olea europaea*) SOBRE
FORMIGAS-CORTADEIRAS (*Atta sexdens*) E SEU FUNGO MUTUALISTA
(*Leucoagaricus gongylophorus*)

ANDRESA TOLEDO FUNG

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio. Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

SÃO PAULO

2022

ANDRESA TOLEDO FUNG

AÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE OLIVEIRA (*Olea europaea*) SOBRE
FORMIGAS-CORTADEIRAS (*Atta sexdens*) E SEU FUNGO MUTUALISTA
(*Leucoagaricus gongylophorus*)

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestra em Sanidade, Segurança
Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar
e Sanidade no Agroecossistema.

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Eugênia de
Carvalho Campos

Coorientador: Prof. Dr. Odair Correa Bueno

Coorientadora: Dra. Amanda Aparecida de
Oliveira

SÃO PAULO
2022

Eu **Andresa Toledo Fung**, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

Assinatura: Andresa Toledo Fung Data 08/11/2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Núcleo de Informação e Documentação – IB

Fung, Andresa Toledo.

Ação de fungos endofíticos de oliveira (*Olea europaea*) sobre formigas-cortadeiras (*Atta sexdens*) e seu fungo mutualista (*Leucoagaricus gongylophorus*).

/ Andresa Toledo Fung. - São Paulo, 2022.

71 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2022D.AF009

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbanos.

Orientador: Ana Eugênia de Carvalho Campos.

Versão do título para o inglês: Action of endophytic fungi of olive tree (*Olea europaea*) on leaf-cutting ants (*Atta sexdens*) and their mutualist fungus (*Leucoagaricus gongylophorus*).

1. Controle biológico 2. Antagonismo 3. Metabólitos secundários 4. Microbiologia I. Fung, Andresa Toledo II. Campos, Ana Eugênia de Carvalho III. Bueno, Odair Correa IV. Oliveira, Amanda Aparecida de V. Instituto Biológico (São Paulo) VI. Título.

IB/Bibl./2022/009

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Andresa Toledo Fung

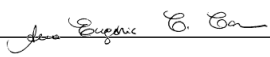
Título: Ação de fungos endofíticos de oliveira (*Olea europaea*) sobre formigas-cortadeiras (*Atta sexdens*) e seu fungo mutualista (*Leucoagaricus gongylophorus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.


Aprovada em: 31/05/2022

Banca Examinadora


Prof. Dr.: Ana Eugênia de Carvalho Campos Instituição: Instituto Biológico - SP

Julgamento: APROVADA Assinatura: 

Prof. Dr.: Fernando Ribeiro Sujimoto Instituição: Universidade de São Paulo - ESALQ

Julgamento: APROVADA Assinatura:  Documento assinado digitalmente
FERNANDO RIBEIRO SUJIMOTO
Data: 04/11/2022 14:24:40-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr.: Ricardo Toshio Fujihara Instituição: Universidade Federal de São Carlos

Julgamento: APROVADA Assinatura:  Documento assinado digitalmente
RICARDO TOSHIO FUJIHARA
Data: 08/11/2022 08:50:31-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Aos meus pais, Simone e Victor, que sempre me incentivaram a estudar e me proporcionaram a oportunidade para que eu pudesse seguir meus sonhos.

Dedico.

“Aqueles que contemplam a beleza da terra, encontram reservas de força que irão perdurar enquanto a vida durar. Há algo infinitamente curativo nos refrãos repetidos da natureza: a garantia de que o amanhecer vem depois da noite e a primavera depois do inverno”.

Rachel Carson

AGRADECIMENTOS

À Natureza, por desde pequena me inspirar e me trazer paz no coração pela perfeição e equilíbrio em todas suas apresentações.

Ao Instituto Biológico pela estrutura e oportunidade.

À bolsa de pesquisa que possibilitou a realização do estudo. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À minha orientadora Dra. Ana Eugênia de Carvalho Campos por me apresentar o Projeto Oliva SP, pela confiança e oportunidade de fazer parte deste projeto.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Odair Correa Bueno por me acolher no LAFC e por todo o suporte e gentileza.

Ao pessoal da ULR em Biologia Molecular (IB), Samuel La Marck, Patrícia Haddad, Maria Julia Sternberg e Keila Santos pelas conversas, ajudas e auxílios na primeira etapa do projeto.

Ao Dalton Santos e Fernanda Rodrigues por confiarem em mim e por me ensinarem um pouco a cada dia durante a iniciação científica de vocês.

Ao Prof. Dr. Ricardo Harakava, pela paciência, suporte e por disponibilizar o material e equipamentos do laboratório para a realização dos ensaios.

À Prof. Dra. Renata Sampaio por me incentivar a participar de eventos científicos e por acreditar no potencial do meu trabalho sempre com muita simpatia.

À Prof. Dra. Luciana Garcia pela ajuda, suporte e gentileza durante todas minhas dúvidas em relação às estatísticas do trabalho.

Ao Prof. Dr. Mario Sato pelas aulas de extrema qualidade e que me motivaram a continuar firme durante o primeiro semestre da pandemia.

Aos colegas de mestrado e doutorado da turma de 2020, e em especial à Aryane Costa, Gillyene Bortoloti, Alexandre Lopes, Matheus Potsclam, Mariane Rodrigues e Mariana Macedo, pelos momentos e desafios que compartilhamos mesmo à distância.

Ao CEIS, Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos da UNESP/Rio Claro (LESF) e Prof. Dr. André Rodrigues pelo acesso ao laboratório e parte do material utilizado no trabalho.

Ao Laboratório de Formigas-Cortadeiras da UNESP/Rio Claro (LAFC) e especialmente à Bianca Nogueira, Janiele Silva, Tatiane Domingues, Danilo Azevedo, Matheus Muller, Raphael Silva e José Pezzonia, pela amizade, trocas de conhecimento, discussões construtivas acadêmicas, cafézinhos, passeios gourmets e conversas que tornaram a convivência e trabalho no laboratório mais proveitoso e aconchegante.

À minha coorientadora e amiga Dra. Amanda Aparecida de Oliveira por todos os ensinamentos, parceria, amizade e suporte durante esses dois anos. Sem você este trabalho não teria sido possível. Sou muito grata a você pelas discussões acadêmicas e pessoais. Admiro muito você por ser essa mulher forte, inteligente, extremamente boa no que faz e que merece o mundo todinho.

À ESALQ/USP e Laboratório de Ecologia Química e Comportamento de Insetos pela bagagem e experiências que me auxiliaram a ser a profissional que sou hoje e que me prepararam para o mestrado.

Ao Dr. Fernando Sujimoto por me motivar e me inspirar a seguir no mestrado após a iniciação científica na graduação.

Ao Felipe Chagas pela parceria desde a minha graduação e por me incentivar a ir ao Mirmeco 2019, onde conheci meu atual grupo de pesquisa.

À Patrícia Sanches por ser a minha primeira inspiração cientista e entomóloga, pesquisadora e amiga (às vezes irmã mais velha) por todo o apoio desde a graduação.

Ao Vitor Brito pela amizade e parceria em todos esses anos e por sempre me apoiar, me incentivar e acreditar no meu potencial.

Às skentéts, Karen Bermúdez, Luana Bresciani, Luiza Soares, Vitoria Guerreschi, Livia Reguengo, Juliana Santos, Tatiana Levada e Gabriella Hita que mesmo após o encerramento do meu ciclo na graduação tornaram meus dias mais leves.

À minha família de Rio Claro, Clarissa Souza, Laila Dias e Isabela Carvalho por me acolherem e transformarem RC na minha casa. Nossas conversas, comidinhas, surtos e terapias coletivas fizeram e fazem meus dias muito mais leves e especiais. Pela nossa sintonia e parceria parece que conheço vocês há anos.

Aos meus ancestrais que já não estão entre nós, por trilharem o caminho antes e que por isso, posso seguir hoje.

À minha avó Nakayo Toledo por toda a experiência vivida, saberes passados e apoio durante a minha vida.

Aos meus pais, Simone Santos e Victor Fung por todo amor e suporte ao longo da vida.

Aos meus irmãos e prima, Amanda, Pedro e Bia pelos aprendizados dia após dia.

Aos meus pets Fred, Dino, Flusk, Afonso e Melissa que fazem qualquer dia nublado mais alegre, fofo e despertam o melhor de mim.

Às formigas-cortadeiras que me apresentaram seu mundo incrível, todo o respeito e admiração por essas pequenas e grandes criaturas.

A todos e todas que de alguma maneira contribuíram para que este trabalho fosse realizado, com ideias, conversas ou me apoiando e amparando nos momentos difíceis,

Muito obrigada.

RESUMO

FUNG, Andresa Toledo. AÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE OLIVEIRA (*Olea europaea*) SOBRE FORMIGAS-CORTADEIRAS (*Atta sexdens*) E SEU FUNGO MUTUALISTA (*Leucoagaricus gongylophorus*). 2022. 72f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2022.

O Brasil é um grande produtor agrícola e possui um papel fundamental no setor florestal, no entanto, prejuízos e danos expressivos podem ser atribuídos às formigas-cortadeiras. Atualmente o método mais eficaz para o controle desses insetos são iscas granuladas a base de inseticidas químicos e o uso de microrganismos endofíticos é apontado como uma alternativa por possuírem ação entomopatogênica e fungicida. Em busca de uma opção que promova o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável e competitiva, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de fungos endofíticos de oliveira (*Olea europaea*), pertencentes aos gêneros *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Sarocladium* sp., e *Xylaria* spp. sobre operárias de formigas-cortadeiras (*Atta sexdens*) e seu fungo mutualista (*Leucoagaricus gongylophorus*). Para avaliar a ação fungicida, foram realizados testes *in vitro* de pareamento de culturas e testes para avaliar o crescimento do fungo mutualista em meio de cultura incorporado com metabólitos fúngicos não-voláteis (filtrados) nas concentrações de 50% e 25% (v/v). A ação inseticida foi avaliada por um teste de toxicidade pela ingestão de dieta artificial oferecida às operárias, contendo filtrados também nas concentrações de 50% e 25% (v/v). Por fim, o teste de preferência foi realizado para avaliar a escolha das operárias sob oferecimento da solução de metabólitos produzidos pelos cinco isolados fúngicos. Os resultados mostraram que todos os isolados inibiram o crescimento de *L. gongylophorus* no teste de pareamento. A solução filtrada produzida por *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. também inibiram o crescimento de *L. gongylophorus* quando incorporada no meio de cultura nas duas concentrações testadas. No teste de toxicidade, todos os isolados causaram mortalidade nas operárias na concentração de 50%, embora para a concentração de 25% os isolados de *Xylaria* spp. não apresentaram mortalidade significativa associada à dieta. *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. apresentaram os melhores resultados com taxas de mortalidade de 96% em ambas as concentrações para *Aspergillus* sp., e 96% e 78%, respectivamente, para *Trichoderma* sp. No teste de preferência, os resultados mostraram que apenas *Xylaria* sp. 1 apresentou não-preferência por parte das colônias. Desse modo, com base nos resultados obtidos, os isolados de *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. indicam potencial para estudos futuros visando o controle biológico de formigas-cortadeiras.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, antagonismo, metabólitos secundários

ABSTRACT

Brazil is an important agricultural and forestry producer, however, leaf-cutting ants cause several losses and damages to farmers. Currently, the most effective method of control are chemical insecticides although endophytic microorganisms are potential agents with entomopathogenic and antifungal action when it comes to promote a sustainable and more competitive agriculture. Thus, this study aimed to evaluate the action of endophytic fungi of olive tree (*Olea europaea*), on leaf-cutting ant workers (*Atta sexdens*) and their mutualistic fungus (*Leucoagaricus gongylophorus*) as possible alternatives to their biological control or repellence. The isolates tested belong to the genera: *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Sarocladium* sp., and *Xylaria* spp. To evaluate antifungal action, *in vitro* tests were carried out by paired cultures method and by evaluating *L. gongylophorus* growth in culture media mixed with non-volatile metabolites produced by the fungi at concentrations of 50% and 25% (v/v). The insecticidal action was evaluated by a toxicity test through ingestion of the fungi metabolites incorporated into the diet and offered to the workers at the concentration of 50% and 25% (v/v). Finally, the preference of leaf-cutting ants colonies was tested by offering substrates with or without fungi metabolites. Results showed that all isolates tested inhibited the growth of *L. gongylophorus* in the paired cultures, but the isolates *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp. also inhibited its growth at both concentrations of filtered solution mixed with culture media. For the toxicity test, all the isolates caused mortality of workers at a concentration of 50% although both *Xylaria* spp. tested were not significant at the concentration of 25%. *Aspergillus* sp. and *Trichoderma* sp. showed the best results with mortality rates of 96% in both concentrations for *Aspergillus* and 96% and 78%, respectively, for *Trichoderma* sp. In the preference test, results showed that only one isolate from *Xylaria* spp. presented non-preference by the ant colonies. Thus, based on the results obtained, *Aspergillus* sp. and *Trichoderma* sp. isolates indicate potential for future studies aiming the biological control of leaf-cutting ants.

KEYWORDS: Biological control, antagonism, secondary metabolites

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ilustração representativa de colônia de *Atta sexdens* mantida em laboratório. Fonte: Andresa Fung..... 14
- Figura 2.** Ilustração do ensaio de pareamento. (FM): Controle de *Leucoagaricus gongylophorus*; (PAREAMENTO): teste de pareamento entre FM e FE; (FE): Controle do fungo endofítico. Fonte: Andresa Fung 15
- Figura 3.** *As siglas FE representam o fungo endofítico e FM, o fungo mutualista. A figura representa a placa de Petri dividida segundo a escala de Bell (1982). Fonte: Andresa Fung .. 16
- Figura 4.** Esquema ilustrativo da preparação da solução de metabólitos não-voláteis. (1): cultivo e manutenção dos fungos endofíticos para retirada de *plugs*, (2): agitação do meio de cultura BD e os *plugs* de fungos endofíticos sob *shaker*, (3): filtragem por gaze, (4): filtragem por bomba à vácuo, (5): armazenamento da solução resultante. Fonte: Andresa Fung..... 17
- Figura 5.** Imagem ilustrativa referente ao ensaio de metabólitos não-voláteis de acordo com a proporção de solução fúngica no meio de cultura. (A): 50% de solução fúngica, (B): 25% e (C): 0% (apenas meio de cultura feito com BDA). Fonte: Andresa Fung 18
- Figura 6.** Imagem ilustrativa referente ao ensaio de toxicidade. Fonte: Andresa Fung..... 19
- Figura 7.** Imagem ilustrativa de montagem do ensaio de preferência. Fonte: Andresa Fung. 20
- Figura 8.** *Aspergillus* sp. após 25 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (A): *Aspergillus* sp. e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P= 0,000635..... 22
- Figura 9.** *Sarocladium* sp. após 25 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (S): *Sarocladium* sp. e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P= 0,008519..... 22
- Figura 10.** *Xylaria* sp.1 após 10 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (X1): *Xylaria* sp. 1 e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P=0,000738..... 23
- Figura 11.** *Trichoderma* sp. após 5 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (T): *Trichoderma* sp. e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P=0,003134. 23
- Figura 12.** *Xylaria* sp. 2 após 25 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (X2): *Xylaria* sp. 2 e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P= 0,001411..... 24
- Figura 13.** Metabólitos não-voláteis produzidos por cada isolado após a fermentação..... 26
- Figura 14.** Ensaio de metabólitos não-voláteis na concentração de 50% de solução fúngica. No centro da placa estão os *plugs* do FM. À esquerda, aos 7 dias e à direita após 28 dias. (A) *Aspergillus* sp., (S) *Sarocladium* sp., (T) *Trichoderma* sp., (X1) *Xylaria* sp. 1, (X2) *Xylaria* sp. 2 e 0% (BDA) é o controle contendo somente meio de cultura. 26
- Figura 15.** Ensaio de metabólitos não-voláteis na concentração de 25% de solução fúngica. No centro da placa estão os *plugs* do FM. À esquerda, aos 7 dias e à direita após 28 dias. (A)

Aspergillus sp., (S) *Sarocladium* sp., (T) *Trichoderma* sp., (X1) *Xylaria* sp. 1, (X2) *Xylaria* sp. 2 e 0% (BDA) é o controle contendo somente meio de cultura. 27

Figura 16. Crescimento médio do FM ao longo das medições. (*) identifica os tratamentos em que houve diferenças significativas quando comparados com o Controle (BDA). *Aspergillus* sp. 50% e 25% ($P < 0,0001$), *Trichoderma* sp. 50% e 25% ($P < 0,0001$). 27

Figura 17. Crescimento médio do FM ao fim das medições (dia 28). Letras distintas indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). 28

Figura 19. Crescimento médio do FM em meio de cultura com filtrados dos FEs, representando os tratamentos 50% e 25% para os fungos *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. avaliados no 7° e 28° dia. 29

Figura 20. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Aspergillus* sp. durante o período de 21 dias. 30

Figura 21. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Sarocladium* sp. durante o período de 21 dias. 31

Figura 22. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Trichoderma* sp. durante o período de 21 dias. 32

Figura 23. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Xylaria* sp. 1 durante o período de 21 dias. 33

Figura 24. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Xylaria* sp. 2 durante o período de 21 dias. 34

Figura 25. Média de flocos carregados por Tratamento (Filtrado) e Controle (Água). Letras distintas em relação ao Controle (Água) indicam diferença significativa de acordo com o teste de Wilcoxon ($p < 0,05$). 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades bioativas de fungos endofíticos descritas na literatura científica.	11
Tabela 2. Indicadores para avaliação da interação entre os fungos pela escala adaptada de Bell (1982).	16
Tabela 3. Taxa de inibição e média de crescimento do FM em pareamento após 5 dias. Valores pareados comparados com FM controle. Média de FM controle: 23,17 mm.	24
Tabela 4. Taxa de inibição e média de crescimento do FM em pareamento após 10 dias. Valores pareados comparados com FM controle. Média de FM controle: 28,57 mm.	24
Tabela 5. Taxa de inibição e média de crescimento do FM em pareamento após 25 dias. Valores pareados comparados com FM controle. Média de FM controle: 43,30 mm.	25
Tabela 6. Valores de P referentes às análises estatísticas pelo Teste t pareado a 5% de significância. Crescimento de FM nos dias 07 e 28 para os meios de cultura contendo filtrados de <i>Aspergillus</i> sp. e <i>Trichoderma</i> sp. nas duas concentrações (50% e 25%).	29
Tabela 7. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de <i>Aspergillus</i> sp. oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.	30
Tabela 8. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de <i>Sarocladium</i> sp. oferecidos por 21 dias em duas concentrações com opção de dieta pura.	31
Tabela 9. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de <i>Trichoderma</i> sp. oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.	32
Tabela 10. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de <i>Xylaria</i> sp. 1 oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.	33
Tabela 11. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de <i>Xylaria</i> sp. 2 oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.	34
Tabela 12. Valores de P referentes às análises estatísticas dos testes de preferência (Wilcoxon a 5% de significância).	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Oliveira (<i>Olea europaea</i>) no Brasil	2
2.2 Formigas-cortadeiras e seu fungo mutualista	4
2.3 Controle de formigas-cortadeiras e interações multitróficas	5
2.4 Controle biológico na agricultura	7
2.5 Fungos endofíticos e seu potencial no controle biológico na agricultura	8
3. OBJETIVOS.....	12
3.1 Geral	12
3.2 Específicos.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1 Isolados fúngicos endofíticos de oliveira	12
4.2 Uso do fungo mutualista em laboratório (<i>Leucoagaricus gongylophorus</i>)	13
4.3 Criação de formigas-cortadeiras em laboratório.....	13
4.4 Teste de pareamento: <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> e fungos endofíticos.....	14
4.5 Metabólitos não-voláteis dos fungos endofíticos contra <i>Leucoagaricus gongylophorus</i>	17
4.6 Testes de toxicidade	18
4.7 Testes de preferência	19
5. RESULTADOS	21
5.1 Teste de pareamento.....	21
5.2 Metabólitos não-voláteis.....	25
5.3 Testes de toxicidade	29
5.4 Testes de preferência	35
6. DISCUSSÃO.....	36
6.1 Ação fungicida e fungistática.....	36
6.2 Ação inseticida e testes de preferência	38
6.4 Interações multitróficas, desafios e perspectivas	41
7. CONCLUSÕES	43
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
ANEXO A – ÁRVORE FILOGENÉTICA DE ISOLADOS DE <i>XYLARIA</i> SPP. (OLIVEIRA 2020).....	59

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com grandes extensões territoriais, diferentes climas e solos. Esses são alguns motivos nos quais possibilitam a produção de culturas agrícolas, com as mais diferentes necessidades fisiológicas. As principais culturas agrícolas produzidas no Brasil incluem a soja, cana-de-açúcar, café e laranja. O país também é o principal exportador mundial desses produtos (CNA, 2021).

No setor da olivicultura, no entanto, segundo a média dos últimos anos, o país é totalmente dependente de importações e considerado o 3º maior importador de azeite de oliva do mundo, ficando atrás somente dos Estados Unidos da América e da União Europeia (INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL, 2021). Com o intuito de explorar regiões do país com diferentes condições climáticas, diversas iniciativas de pesquisa entre os estados brasileiros apontaram que São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Santa Catarina possuem regiões favoráveis para a produção de oliveiras e indicam viabilidade positiva para exploração comercial da cultura (BERTONCINI; TERAMOTO; PRELA-PANTANO, 2010).

Existem inúmeros benefícios para as regiões produtoras, como a possibilidade de explorar um mercado interno cada vez mais aquecido e, futuramente, até mesmo mercados externos. O mercado interno poderia influenciar os comércios e produtores locais, que podem diversificar sua produção ao incluir a oliveira, além de atingir nichos de mercado para produtos azeite de oliva e azeitonas de mesa de alta qualidade (GOMES, 2018; TERAMOTO; BERTONCINI; PRELA-PANTANO, 2013).

No entanto, um dos grandes desafios para a consolidação da olivicultura no Brasil é em relação às pragas e doenças presentes no território brasileiro que podem afetar negativamente a cultura. Uma das pragas identificadas, até o momento, como potencialmente prejudicial para o cultivo da oliveira são as formigas-cortadeiras (BERTONCINI, 2018; COUTINHO; RIBEIRO; CAPPELLARO, 2009). Esses insetos, em geral, têm preferência em cortar folhas e outros órgãos vegetais recém-formados, os quais são caracteristicamente tenros, contendo maior quantidade de água e nutrientes. Os danos causados pelas formigas podem comprometer seriamente não só plantas jovens, mas todas as fases de desenvolvimento (MONTROYA-LERMA *et al.*, 2012; PENTEADO; PICHELLI, 2019).

A principal forma de controle, atualmente, é o controle químico, a partir de iscas inseticidas que são à base principalmente de sulfluramida e fipronil, considerados altamente

tóxicos para o meio ambiente, saúde humana e animal (BRITTO *et al.*, 2016).

Dentre algumas alternativas sustentáveis para o controle de pragas agrícolas, encontram-se os organismos endofíticos (fungos e bactérias), devido à presença de substâncias com propriedades fungicidas, herbicidas, antimicrobianas ou inseticidas (LIU *et al.*, 2017; XIA *et al.*, 2019; YAN *et al.*, 2019). Neste aspecto, existem estudos com esses seres vivos e que possuem potencial para o manejo de formigas-cortadeiras (ESTRADA; WCISLO; VAN BAEL, 2013; ROCHA *et al.*, 2017; VAN BAEL *et al.*, 2012).

