

MICROBIOTA ENDOFÍTICA ASSOCIADA À *Dizygostemon riparius*

Data de aceite: 02/06/2024

Hilzimar de Jesus Freitas Sá

Instituto Federal do Maranhão
Departamento de Química
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/0798703366272927>

Tatiane de Freitas Gomes

Instituto Federal do Maranhão
Departamento de Química
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/2669905616836818>

Antônio José Cantanhede Filho

Instituto Federal do Maranhão
Departamento de Química
São Luís – Maranhão
0000-0002-2009-2817

Kiany Sirley Brandão Cavalcante

Instituto Federal do Maranhão
Departamento de Química
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3810732989135120>

Helen Karine Araújo Pereira

Instituto Federal do Maranhão
Departamento de Biologia
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/9634462435763532>

INTRODUÇÃO

O ser humano sempre fez uso de plantas para diversas finalidades, que vão desde cuidados com a saúde até artefatos para caça e pesca. É interessante ver como o conhecimento sobre plantas e suas propriedades pode ser passado de geração em geração em comunidades locais, e como a pesquisa científica pode identificar e documentar as características e usos dessas plantas.

Dizygostemon riparius, pertence à família Plantaginaceae e é conhecida por suas propriedades aromáticas e usos na remoção de parasitas de animais domésticos e na prevenção de mosquitos. Essas informações podem ser úteis para comunidades locais que dependem dessas plantas para diversos fins. Associada a espécie botânica, a microbiota possui grande importância no desenvolvimento da planta assim como na produção e/ou biotransformação de metabólitos secundários, essa associação simbiótica de fungos endofíticos, têm despertado

grande interesse da comunidade científica, por contribuir para o desenvolvimento de novas aplicações e descobertas em diversas áreas.

Neste capítulo trouxemos uma pesquisa sobre aspectos gerais dessa espécie recém catalogada, uma abordagem sobre fungos endofíticos, além de como foi realizado o isolamento e identificação de gêneros e espécies de fungos associados a microbiota vegetal.

Abordagem inicial e características da planta

A família Plantaginaceae de acordo com as mais recentes definições possui cerca de 100 gêneros e mais de 2000 espécies a nível mundial, distribuídas em sua maioria nas grandes cidades (CORREA et al., 2019; BRANDÃO, 2018) e pertencente ao grupo das angiospermas (REFLORA, 2019). No Brasil, essa família possui aproximadamente 25 gêneros e 146 espécies (SILVERA, 2020; MOTA, 2017). Na região nordeste do país, foram encontrados 14 gêneros e 56 espécies, como a *Achetaria*, *Angelonia*, *Bacopa*, *Canobea*, *Stemodia*, *Dizygostemon* e *Plantago* (REFLORA, 2019).

O gênero *Dizygostemon* é um dos 4 gêneros da subtribo *Stemodiineae* que ocorrem no Brasil. As espécies encontradas no nordeste do Brasil são as *D. floribundus* a qual ocorre no domínio da Caatinga em quatro estados do país, sendo eles Bahia, Ceará, Pernambuco e Piauí, e a *D. riparius* que está restrita ao estado do Maranhão, dentro do domínio do Cerrado (SCATIGNA et al., 2019).

Em 2011, uma planta conhecida como “melosa” na cidade de São Benedito do Rio Preto no Maranhão, que naturalmente se agrupa às margens do rio Rio Preto, e devido ao seu odor agradável, chamou a atenção de pesquisadores que buscaram identificar e explorar a composição dos óleos essenciais da planta. A “melosa,” o nome popular pelo qual ainda é mais reconhecida, devido à sua consistência viscosa quando esfregada entre os dedos, é utilizada como aromatizante para eliminar parasitas de animais domésticos e prevenir mosquitos. Em 2019, foi identificada como *Dizygostemon riparius* por um grupo de pesquisadores que a incluiu em seu catálogo (SCATINGA et al., 2019).

A *D. riparius* foi registrada em três municípios na região abrangente do estado do Maranhão. Suas populações crescem em habitats regularmente alagados, como margens de rios e pântanos, caracterizando ser uma forma de vida ribeirinha (SOUZA, GUILIETTI, 2009). A espécie possui um conjunto único de características morfológicas não abrangidas, com folhas muitos maiores do que a *D. floribundus*, e tem indumentário esparsamente a densamente tomentoso (SCATINGA et al., 2019).