Oliveira (2020) isolou e identificou a comunidade endofítica de fungos e bactérias presentes em folhas de *Olea europaea*, avaliando também a relação entre a herbivoria pelas formigas-cortadeiras entre cultivares diferentes de oliveira. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre cultivares sobre a preferência das formigas-cortadeiras. Em busca de avanços nas alternativas para o controle químico de formigas-cortadeiras e, pensando também em entender melhor as interações entre a oliveira e as formigas-cortadeiras, faz-se necessário compreender as ações destes microrganismos endofíticos sobre o inseto em questão, seu fungo mutualista e para investigar se a comunidade endofítica de oliveiras poderia estar relacionada aos mecanismos de atratividade ou repelência pelas formigas-cortadeiras.

Este trabalho teve como objetivo avaliar se os fungos endofíticos testados possuíam compostos secundários atuando na inibição do crescimento do fungo mutualista das formigas-cortadeiras, propriedades inseticidas contra formigas operárias e nos testes de preferência se as operárias carregariam o substrato com metabólitos produzidos pelos fungos.

O presente trabalho enquadra-se nas ODS – objetivos de desenvolvimento sustentável da Organização das Nações Unidas: 2 – fome zero e agricultura sustentável, 9 – indústria, inovação e infraestrutura e 12 – consumo e produção sustentáveis (ONU, 2022).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Oliveira (*Olea europaea*) no Brasil

A origem da oliveira é frequentemente atribuída à Líbia ou a Síria, mas de maneira geral esteve presente ao longo do desenvolvimento de civilizações da região mediterrânea (INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL, 2020; NEWTON *et al.*, 2014; VEIGA, 2009).

A oliveira é uma espécie arbórea pertencente à família Oleaceae, possui características

xerófitas e, para seu bom desenvolvimento, necessita de temperaturas altas e baixa pluviosidade. Além disso, durante o inverno na região mediterrânea ocorre a acumulação de frio, essencial para que a planta saia da condição de dormência e possa florescer de maneira uniforme, sendo a temperatura entre 25-35 °C ideal para que ocorra a frutificação efetiva normal da planta (COUTINHO, 2007).

Algumas iniciativas estaduais promoveram pesquisas para investigar a adaptação da oliveira nas condições edafoclimáticas brasileiras. Essas iniciativas indicaram que a região Sul e Sudeste possuem características favoráveis para o desenvolvimento da cultura (BERTONCINI, 2018; COUTINHO, 2007; EPAMIG, 2017; TERAMOTO; BERTONCINI; PRELA-PANTANO, 2010).

O Projeto Oliva SP, por exemplo, criado em 2009, é uma iniciativa da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) que reúne diversos institutos e pesquisadores vinculados para promover pesquisas relacionadas à olivicultura, principalmente no estado de São Paulo. Dentre os institutos de pesquisa que participam do Projeto Oliva SP, encontra-se o Instituto Biológico, que desenvolve pesquisas relacionadas à sanidade da planta, como pragas e doenças (APTA, 2018; BERTONCINI; TERAMOTO; PRELA-PANTANO, 2010).

A produção de olivais no estado de São Paulo abrange cerca de 27 municípios. Tais municípios encontram-se em regiões com microclima favorável que proporciona horas de frio necessárias para o florescimento das plantas de oliveiras (BERTONCINI, 2018; BERTONCINI; TERAMOTO; PRELA-PANTANO, 2010). Segundo os dados do IBRAOLIVA (2018), o Brasil possui plantios considerados ainda muito jovens quando comparados aos plantios de regiões produtoras tradicionais, mas a estimativa é de que até 2025 serão 20.000 hectares plantados. Estima-se que a safra brasileira de 2019 produziu cerca de 230 mil litros de azeite de oliva e aproximadamente 180 mil litros apenas no Rio Grande do Sul. Por ser uma planta exótica de interesse comercial, para garantir a consolidação e incentivar o investimento por parte dos produtores e agências governamentais, é essencial entender as relações entre a planta e os organismos que habitam o país, e quais deles são e serão potenciais desafios nessa cadeia produtiva.

As principais doenças fúngicas que acometem as oliveiras são o olho-de-pavão (*Fusicladium oleagineum*, Venturiales: Venturiaceae); cercosporiose (*Pseudocercospora cladosporioides*, Mycosphaerellales: Mycosphaerellaceae), antracnose (*Colletotrichum* spp., Glomerellales: Glomerellaceae) e verticilose (*Verticillium dahliae*, Glomerellales:

Plectosphaerellaceae) (FERRARI, 2013). Além disso, recentemente, foi relatado a presença de fitoplasma (Mollicutes) com sintomas de vassoura-de-bruxa em oliveiras (BERTONCINI, 2018; FERREIRA, 2017) e presença da bactéria *Xylella fastidiosa* (Xanthomonadales: Xanthomonadaceae) transmitida por insetos vetores (cigarrinhas – Hemiptera: Auchenorrhyncha) (ANGUITA-MAESO *et al.*, 2021; BERTONCINI, 2018; FROZA, 2017).

Em relação às principais pragas da oliveira encontram-se: lagarta-da-oliveira (*Palpita* spp. - Lepidoptera: Pyralidae); cochonilhas (*Saissetia* spp. - Hemiptera: Coccidae); ácaro-da-oliveira (*Oxyceus maxwelli* - Acari: Eriophyidae) e formigas-cortadeiras (*Atta* spp., *Acromyrmex* spp. e *Amoimyrmex* spp. – Hymenoptera: Formicidae) (BERTONCINI, 2018; OLIVEIRA, 2020; RICALDE *et al.*, 2015).

Quando trata-se de formigas-cortadeiras, são insetos importantes principalmente durante o período de implantação e plantios jovens, pois seus danos podem causar a morte de plantas (PRADO CORDERO; SANTA-CECÍLIA; ALVARENGA, 2012; WREGGE *et al.*, 2009). Ricalde *et al.* (2015), identificaram a presença de cinco espécies de formigas-cortadeiras do gênero *Acromyrmex* pela primeira vez em plantios de oliveira no Rio Grande do Sul, causando danos e morte em plantas jovens de olivais. Da mesma forma, no estado de São Paulo, os produtores relatam a alta incidência desses insetos em seus olivais (OLIVEIRA, 2020).

2.2 Formigas-cortadeiras e seu fungo mutualista

Algumas espécies de formigas (Hymenoptera: Formicidae) são chamadas de agricultoras, uma vez que obtêm seu alimento a partir do cultivo de seus jardins de fungo (MONTROYA *et al.*, 2019; MUELLER *et al.*, 2005; WARD *et al.*, 2015). Dentro deste grande grupo de formigas agricultoras que pertencem à tribo Attini, destacam-se as formigas-cortadeiras, que cortam material vegetal e o oferecem para o cultivo do fungo mutualista, *Leucoagaricus gongylophorus* que lhes serve de alimento (SCHULTZ, 2020). Essa mudança evolutiva das formigas agricultoras para formigas agricultoras cortadeiras é considerada uma das transições evolutivas de maior sucesso no reino animal (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; HUBBEL; WIEMER, 1983).

As formigas-cortadeiras compreendem os gêneros *Atta*, *Acromyrmex* e *Amoimyrmex*, residem no solo e são endêmicas do continente americano, distribuídas da América do Sul até o sul da América do Norte (BARRERA *et al.*, 2022; CRISTIANO *et al.*, 2020; MAYHÉ-

NUNES; JAFFÉ, 1998). Como as demais espécies de formigas, são insetos eussociais e, portanto, possuem (i) divisão de tarefas no ninho, (ii) cuidado com a prole, e (iii) sobreposição de gerações (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990).

Leucoagaricus gongylophorus é um fungo basidiomiceto (Agaricales: Agaricaceae) que vive em mutualismo com formigas-cortadeiras. Estima-se que essa relação simbiótica evoluiu aproximadamente entre 8-12 milhões de anos atrás, sendo que essa espécie de fungo aparentemente não possui vida livre sem associação com as formigas (SCHULTZ; BRADY, 2008). Dentro da tribo Attini, as aténeas, como as formigas-cortadeiras, vivem em associação com este fungo que produz estruturas hifais chamadas de gongilídeos, dos quais as formigas se alimentam desde a fase larval até tornarem-se indivíduos adultos. As formigas, por sua vez, garantem nutrição e proteção para o fungo. Por meio da revoada, distribuem e perpetuam o fungo pela natureza (SCHULTZ, 2020).

Formigas-cortadeiras do gênero *Atta* possuem preferência por determinadas plantas, ainda que fatores como localização e quantidade de material vegetal disponível possam interferir na escolha e atividade de corte. Alguns autores sugerem que os nutrientes como lipídios, carboidratos, proteínas e compostos secundários de defesa presentes nas plantas poderiam influenciar essa escolha de corte, uma vez que há a possibilidade de serem benéficos ou prejudiciais às formigas e, principalmente, ao seu fungo mutualista (DELLA LUCIA, *et al.*, 1995; SANTOS *et al.*, 2015, 2019).

2.3 Controle de formigas-cortadeiras e interações multitróficas

Existem diversas formas de controle de formigas-cortadeiras, como o controle cultural, físico, mecânico, químico e biológico. No controle cultural é realizada a gradagem e aração do solo alguns meses antes do plantio, porém, só funciona caso o formigueiro seja inicial e esteja em profundidades rasas para que a lâmina alcance e destrua, de fato, o ninho. Esse método não é amplamente realizado, principalmente por conta do uso do cultivo mínimo (BOARETTO; FORTI, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

O controle mecânico, consiste em destruir completamente o ninho com uso de ferramentas como enxadas e pás, por exemplo. Torna-se totalmente inviável, se a incidência de ninhos na propriedade for alta e principalmente, ninhos com idade acima de quatro meses estarão em profundidades que as ferramentas não alcançam (BOARETTO; FORTI, 1997;

OLIVEIRA *et al.*, 2011).

O controle físico, consiste em adicionar obstáculos na planta com a finalidade de impedir o acesso das formigas às partes vegetativas das plantas. Esse método é indicado apenas para casos isolados e dificilmente é aplicável em áreas grandes (ANJOS; DELLA LUCIA; MAYHÉ-NUNES, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2011). Existe ainda o controle biológico, em que inimigos naturais ou agentes entomopatogênicos podem ser utilizados (DELLA LUCIA; VILELA, 1993). Este item em específico será detalhado na próxima seção (3.4).

O método de controle recomendado para o manejo dessas formigas em plantios de *Pinus* e *Eucalyptus*, é o químico, a partir de aplicações de iscas granuladas contendo inseticidas (FILHO *et al.*, 2021b). Embora seja o método mais eficaz até o momento, os principais componentes desses produtos são o fipronil e a sulfluramida, ambos considerados altamente perigosos pelo FSC (*Forest Stewardship Council*), órgão não-governamental responsável por certificações florestais.

Além disso, a sulfluramida foi classificada como poluente orgânico na Convenção de Estocolmo, promovida pela Organização das Nações Unidas (ONU) em 2005, já que pode ficar retida no solo e contaminar corpos aquáticos (FOREST STEWARDSHIP COUNCIL, 2007; UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME, 2017).

Os desafios para o controle dessas formigas estão bastante atrelados aos fatos de que possuem atividade durante o ano todo e caracterizam-se como insetos extremamente organizados aliados à uma comunicação química intraespecífica eficiente, que garante rápida movimentação, tomadas de ação contra inimigos, identificação e isolamento de potenciais contaminações (FISHER; STRADLING; PEGLER, 1994; FORTI; BOARETTO, 1997; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; KERMARREC; DECHARME; FEBVAY, 1993).

A arquitetura complexa do ninho das formigas-cortadeiras auxilia no processo de proteção da colônia contra inimigos naturais, protegendo a rainha, a prole e o fungo mutualista. Por esse motivo, o controle dessas formigas também pode enfrentar certa dificuldade devido às suas estruturas e disposições (MOREIRA *et al.*, 2004).

Como as formigas dependem do fungo mutualista para sua alimentação, ele pode ser um ponto chave de vulnerabilidade com potencial para o controle dessas formigas. Por esse motivo, estudos envolvendo o fungo mutualista como principal alvo neste sistema podem ser um mecanismo importante para novas alternativas de controle, uma vez que as formigas-cortadeiras são consideradas uma das principais pragas de outras espécies florestais não-nativas e de

interesse econômico, como eucaliptos, pinus e a oliveira (DELLA LUCIA, 2011; OLIVEIRA, 2020).

Portanto, estudos referentes aos métodos de controle de formigas-cortadeiras e alternativas ao uso do controle químico adquirem destaque e relevância para a consolidação da cadeia produtiva da oliveira no país, mas também no panorama agrícola e florestal geral principalmente levando em consideração a agricultura sustentável.

2.4 Controle biológico na agricultura

Fatores abióticos e bióticos regulam a população de determinada espécie naturalmente. Quando se trata de agricultura, este ambiente sofre alterações por conta da ação antrópica e consequentemente, o equilíbrio pré-existente é alterado. O controle biológico consiste em resgatar as premissas básicas do equilíbrio natural visando a sustentabilidade, onde atua na redução da população de pragas ou patógenos a partir de seus inimigos naturais. Esses inimigos, podem ser classificados como parasitas, predadores e antagonistas (FONTES; PIRES; SUJII, 2020).

O controle biológico tem sido largamente estudado com intuito de proteger plantas de interesse econômico, tanto para insetos-pragas, quanto para doenças. Dessa forma, as relações ecológicas são abordadas com essa finalidade, desde competição, predação, parasitismo ou amensalismo. Os organismos envolvidos incluem bactérias, fungos, vírus, nematoides, artrópodes, entre outros (BARBOSA *et al.*, 2021).

Um exemplo de sucesso no controle biológico reconhecido mundialmente e altamente eficiente é o uso de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) e *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) como parasitoides de lagartas e ovos, respectivamente, da broca-da-cana (*Diatrea saccharalis* - Lepidoptera: Crambidae), principal praga da cana-de-açúcar (NAVA *et al.*, 2009; PARRA, 2014; PARRA *et al.*, 2002).

Especificamente para formigas-cortadeiras, existem forídeos (Diptera: Phoridae), moscas parasitoides de formigas, podendo inclusive, parasitar formigas-cortadeiras. No entanto, como forma de controle não é viável, uma vez que possuem baixa capacidade de parasitismo natural, entre 2-4% (BRAGANÇA, 2007; BRAGANÇA; MEDEIROS, 2006). Isso também ocorre para besouros do gênero *Canthon* (Coleoptera: Scarabaeidae), predadores de rainhas de formigas-cortadeiras, mas sua baixa taxa reprodutiva, interfere no desempenho como

agente no controle de formigas-cortadeiras (BARBOSA *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Um dos grandes potenciais no controle biológico para formigas-cortadeiras são os microrganismos, em especial fungos, ou mesmo a mistura deles com extratos de plantas em iscas granuladas (LEMES; ZANUNCIO, 2021; MONTOYA-LERMA *et al.*, 2012).

2.5 Fungos endofíticos e seu potencial no controle biológico na agricultura

Uma possibilidade promissora e interessante aliada no controle biológico de pragas e doenças é a utilização de fungos e bactérias endofíticos, que são encontrados em plantas, fazendo parte da comunidade de microrganismos que as habitam. Podem ser caracterizados como endofíticos quando realizam pelo menos uma fase de seu ciclo de vida no interior das plantas e, no entanto, não trazem danos expressivos em sua planta hospedeira (GUNATILAKA, 2006). Essa relação sugere uma associação simbiótica com as plantas, que lhes fornecem nutrientes e abrigo e, em retorno, os endofíticos podem atuar como complemento de defesa e adaptação das plantas (OWNLEY; GWINN; VEGA, 2010; ZHANG; SONG; TAN, 2006; ZHOU *et al.*, 2010).

A interação entre planta e microrganismos endofíticos pode originar metabólitos secundários e compostos de interesse econômico voltados à biotecnologia (RAI *et al.*, 2014; XIA *et al.*, 2019; YAN *et al.*, 2018). Estudos recentes nessa área pontuam fungos endofíticos como fontes de compostos de interesse para a medicina, indústria farmacêutica e agricultura (PALANICHAMY *et al.*, 2019; PAN *et al.*, 2017; ZAFERANLOO *et al.*, 2018).

Hubbard, Germida e Vujanovic (2013) encontraram que a comunidade fúngica endofítica contribuiu para o aumento da tolerância de trigo à seca e calor, apresentando potencial na adaptação aos estresses abióticos. Um trabalho de Xia e colaboradores (2019), concluiu que fungos endofíticos melhoraram significativamente o crescimento da parte aérea e a biomassa de plantas de tomate. Além disso, alguns estudos indicam que a comunidade endofítica atua diretamente na estabilidade das defesas da planta, principalmente contra pragas e doenças (BASTÍAS *et al.*, 2017; JABER; OWNLEY, 2018; OWNLEY; GWINN; VEGA, 2010).

Fungos das espécies *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, são fungos naturalmente encontrados no solo ou como endofíticos. São classificados como entomopatogênicos comerciais, sendo utilizados no controle biológico de pragas como

coleópteros, hemípteros e lepidópteros (AMOBONYE *et al.*, 2020; CAI *et al.*, 2019; FIDELIS *et al.*, 2021; PITTA *et al.*, 2019). Diversos estudos, inclusive, em formigas-cortadeiras (DAZA *et al.*, 2019; GOFFRÉ; FOLGARAIT, 2018; LOUREIRO; MONTEIRO, 2005). Pesquisas voltadas às propriedades antifúngicas, inseticidas e antimicrobianas de fungos endofíticos vêm ganhando destaque nos últimos anos (SHRIVASTAVA *et al.*, 2015; XIE *et al.*, 2017; YAN *et al.*, 2019). No entanto, existem inúmeros fungos endofíticos a serem testados de diferentes maneiras e modos de ação para diversos organismos.

Pouco se sabe ainda sobre as relações endofíticas de fungos de oliveira, principalmente, no Brasil. A partir dos resultados obtidos no trabalho de Oliveira *et al.*, (2022), investigar a ação da comunidade endofítica de fungos e suas relações com as formigas-cortadeiras é um caminho interessante dentro do controle biológico, visto que, as razões pela preferência das formigas-cortadeiras por plantas de oliveira em condições de campo permanecem desconhecidas. Dessa forma, os fungos endofíticos podem estar envolvidos nessas relações.

Dentre diversos fungos endofíticos de oliveira, *Aspergillus* é um gênero de fungos ascomicetos (Eurotiales: Trichocomaceae). Além de serem registrados como endofíticos, algumas espécies são saprófitas e parasitas, inclusive atuando como patógenos em humanos (EL-HAWARY *et al.*, 2020). Algumas espécies podem produzir micotoxinas como as aflatoxinas, nocivas aos animais e seres humanos, podendo contaminar alimentos e levar a morte de pacientes imunossuprimidos (DENNING *et al.*, 2016; LATGÉ; CHAMILOS, 2020). Em contrapartida, algumas espécies são consideradas ricas fontes de metabólitos secundários de interesse com ação anti-inflamatória, anti-microbiana, essenciais para a indústria farmacêutica, saúde pública e agricultura (EL-HAWARY *et al.*, 2020).

O gênero *Sarocladium* abrange fungos ascomicetos (Hypocreales: Sarocladiaceae), que podem ser encontrados como saprófitos e associados às plantas, tanto como endofíticos quanto como patógenos (GIRALDO *et al.*, 2015). A espécie *Sarocladium oryzae*, por exemplo, é responsável por causar doenças no cultivo do arroz, acometendo tanto sementes como a bainha da planta (LOBO; FILIPPI; PRABHU, 2021; TSCHEN; CHEN; HSIEH, 1997). Espécies desse gênero também foram encontrados como patógenos em seres humanos (GIRALDO *et al.*, 2015; SHARMA *et al.*, 2013). No entanto, diversos estudos sobre este mesmo gênero encontraram propriedades antifúngicas e inseticidas de interesse (BŁASZCZYK *et al.*, 2021; EL-SAYED *et al.*, 2020; GUIMARÃES, 2014).

Fungos do gênero *Trichoderma* são ascomicetos (Hypocreales: Hypocreaceae)

comumente encontrados nos mais diferentes tipos de solo, associados às plantas como endofíticos e com ação eficaz no controle de doenças de plantas (BAE *et al.*, 2016; BELL; WELLS; MARKHAM, 1982; GUIMARÃES *et al.*, 2016; MATARESE *et al.*, 2012). Atualmente existem diversos produtos utilizados comercialmente com essa finalidade e seu modo de ação é variável, atuando por meio de competição, micoparasitismo, antibiose ou indução sistêmica de resistência na planta (COPPOLA *et al.*, 2019; GHAZANFAR *et al.*, 2018; POVEDA, 2021; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017). Existem também estudos envolvendo espécies de *Trichoderma* atuando sobre insetos, incluindo suas interações com formigas-cortadeiras e seu fungo mutualista. Além de sua atuação frente à patógenos, podem atuar como biofertilizantes, auxiliando o sistema radicular na absorção de nutrientes e promovendo crescimento na planta (OUSLEY; LYNCH; WHIPPS, 1994; VINALE *et al.*, 2008; VINALE; SIVASITHAMPARAM, 2020; YOU *et al.*, 2022) .

O gênero *Xylaria* abrange os fungos ascomicetos (*Xylariales: Xylariaceae*), geralmente encontrados como endofíticos e saprófitos em plantas tropicais, vasculares e não-vasculares (DAVIS *et al.*, 2003; HYDE; SOYTONG, 2008). Podem produzir propriedades antimicrobianas contra bactérias patogênicas como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, assim como propriedades anti-inflamatórias interessantes para a indústria farmacêutica e medicina (MACÍAS-RUBALCAVA; SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, 2017).

De maneira geral, a atuação dos gêneros citados pode variar dependendo das condições ambientais, espécie ou isolado. Os mecanismos de ação podem ser diretos contra patógenos ou indiretos atuando em benefício da planta hospedeira. Portanto, o presente trabalho buscou avaliar as interações de fungos endofíticos dos gêneros apresentados anteriormente visando encontrar avanços para o controle biológico de formigas-cortadeiras e seu fungo mutualista.

A Tabela 1 indica trabalhos realizados com os gêneros *Aspergillus*, *Sarocladium*, *Trichoderma* e *Xylaria* e suas potenciais propriedades de interesse na agricultura ou saúde pública:

Tabela 1. Propriedades bioativas de fungos endofíticos descritas na literatura científica.