A *D. riparius* pode ser localizada por uma área protegida no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, sendo um local onde há restrição e fiscalização. Porém, já foram observados fortes ameaças à qualidade e extensão do habitat da espécie, devido a ameaças que incluem a eliminação inadequada de resíduos, remoção de areia e o desmatamento

da mata ciliar, induzindo ao assoreamento do leito dos rios (SCATINGA et al., 2019). Desta forma, como a mesma é conhecida em apenas três localidades maranhenses, novos estudos estão sendo realizados para rastrear ao longo da bacia hidrográfica novos pontos da espécie, o que podem fornecer informações adicionais e criar uma visibilidade maior para a *D. riparius*, facilitando com que haja novas pesquisas a respeito de suas características e propriedades.

Abordagem sobre fungos endofíticos

Fungos endofíticos são microrganismos que vivem em associação íntima com plantas hospedeiras vivas e saudáveis, colonizando os tecidos vegetais sem ocasionar danos ou patologias. Estima-se que muitas substâncias bioativas que se encontram nos tecidos vegetais podem ser produzidas por estes microrganismos associados, no entanto, a exata relação física e bioquímica entre os endofíticos e seu hospedeiro permanece obscura. Esta interação vem sendo observada há bastante tempo, sendo um dos pontos mais importantes a simbiose, produzindo enzimas hidrolíticas extracelulares, que funcionam como mecanismos de resistência contra invasão microbiana e obtenção de nutrientes (SOUZA et al., 2019).

Microrganismos endofíticos demonstram capacidade de fabricar substâncias com atividades antioxidantes, antibacterianas e tóxicas. Dessa maneira, a identificação de endofitos é de extrema importância para diversas áreas, tendo em vista que, estes microrganismos são fontes facilmente renováveis e reprodutíveis quando comparados com outras fontes naturais. Além de se destacarem como fontes favoráveis de novas substâncias naturais e tem capacidade de produzir um vasto e importante número de metabólitos secundários bioativos (OLIVEIRA, 2021).

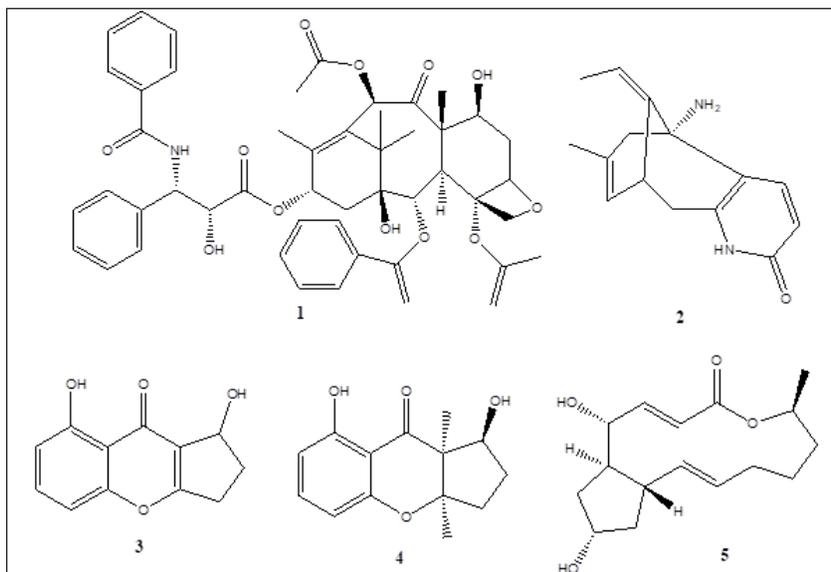
Há vários exemplos da grande contribuição dos fungos endofíticos em fornecer moléculas bioativas. Um deles é o Paclitaxel, medicamento comercialmente conhecido como *Taxol* (ROWINSKY; DONEHOMER, 1995) (figura 1.1). Este é usado para tratar o câncer de mama, de ovários e de pulmão, sendo essa substância isolada pela primeira vez das folhas da planta *Taxus brevifolia*, uma conífera da América do Norte.