Fungo	Propriedades bioativas contra:	Organismos testados:	Referência
<i>Aspergillus</i> sp.	Inseto (Diptera)	Larvas de <i>Aedes aegypti</i>	Araújo <i>et al.</i> (2022)
<i>Aspergillus flavipes</i>	Fungo	<i>Phytophthora parasitica</i>	El-Sayed e Ali (2020)
<i>Aspergillus welwitschiae</i>	Nematoide	Ovos e larvas de <i>Meloidogyne graminicola</i>	Liu <i>et al.</i> (2019)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Fungos	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium solani</i> e <i>Gibberella saubinetii</i>	Li <i>et al.</i> (2012)
<i>Aspergillus giganteus</i>	Inseto (Hemiptera)	<i>Triatoma infestans</i> e <i>Panstrongylus megistus</i>	Costa <i>et al.</i> (2003)
<i>Sarocladium terricola</i>	Nematoide	<i>Meloidogyne incognita</i>	Tian <i>et al.</i> (2022)
<i>Sarocladium brachiariae</i>	Fungo	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	Yang <i>et al.</i> (2021)
<i>Sarocladium strictum</i>	Inseto (Lepidoptera)	<i>Spodoptera littoralis</i>	El-Sayed <i>et al.</i> (2020)
<i>Sarocladium zeae</i>	Fungo	<i>Fusarium graminearum</i>	Kemp <i>et al.</i> (2020)
<i>Sarocladium oryzae</i>	Fungo	<i>Magnaporthe oryzae</i>	Guimarães (2014)
<i>Trichoderma lignorum</i>	Inseto (Hymenoptera)	<i>Atta cephalotes</i>	Daza <i>et al.</i> (2019)
<i>Trichoderma</i> spp.	Fungo	<i>Leucoagaricus gongylophorus</i>	Nascimento <i>et al.</i> (2017)
<i>Trichoderma viride</i>	Inseto (Lepidoptera)	<i>Bombyx mori</i>	Berini <i>et al.</i> (2015)
<i>Trichoderma</i> spp.	Fungos	<i>Sclerotium rolfsii</i> e <i>Verticillium dahliae</i>	Isaias <i>et al.</i> (2014)
<i>Trichoderma</i> spp.	Fungo	<i>Leucoagaricus gongylophorus</i>	Ortiz e Orduz (2001)
<i>Xylaria grammica</i>	Nematoide	<i>Meloidogyne incognita</i>	Kim <i>et al.</i> (2021)
<i>Xylaria cubensis</i>	Fungos	<i>Phyllosticta citricarpa</i>	Figueiredo <i>et al.</i> (2018)
<i>Xylaria</i> sp.	Fungos	<i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Silva <i>et al.</i> (2010)
<i>Xylaria</i> sp.	Fungos	<i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Cafêu <i>et al.</i> (2005)

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar os efeitos de fungos endofíticos de oliveira (*Olea europaea*) sobre formigas-cortadeiras (*A. sexdens*) e seu fungo mutualista (*Leucoagaricus gongylophorus*).

3.2 Específicos

- Avaliar a atividade fungicida *in vitro* dos fungos endofíticos de oliveira contra o fungo mutualista de formigas-cortadeiras;
- Verificar o potencial inseticida dos metabólitos não-voláteis produzidos pelos fungos endofíticos de oliveira por ingestão pelas formigas operárias de *Atta sexdens*;
- Avaliar a atratividade de substrato com metabólitos não-voláteis produzidos pelos fungos endofíticos oferecidas às colônias de formigas-cortadeiras.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Isolados fúngicos endofíticos de oliveira

Os fungos isolados de folhas de oliveira (*O. europaea*) testados são provenientes de estudos anteriores conduzidos pelo Instituto Biológico juntamente com a Universidade Estadual Paulista (UNESP/Rio Claro) (OLIVEIRA, 2020). O material encontra-se armazenado no acervo biológico da Unidade Laboratorial de Referência em Biologia Molecular Aplicada do Instituto Biológico em São Paulo e estão identificados somente até nível de gênero.

Para a escolha de quais isolados seriam utilizados, foi realizada uma pesquisa na literatura por gênero de fungo presente no acervo, com a finalidade de identificar isolados com potenciais propriedades fungicidas e inseticidas conforme descrito na seção 2.5. Dessa forma, neste presente trabalho foram testados cinco isolados fúngicos, pertencentes aos gêneros: *Aspergillus*, *Sarocladium*, *Trichoderma* e *Xylaria*, sendo que para o gênero *Xylaria* dois

isolados diferentes foram escolhidos, posteriormente referidos neste trabalho como *Xylaria* sp. 1 e *Xylaria* sp. 2.

Para a realização dos ensaios, os fungos foram reativados em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) a partir da coleção onde estão preservados pelo método de Castellani (CASTELLANI, 1939). Posteriormente, foram repicados a cada 15 dias em meio de cultura BDA e armazenados em câmara de baixa demanda de oxigênio (B.O.D.) à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h.

4.2 Uso do fungo mutualista em laboratório (*Leucoagaricus gongylophorus*)

O fungo mutualista das formigas-cortadeiras (FM) pertencente à linhagem FF2006 foi cedido pelo Prof. Dr. André Rodrigues do Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos (LESF) da UNESP/Rio Claro. Sua manutenção e multiplicação para os ensaios foram realizadas em placas de Petri em meio BDA a cada 21 dias, mantidas em câmara B.O.D. à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e na ausência de luz (HAIFIG, 2014).

4.3 Criação de formigas-cortadeiras em laboratório

Colônias de *A. sexdens* de aproximadamente um ano de idade mantidas em condições de laboratório com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ foram cedidas pelo Prof. Dr. Odair Correa Bueno do Laboratório de Formigas Cortadeiras (L AFC), pertencente à UNESP/Rio Claro. As colônias foram dispostas em recipientes plásticos interligados por tubos, também de plástico, que possuem a função de manter as colônias com fornecimento do substrato vegetal (câmara de forrageamento), seguido de um recipiente de 1L para o fungo simbiote e por fim, um recipiente para deposição de lixo pelas formigas (câmara de lixo) (Figura 1). Diariamente foram oferecidas às colônias folhas de jambolão (*Syzygium* sp.), amoreira (*Morus* sp.), farinha de milho ou flocos de aveia. O preparo para os ensaios consistiu em retirar o lixo presente na câmara e manter as colônias sem oferecimento de folhas ou flocos de cereais 48 horas antes do ensaio.

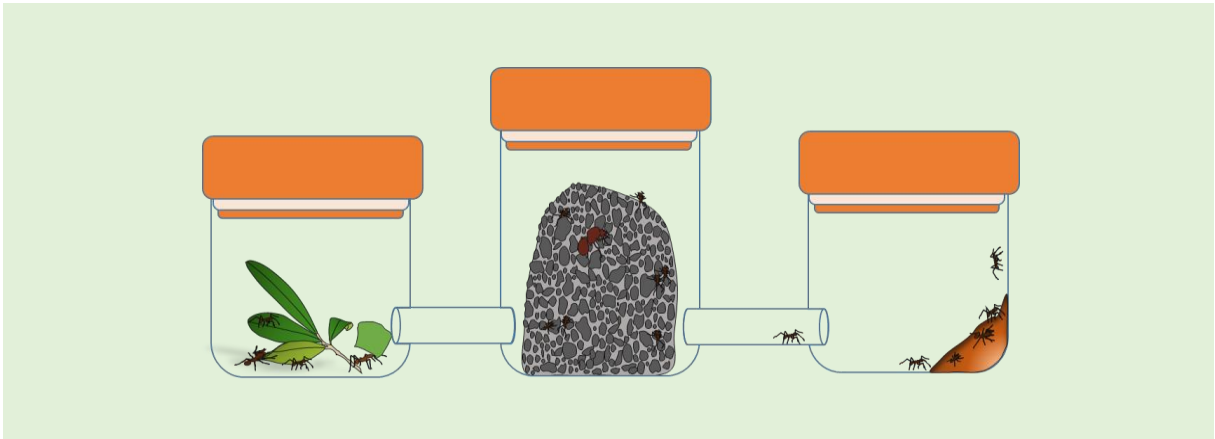


Figura 1. Ilustração representativa de colônia de *Atta sexdens* mantida em laboratório. Fonte: Andresa Fung

4.4 Teste de pareamento: *Leucoagaricus gongylophorus* e fungos endofíticos

O potencial antagonista dos isolados fúngicos contra *L. gongylophorus* foi avaliado utilizando o método de pareamento de culturas (ISAIAS *et al.*, 2014). Discos de 5 mm de diâmetro de *L. gongylophorus* foram dispostos em placas de Petri (9,0 cm) em meio BDA por 10 dias. Após esse período cada um dos fungos endofíticos foi depositado no lado oposto ao fungo mutualista em uma mesma placa e ambos os discos com uma distância de 1 cm da borda da placa. Esta vantagem de dez dias foi dada ao *L. gongylophorus* devido ao seu lento crescimento (DO NASCIMENTO *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2006).

Cada tratamento consistiu em um confronto FM (Fungo Mutualista) x FE (Fungo Endofítico) e foram realizadas cinco repetições de confronto por fungo endofítico. Para comparação do crescimento dos fungos em confronto direto, foram feitas também cinco placas contendo somente cada um dos FE e cinco contendo somente FM, conforme mostra a Figura 2.

As placas foram mantidas em B.O.D. à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e na ausência de luz. Foram realizados testes pilotos para acompanhar o crescimento dos fungos em que eles foram repicados em placas de Petri com meio de cultura BDA por 20 dias. Devido ao crescimento variado e mais lento dos FEs, exceto de *Trichoderma* sp., as medições foram feitas diariamente por sete dias e, posteriormente, ao completar 10, 13, 16, 19, 21 e 25 dias após a inoculação dos fungos (SILVA *et al.*, 2006). Portanto, as medições ocorreram até que um dos fungos (endofítico ou mutualista) tomasse a placa ou até que o ensaio completasse 25 dias.

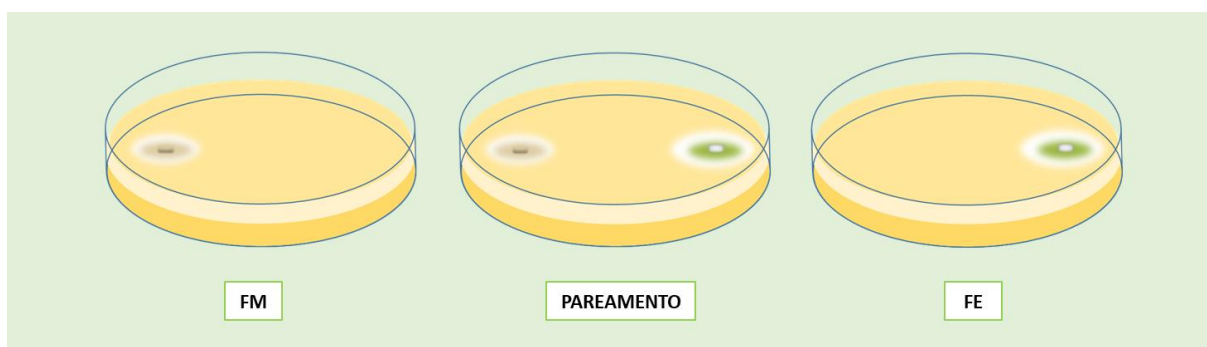


Figura 2. Ilustração do ensaio de pareamento. (FM): Controle de *Leucoagaricus gongylophorus*; (PAREAMENTO): teste de pareamento entre o FM e FE; (FE): Controle do fungo endofítico. Fonte: Andresa Fung

Foram realizadas medições dos diâmetros vertical e horizontal de crescimento por meio de um paquímetro digital, tomando-se como referência os discos iniciais de 5 mm (DONASCIMENTO *et al.*, 2017). Além disso, também foram realizadas observações ao final do ensaio atribuindo-se nota pela escala proposta por Bell, Wells e Markham (1982), adaptada conforme a Tabela 2 e a Figura 3. A taxa de inibição de cada fungo endofítico sobre o fungo mutualista foi calculada aplicando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ inibição} = [(FMc - FMp) \div FMc] \times 100,$$

em que: FMc = crescimento em mm de FM controle; FMp = crescimento em mm de FM pareado (ROCHA, 2021). Os experimentos foram realizados em DIC (delineamento inteiramente casualizado) e os dados foram testados quanto a normalidade e homogeneidade pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Posteriormente, os dados foram submetidos ao Teste t a 5 % de significância.

Tabela 2. Indicadores para avaliação da interação entre os fungos pela escala adaptada de Bell (1982).

Nota	Observações*
1	FE superou completamente FM e cobriu toda a superfície do meio.
2	FE cresceu completamente em pelo menos dois terços da superfície da placa.
3	FE e FM colonizaram cada um aproximadamente metade da superfície média e nenhum organismo parecia dominar o outro.
4	FM colonizou pelo menos dois terços da superfície do meio e pareceu resistir à invasão pelo FE.
5	FM ultrapassou completamente o FE e ocupou toda a superfície do meio.

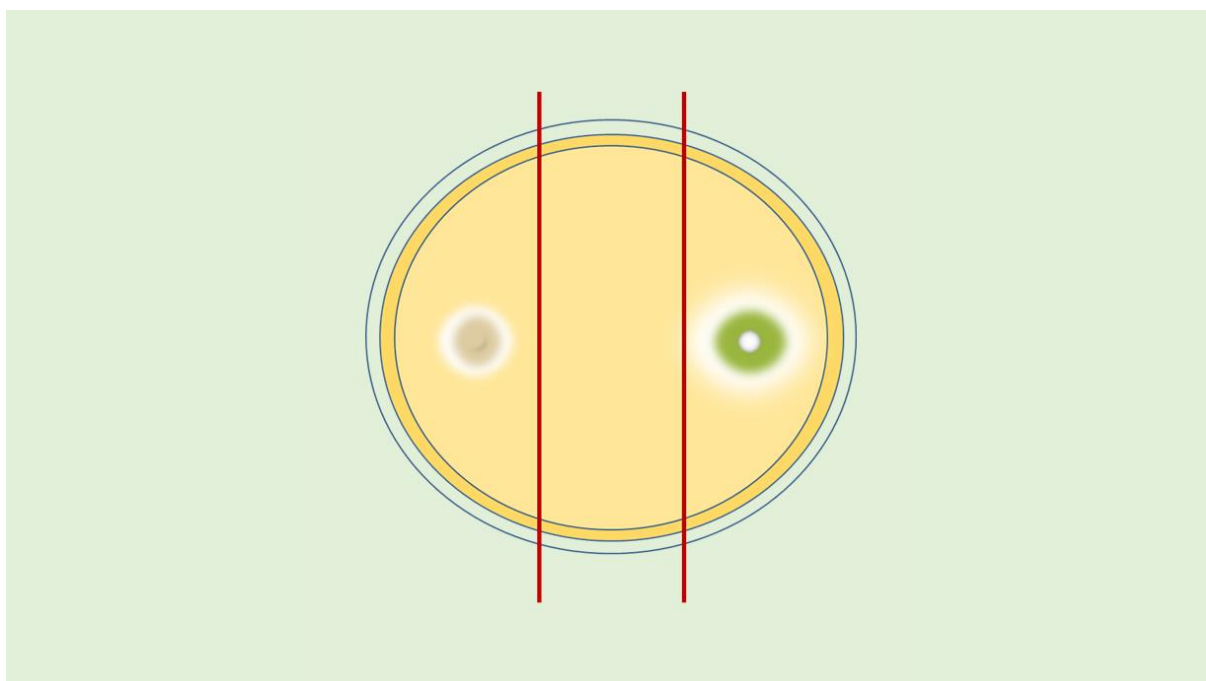


Figura 3. *As siglas FE representam o fungo endofítico e FM, o fungo mutualista. A figura representa a placa de Petri dividida segundo a escala de Bell (1982). Fonte: Andresa Fung

4.5 Metabólitos não-voláteis dos fungos endofíticos contra *Leucoagaricus gongylophorus*

Foram testados os metabólitos produzidos pelos fungos endofíticos a partir da fermentação pela dificuldade de obter conídios para todos os isolados utilizados. Para o preparo deste ensaio, nove discos de 10 mm obtidos a partir de placas de Petri em meio BDA com colônias puras dos fungos endofíticos, foram adicionadas em frascos Erlenmeyers contendo 450 mL de meio BD (batata-dextrose) e mantidos sob agitação em *shaker* a 120 rpm e $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Para os isolados de *Xylaria* spp. a solução ficou no *shaker* por 28 dias (PONGCHAROEN *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2010) e os demais – *Aspergillus*, *Sarocladium* e *Trichoderma* – permaneceram por 15 dias (EL-SAYED *et al.*, 2020). Após este período, foi realizada a filtragem por gaze para separar a biomassa produzida ao longo do período de incubação. Posteriormente, a solução resultante foi filtrada por pré-filtro de celulose, membranas de $0,42\mu\text{m}$, e $0,2\mu\text{m}$ através de uma bomba à vácuo e por último, foi filtrada também por um filtro estéril de $0,2\mu\text{m}$ e armazenada em recipientes de vidro previamente esterilizados conforme ilustra a Figura 4 a seguir:

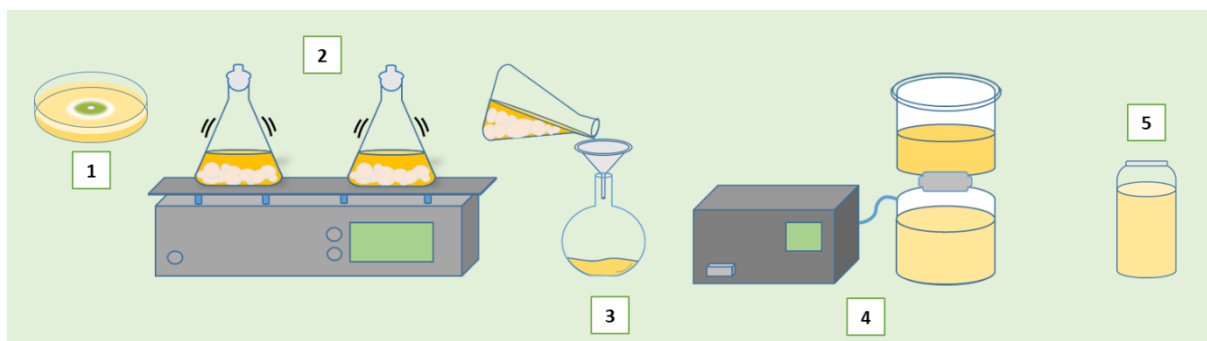


Figura 4. Esquema ilustrativo da preparação da solução de metabólitos não-voláteis. (1): cultivo e manutenção dos fungos endofíticos para retirada de *plugs*, (2): agitação do meio de cultura BD e os *plugs* de fungos endofíticos sob *shaker*, (3): filtragem por gaze, (4): filtragem por bomba à vácuo, (5): armazenamento da solução resultante. Fonte: Andresa Fung

Para a avaliação da interação de metabólitos não-voláteis produzidos pelos fungos endofíticos, a solução resultante da filtragem foi incorporada ao meio de cultura BDA em placas de Petri de 30mL, nas concentrações de 50% e 25% (volume/volume). Uma vez incorporados ao meio BDA, discos de ágar (5 mm) retirados de cultura pura do fungo mutualista (FM), foram depositados no centro de cada placa de Petri conforme ilustra a Figura 5. Foram utilizadas cinco

repetições para cada tratamento mais o controle (0%) contendo somente BDA.

As medições foram realizadas avaliando os diâmetros vertical e horizontal de FM para comparação de médias de crescimento dos fungos submetidos ao meio de cultura nas concentrações de 50% e 25% comparando com o crescimento do tratamento controle (0%). As medições de diâmetro foram realizadas utilizando como referência o centro do disco depositado no centro da placa e foram realizadas nos dias 2, 5, 7, 10, 14, 21 e 28 dias após a inoculação do fungo (DE SOUZA *et al.*, 2012; HAIFIG, 2014; MOIA, 2014).

Os experimentos foram realizados em DIC (delineamento inteiramente casualizado) e os dados foram testados quanto a normalidade e homogeneidade pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Quando necessário, foi realizada a transformação dos dados pelo método de Box-Cox. Posteriormente, os dados foram submetidos à ANOVA e ao teste de Scott-Knott a 5 % de significância (GUIMARÃES *et al.*, 2016).

Para avaliação dos fungos que apresentaram inibição de crescimento de FM, as médias de crescimento do 7 e 28 dias foram comparadas utilizando o teste t pareado, a fim de verificar o efeito do FE sobre FM nos dois períodos comparados.

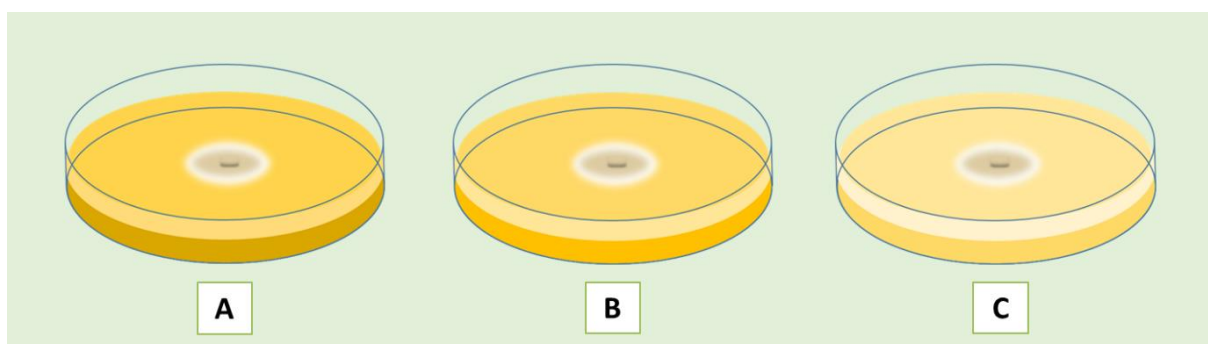


Figura 5. Imagem ilustrativa referente ao ensaio de metabólitos não-voláteis de acordo com a proporção de solução fúngica no meio de cultura. (A): 50% de solução fúngica, (B): 25% e (C): 0% (apenas meio de cultura feito com BDA). Fonte: Andresa Fung

4.6 Testes de toxicidade

Para este ensaio foram utilizadas operárias médias (cápsula cefálica entre 1,4-2,2 mm) segundo as divisões propostas por Wilson (1980). Estes indivíduos foram coletados de um ninho mantido em laboratório e distribuídas em uma bandeja plástica previamente higienizada com álcool. Posteriormente, estes indivíduos foram transferidos para placas de Petri contendo 10 formigas por placa e um papel filtro conforme ilustra a Figura 6, totalizando 50 indivíduos

e cinco placas de Petri por tratamento (BUENO, 2013; BUENO *et al.*, 1997).

Durante 21 dias, as placas foram armazenadas em câmaras B.O.D. à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Foram oferecidas diariamente às formigas, 0,5g de dieta sólida produzida com a solução fúngica filtrada dos fungos endofíticos (ver seção 4.5) nas concentrações de volume de 25% e 50% além de peptona, extrato de levedura, glicose e água que consistia na dieta pura e foi utilizada como tratamento controle para comparação dos dados do ensaio (BUENO *et al.*, 1997).

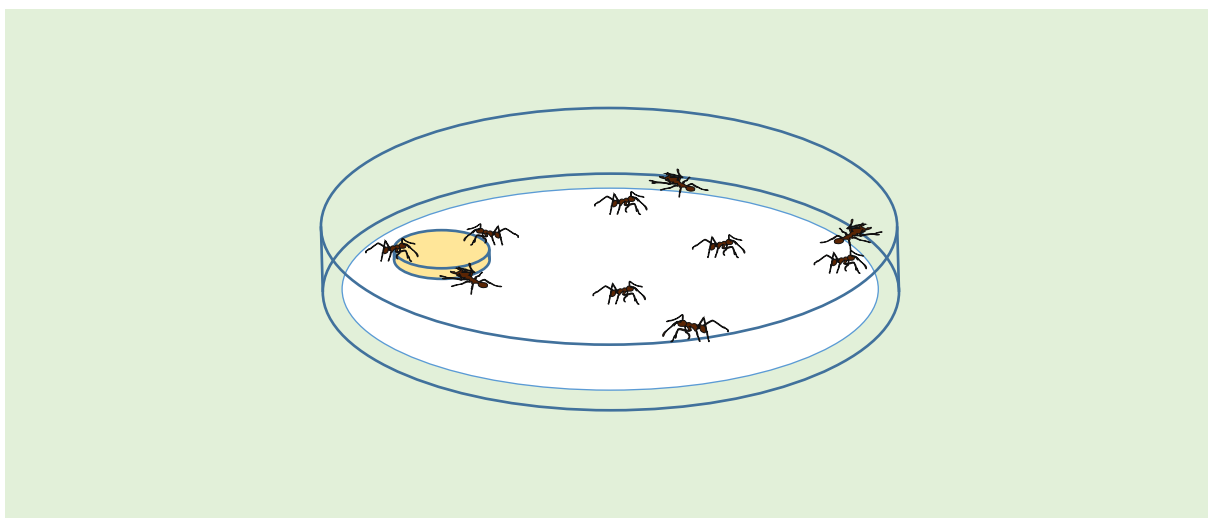


Figura 6. Imagem ilustrativa referente ao ensaio de toxicidade. Fonte: Andresa Fung

A avaliação deste ensaio foi realizada diariamente, em que a cada 24h, as formigas mortas foram contabilizadas, retiradas da placa e a dieta substituída. Quando necessário, foi trocado também o papel filtro de cada placa, para reduzir o risco de proliferação de microrganismos durante o período do ensaio. A mortalidade das operárias foi avaliada diariamente. Para comparar a taxa de sobrevivência dos indivíduos no período de 21 dias, as análises estatísticas foram realizadas por uma curva de sobrevivência utilizando o teste não-paramétrico *Log-rank* pelo software GraphPad Prisma 3.0. (MEDEIROS, 2018).

4.7 Testes de preferência

Para avaliar a repelência e/ou atratividade das colônias de formigas-cortadeiras aos metabólitos produzidos pelos fungos endofíticos, foram utilizadas 30 colônias mantidas em condições de laboratório como descrito na seção 4.1. As colônias e metabólitos dos fungos

foram sorteados para execução de cada ensaio e houve pelo menos uma semana de intervalo entre um ensaio e outro com a mesma colônia.

A câmara de forrageio foi substituída por uma bandeja de plástico (40 cm x 30 cm) previamente higienizada com álcool, 24 horas antes da realização do teste para aclimação. Uma placa de vidro contendo quatro quadrados numerados foi disposta no centro da bandeja (Figura 7):

O ensaio consistiu em oferecer cinco flocos de arroz dispostos em cada quadrado da placa de vidro e à medida em que foram carregados, os flocos foram repostos até que todos fossem carregados ou o ensaio completasse uma hora de observação. A quantidade máxima de flocos foi de 60 unidades e em todos os flocos, foram adicionados 5 μ L da solução controle (água destilada) ou solução filtrada dos metabólitos 20 minutos antes do ensaio. O oferecimento dos flocos ocorreu de maneira alternada, em que se os quadrados I-III apresentaram flocos apenas com água, os quadrados II-IV continham o tratamento com a solução dos metabólitos fúngicos, a fim de minimizar o efeito de escolha apenas de um lado ou outro. No entanto, as análises consideraram a soma da quantidade de flocos carregados por tratamento, ou seja, a

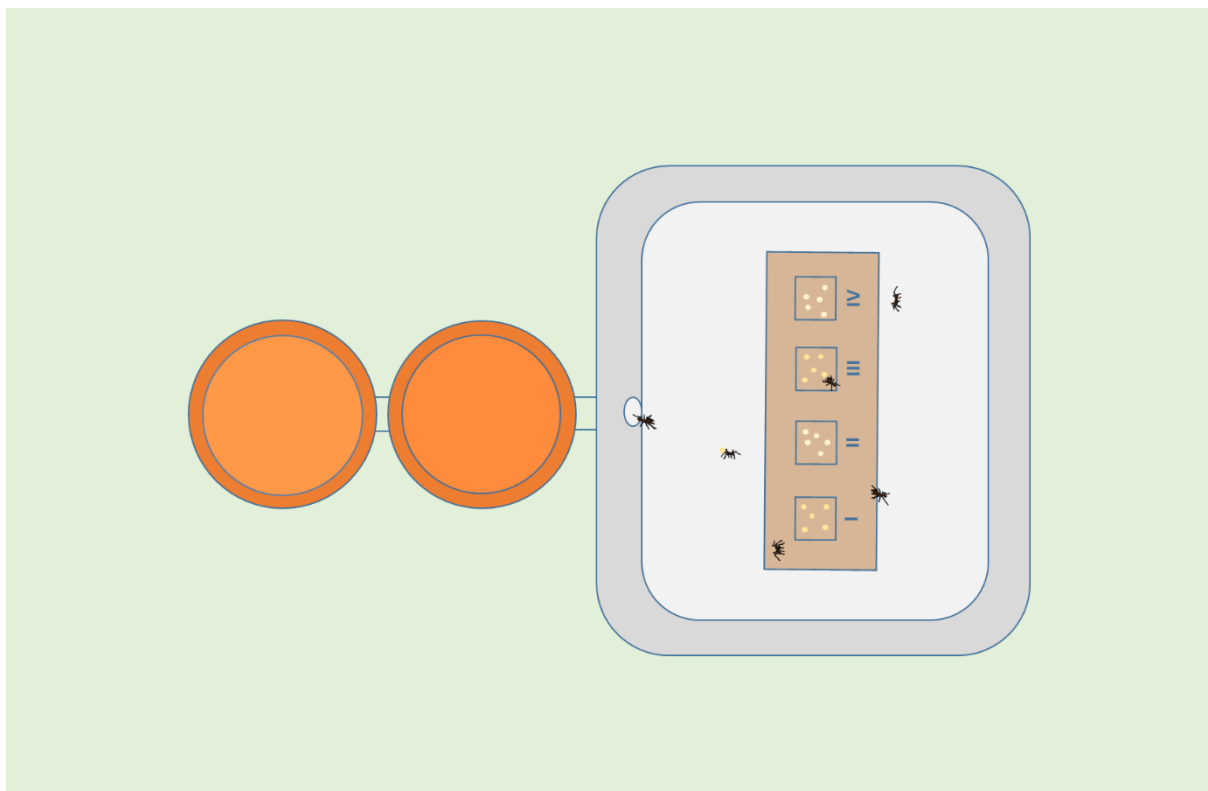


Figura 7. Imagem ilustrativa de montagem do ensaio de preferência. Fonte: Andresa Fung

soma dos flocos carregados em I-III e igualmente para II-IV. A escolha da utilização de flocos de arroz foi motivada por ser um substrato não oferecido previamente às colônias e por possuir porosidade facilitando a absorção da solução aplicada, água ou solução fúngica.

Todos os ensaios foram gravados com o auxílio de uma webcam acoplada ao computador e analisados no software BORIS 7.13.3 (FRIARD; GAMBA, 2016). A avaliação dos vídeos consistiu em contabilizar a quantidade de flocos carregados para fora de cada quadrado da placa de vidro de cada tratamento, controle ou solução fúngica, considerando como fim do teste após uma hora de observação ou até que um dos tratamentos fosse carregado por completo. A ordem desse oferecimento foi definida ao acaso para cada teste e foram realizados 36 ensaios para cada fungo endofítico.

Os dados foram submetidos à verificação da normalidade e homogeneidade de variâncias pelos testes Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente, pelo software R. Quando os resultados atenderam os pressupostos de normalidade e homogeneidade, foram realizados o Teste t pareado, do contrário, os dados foram analisados pelo teste de Wilcoxon utilizando o software SPSS.

5. RESULTADOS

5.1 Teste de pareamento

Os resultados do teste de pareamento mostraram que todos os isolados inibiram o crescimento de *L. gongylophorus*, embora *Aspergillus* sp., *Sarocladium* sp. e *Xylaria* sp. 2 não tomaram totalmente a placa de Petri. No caso de *Aspergillus* sp., após os 25 dias de avaliação, não houve contato físico direto com FM, e mesmo assim, sua presença na placa inibiu o crescimento de FM (Figura 8).



Figura 8. *Aspergillus sp.* após 25 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (A): *Aspergillus sp.* e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P= 0,000635.

O isolado de *Sarocladium sp.* também não tomou a placa completamente após o período de avaliação, mas é possível visualizar na Figura 9 a interação entre suas hifas vegetativas, quase transparentes, mas que deixaram a borda de FM escurecidas. Isto pode ser visualizado também para *Xylaria sp. 1* na Figura 10.

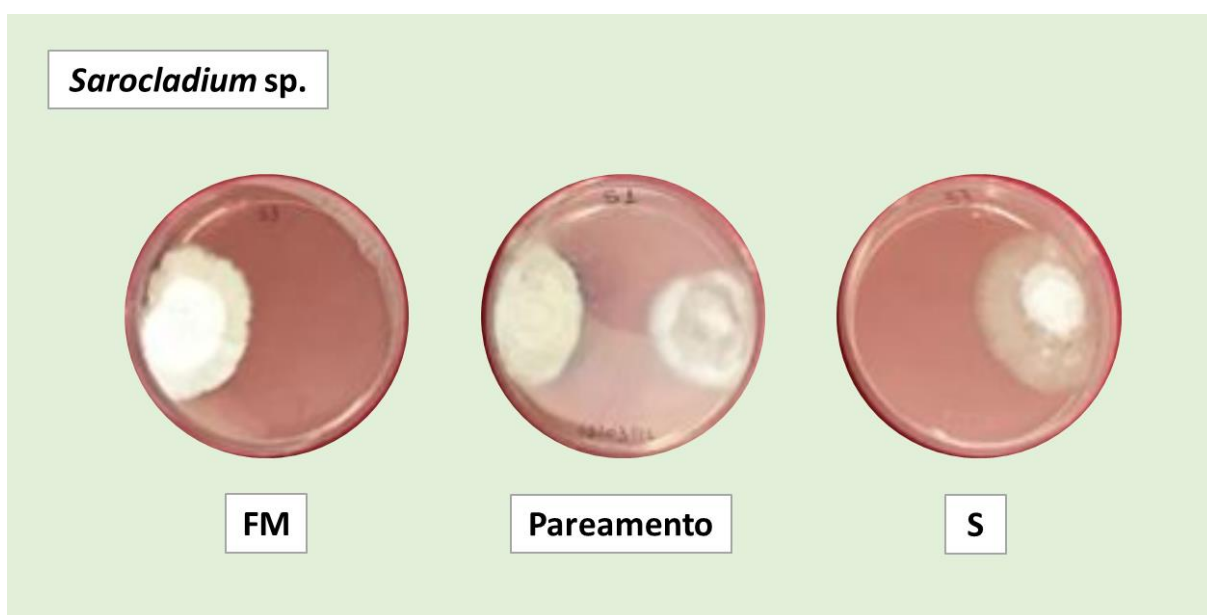


Figura 9. *Sarocladium sp.* após 25 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (S): *Sarocladium sp.* e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P= 0,008519.



Figura 10. *Xylaria sp.1* após 10 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (X1): *Xylaria sp. 1* e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de $P=0,000738$.

O isolado de *Trichoderma sp.* cobriu totalmente a placa após 5 dias, onde cresceu por cima do fungo mutualista e produziu esporos (Figura 11). Diferentemente do isolado de *Xylaria sp. 2*, que não tomou totalmente a placa ao fim dos 25 dias de experimento, entretanto, ainda assim inibiu o crescimento de FM (Figura 12).



Figura 11. *Trichoderma sp.* após 5 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (T): *Trichoderma sp.* e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de $P=0,003134$.



Figura 12. *Xylaria* sp. 2 após 25 dias de ensaio. (FM): *Leucoagaricus gongylophorus*, (X2): *Xylaria* sp. 2 e em pareamento: ambos os fungos na placa. Valor de P= 0,001411.

As taxas de inibição de crescimento dos fungos endofíticos frente ao FM foram calculados separadamente em três períodos: 5 dias (Tabela 3), 10 dias (Tabela 4) e 25 dias (Tabela 5). A análise foi realizada em momentos diferentes pois os testes de pareamento tiveram diferentes desempenhos e duração.

Tabela 3. Taxa de inibição e média de crescimento do FM em pareamento após 5 dias. Valores pareados comparados com FM controle. Média de FM controle: 23,17 mm.

PAREAMENTO COM:	TAXA DE INIBIÇÃO (%)	MÉDIA DE CRESCIMENTO (mm)
<i>Aspergillus</i> sp.	2,26	22,65
<i>Sarocladium</i> sp.	5,91	21,80
<i>Trichoderma</i> sp.*	17,91	18,88
<i>Xylaria</i> sp. 1	8,57	21,18
<i>Xylaria</i> sp. 2	2,17	22,67

*Ensaio no último dia pois o fungo tomou a placa de Petri por completo.

Tabela 4. Taxa de inibição e média de crescimento do FM em pareamento após 10 dias. Valores pareados comparados com FM controle. Média de FM controle: 28,57 mm.

PAREAMENTO COM:	TAXA DE INIBIÇÃO (%)	MÉDIA DE CRESCIMENTO (mm)
<i>Aspergillus</i> sp.	7,32	26,48
<i>Sarocladium</i> sp.	7,14	26,53
<i>Xylaria</i> sp. 1*	23,00	21,58
<i>Xylaria</i> sp. 2	7,14	26,53

*Ensaio no último dia pois o fungo tomou a placa de Petri por completo. O ensaio de *Trichoderma* sp. já havia terminado no dia 10.

No dia 5, *Trichoderma* já havia crescido por toda a placa, inclusive sobre FM. Sua taxa de inibição corresponde a maior taxa comparados com os outros fungos no mesmo dia. Os efeitos são similares em relação ao dia 10 para *Xylaria* sp. 1. As taxas de inibição dos isolados que foram medidos até os 25 dias encontram-se na Tabela 5:

Tabela 5. Taxa de inibição e média de crescimento do FM em pareamento após 25 dias. Valores pareados comparados com FM controle. Média de FM controle: 43,30 mm.

PAREAMENTO COM:*	TAXA DE INIBIÇÃO (%)	MÉDIA DE CRESCIMENTO (mm)
<i>Aspergillus</i> sp.	31,45	30,03
<i>Sarocladium</i> sp.	28,41	31,00
<i>Xylaria</i> sp. 2	27,83	31,25

*Os ensaios de *Trichoderma* sp. e *Xylaria* sp. 1 já tinham terminado no dia 25.

As notas baseadas na escala de Bell (1982) para os fungos endofíticos após o período de ensaio para os fungos *Trichoderma* sp. e *Xylaria* sp. 1, foram nota 1. A nota 1 significa o fungo endofítico (FE) superou completamente FM e cobriu 100% da placa. Os fungos *Aspergillus* sp., *Sarocladium* sp. e *Xylaria* sp. 2 obtiveram a nota 2 ao final do ensaio, em que FE cresceu completamente em pelo menos 2/3 da placa.

5.2 Metabólitos não-voláteis

Para o teste de metabólitos não-voláteis, foi possível notar que embora tenha sido utilizado o mesmo meio de cultura (BD), a coloração da solução resultante do processo de fermentação e filtragem diferiu entre os isolados conforme mostra a Figura 13:



Figura 13. Metabólitos não-voláteis produzidos por cada isolado após a fermentação.

Na concentração de 50%, *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. foram significativos na inibição de crescimento de FM. Os fungos *Sarocladium* sp., *Xylaria* sp. 1 e *Xylaria* sp. 2, não apresentaram diferenças significativas de crescimento de FM comparados com o crescimento de FM em meio de cultura BDA (controle) no 28° e último dia de medição (Figura 14).

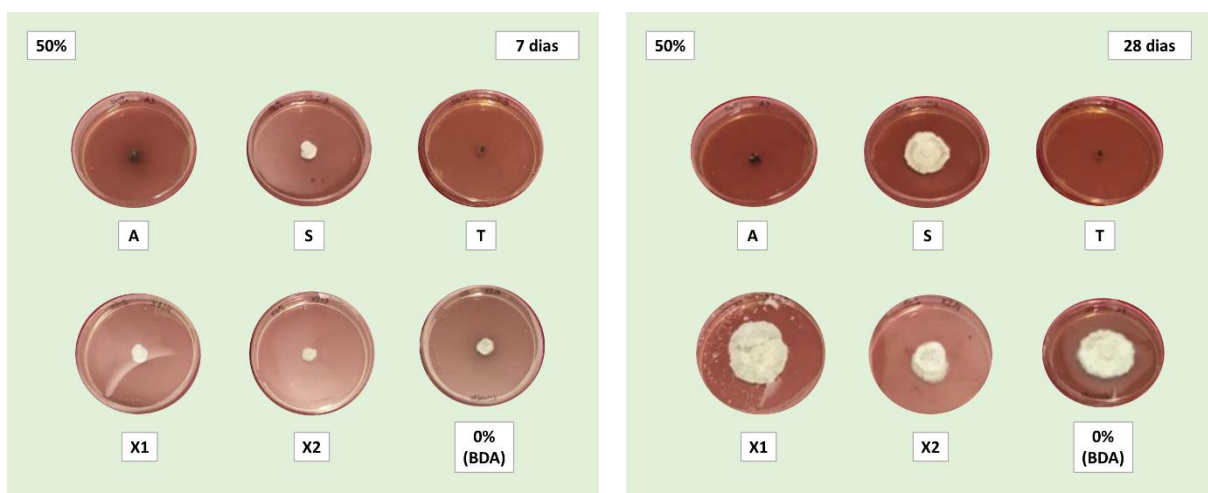


Figura 14. Ensaio de metabólitos não-voláteis na concentração de 50% de solução fúngica. No centro da placa estão os *plugs* do FM. À esquerda, aos 7 dias e à direita após 28 dias. (A) *Aspergillus* sp., (S) *Sarocladium* sp., (T) *Trichoderma* sp., (X1) *Xylaria* sp. 1, (X2) *Xylaria* sp. 2 e 0% (BDA) é o controle contendo somente meio de cultura.

Para a concentração de 25%, *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. também apresentaram efeitos de inibição no crescimento do FM após 28 dias. Os filtrados dos demais isolados *Sarocladium* sp., *Xylaria* sp. 1 e *Xylaria* sp. 2 não foram observadas diferenças significativas quanto ao crescimento do FM em meio BDA (controle), conforme mostra a Figura 15:

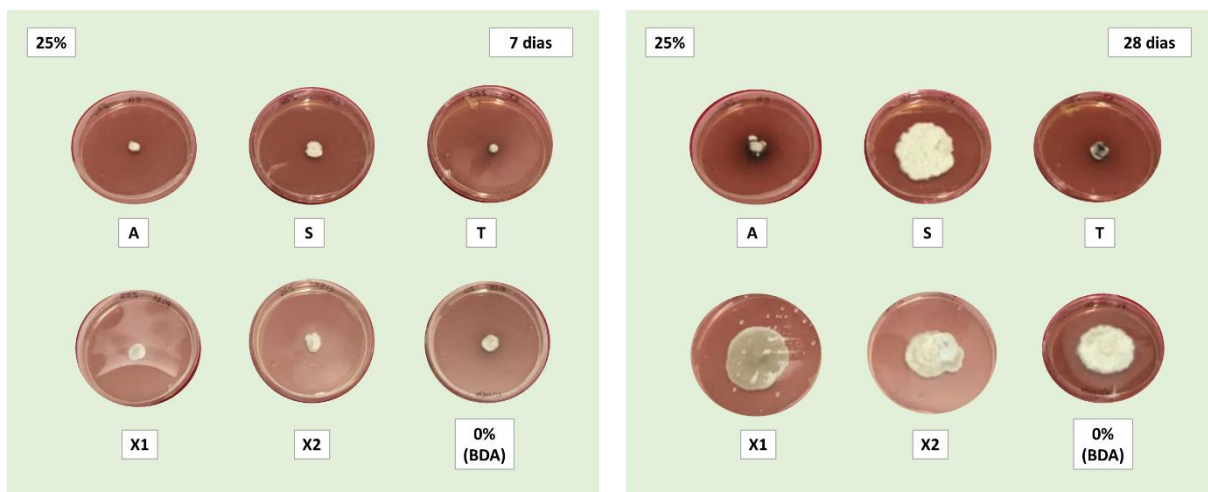


Figura 15. Ensaio de metabólitos não-voláteis na concentração de 25% de solução fúngica. No centro da placa estão os plugs do FM. À esquerda, aos 7 dias e à direita após 28 dias. (A) *Aspergillus* sp., (S) *Sarocladium* sp., (T) *Trichoderma* sp., (X1) *Xylaria* sp. 1, (X2) *Xylaria* sp. 2 e 0% (BDA) é o controle contendo somente meio de cultura.

A Figura 16 ilustra o crescimento do FM em todos os tratamentos durante as medições. É possível visualizar que para os tratamentos de *Sarocladium* sp., *Xylaria* sp. 1 e *Xylaria* sp. 2 possuem uma tendência de crescimento similar ao FM controle (BDA). As linhas do gráfico demonstram a redução de crescimento do FM sobre meio de cultura incorporado com *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. em ambas as concentrações.

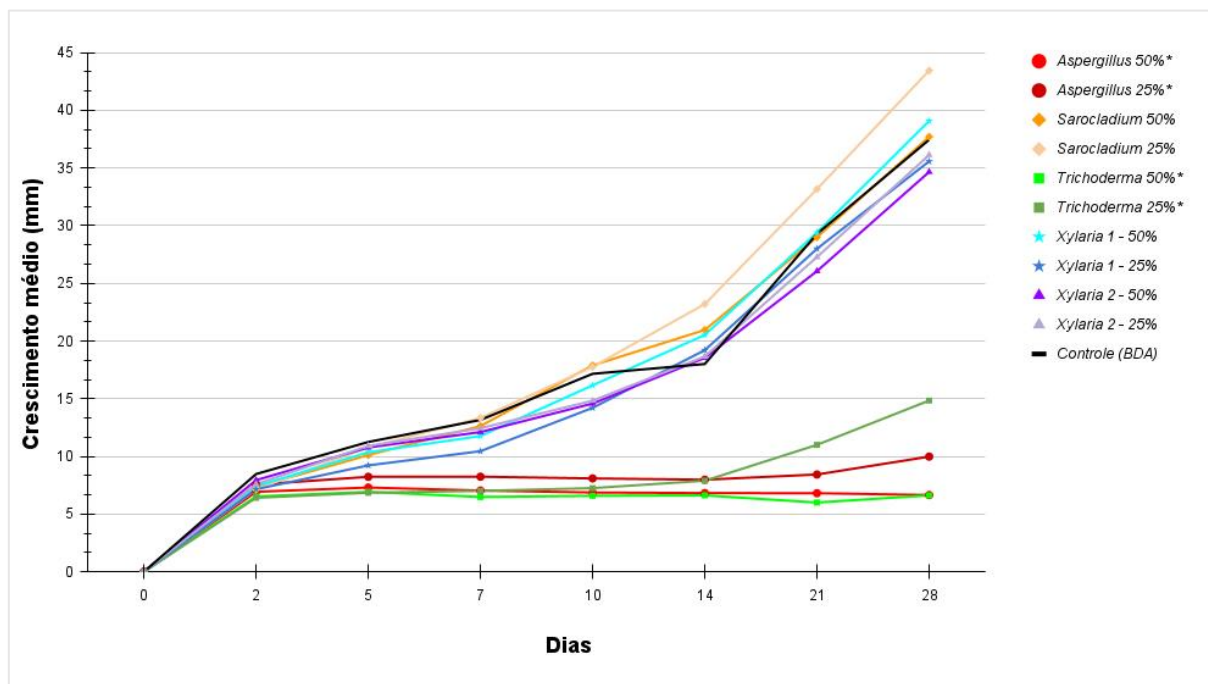


Figura 16. Crescimento médio do FM ao longo das medições. (*) identifica os tratamentos em que houve diferenças significativas quando comparados com o Controle (BDA). *Aspergillus* sp. 50% e 25% ($P < 0,0001$),

Trichoderma sp. 50% e 25% ($P < 0,0001$).

Após o 28 dia de medição, o crescimento do FM foi comparado entre os tratamentos. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos comparados com o controle, exceto para *Aspergillus* e *Trichoderma* sp. como mostra a Figura 17.