Contudo, hoje sabe-se de muitos endofitos que também são capazes de sintetizar a substância tais como o fungo *Metarhizium anisopliae*, que produz taxol em abundância quando cultivado *in vitro*, e *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado de folhas da planta medicinal *Justicia gendarussa*, também produz taxol (KUSARI et al., 2012). *Huperzine A* (Hup-A) (figura 1.2), um alcalóide lycopódio, foi originalmente isolado da planta *Huperzia serrata*, e atraiu grande atenção pelo seu papel na inibição de acetilcolinesterase, com uso promissor no combate ao mal de Alzheimer.

Cerca de 120 linhagens de fungos endofíticos foram isolados de *H. serrata*, e 9 dessas linhagens produziram Hup-A. Dois novos agentes anti-tuberculose, as benzopiranas

diaportheona A (figura 1.3) e B (figura 1.4), foram isoladas do fungo endofítico *Diaporthe* sp. P133, isolado das folhas do vegetal *Pandanus marylifolius* (MA; GANG, 2004). Brefeldina A (figura 1.5) é uma lactona macrocíclica sintetizada do palmitato pelo fungo endofítico *Cladosporium* sp. da planta *Quercus variabilis*, que inibe a secreção de proteína nas células, e é um poderoso agente antiviral (KUSARI et al., 2012).

Figura 1. Moléculas bioativas fornecidas a partir de fungos endofíticos. 1 - Taxol; 2 -Huperzine A; 3 - Benzopiranoas diaportheona A; 4 - Benzopiranoas diaportheona B; 5 - Brefeldina A



Fonte: próprio autor 2023.

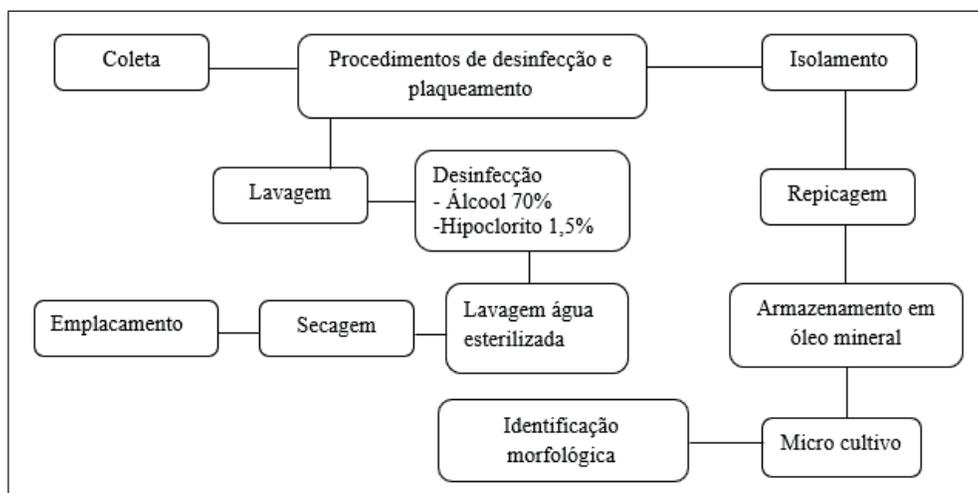
Muitos estudos têm confirmado que fungos endofíticos são competentes na redução e crescimento de fitopatógenos, fornecendo moléculas de efeito antagônico passando a ser considerados uma alternativa no controle biológico e/ou redução do uso de produtos químicos nas culturas (ANDRADE BEZERRA 2020; RIGO, et al., 2021).

METODOLOGIA UTILIZADA

Procedimentos de coleta, isolamento e identificação dos fungos endofíticos

A coleta foi realizada no município de São Benedito do Rio Preto, (03°20'02"S e 43°31'40"O) situado ao leste do estado do Maranhão, Raízes da espécie *Dizygostemon riparius* foram coletadas, armazenadas em sacos plásticos estéreis e conduzidas para o laboratório, sob refrigeração. Os procedimentos para isolamento e identificação fúngica foram como mostra esquema na figura 2.