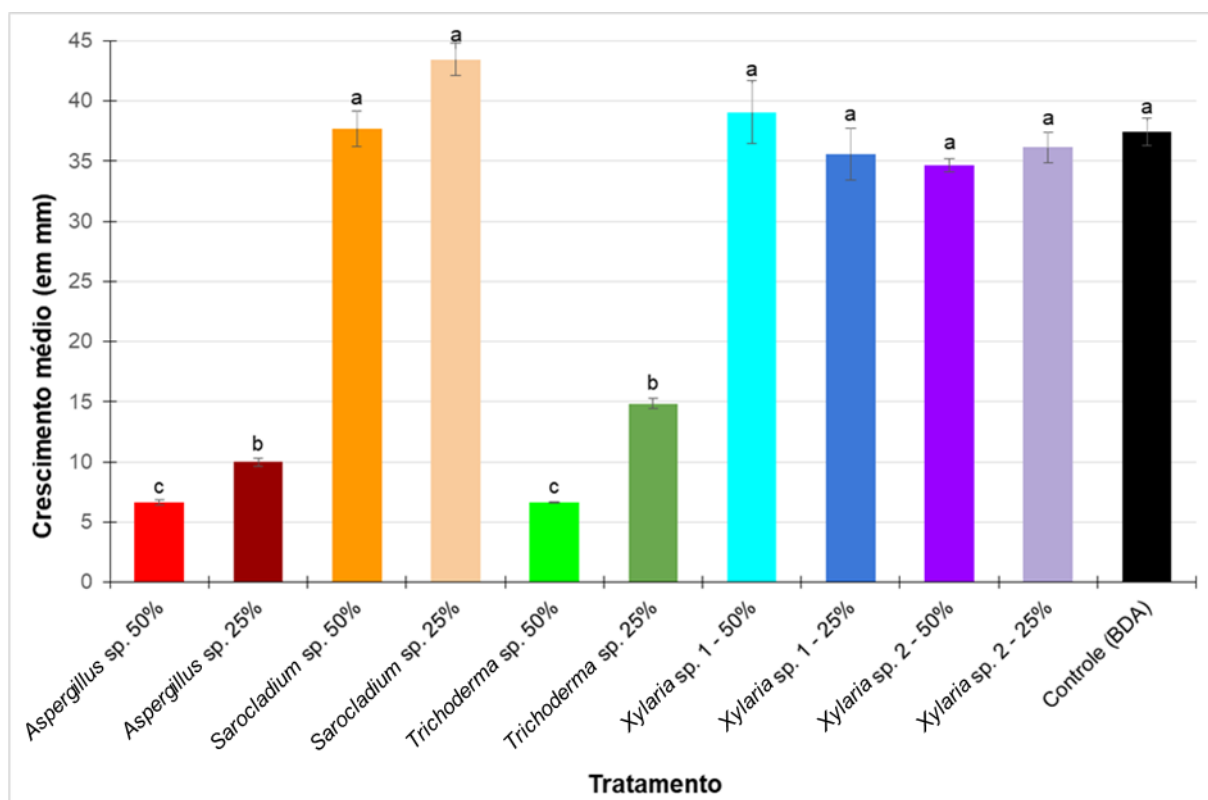


Figura 17. Crescimento médio do FM ao fim das medições (dia 28). Letras distintas indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

O crescimento do FM sobre o meio de cultura incorporado com filtrados de *Trichoderma* sp. na concentração de 50% não apresentou diferença significativa entre os dias 7 e 28, conforme mostram a Figura 18 e a Tabela 6. Dessa forma, este tratamento inibiu o crescimento do FM a partir do dia 7 de avaliação.

Para *Aspergillus* sp. 50%, os resultados mostraram que entre os dias 7 e 28, houve inibição do crescimento do FM. Na concentração de 25%, os dados mostraram que para ambos os tratamentos (*Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp.), FM continuou crescendo entre os dias 7 e 28 embora comparado com o crescimento do FM controle (BDA), houve inibição de seu

crescimento (Figura 18 e Tabela 6).

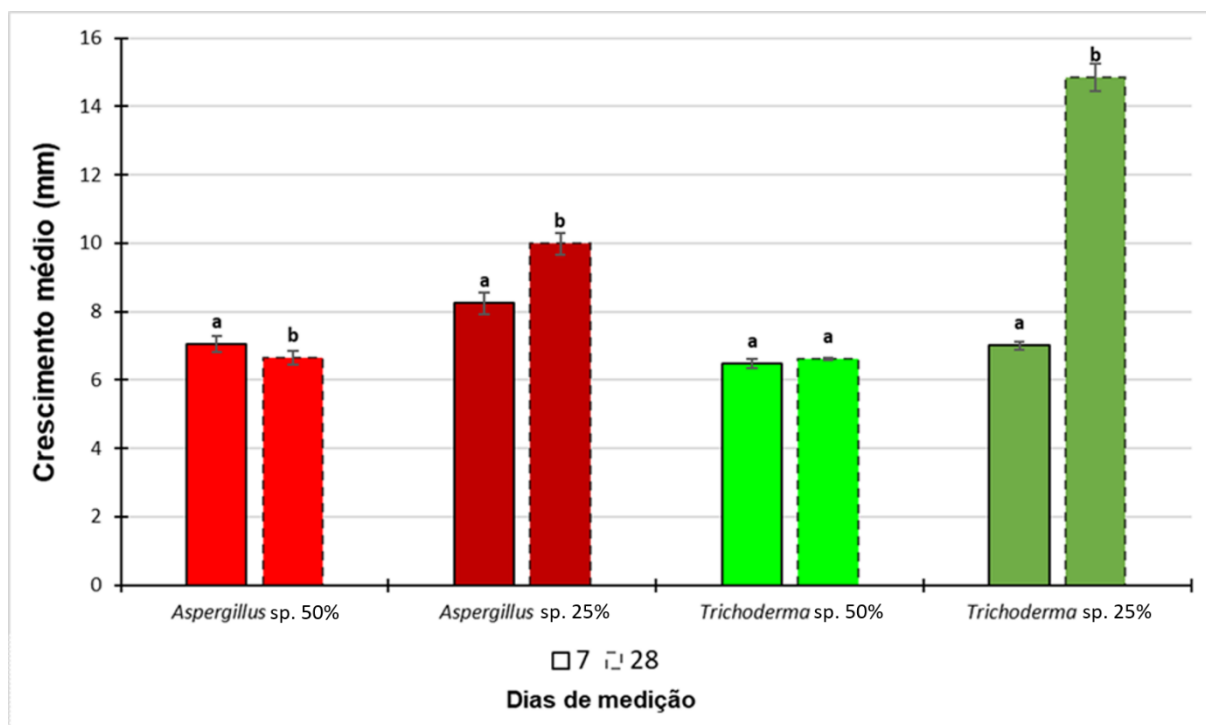


Figura 18. Crescimento médio do FM em meio de cultura com filtrados dos FEs, representando os tratamentos 50% e 25% para os fungos *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.* avaliados no 7° e 28° dia.

Tabela 6. Valores de P referentes às análises estatísticas pelo Teste t pareado a 5% de significância. Crescimento de FM nos dias 07 e 28 para os meios de cultura contendo filtrados de *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.* nas duas concentrações (50% e 25%).

TRATAMENTO	VALOR DE P
<i>Aspergillus sp.</i> 50%	0,003
<i>Aspergillus sp.</i> 25%	0,002
<i>Trichoderma sp.</i> 50%	0,237
<i>Trichoderma sp.</i> 25%	<0,0001

5.3 Testes de toxicidade

Os testes de toxicidade demonstraram que todos os fungos endofíticos testados causaram mortalidade significativa nas operárias na concentração de 50%. Na concentração de 25%, *Aspergillus sp.*, *Sarocladium sp.* e *Trichoderma sp.* também apresentaram mortalidade significativa nas operárias. As Figuras 19-21 representam a curva de sobrevivência das

operárias ao longo dos 21 dias de experimento para cada um dos fungos testados e as Tabelas 7-11, indicam a porcentagem de mortalidade acumulada por dia para cada um dos fungos nas duas concentrações testadas e a dieta pura utilizada para controle.

Os resultados da solução filtrada proveniente do isolado *Aspergillus* sp. utilizado na dieta artificial oferecida às operárias mostrou ação inseticida em ambas as concentrações testadas (Figura 19). A taxa de mortalidade foi de 96% nas duas concentrações testadas e alcançou metade dos indivíduos testados para cada tratamento nos dias 13 e 16, respectivamente (Tabela 7).

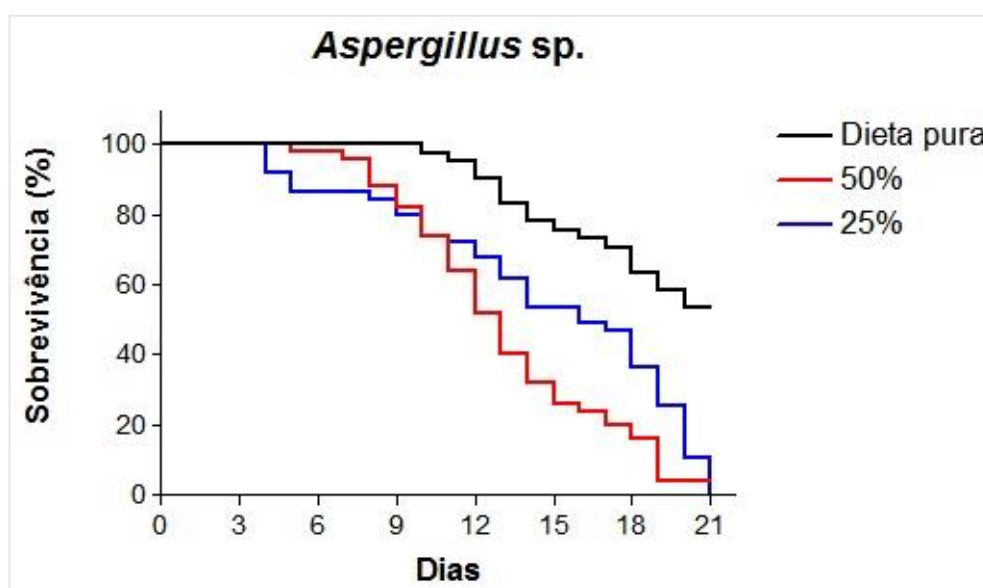


Figura 19. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Aspergillus* sp. durante o período de 21 dias.

Tabela 7. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Aspergillus* sp. oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.

TRATAMENTO	% ACUMULADA DE MORTALIDADE POR DIA									VALOR DE P
	1	2	3	6	9	12	16	21	Md*	
Dieta Pura	0	0	0	0	0	8	22	38	>21a	-
50%	0	0	0	2	18	48	76	96	13c	p<0,0001
25%	0	0	0	14	20	32	50	96	16b	p<0,0001

*A mediana (Md) representa o dia do experimento em que a mortalidade atingiu 50% da amostra (25 formigas). Letras distintas em relação à Dieta Pura (controle) indicam diferença significativa de acordo com o teste “Log-rank” (p<0,05).

Os resultados da solução filtrada proveniente do isolado *Sarocladium* sp. utilizado na dieta artificial oferecida às operárias mostrou ação inseticida em ambas as concentrações testadas (Figura 20). A taxa de mortalidade foi de 82% na concentração de 50% de filtrados e 68% para a concentração de 25% e a taxa de mortalidade atingiu metade dos indivíduos testados para cada tratamento nos dias 17 e 19, respectivamente (Tabela 8).

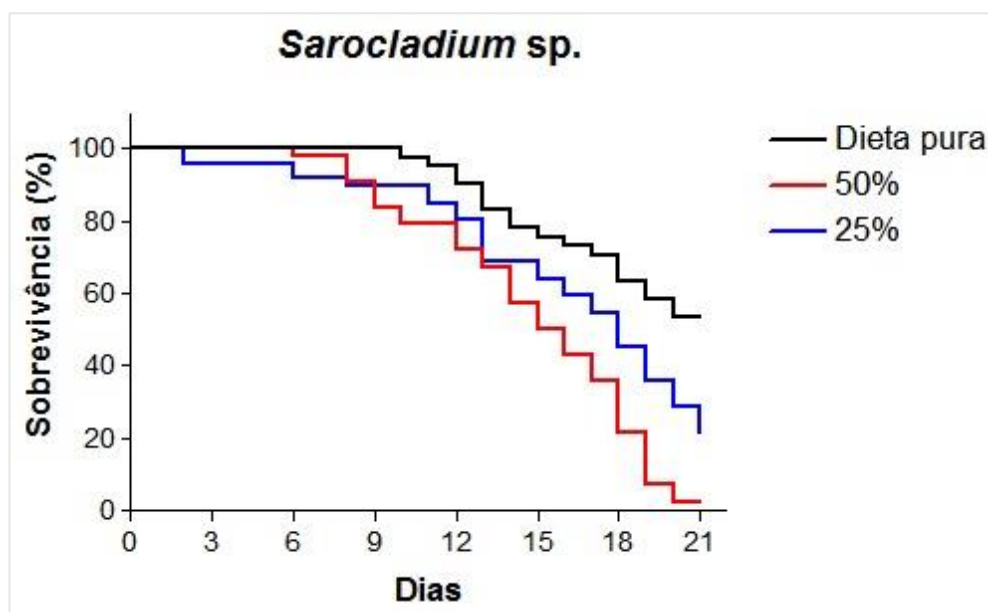


Figura 20. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Sarocladium* sp. durante o período de 21 dias.

Tabela 8. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Sarocladium* sp. oferecidos por 21 dias em duas concentrações com opção de dieta pura.

TRATAMENTO	% ACUMULADA DE MORTALIDADE POR DIA								Md*	VALOR DE P
	1	2	3	6	9	12	16	21		
Dieta Pura	0	0	0	0	0	8	22	38	>21a	-
50%	0	0	0	2	14	24	48	82	17c	p<0,0001
25%	0	4	4	8	10	18	36	68	19b	p=0,0043

*A mediana (Md) representa o dia do experimento em que a mortalidade atingiu 50% da amostra (25 formigas). Letras distintas em relação à Dieta Pura (controle) indicam diferença significativa de acordo com o teste “Log-rank” (p<0,05)

Os resultados da solução filtrada proveniente do isolado *Trichoderma* sp. utilizado na dieta artificial oferecida às operárias mostrou ação inseticida em ambas as concentrações testadas (Figura 21). A taxa de mortalidade foi de 96% na concentração de 50% de filtrados e 78% para a concentração de 25% e a taxa de mortalidade atingiu metade dos indivíduos testados para cada tratamento nos dias 12 e 18, respectivamente (Tabela 9).

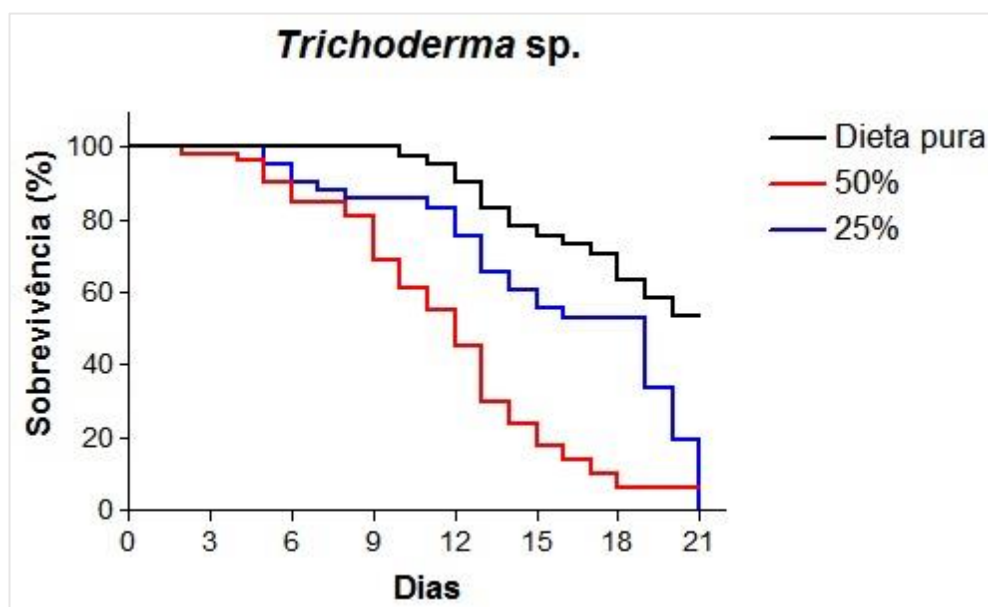


Figura 21. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Trichoderma* sp. durante o período de 21 dias.

Tabela 9. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Trichoderma* sp. oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.

TRATAMENTO	% ACUMULADA DE MORTALIDADE POR DIA									Md*	VALOR DE P
	1	2	3	6	9	12	16	21			
Dieta Pura	0	0	0	0	0	8	22	38		>21a	-
50%	0	2	2	16	32	56	88	96		12c	p<0,0001
25%	0	0	0	8	12	20	38	78		18b	p=0,0004

*A mediana (Md) representa o dia do experimento em que a mortalidade atingiu 50% da amostra (25 formigas). Letras distintas em relação à Dieta Pura (controle) indicam diferença significativa de acordo com o teste “Log-rank” (p<0,05).

Os resultados da solução filtrada proveniente do isolado *Xylaria* sp. 1 utilizado na dieta artificial oferecida às operárias mostrou ação inseticida apenas na concentração de 50% (Figura 22). A taxa de mortalidade foi de 76% na concentração de 50%, mas para a concentração de 25%, não houve mortalidade associada à dieta oferecida. Além disso, a taxa de mortalidade atingiu metade dos indivíduos testados apenas para a concentração de 50% no dia 14 (Tabela 10).

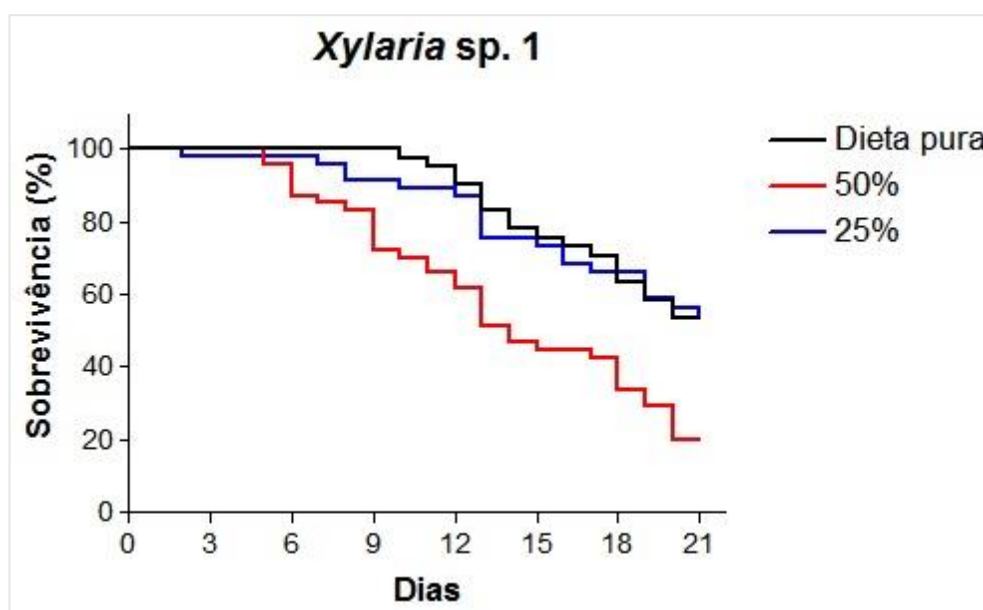


Figura 22. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Xylaria* sp. 1 durante o período de 21 dias.

Tabela 10. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Xylaria* sp. 1 oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.

TRATAMENTO	% ACUMULADA DE MORTALIDADE POR DIA								MD*	VALOR DE P
	1	2	3	6	9	12	16	21		
Dieta Pura	0	0	0	0	0	8	22	38	>21a	-
50%	0	0	0	14	28	38	54	76	14b	p=0,0002
25%	0	2	2	2	8	12	28	40	>21a	p=0,8895

*A mediana (Md) representa o dia do experimento em que a mortalidade atingiu 50% da amostra (25 formigas). Letras distintas em relação à Dieta Pura (controle) indicam diferença significativa de acordo com o teste “Log-rank” (p<0,05).

Os resultados da solução filtrada proveniente do isolado *Xylaria* sp. 2 utilizado na dieta artificial oferecida às operárias mostrou ação inseticida apenas na concentração de 50% (Figura 23). A taxa de mortalidade foi de 82% na concentração de 50%, mas para a concentração de 25%, não houve mortalidade associada à dieta oferecida. Além disso, a taxa de mortalidade atingiu metade dos indivíduos testados no dia 16 para a concentração de 50% e dia 20 na concentração de 25% (Tabela 11).

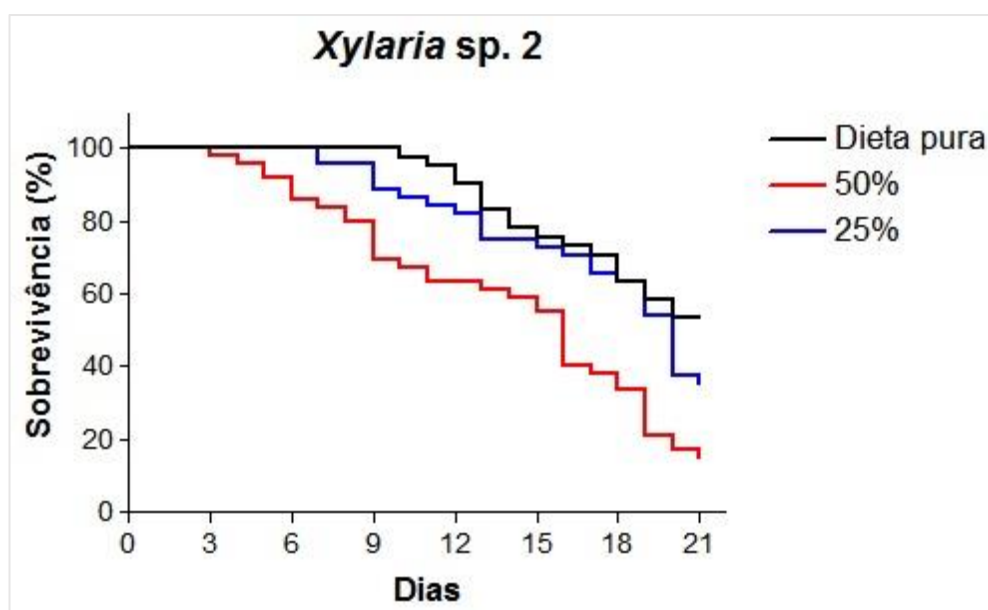


Figura 23. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Xylaria* sp. 2 durante o período de 21 dias.

Tabela 11. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial de metabólitos secundários produzidos pelo isolado de *Xylaria* sp. 2 oferecidos por 21 dias em duas concentrações e dieta pura.

TRATAMENTO	% ACUMULADA DE MORTALIDADE POR DIA								MD*	VALOR DE P
	1	2	3	6	9	12	16	21		
Dieta Pura	0	0	0	0	0	8	22	38	>21a	-
50%	0	0	2	14	30	36	58	82	16b	p<0,0001
25%	0	0	0	0	10	16	26	56	20a	p=0,1478

*A mediana (Md) representa o dia do experimento em que a mortalidade atingiu 50% da amostra (25 formigas). Letras distintas em relação à Dieta Pura (controle) indicam diferença significativa de acordo com o teste “Log-rank” (p<0,05).

5.4 Testes de preferência

Os resultados mostraram que apenas os metabólitos produzidos por *Xylaria* sp. 1 foram menos carregados pelas formigas-cortadeiras, quando comparados com os flocos oferecidos apenas com água. Os demais fungos, não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Não houve diferença significativa (Tabela 12) quanto à preferência ou repelência dos filtrados para esses fungos nas concentrações testadas (Figura 24).

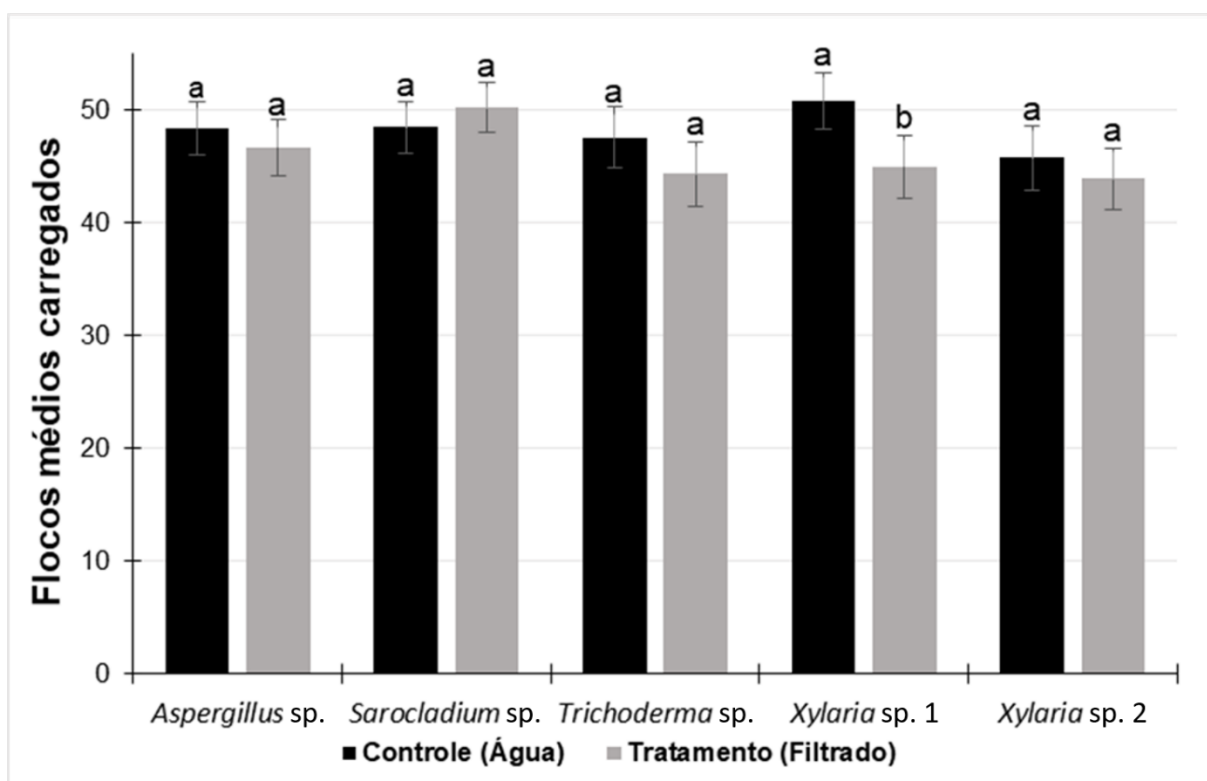


Figura 24. Média de flocos carregados por Tratamento (Filtrado) e Controle (Água). Letras distintas em relação ao Controle (Água) indicam diferença significativa de acordo com o teste de Wilcoxon ($p < 0,05$).

Tabela 12. Valores de P referentes às análises estatísticas dos testes de preferência (Wilcoxon a 5% de significância).

TRATAMENTO (FILTRADO)	VALOR DE P
<i>Aspergillus</i> sp.	0,371
<i>Sarocladium</i> sp.	0,509
<i>Trichoderma</i> sp.	0,131
<i>Xylaria</i> sp. 1	0,016

6. DISCUSSÃO

6.1 Ação fungicida

Nos últimos anos, diversos trabalhos vêm abordando a complexidade das interações entre as formigas-cortadeiras, seu fungo simbiote e outros agentes que possam interferir no equilíbrio desse sistema, a fim de encontrar pontos estratégicos que possam sugerir opções para o controle desses insetos (CURRIE; MUELLER; MALLOCH, 1999; GOES *et al.*, 2020).

Os testes de pareamento visaram avaliar as taxas de inibição de crescimento do FM por parte dos fungos endofíticos. Ortiz e Orduz (2001) testaram diferentes isolados de *Trichoderma* contra o fungo mutualista de *Atta cephalotes* pelo método de pareamento. As taxas de inibição após 7 dias de teste variaram, desde 0% a 53%, entretanto, o isolado de *T. longibrachiatum*, favoreceu o crescimento do FM em 15%. Nos resultados obtidos neste trabalho, todos os isolados testados inibiram o crescimento de FM mesmo com a vantagem de dez dias dada à FM nas placas de Petri. Não foram observados halos de inibição do mutualista frente aos fungos endofíticos testados como tentativa de defesa.

Para o isolado de *Trichoderma* sp. e *Xylaria* sp. 1, estes receberam nota 1 na escala de Bell (1982) e, portanto, tomaram a placa nos dias 5 e 10, respectivamente. Demonstraram uma velocidade de crescimento mais rápida que a do FM, fato que contribuiu para que a inibição ocorresse de maneira mais acelerada. É interessante ressaltar que para os tratamentos envolvendo os FEs que não tomaram a placa em 25 dias e receberam nota 2 como foi o caso de *Aspergillus* sp., ele obteve a maior taxa de inibição (31,45%) sem contato físico direto aparente com FM, seguido de *Sarocladium* sp. (28,41%) e por último *Xylaria* sp. 2 (27,83%).

A alteração na coloração do FM foi relatada por Moia (2014) para *Sarocladium kiliense* e que apresentou taxa de inibição de 33% após 15 dias de ensaio. Para os isolados de *Sarocladium* sp., *Xylaria* sp. 1, e *Xylaria* sp. 2, foram observadas mudanças nessa coloração do FM, quando em contato com os outros fungos, isto se deve, possivelmente em reação aos compostos secundários liberados pelas hifas vegetativas dos FEs.

No entanto, para o teste de filtrados, em que foi avaliado o potencial dos metabólitos secundários produzidos pelos FEs para inibir o crescimento do FM, os isolados *Sarocladium*

sp. e *Xylaria* sp. 1 e 2, não demonstraram inibição do FM. Como resultado, infere-se que a inibição no teste de pareamento pode não estar associada aos metabólitos não-voláteis produzidos, mas à própria competição com os FEs pelos nutrientes do meio de cultura. Além disso, os metabólitos voláteis, podem ter contribuído para a inibição do crescimento do FM, uma vez que esse fato ocorreu somente no teste de pareamento.

Varanda-Haifig *et al.* (2017) observaram que *Escovopsis* spp. e *Escovopsioides nivea* produzem compostos antifúngicos contra FM a partir do contato físico, o que poderia justificar porque os metabólitos produzidos por alguns fungos testados (*Sarocladium* sp., *Xylaria* sp. 1 e 2) não foram eficazes para inibir FM no teste de filtrados. Este fato corrobora com os resultados obtidos nos testes de pareamento, em que as hifas de FM e FEs estavam próximas para que houvesse produção de metabólitos que inibiram o crescimento de FM.

Os isolados de *Aspergillus* sp. e de *Trichoderma* sp. foram os únicos eficientes em ambos os testes *in vitro*. A inibição causada ao FM sugere que os metabólitos produzidos atuaram diretamente no seu crescimento e no caso de *Trichoderma* sp. à 50%, não foram observadas diferenças significativas entre as medições do dia 7 e 28, mostrando que FM praticamente não alterou suas características morfológicas sob essas condições (Figuras 14 e 18).

Fungos do gênero *Aspergillus* são ricas fontes de compostos de interesse como antifúngicos e anti-inflamatórios. Em um trabalho de El-Hawary *et al.* (2020), dentre várias espécies, *A. fumigatus*, *A. versicolor* e *A. terreus* foram consideradas as mais associadas às plantas como endofíticas e com mais compostos secundários produzidos. Os resultados obtidos neste trabalho identificaram o isolado testado com grande potencial em sua ação fungicida e inseticida.

Diversas espécies de *Trichoderma* já são amplamente utilizados em formulações comerciais para controle de fitopatógenos. Dentro do seu potencial contra pragas, de maneira indireta, fungos do gênero *Trichoderma* podem atuar como micoparasitas em fungos simbioses de insetos que cultivam fungos como no caso de formigas-cortadeiras (*Atta* spp., *Acromyrmex* spp. e *Amoimyrmex* spp.) e seu fungo associado (*L. gongylophorus*) ou em besouros *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) e fungos dos gêneros *Ambrosiella* sp. e *Raffaelea* sp. (CASTRILLO *et al.*, 2016; KUSHIYEV *et al.*, 2021; LOPEZ; ORDUZ, 2003; POVEDA, 2021).

De maneira direta, diversos estudos envolvendo espécies de *Trichoderma* demonstram

seu potencial contra formigas-cortadeiras e em diferentes abordagens: uso de iscas, aplicação tópica, endofítico em eucalipto, avaliação de comportamento e resposta da colônia, entre outros (BATISTA *et al.*, 2022; DA SILVA *et al.*, 2020; DAZA *et al.*, 2019; FILHO *et al.*, 2021b; LACERDA *et al.*, 2010; OCAMPO, 2018; ROCHA *et al.*, 2017; STEFANELLI *et al.*, 2020a, 2020b). Este gênero é caracterizado por possuir crescimento rápido e apresentar esporos com ampla dispersão (VINALE *et al.*, 2008). Essas características podem ser promissoras para o controle de insetos com estruturas de defesas complexas como as formigas-cortadeiras.

Os resultados dos testes envolvendo FEs e o FM, em testes de pareamento e no uso dos filtrados sugerem que o isolamento, identificação dos compostos, ou grupo de compostos com atividade antifúngica podem ser interessantes para que em testes futuros a eficiência seja maximizada e sua atividade melhor monitorada. Isso também é interessante para testes visando avaliar a atividade dos compostos voláteis produzidos pelos fungos, tal como a produção dos metabólitos quando em contato com FM.

6.2 Ação inseticida e testes de preferência

Nos ensaios de toxicidade das operárias, os filtrados provenientes dos gêneros *Aspergillus* sp, *Trichoderma* sp. e *Sarocladium* sp. apresentaram mortalidade em ambas as concentrações testadas (50% e 25%). Para o *Aspergillus* sp. a taxa de mortalidade foi de 96% para ambas as concentrações no final do período de avaliação. Para *Sarocladium* sp. essa taxa foi de 82% e 68% respectivamente, e para *Trichoderma* sp. um total de 96% e 78% de mortalidade nas concentrações avaliadas. El-sayed *et al.* (2020) encontrou resultados similares ao testar a ingestão de extratos produzidos por *Sarocladium strictum* e *Aspergillus nidulans* pelas larvas de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Nesse caso, além da mortalidade, os extratos aumentaram a duração da fase imatura das lagartas e causou deformidades nas pupas. Os autores sugeriram que a presença de compostos como ácidos graxos nos extratos estaria relacionada à ação inseticida obtida a partir de fungos endofíticos (EL-SAYED *et al.*, 2020; ELBANHAWY *et al.*, 2019). Dessa forma, compostos produzidos pelos FEs testados podem estar relacionados à mortalidade das operárias.

Ribeiro *et al.* (2012) relataram toxicidade de *Aspergillus ochraceus* em operárias de *Atta bisphaerica* a partir da aplicação tópica com suspensão de conídios. Silva-Junior *et al.* (2017) observaram patogenicidade de *Aspergillus nomius* ASR3 em rainha de *Atta sexdens*. Em um

trabalho de Hughes e Boosma (2004), a combinação de *Metarhizium anisopliae* e *Aspergillus flavus* na aplicação tópica de suspensão de conídios em operárias de *Acromyrmex echinatior* demonstrou alta capacidade de infecção e esporulação por *A. flavus*. Os autores sugeriram que compostos produzidos por *M. anisopliae*, fungo conhecido por suas propriedades entomopatogênicas, poderiam ter diminuído a imunidade dos insetos, favorecendo a infecção por *A. flavus*, conhecido por ser um fungo oportunista.

A produção de micotoxinas são relatadas para fungos desse gênero como tóxicas para animais (LATGÉ; CHAMILOS, 2020). Os compostos presentes nos metabólitos produzidos pelo isolado de *Aspergillus* através da fermentação, podem estar associadas às respostas tóxicas obtidas neste trabalho. Os trabalhos citados anteriormente e os resultados obtidos apresentam evidências do potencial para fungos deste gênero no controle biológico de insetos em diferentes mecanismos de ação como tópica e ingestão.

Fungos do gênero *Trichoderma* spp. possuem diversos mecanismos de ação diretos ou indiretos para ação contra pragas como a aplicação tópica de suspensão de conídios ou por compostos secundários (ANWAR *et al.*, 2016; EVIDENTE *et al.*, 2009; NASUTION *et al.*, 2018; NAWAZ *et al.*, 2020).

Dessa forma, pode-se inferir que estes compostos produzidos possuem grande potencial na atuação contra pragas, uma vez que enzimas como quitinases produzidas por *Trichoderma viride* foram relatadas como prejudiciais ao desenvolvimento de lagarta de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) por meio da ingestão, em que afetaram a fase pupal e causaram mortalidade (BERINI *et al.*, 2015). Resultados parecidos foram encontrados com operárias de *Atta sexdens*, em que a mortalidade foi mais alta quando em contato com substrato de arroz tratado com *Trichoderma*. A autora sugere que os resultados podem estar relacionados às propriedades inseticidas do fungo como quitinases e proteases produzidas, que poderiam facilitar a entrada de toxinas pela cutícula da formiga (ROCHA, 2011).

Para os fungos *Xylaria* spp. (1 e 2), os resultados mostraram que a mortalidade das operárias associada à ingestão da dieta artificial com solução filtrada produzida ocorreu apenas na concentração de 50%, atingindo 76% e 82%, respectivamente, o que sugere que a concentração dos compostos presentes na solução foi importante para a sua atuação por antibiose na ingestão.

Wu, Chen e Miao (2011) identificaram compostos secundários produzidos por *Xylaria* sp. isolada de planta de nim (*Azadirachta indica*) e testaram a ação inseticida em lagartas de

Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae). Todos os compostos apresentaram ação inseticida, e embora, a taxa de mortalidade não tenha sido considerada alta, não se exclui o potencial das propriedades testadas (MACÍAS-RUBALCAVA; SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, 2017). Nos resultados obtidos neste trabalho, as duas espécies de *Xylaria*, apresentaram mortalidade para as operárias na concentração mais alta, sendo assim, é um indício de que existem propriedades interessantes a serem exploradas futuramente. Uma maneira de adequar a seleção de compostos e concentrações para testes futuros é a partir da obtenção de extratos dos metabólitos produzidos pelos fungos através da destilação por retroevaporação por diferentes solventes visando separar os compostos, identificá-los e aumentar a eficiência na toxicidade das operárias.

Os testes de preferência indicaram que os metabólitos dos fungos *Aspergillus* sp., *Sarocladium* sp., *Trichoderma* sp. e *Xylaria* sp. 2, não apresentaram resultados significativos relacionados à preferência pelas formigas cortadeiras, sendo assim, carregaram igualmente flocos com água e flocos com os metabólitos produzidos pelos fungos testados. Estudos sugerem que um substrato ser atrativo ou não para formigas-cortadeiras pode estar associado também aos compostos voláteis, que não foram avaliados nesse trabalho (BATISTA-PEREIRA *et al.*, 2006; GREEN; KOUIJ, 2018; JEMAA, 2014). Além disso, esse teste buscou avaliar a preferência imediata das operárias. Não foram avaliados os efeitos no fungo mutualista após a incorporação dos flocos. É possível que a longo prazo, os metabólitos poderiam afetar negativamente FM, a produção de semioquímicos pelo FM poderia sinalizar às formigas para alterar o comportamento de preferência dos flocos (GREEN; KOUIJ, 2018).

Em relação à *Xylaria* sp. 1, houve preferência pelo carregamento de flocos com água (controle) quando comparado com flocos com metabólitos produzidos pelo fungo. Os resultados sugerem que algum composto produzido por *Xylaria* sp. 1 poderia ter causado a preferência pelos flocos com água. Como não foram identificados os compostos produzidos pelos fungos, para estudos futuros seria interessante identificá-los para melhor entendimento da preferência pelas formigas-cortadeiras.

Entre os isolados de *Xylaria* utilizados neste trabalho, os dois isolados são bem diferentes dentro da árvore filogenética (Anexo A) obtida por Oliveira (2020). A *Xylaria* sp. 1 representada por CUN12 e *Xylaria* sp. 2 por PIN42. Dessa forma, os resultados distintos entre os isolados podem ser explicados pela diversidade da espécie e possivelmente os compostos produzidos por cada isolado.

6.4 Interações multitróficas, desafios e perspectivas

Como pontuado anteriormente, os fungos endofíticos (FEs) podem atuar em benefício à sua planta hospedeira por conta de alguns mecanismos como antibiose, competição e parasitismo contra o organismo alvo. Eles também podem promover alguns efeitos indiretos como a promoção de crescimento tal como a resistência induzida que possibilitam um melhor desenvolvimento da planta resultando em melhores defesas e resistência perante pragas e patógenos (CANUTO *et al.*, 2012; GHAZANFAR *et al.*, 2018; JABER; OWNLEY, 2018).

Lacerda *et al.* (2010) testou a mortalidade de operárias de *Atta sexdens* que estiveram em contato com lixo da colônia resultante de diversas fontes vegetais (*Acalypha wilkesiana*, *Ligustrum japonicum* e *Eucalyptus urophylla*) e isolou os fungos presentes no material. Dentre outros fungos identificados, *Aspergillus flavus* e *Trichoderma viride* estavam presentes nos rejeitos de todos os tratamentos e as operárias em contato com a *A. wilkesiana* tiveram maiores taxas de sobrevivências. Além das propriedades dos fungos na atuação direta contra as formigas, a planta *A. wilkesiana* e suas próprias substâncias antifúngicas e antimicrobianas possivelmente influenciaram a capacidade de infecção pelos fungos antagonistas. Ao mesmo tempo, *T. viride* competiu com o FM e *A. flavus*, conhecido por sua capacidade oportunista, aproveitou a desestabilização e baixa imunidade da colônia, e em consequência, causou a morte das operárias (HUGHES; BOOMSMA, 2004).

Um trabalho de Vidal (1996) testou suspensão de conídios de *Sarocladium strictum* em plantas de tomate oferecidas às larvas de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). Os resultados mostraram que a presença do isolado associado ao estresse hídrico da planta, causou mortalidade nas lagartas. O que sugere que as relações entre planta e endofítico podem ser influenciadas pelo ambiente em que se encontram e pela produção de substâncias sintetizadas pelo hospedeiro, potencializando a ação conjunta contra o inseto praga.

Fungos do gênero *Xylaria* são considerados importantes competidores antagonistas do fungo cultivado por cupins (Blattodea: Termitidae) (LI *et al.*, 2021; VISSER *et al.*, 2012). Quando se trata de formigas, em um trabalho de Mighell e Van Bael (2016), fungos do gênero *Escovopsis*, *Trichoderma*, e *Xylaria* foram os mais retirados dos jardins de fungo de microcolônias de *Atta colombica* em laboratório.

Ao mesmo tempo, resultados encontrados por Rocha *et al.* (2014) mostraram que

fragmentos de folhas com a presença de fungos endofíticos do gênero em questão estavam entre os mais carregados por colônias em campo. Os autores sugeriram que essa aceitação estaria relacionada ao fato de outros fungos ou bactérias serem mais preocupantes para a colônia, de modo que em pequenas quantidades esses fungos talvez não sejam prioridade para rejeição direta pelas formigas-cortadeiras.

Dessa forma, para os fungos do gênero *Xylaria*, existe a possibilidade de que eles produzam, de fato, compostos fungicidas e inseticidas, mas, diversos outros fatores podem influenciar na resposta de um agente antagonista. Dentre desses fatores, encontram-se a comunidade endofítica e metabólitos produzidos pela própria planta, condições ambientais que regulam imunidade e estresse do organismo alvo (GREEN; KOOIJ, 2018; LOBO-ECHEVERRI *et al.*, 2016; MARSARO *et al.*, 2004; VIDAL, 1996).

Como métodos alternativos, as misturas de fungos, extratos de plantas ou produtos químicos se mostram promissores para o controle formigas-cortadeiras (BARBOSA *et al.*, 2021; DAZA *et al.*, 2019; FILHO *et al.*, 2021a; MONTOYA-LERMA *et al.*, 2012; POLEZEL, 2017). Possivelmente, porque cada componente atua em uma parte do sistema em que as formigas-cortadeiras estão inseridas e possibilita que o equilíbrio e as defesas fiquem mais vulneráveis (HUGHES; BOOMSMA, 2004; LACERDA *et al.*, 2010). Isso ressalta a importância de estudos voltados aos diferentes modos de ação de cada organismo antagonista e evidencia os conceitos de manejo integrado de pragas (MIP) e seu potencial na agricultura e silvicultura sustentável.

Como foi descrito nesta seção, existem inúmeros trabalhos que utilizam fungos endofíticos no controle biológico de pragas, principalmente a partir do uso de conídios. É interessante ressaltar que, de maneira geral, o foco do uso de suspensão de conídios visa o contato tópico com o inseto alvo e muitas vezes, sua capacidade de colonizar o inseto é satisfatória para o controle de sua população. Quando se trata de formigas-cortadeiras, a dinâmica é extremamente complexa porque são insetos sociais e existe a associação com seu fungo mutualista. Fatores como comunicação química, microbiota local, imunidade social e as estruturas físicas do ninho, desafiam o estabelecimento de métodos de controle biológico eficientes a nível de campo (GOES *et al.*, 2020; MONTOYA-LERMA *et al.*, 2012; PULL; MCMAHON, 2020).

Os ensaios realizados até o momento buscaram avaliar os FEs em cada componente separado, nas interações com o fungo mutualista (*L. gongylophorus*) e com as operárias, tal

como, a preferência imediata delas quando em contato com os metabólitos produzidos por FEs. Os resultados aqui apresentados se mostram promissores, porém, estudos futuros precisam ser realizados. A identificação a nível de espécie dos fungos testados é também um próximo passo importante para que as referências e trabalhos anteriores disponíveis na literatura auxiliem de maneira mais assertiva de acordo com as espécies identificadas. Os ensaios realizados neste trabalho, posteriormente, servirão como base para testes futuros, a fim de identificar isolados com potencial para o controle ou repelência de formigas-cortadeiras.

7. CONCLUSÕES

Os cinco isolados testados inibiram o crescimento de *L. gongylophorus* no teste pareado.

Os isolados *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp. apresentaram eficiência na inibição de *L. gongylophorus* também pelos seus metabólitos secundários produzidos em ambas as concentrações testadas (50% e 25%).

A ingestão dos metabólitos produzidos de todos os fungos endofíticos testados causaram mortalidade em operárias de *Atta sexdens* na concentração de 50%. Para a concentração de 25%, *Aspergillus* sp. e *Sarocladium* sp. e *Trichoderma* sp. também foram eficientes.

Os testes de preferência indicaram que apenas *Xylaria* sp. 1 apresentou menos atratividade na escolha de operárias para carregamento de flocos de arroz. Os demais isolados não apresentaram diferenças significativas entre a preferência das colônias quando comparados com os flocos com água.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMOBONYE, A.; BHAGWAT, P.; PANDEY, A.; SINGH, S.; PILLAI, S. Biotechnological potential of *Beauveria bassiana* as a source of novel biocatalysts and metabolites. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s. l.], v. 40, n. 7, p. 1019–1034, 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ibty20>>
- ANGUITA-MAESO, M.; NAVAS-CORTÉS, J. A.; COLETTA-FILHO, H. D.; LANDA, B. B. Culture and metagenomic approaches for the identification of olive xylem microbial communities as a biological tool to cope against *Xylella fastidiosa* infection. In: 3^a EUROPEAN CONFERENCE ON XYLELLA FASTIDIOSA AND XF-ACTORS FINAL MEETING 2021, **Anais...** [s.l: s.n.]
- ANJOS, N.; DELLA LUCIA, T. M. C.; MAYHÉ-NUNES, A. J. **Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamento**. Ponte Nova - MG: Editora Graff Cor Ltda, 1998.
- ANWAR, W.; SUBHANI, M. N.; HAIDER, M. S.; SHAHID, A. A.; MUSHTAQ, H.; REHMAN, M. Z. R.; HAMEED, U.; JAVED, S. First record of *Trichoderma longibrachiatum* as entomopathogenic fungi against *Bemisia tabaci* in Pakistan. **Pakistan Journal of Phytopathology**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 287–294, 2016.
- APTA. **Projeto Oliva SP - APTA - Agência Paulista de Tecnologias do Agronegócio - SAA-SP**. 2018. Disponível em: <<http://www.apta.sp.gov.br/olivasp>>. Acesso em: 3 out. 2021.
- ARAÚJO, I. F.; MARINHO, V. H. de S.; SENA, I. da S.; CURTI, J. M.; RAMOS, R. da S.; FERREIRA, R. M. A.; SOUTO, R. N. P.; FERREIRA, I. M. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* and molecular docking studies of compounds extracted from the endophytic fungus *Aspergillus* sp. isolated from *Bertholletia excelsa* Humm. & Bonpl. **Biotechnology Letters**, [s. l.], v. 7, 2022.
- BAE, S. J.; MOHANTA, T. K.; CHUNG, J. Y.; RYU, M.; PARK, G.; SHIM, S.; HONG, S. B.; SEO, H.; BAE, D. W.; BAE, I.; KIM, J. J.; BAE, H. *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora pathogens*. **Biological Control**, [s. l.], v. 92, p. 128–138, 2016.
- BARBOSA, L. R.; CASTRO, B. M. D. C. E.; SOLIMAN, E. P.; WILCKEN, C. F.; IEDE, E. T.; ZANUNCIO, J. C. Controle biológico no MIP florestal. In: LEMES, P. G.; ZANUNCIO, J. C. (Eds.). **Novo manual de pragas florestais brasileiras**. Montes Claros. p. 147–163.
- BARRERA, C. A.; SOSA-CALVO, J.; SCHULTZ, T. R.; RABELING, C.; BACCI, M. Phylogenomic reconstruction reveals new insights into the evolution and biogeography of *Atta* leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). **Systematic Entomology**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 13–35, 2022.
- BASTÍAS, D. A.; ALEJANDRA MARTÍNEZ-GHERSA, M.; NEWMAN, J. A.; CARD, S. D.; MACE, W. J.; GUNDEL, P. E. The plant hormone salicylic acid interacts with the mechanism of anti-herbivory conferred by fungal endophytes in grasses. **Plant, Cell & Environment**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 395–405, 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/pce.13102>>. Acesso em: 30 jul. 2020.
- BATISTA-PEREIRA, L. G.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; BUENO, O. C.; CORRÊA, A. G. Electrophysiological responses of *Atta sexdens rubropilosa* workers to essential oils of *Eucalyptus* and its chemical composition. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, [s. l.], v. 61, n. 9–10, p. 749–755, 2006. Disponível em: <<https://www.degruyter.com/view/journals/znc/61/9-10/article-p749.xml>>. Acesso em: 20 jun. 2020.
- BATISTA, K. O. M.; SILVA, D. V.; NASCIMENTO, V. L.; DE SOUZA, D. J. Effects of

Trichoderma strigosellum in *Eucalyptus urophylla* development and leaf-cutting ant behavior. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2022.

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In Vitro Antagonism of *Trichoderma* species Against Six Fungal Plant Pathogens. **Phytopathology**, [s. l.], v. 72, n. 4, p. 379, 1982.

BERINI, F.; CACCIA, S.; FRANZETTI, E.; CONGIU, T.; MARINELLI, F.; CASARTELLI, M.; TETTAMANTI, G. Effects of *Trichoderma viride* chitinases on the peritrophic matrix of Lepidoptera. **Pest Management Science**, [s. l.], v. 72, n. 5, p. 980–989, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26179981/>>. Acesso em: 20 jul. 2020.

BERTONCINI, E. I. Situação da olivicultura no Brasil: Desafios para a cultura no estado de São Paulo - Ações do Grupo Oliva SP. In: 3º ENCONTRO ESTADUAL DA OLIVICULTURA 2018, Pelotas. **Anais...** Pelotas Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201812/07153718-2-situacao-em-sp-edna-bertoncini-nov2018.pdf>>. Acesso em: 3 out. 2021.

BERTONCINI, E. I.; TERAMOTO, J. R. S.; PRELA-PANTANO, A. **Desafios para Produção de Azeite no Brasil**. 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/DesafioOliva/index.htm>. Acesso em: 4 jun. 2020.

BŁASZCZYK, L.; WAŚKIEWICZ, A.; GROMADZKA, K.; MIKOŁAJCZAK, K.; CHEŁKOWSKI, J. *Sarocladium* and *Lecanicillium* associated with maize seeds and their potential to form selected secondary metabolites. **Biomolecules**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/biom11010098>>

BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Ser. Tecn. IPEF**, [s. l.], v. 11(30), p. 31–46, 1997.

BRAGANÇA, M. A. L. Perspectiva da contribuição de forídeos parasitóides no manejo de formigas cortadeiras. **O Biológico**, [s. l.], v. 69, n. suplemento 2, p. 177–181, 2007. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/suplementos/v69_supl_2/p177-181.pdf>

BRAGANÇA, M. A. L.; MEDEIROS, Z. C. S. Ocorrência e características biológicas de forídeos parasitóides (Diptera: Phoridae) da saúva *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) em Porto Nacional, TO. **Neotropical Entomology**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 408–411, 2006.

BRITTO, J. S. De; FORTI, L. C.; OLIVEIRA, M. A. De; ZANETTI, R.; WILCKEN, CARLOS FREDERICO ZANUNCIO, J. C.; LOECK, A. E.; CALDATO, N.; NAGAMOTO, N. S.; LEMES, P. G.; CAMARGO, R. da S. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **Ijres**, [s. l.], v. 3, p. 11–92, 2016.

BUENO, F. C. **Seleção de ingredientes ativos para o desenvolvimento de iscas tóxicas para o controle de formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae)**. 2013. Universidade Estadual Paulista, [s. l.], 2013.

BUENO, O. C.; MORINI, M. S. C.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M. J. A.; SILVA, O. A. Sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) isoladas do formigueiro e alimentadas com dietas artificiais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 107–113, 1997.

CAFÊU, M. C.; SILVA, G. H.; TELES, H. L.; BOLZANI, V. D. S.; ARAÚJO, Â. R.; YOUNG, M. C. M.; PFENNING, L. H. Substâncias antifúngicas de *Xylaria* sp., um fungo endofítico isolado de *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). **Química Nova**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 991–995, 2005.

CAI, N.; WANG, F.; NONG, X.; WANG, G.; MCNEILL, M.; CAO, G.; HAO, K.; LIU, S.;

ZHANG, Z. Visualising confirmation of the endophytic relationship of *Metarhizium anisopliae* with maize roots using molecular tools and fluorescent labelling. <https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1641792>, [s. l.], v. 29, n. 11, p. 1023–1036, 2019. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583157.2019.1641792>>. Acesso em: 3 out. 2021.

CANUTO, K. M.; RODRIGUES, T. H. S.; OLIVEIRA, F. S. A. De; GONÇALVES, F. J. T. Fungos Endofíticos: Perspectiva de Descoberta e Aplicação de Compostos Bioativos na Agricultura. **EMBRAPA**, [s. l.], 2012.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Trop. Med.**, [s. l.], v. Hyg. 42, n. , p. 225–226, 1939.

CASTRILLO, M. L.; BICH, G. A.; ZAPATA, P. D.; VILLALBA, L. L. Biocontrol of *Leucoagaricus gongylophorus* of leaf-cutting ants with the mycoparasitic agent <i>Trichoderma koningiopsis</i>. **Mycosphere**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 810–819, 2016.

CNA. **Panorama do Agro**. 2021. Disponível em: <<https://cnabrasil.org.br/cna/panorama-do-agro>>. Acesso em: 23 mar. 2022.

COPPOLA, M.; CASCONI, P.; DI LELIO, I.; WOO, S. L.; LORITO, M.; RAO, R.; PENNACCHIO, F.; GUERRIERI, E.; DIGILIO, M. C. *Trichoderma atroviride* P1 colonization of tomato plants enhances both direct and indirect defense barriers against insects. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 10, n. July, p. 1–12, 2019.

COUTINHO, E. F. **A cultura da oliveira Embrapa: Clima Temperado**. Pelotas.

COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. **Cultivo de Oliveira (Olea europaea L.)**. Pelotas.

CRISTIANO, M. P.; CARDOSO, D. C.; SANDOVAL-GÓMEZ, V.; SIMÕES-GOMES, F. C. *Amoimyrmex Cristiano, Cardoso & Sandoval*, gen. nov. (Hymenoptera: Formicidae): a new genus of leaf-cutting ants revealed by multilocus molecular phylogenetic and morphological analyses. **Austral Entomology**, [s. l.], 2020.

CURRIE, C. R.; MUELLER, U. G.; MALLOCH, D. The agricultural pathology of ant fungus gardens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 96, n. 14, p. 7998–8002, 1999.

DA COSTA, G. L.; DE MORAES, A. M. L.; GALVÃO, C. Entomopathogenic effect of *Aspergillus giganteus* and *Penicillium corylophilum* on two triatomine vectors of Chagas disease. **Journal of Basic Microbiology**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 3–7, 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jobm.200390003>>. Acesso em: 20 jul. 2020.

DA SILVA-JUNIOR, E. A.; PALUDO, C. R.; VALADARES, L.; LOPES, N. P.; DO NASCIMENTO, F. S.; PUPO, M. T. Aflatoxins produced by *Aspergillus nomius* ASR3, a pathogen isolated from the leaf-cutter ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 529–532, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2017.05.001>>

DA SILVA, D. G.; LUCENA JÚNIOR, A.; SARMENTO, R. de A.; SANTOS SILVA, C. L.; TELES TENÓRIO, A. C.; DE SOUZA, D. J.; MELO, M. S. Encapsulated baits containing zinc sulfate and *Trichoderma harzianum* reduce fungal garden in *Atta sexdens* colonies. **Revista De Agricultura Neotropical**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 46–52, 2020.

DAVIS, E. C.; FRANKLIN, J. B.; SHAW, A. J.; VILGALYS, R. Endophytic *Xylaria* (*Xylariaceae*) among liverworts and angiosperms: Phylogenetics, distribution, and symbiosis. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 90, n. 11, p. 1661–1667, 2003.

DAZA, F. F. F.; ROMAN, G. R.; RODRIGUEZ, M. V.; VARGAS, I. A. G.; HEANO, H. C.; CEREDA, M. P.; MULET, R. A. C. Spores of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma lignorum*

as a bioinsecticide for the control of *Atta cephalotes*. **Biological research**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 51, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40659-019-0259-y>>

DE SOUZA, M. D.; FILHO, O. P.; CALDEIRA, S. F.; DORVAL, A.; SOUSA, N. J. Desenvolvimento in vitro do fungo simbiote de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) em meio de cultura com diferentes extratos vegetais. **Ciencia Rural**, [s. l.], v. 42, n. 9, p. 1603–1609, 2012.

DELLA LUCIA, T. M. C. Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. **Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.**, [s. l.], 2011.

DELLA LUCIA, T. M. C. ; VILELA, E. F. Métodos atuais de controle e perspectivas. In: **DELLA LUCIA, T.M .C. As formigas cortadeiras**. Viçosa: Folha Nova. p. cap.12, 163-190.

DELLA LUCIA, T. M. C.; OLIVEIRA, M. A.; ARAÚJO, M. S. F.; VILELA, E. Avaliação da não-preferência da formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus* Forel ao corte de *Eucalyptus*. **Revista árvore. Viçosa**, v.19, n.1, [s. l.], p. p.92-99., 1995.

DENNING, D. W.; CADRANEL, J.; BEIGELMAN-AUBRY, C.; ADER, F.; CHAKRABARTI, A.; BLOT, S.; ULLMANN, A. J.; DIMOPOULOS, G.; LANGE, C. Chronic pulmonary aspergillosis: Rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. **European Respiratory Journal**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 45–68, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1183/13993003.00583-2015>>

DO NASCIMENTO, M. O.; DE ALMEIDA SARMENTO, R.; DOS SANTOS, G. R.; DE OLIVEIRA, C. A.; DE SOUZA, D. J. Antagonism of *Trichoderma* isolates against *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. **Journal of Basic Microbiology**, [s. l.], v. 57, n. 8, p. 699–704, 2017.

EL-HAWARY, S. S.; MOAWAD, A. S.; BAHAR, H. S.; ABDELMOHSEN, U. R.; MOHAMMED, R. Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus *Aspergillus*. **RSC Advances**, [s. l.], v. 10, n. 37, p. 22058–22079, 2020.

EL-SAYED, A. S. A.; ALI, G. S. *Aspergillus flavipes* is a novel efficient biocontrol agent of *Phytophthora parasitica*. **Biological Control**, [s. l.], v. 140, n. March 2019, 2020.

EL-SAYED, A. S. A.; MOUSTAFA, A. H.; HUSSEIN, H. A.; EL-SHEIKH, A. A.; EL-SHAFFEY, S. N.; FATHY, N. A. M.; ENAN, G. A. Potential insecticidal activity of *Sarocladium strictum*, an endophyte of *Cynanchum acutum*, against *Spodoptera littoralis*, a polyphagous insect pest. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 24, n. November 2019, p. 101524, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101524>>

ELBANHAWY, A. A.; ELSHERBINY, E. A.; ABD EL-MAGEED, A. E.; ABDEL-FATTAH, G. M. Potential of fungal metabolites as a biocontrol agent against cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover and the possible mechanisms of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [s. l.], v. 159, n. March, p. 34–40, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.05.013>>

EPAMIG. **Olivicultura**. 2017. Disponível em: <<http://www.epamig.br/olivicultura/>>. Acesso em: 11 fev. 2021.

ESTRADA, C.; WCISLO, W. T.; VAN BAEL, S. A. Symbiotic fungi alter plant chemistry that discourages leaf-cutting ants. **New Phytologist**, [s. l.], v. 198, n. 1, p. 241–251, 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/nph.12140>>. Acesso em: 7 ago. 2020.

EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A.; CIMMINO, A.; GANASSI, S.; ALTOMARE, C.; FAVILLA, M.; DE CRISTOFARO, A.; VITAGLIANO, S.; AGNESE SABATINI, M. Bisorbicillinoids produced by the fungus *Trichoderma citrinoviride* affect feeding preference

- of the aphid *Schizaphis graminum*. **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 533–541, 2009.
- FERRARI, J. T. Doenças fúngicas da oliveira: sintomas, etiologia e manejo. [s. l.], n. August 2015, 2013.
- FERREIRA, J. **Identificação molecular de um fitoplasma associado a árvores de oliveira com sintoma de vassoura-de-bruxa**. 2017. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, [s. l.], 2017.
- FIDELIS, E. G.; SCHURT, D. A.; BENDAHAN, A. B.; OLIVEIRA, R.; SANTOS, J. Í. F. **Eficiência do fungo *Beauveria bassiana* para o controle do percevejo-das-gramíneas**. Boa Vista - RR.
- FIGUEIREDO, J. A. G.; SAVI, D. C.; GOULIN, E. H.; TONIAL, F.; STRINGARI, D.; KAVA, V.; TERASAWA, L. V. G.; GLIENKE, C. Antagonistic Activity and Agrotransformation of *Xylaria cubensis*, Isolated from the Medicinal Plant *Maytenus ilicifolia*, Against *Phyllosticta citricarpa*. **Current Biotechnology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 59–64, 2018.
- FILHO, T. M. M. M.; STEFANELLI, L. E. P.; CAMARGO, R. da S.; MATOS, C. A. O. De; FORTI, L. C. Biological control in leaf-cutting ants, *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae), using pathogenic fungi. **Revista Árvore**, [s. l.], v. 45, n. e4516, p. 10, 2021. a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1806-908820210000016>>. Acesso em: 5 out. 2021.
- FILHO, W. R.; NICKELE, M. A.; PENTEADO, S. do R. C.; QUEIROZ, E. C. De. Manejo de formigas cortadeiras em plantios de *Pinus* e *Eucalyptus*. **Comunicado Técnico - EMBRAPA Florestas**, Colombo, v. 471, p. 17, 2021. b.
- FISHER, P. J.; STRADLING, D. J.; PEGLER, D. N. Leaf cutting ants, their fungus gardens and the formation of basidiomata of *Leucoagaricus gongylophorus*. **Topics in Catalysis**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 128–131, 1994. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0269-915X\(09\)80159-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-915X(09)80159-6)>
- FONTES, E. M. G.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R. Estratégias de uso e histórico. In: **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. [s.l: s.n.].
- FOREST STEWARDSHIP COUNCIL. Política sobre pesticidas do FSC: Orientação sobre a implementação 2007. p. 1–23.
- FORTI, L. C.; BOARETTO, M. A. C. Formigas cortadeiras: biologia, ecologia, danos e controle. [s. l.], 1997.
- FRIARD, O.; GAMBA, M. BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. **Methods Ecol Evol**, [s. l.], v. 7, p. 1325–1330, 2016.
- FROZA, J. A. **Levantamento de espécies de cigarrinhas (Hemiptera : Auchenorrhyncha) com ênfase em possíveis vetores de *Xylella fastidiosa* em pomares de oliveira na Serra da Mantiqueira**. 2017. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, [s. l.], 2017. Disponível em: <<http://www.mendeley.com/research/82db7551-d6cc-3751-8825-154581160841/>>
- GHAZANFAR, M. U.; RAZA, M.; RAZA, W.; QAMAR, M. I. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: A review. **Plant Protection**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 109, 2018. Disponível em: <<https://esciencepress.net/journals/index.php/PP/article/view/3142>>. Acesso em: 16 out. 2021.
- GIRALDO, A.; GENÉ, J.; SUTTON, D. A.; MADRID, H.; DE HOOG, G. S.; CANO, J.;

DECOCK, C.; CROUS, P. W.; GUARRO, J. Phylogeny of *Sarocladium* (Hypocreales). **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, [s. l.], v. 34, p. 10–24, 2015.

GOES, A. C.; BARCOTO, M. O.; KOOIJ, P. W.; BUENO, O. C.; RODRIGUES, A. How Do Leaf-Cutting Ants Recognize Antagonistic Microbes in Their Fungal Crops? **Frontiers in Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 8, n. May, p. 1–12, 2020.

GOFFRÉ, D.; FOLGARAIT, P. J. Insights into the biodiversity and causes of distribution of potential entomopathogens associated with leaf-cutting ants. **Insectes Sociaux**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 103–115, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00040-017-0592-5>>

GOMES, L. da S. **Produção de Oliveiras e diversificação produtiva: Uma abordagem sobre o potencial estratégico para o desenvolvimento territorial**. 2018. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, [s. l.], 2018.

GREEN, P. W. C.; KOOIJ, P. W. The role of chemical signalling in maintenance of the fungus garden by leaf-cutting ants. **Chemoecology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 101–107, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00049-018-0260-x>>

GUIMARÃES, G. R.; FERREIRA, D. da S.; GALVÃO, C. dos S.; MELLO, S. C. M.; CARVALHO, D. D. C. Ação de metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento de *Cladosporium herbarum*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 7–11, 2016.

GUIMARÃES, R. A. **Caracterização de isolados de *Sarocladium oryzae* e seu potencial na supressão da brusone foliar em arroz**. 2014. Universidade Federal de Goiás, [s. l.], 2014.

GUNATILAKA, A. A. L. **Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence**, J Nat Prod, 2006.

HAIFIG, S. S. V. **Natureza do parasitismo de Escovopsis e Escovopsioides sobre Leucoagaricus gongylophorus, fungos associados aos jardins de formigas cortadeiras**. 2014. Universidade Estadual Paulista, [s. l.], 2014.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. The Ants. **The American Journal of Psychology**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 325, 1990.

HUBBARD, M.; GERMIDA, J. J.; VUJANOVIC, V. Fungal endophytes enhance wheat heat and drought tolerance in terms of grain yield and second-generation seed viability. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 116, n. 1, p. 109–122, 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/jam.12311>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

HUBBEL, S. P. .; WIEMER, D. F. Host plant selection by an Attine ant. In: **In: JAISSON, P. Social insects in the tropics**. Paris: **Université Paris Nord**. [s.l: s.n.]. v. v. 2p. 133–154.

HUGHES, W. O. H.; BOOMSMA, J. Let your enemy do the interactions between two fungal parasites of leaf-cutting ants. **Royal Society**, [s. l.], v. 271, n. 3, p. 104–106, 2004.

HYDE, K. D.; SOYTONG, K. The fungal endophyte dilemma. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 33, n. November 2008, p. 163–173, 2008.

IBRAOLIVA. **Ibraoliva - Sobre**. 2018. Disponível em: <<https://www.ibraoliva.com.br/sobre>>. Acesso em: 11 fev. 2021.

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL. **The Olive Tree - International Olive Council**. 2020. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/76-the-olive-tree>>. Acesso em: 11 fev. 2021.

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. **Huiles D ' Olive - Olive OilsInternational Olive Oil Council**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/12/HO-W901-17-12-2021-I.pdf>>.

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. B. T. Da; SILVA, J. P. Da; MELLO, S. C. M. De.

Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 34–41, 2014. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em: 6 jan. 2021.

JABER, L. R.; OWNLEY, B. H. Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? [s. l.], 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.018>>. Acesso em: 3 out. 2021.

JEMAA, J. M. Ben. Essential Oil as a Source of Bioactive Constituents for the Control of Insect Pests of Economic Importance in Tunisia. **Medicinal & Aromatic Plants**, [s. l.], v. 03, n. 02, 2014.

KEMP, N. D.; VAUGHAN, M. M.; MCCORMICK, S. P.; BROWN, J. A.; BAKKER, M. G. *Sarocladium zeae* is a systemic endophyte of wheat and an effective biocontrol agent against *Fusarium* head blight. **Biological Control**, [s. l.], v. 149, n. April, p. 104329, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104329>>. Acesso em: 20 jul. 2020.

KERMARREC, A.; DECHARME, M.; FEBVAY, G. Leaf cutting ant symbiotic fungi: a synthesis of recent research. In: **DELLA LUCIA, T. M. C. As Formigas Cortadeiras**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1993.

KIM, Y.; DURAISAMY, K.; JEONG, M.; PARK, S.; KIM, S.; LEE, Y.; NGUYEN, V.; YU, N.; PARK, A.; KIM, J. Nematicidal activity of grammicin biosynthesis pathway intermediates in *Xylaria grammica* KCTC 13121BP against *Meloidogyne incognita*. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 15, 2021.

KUSHIYEV, R.; TUNCER, C.; ERPER, I.; ÖZER, G. The utility of *Trichoderma* spp. isolates to control of *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Journal of Plant Diseases and Protection**, [s. l.], v. 128, n. 1, p. 153–160, 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s41348-020-00375-1>>. Acesso em: 28 abr. 2022.

LACERDA, F. G.; DELLA LUCIA, T. M. C.; PEREIRA, O. L.; PETERNELLI, L. A.; TÓTOLA, M. R. Mortality of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers in contact with colony waste from different plant sources. **Bulletin of Entomological Research**, [s. l.], v. 100, n. 1, p. 99–103, 2010.

LATGÉ, J.-P.; CHAMILOS, G. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 75, 2020.

LEMES, P. G.; ZANUNCIO, J. C. **Novo manual de pragas florestais brasileiras**. Montes Claros.

LI, J.; SANG, M.; JIANG, Y.; WEI, J.; SHEN, Y.; HUANG, Q.; LI, Y.; NI, J. Polyene-Producing *Streptomyces* spp. From the Fungus-Growing Termite *Macrotermes barneyi* Exhibit High Inhibitory Activity Against the Antagonistic Fungus *Xylaria*. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 0, p. 689, 2021.

LI, X. J.; ZHANG, Q.; ZHANG, A. L.; GAO, J. M. Metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus associated with *Melia azedarach*, and their antifungal, antifeedant, and toxic activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 13, p. 3424–3431, 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf300146n>>. Acesso em: 20 jul. 2020.

LIU, H.; CARVALHAIS, L. C.; CRAWFORD, M.; SINGH, E.; DENNIS, P. G.; PIETERSE, C. M. J.; SCHENK, P. M. **Inner plant values: Diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria**, Frontiers Media S.A., 2017. Disponível em: <www.frontiersin.org>. Acesso em: 7 ago. 2020.

LIU, Y.; DING, Z.; PENG, D. liang; LIU, S. ming; KONG, L. an; PENG, H.; XIANG, C.; LI,

Z. cai; HUANG, W. kun. Evaluation of the biocontrol potential of *Aspergillus welwitschiae* against the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Integrative Agriculture**, [s. l.], v. 18, n. 11, p. 2561–2570, 2019.

LOBO-ECHEVERRI, T.; SALAZAR, L. C.; HERNÁNDEZ, A.; ORTIZ-REYES, A. Effects of *Capsicum baccatum* and *C. frutescens* against *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Revista Colombiana de Entomologia**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 137–145, 2016.

LOBO, V. L. da S.; FILIPPI, M. C. C. De; PRABHU, A. S. **Cultivo do Arroz: Manejo de doenças**. 2021.

LOPEZ, E.; ORDUZ, S. *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma viride* for control of nests of the fungus-growing ant, *Atta cephalotes*. **Biological Control**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 194–200, 2003.

LOUREIRO, E. de S.; MONTEIRO, A. C. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera : Formicidae). **Revista Árvore**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 553–561, 2005. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/9031>>

MACÍAS-RUBALCAVA, M. L.; SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, R. E. Secondary metabolites of endophytic *Xylaria* species with potential applications in medicine and agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 22, 2017.

MARSARO, A. L.; SOUZA, R. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C. Behavioral changes in workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* induced by chemical components of *Eucalyptus maculata* leaves. **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 30, n. 9, p. 1771–1780, 2004. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1023/B:JOEC.0000042400.14451.08>>. Acesso em: 20 jun. 2020.

MATARESE, F.; SARROCCO, S.; GRUBER, S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; VANNACCI, G. Biocontrol of *Fusarium* head blight: Interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. **Microbiology**, [s. l.], v. 158, n. 1, p. 98–106, 2012.

MAYHÉ-NUNES, A. J.; JAFFÉ, K. On the biogeography of Attini (Hymenoptera: Formicidae). **Ecotropicos**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 45–54, 1998.

MEDEIROS, G. L. S. **Toxicidade de fungicidas ao fungo simbiote de *Atta sexdens* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) e alterações na colônia frente a aplicação dos produtos em diferentes formulações, em condições de laboratório**. 2018. [s. l.], 2018.

MIGHELL, K.; VAN BAEL, S. A. Selective elimination of microfungi in leaf-cutting ant gardens. **Fungal Ecology**, [s. l.], v. 24, p. 15–20, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.funeco.2016.08.009>>

MOIA, I. C. **Natureza do antagonismo entre fungos oportunistas e o fungo cultivado pelas formigas cortadeiras**. 2014. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, [s. l.], 2014.

MONTOYA-LERMA, J.; GIRALDO-ECHEVERRI, C.; ARMBRECHT, I.; FARJI-BRENER, A.; CALLE, Z. Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. **International Journal of Pest Management**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 225–247, 2012.

MONTOYA, Q. V.; MARTIARENA, M. J. S.; POLEZEL, D. A.; KAKAZU, S.; RODRIGUES, A. More pieces to a huge puzzle: Two new *Escovopsis* species from fungus gardens of attine ants. **MycoKeys**, [s. l.], v. 46, n. 46, p. 97–118, 2019. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC6389644/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36389644/)>. Acesso em: 23 jul. 2020.

MOREIRA, A. A.; FORTI, L. C.; ANDRADE, A. P. P.; BOARETTO, M. A. C.; LOPES, J.

F. S. Nest architecture of *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 109–116, 2004.

MUELLER, U. G.; GERARDO, N. M.; AANEN, D. K.; SIX, D. L.; SCHULTZ, T. R. The evolution of agriculture in insects. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, [s. l.], v. 36, n. December, p. 563–595, 2005.

NASUTION, L.; CORAH, R.; NURAI, N.; SIREGAR, A. Z. Effectiveness *Trichoderma* and *Beauveria bassiana* on Larvae of *Oryctes rhinoceros* On Palm Oil Plant (*Elaeis Guineensis* Jacq.) In Vitro. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 158–169, 2018.

NAVA, D. E.; MELO, M.; PINTO, A. D. S.; AFONSO, A. P. S. **CONTROLE BIOLÓGICO DA BROCA-DA-CANA-DE- AÇÚCAR**, 2009. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/903788/1/brocacana.pdf>>

NAWAZ, A.; GOGI, M. D.; NAVEED, M.; ARSHAD, M.; SUFYAN, M.; BINYAMEEN, M.; ISLAM, S. U.; WASEEM, M.; AYYUB, M. B.; ARIF, M. J.; ALI, H. In vivo and in vitro assessment of *Trichoderma* species and *Bacillus thuringiensis* integration to mitigate insect pests of brinjal (*Solanum melongena* L.). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, [s. l.], v. 30, n. 1, 2020.

NEWTON, C.; LORRE, C.; SAUVAGE, C.; IVORRA, S.; TERRAL, J. F. On the origins and spread of *Olea europaea* L. (olive) domestication: Evidence for shape variation of olive stones at Ugarit, Late Bronze Age, Syria—a window on the Mediterranean Basin and on the westward diffusion of olive varieties. **Vegetation History and Archaeobotany**, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 567–575, 2014.

OCAMPO, B. G. G. **Capacidad antagonica de *Trichoderma* spp. en el biocontrol del hongo *Leucoagaricus gongylophorus* de la hormiga arriera (*Atta cephalotes* L.) en el cultivo de palma aceitera**. 2018. Universidad de Nariño, [s. l.], 2018. Disponível em: <<http://content.ebscohost.com/ContentServer.asp?EbscoContent=dGJyMNLe80Sep7Q4y9f3OLCmr1Gep7JSsKy4Sa6WxWXS&ContentCustomer=dGJyMPGptk%2B3rLJNuePfgex43zx1%2B6B&T=P&P=AN&S=R&D=buh&K=134748798%0Ahttp://amg.um.dk/~media/amg/Documents/Policias and Strategies/S>>

OLIVEIRA, A. A. **Diversidade de microrganismos endofíticos associados a folhas de oliveiras e sua relação anti-herbivoria por formigas-cortadeiras**. 2020. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, [s. l.], 2020.

OLIVEIRA, A. A. De; RAMALHO, M. de O.; MOREAU, C. S.; CAMPOS, A. E. de C.; HARAKAVA, R.; BUENO, O. C. Exploring the diversity and potential interactions of bacterial and fungal endophytes associated with different cultivars of olive (*Olea europaea*) in Brazil. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 263, n. July, p. 0–1, 2022.

OLIVEIRA, M. A. D.; ARAÚJO, M. S.; MARINHO, C. G. S.; RIBEIRO, M. M. R.; DELLA LUCIA, T. M. C. Manejo de formigas-cortadeiras. In: **Formigas- cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Editora UFV, 2011. p. 400–419.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil. 2022. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>>. Acesso em 13 out 2022.

ORTIZ, A.; ORDUZ, S. In vitro evaluation of *Trichoderma* and *Gliocladium* antagonism against the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 150, n. 2, p. 53–60, 2001. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1010843413085>>. Acesso em: 20 jul. 2020.

OUSLEY, M. A.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M. Potential of *Trichoderma* spp. as consistent

plant growth stimulators. **Biology and Fertility of Soils**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 85–90, 1994.

OWNLEY, B. H.; GWINN, K. D.; VEGA, F. E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: Ecology and evolution. **BioControl**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 113–128, 2010.

PALANICHAMY, P.; KANNAN, S.; MURUGAN, D.; ALAGUSUNDARAM, P.; MARUDHAMUTHU, M. Purification, crystallization and anticancer activity evaluation of the compound alternariol methyl ether from endophytic fungi *Alternaria alternata*. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 127, n. 5, p. 1468–1478, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31403229/>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

PAN, F.; SU, T. J.; CAI, S. M.; WU, W. Fungal endophyte-derived *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis*: Diversity, antioxidant capacities in vitro and relations to phenolic, flavonoid or saponin compounds. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. Disponível em: <www.nature.com/scientificreports/>. Acesso em: 30 jul. 2020.

PARRA, J. R. P. Biological Control in Brazil. **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 71, n. 5, p. 420–429, 2014.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CÔRREA-FERREIRA, B.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. [s.l.] : Editora Manole Ltda, 2002.

PENTEADO, J.; PICHELLI, K. **Pragas em plantios florestais produtivos**. 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/florestas/transferencia-de-tecnologia/pragas-florestais/perguntas-e-respostas>>. Acesso em: 24 jul. 2020.

PITTA, R. M.; MATIERO, S. C.; CORASSA, J. N.; FERREIRA, F. T. R. Influence of pastoral systems on *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) and the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Scientific Electronic Archives**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 13, 2019.

POLEZEL, D. R. **Fungos isolados de ninhos iniciais da formiga *Atta sexdens rubropilosa*: análise do potencial para biocontrole de formigas-cortadeiras**. 2017. Universidade Estadual Paulista, [s. l.], 2017.

PONGCHAROEN, W.; RUKACHAISIRIKUL, V.; PHONGPAICHIT, S.; KÜHN, T.; PELZING, M.; SAKAYAROJ, J.; TAYLOR, W. C. Metabolites from the endophytic fungus *Xylaria* sp. PSU-D14. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 69, n. 9, p. 1900–1902, 2008.

POVEDA, J. *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. **Biological Control**, [s. l.], v. 159, p. 104634, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104634>>

PRADO CORDERO, E.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; ALVARENGA, T. M. Pragas da oliveira: bioecologia, inimigos naturais e manejo. In: **Oliveira no Brasil : tecnologias de produção**. [s.l: s.n.]. p. 772.

PULL, C. D.; MCMAHON, D. P. Superorganism Immunity: A Major Transition in Immune System Evolution. **Frontiers in Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 8, n. June, p. 1–22, 2020.

RAI, M.; RATHOD, D.; AGARKAR, G.; DAR, M.; BRESTIC, M.; PASTORE, G. M.; JUNIOR, M. R. M. Fungal growth promotor endophytes: A pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. **Symbiosis**, [s. l.], v. 62, n. 2, p. 63–79, 2014. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13199-014-0273-3>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

RIBEIRO, M. M. R.; AMARAL, K. D.; SEIDE, V. E.; SOUZA, B. M. R.; DELLA LUCIA, T. M. C.; KASUYA, M. C. M.; DE SOUZA, D. J. Diversity of fungi associated with *Atta bisphaerica* (Hymenoptera: Formicidae): the activity of *Aspergillus ochraceus* and *Beauveria bassiana*. **Psyche (London)**, [s. l.], v. 2012, 2012.

RICALDE, M. P.; NAVA, D. E.; ALCI, I. I.; LOECK, E.; FLÁVIO, R.; MELLO, G. I.

Insects related to Olive culture in Rio Grande do Sul State, Brazil Insetos associados à cultura da oliveira no Rio Grande do Sul, Brasil Enilton Fick Coutinho II Alexandre Bisognin III. [s. l.], v. 45, p. 2125–2130, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141477>>. Acesso em: 3 out. 2021.

ROCHA, L. L. **Potencial de *Aspergillus niger* para o biocontrole de patógenos fúngicos de solo**. 2021. Universidade Federal de Uberlândia, [s. l.], 2021.

ROCHA, S. L. **Interactions between leafcutting ants, endophytic fungi and plants**. 2011. Universidade Federal de Viçosa (UFV), [s. l.], 2011. Disponível em: <http://ridum.umanizales.edu.co:8080/jspui/bitstream/6789/377/4/Muñoz_Zapata_Adriana_Patricia_Artículo_2011.pdf>

ROCHA, S. L.; EVANS, H. C.; JORGE, V. L.; CARDOSO, L. A. O.; PEREIRA, F. S. T.; ROCHA, F. B.; BARRETO, R. W.; HART, A. G.; ELLIOT, S. L. Recognition of endophytic *Trichoderma* species by leaf-cutting ants and their potential in a Trojan-horse management strategy. **Royal Society Open Science**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 160628, 2017. Disponível em: <<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsos.160628>>. Acesso em: 7 ago. 2020.

ROCHA, S. L.; JORGE, V. L.; DELLA LUCIA, T. M. C.; BARRETO, R. W.; EVANS, H. C.; ELLIOT, S. L. Quality control by leaf-cutting ants: evidence from communities of endophytic fungi in foraged and rejected vegetation. **Arthropod-Plant Interactions**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 485–493, 2014.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Á.; MAYO, S.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, Ó.; REINOSO, B.; GUTIERREZ, S.; CASQUERO, P. A. Inhibitory activity of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma* spp. on the insect pests *Xylotrechus arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Chrisomelidae: Bruchinae). **Environmental Monitoring and Assessment**, [s. l.], v. 189, n. 1, p. 1–8, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10661-016-5719-z>>. Acesso em: 28 abr. 2022.

SANTOS, J. O. P.; PERES FILHO, O.; SOUZA, M. D. De; DORVAL, A. Preferência de *Atta laevigata* F. Smith, 1858 (Hymenoptera: Formicidae) por diferentes espécies e híbridos de eucaliptos. **BRAZILIAN JOURNAL OF AGRICULTURE - Revista de Agricultura**, [s. l.], v. 90, n. 1, p. 42, 2015.

SANTOS, J. O. P.; PERES FILHO, O.; SOUZA, M. D. De; DORVAL, A.; FAVARE, L. G. De. Preferência de *Atta sexdens* rubropilosa Forel (1908) (Hymenoptera: Formicidae) por espécies e híbridos de eucalipto. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 9–20, 2019.

SCHULTZ, T. R. Fungus-Farming Ants (Attini in Part). In: **Encyclopedia of Social Insects**. Springer International Publishing, 2020.

SCHULTZ, T. R.; BRADY, S. G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 105, n. 14, p. 5435–5440, 2008.

SHARMA, A.; HAZARIKA, N. K.; BARUA, P.; SHIVAPRAKASH, M. R.; CHAKRABARTI, A. *Acremonium strictum*: Report of a Rare Emerging Agent of Cutaneous Hyalohyphomycosis with Review of Literatures. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 176, n. 5–6, p. 435–441, 2013.

SHRIVASTAVA, G.; OWNLEY, B. H.; AUGÉ, R. M.; TOLER, H.; DEE, M.; VU, A.; KÖLLNER, T. G.; CHEN, F. Colonization by arbuscular mycorrhizal and endophytic fungi enhanced terpene production in tomato plants and their defense against a herbivorous insect. **Symbiosis**, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 65–74, 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13199-015-0319-1>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

SILVA, A.; RODRIGUES, A.; BACCI, M.; PAGNOCCA, F. C.; BUENO, O. C. Susceptibility of the ant-cultivated fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Agaricales: Basidiomycota) towards microfungi. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 162, n. 2, p. 115–119, 2006.

SILVA, G. H.; DE OLIVEIRA, C. M.; TELES, H. L.; DA S. BOLZANI, V.; ARAUJO, A. R.; PFENNING, L. H.; YOUNG, M. C. M.; COSTA-NETO, C. M.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. **Citocalasinas produzidas por *Xylaria* sp., um fungo endofítico de *Piper aduncum* (piperaceae)** *Química Nova*. [s.l: s.n.].

STEFANELLI, L. E. P.; FILHO, T. M. M. M.; CAMARGO, R. da S.; MATOS, C. A. O. De; FORTI, L. C. Colony Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* Leaf-Cutting Ants During Biological Control. [s. l.], v. 9, n. 3, p. 179–190, 2020. a.

STEFANELLI, L. E. P.; FILHO, T. M. M. M.; CAMARGO, R. da S.; MATOS, C. A. O. De; FORTI, L. C. Effects of Entomopathogenic Fungi on Individuals as Well as Groups of Workers and Immatures of *Atta sexdens rubropilosa* Leaf-Cutting Ants. **Insects** **2021**, Vol. **12**, Page **10**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 10, 2020. b. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2075-4450/12/1/10/htm>>. Acesso em: 16 out. 2021.

TERAMOTO, J. R. S.; BERTONCINI, E. I.; PRELA-PANTANO, A. **Histórico da introdução da cultura da oliveira no brasil**. 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/HistoricoOliveira/>. Acesso em: 4 jun. 2020.

TERAMOTO, J. R. S.; BERTONCINI, E. I.; PRELA-PANTANO, A. Mercado dos Produtos da Oliveira e os Desafios Brasileiros. **Informações Econômicas**, [s. l.], v. 43, n. March 2013, p. 24–32, 2013.

TIAN, X.; SUN, T.; LIN, R.; LIU, R.; YANG, Y.; XIE, B. Genome Sequence Resource of *Sarocladium terricola* TR, an Endophytic Fungus as a Potential Biocontrol Agent Against *Meloidogyne incognita*. [s. l.], v. XX, n. Xx, p. 11–14, 2022.

TSCHEN, J.; CHEN, L.; HSIEH, S. Isolation and phytotoxic effects of helvolic acid from plant pathogenic fungus *Sarocladium oryzae*. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, [s. l.], v. 38, p. 251–256, 1997.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. **Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). Revised in 2018**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.pops.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/tabid/2232/Default.aspx>>

VAN BAEL, S. A.; ESTRADA, C.; REHNER, S. A.; SANTOS, J. F.; WCISLO, W. T. Leaf endophyte load influences fungal garden development in leaf-cutting ants. **BMC Ecology**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 23, 2012. Disponível em: <<http://bmcecol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6785-12-23>>. Acesso em: 7 ago. 2020.

VARANDA-HAIFIG, S. S.; ALBARICI, T. R.; NUNES, P. H.; HAIFIG, I.; VIEIRA, P. C.; RODRIGUES, A. Nature of the interactions between hypocrealean fungi and the mutualistic fungus of leaf-cutter ants. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, [s. l.], v. 110, n. 4, p. 593–605, 2017.

VEIGA, C. M. A epopéia do azeite: viagem ao mundo do azeite através do olhar atento de um historiador. **Revista da Casa do Azeite**, [s. l.], p. 70–79, 2009.

VIDAL, S. Changes in suitability of tomato for whiteflies mediated by a non-pathogenic endophytic fungus. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, [s. l.], v. 80, p. 272–274, 1996.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K. Beneficial effects of *Trichoderma* secondary metabolites on crops. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 34, n. 11, p. 2835–2842, 2020.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 1–10, 2008.

VISSER, A. A.; NOBRE, T.; CURRIE, C. R.; AANEN, D. K.; POULSEN, M. Exploring the Potential for Actinobacteria as Defensive Symbionts in Fungus-Growing Termites. **Microbial Ecology**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 975–985, 2012.

WARD, P. S.; BRADY, S. G.; FISHER, B. L.; SCHULTZ, T. R. The evolution of myrmicine ants: Phylogeny and biogeography of a hyperdiverse ant clade (Hymenoptera: Formicidae). **Systematic Entomology**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 61–81, 2015.

WILSON, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: Atta) - II. The ergonomic optimization of leaf cutting. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 157–165, 1980.

WREGE, M. S.; COUTINHO, E. F.; STEINMETZ, S.; JÚNIOR, C. R.; DE ALMEIDA, I. R. R. B. R. Zoneamento Agroclimático para Oliveira no Estado do Rio Grande do Sul. **Embrapa: Clima Temperado**, [s. l.], p. 24, 2009.

WU, S. H.; CHEN, Y. W.; MIAO, C. P. Secondary metabolites of endophytic fungus *Xylaria* sp. YC-10 of *Azadirachta indica*. **Chemistry of Natural Compounds**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 858–861, 2011.

XIA, Y.; SAHIB, M. R.; AMNA, A.; OPIYO, S. O.; ZHAO, Z.; GAO, Y. G. Culturable endophytic fungal communities associated with plants in organic and conventional farming systems and their effects on plant growth. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1669, 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-018-38230-x>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

XIE, X. G.; FU, W. Q.; ZHANG, F. M.; SHI, X. M.; ZENG, Y. T.; LI, H.; ZHANG, W.; DAI, C. C. The Endophytic Fungus *Phomopsis liquidambari* Increases Nodulation and N₂ Fixation in *Arachis hypogaea* by Enhancing Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide Signalling. **Microbial Ecology**, [s. l.], v. 74, n. 2, p. 427–440, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-017-0944-8>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

YAN, L.; ZHAO, H.; ZHAO, X.; XU, X.; DI, Y.; JIANG, C.; SHI, J.; SHAO, D.; HUANG, Q.; YANG, H.; JIN, M. **Production of bioproducts by endophytic fungi: chemical ecology, biotechnological applications, bottlenecks, and solutions**, Springer Verlag, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9101-7>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

YAN, L.; ZHU, J.; ZHAO, X.; SHI, J.; JIANG, C.; SHAO, D. **Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants**, Springer Verlag, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-019-09713-2>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

YANG, Y.; CHEN, Y.; CAI, J.; LIU, X.; HUANG, G. Antifungal activity of volatile compounds generated by endophytic fungi *Sarocladium brachiariae* HND5 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 16, n. 12 December, p. 1–20, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0260747>>

YOU, J.; LI, G.; LI, C.; ZHU, L.; YANG, H.; SONG, R.; GU, W. Biological Control and Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 8, n. 2, 2022.

ZAFERANLOO, B.; PEPPER, S.; COULTHARD, S.; REDFERN, C.; PALOMBO, E. Metabolites of endophytic fungi from Australian native plants as potential anticancer agents. **FEMS microbiology letters**, [s. l.], v. 365, n. 9, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29590360/>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

ZHANG, H. W.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. Biology and chemistry of endophytes. **Natural**

Product Reports, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 753–771, 2006.

ZHOU, X.; ZHU, H.; LIU, L.; LIN, J.; TANG, K. **A review: Recent advances and future prospects of taxol-producing endophytic fungi**, *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010.

ANEXO A – ÁRVORE FILOGENÉTICA DE ISOLADOS DE *XYLARIA* SPP. (OLIVEIRA 2020)