Figura 2: Procedimentos para isolamento e identificação fúngica



Fonte: Autores, 2023

As amostras foram submetidas à lavagem com água corrente e detergente neutro para retirar as sujidades e excesso de fungos epifíticos. Posteriormente, direcionadas a desinfecção com álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 1,5 % por quatro minutos, submetidas a lavagem com água destilada esterilizada e, seguindo, à secagem em papel filtro esterilizado. Para controle negativo de crescimento microbiano, 50 μ L de água destilada da última lavagem foram semeados em placas de Petri contendo meio de cultivo (SPATAFORA et al., 2015).

Após a assepsia, 5 (cinco) fragmentos de plantas foram transferidos para superfície de placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA, pH 6,8; com 200 g de batata; 20g de dextrose e 15g de ágar para 1000 mL de água destilada; autoclavado por 20 min a 120°C) (LACAZ et al., 2002) e incubados à temperatura ambiente (25 \pm 30 °C) em cinco repetições por um período de 3 a 7 dias.

O crescimento das colônias fúngicas foi acompanhado diariamente e na medida em que surgiam, de acordo com as características macroscópicas (coloração e características de crescimento em meio de cultura), eram isoladas e repicadas.

A partir do quinto dia de incubação, pequenos fragmentos de ágar com hifas dos fungos recém-desenvolvidas foram transferidos para tubos de ensaios contendo meio BDA inclinado e, após desenvolvimento, eram novamente repicados e colocados em microtubos de 1,5 mL com meio de cultura para armazenamento em óleo mineral esterilizado (MAFIA e ALFENAS, 2016).

Para obtenção de cultivos puros, as colônias isoladas foram cultivadas pela técnica de esgotamento para posterior identificação, que foi realizada com base nas características macro e micro morfológicas.

As características macro morfológicas avaliadas consistiram no tamanho da colônia, características dos bordos, textura, relevo e pigmentação. Já as análises micro morfológicas foram realizadas pela técnica de microcultivo em BDA. Para esta técnica foi desenvolvido um sistema que consiste na montagem dentro de uma placa de Petri, de um “sanduíche” contendo uma lamínula mais cubo de meio de cultura BDA e coberto com lamínula, colocados sobre pedaço de canudo em V como suporte, e algodão embebido com água destilada estéril. Após 7 a 10 dias de crescimento em microcultivo as lamínulas da parte superior foram coradas com corante azul de algodão e imediatamente observadas em microscópio, visando identificar as estruturas vegetativas e especialmente as estruturas reprodutivas específicas dos gêneros fúngicos (SHIRLING e GOTTLIEB, 1966).

Fungos endofíticos isolados, características dos gêneros

Os fungos cresceram a partir dos fragmentos das raízes inoculados em placas de BDA com as hifas filamentosas crescendo de forma relativamente rápida e a maioria dos isolados emergindo em menos de sete dias após o plaqueamento das amostras. Nenhum microrganismo foi observado no controle de desinfecção superficial, indicando que o método de isolamento foi eficiente.

Os fungos encontrados no isolamento foram identificados a nível genérico através da comparação de suas características morfológicas com informações disponíveis na literatura taxonômica (BARNETT e HUNTER 1972; LARONE, 1995; MENEZES e OLIVEIRA, 1993). Aqueles que apresentaram estruturas de reprodução foram agrupados em morfotipos com base em suas características microscópicas, o que permitiu inferir que fazem parte dos gêneros *Trichoderma* sp, *Fusarium* sp, *Cladophialophora* sp, *Curvularia* sp, *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp.

Trichoderma sp.

Trichoderma (Figura 3) pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Hypocreaceae. São fungos de vida livre, com ampla distribuição no ambiente, principalmente em regiões de clima temperado e tropical; comumente são encontrados em habitats naturais ricos em matéria orgânica vegetal, associados à madeira em decomposição ou parasitando outros fungos. Além disso, podem viver endofiticamente sem causar danos aparentes ao hospedeiro e raramente causam doenças em plantas vivas (SRIVASTAVA et al., 2014).

Figura 3: Crescimento micelial do fungo identificado como *Trichoderma* em placa de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA). Imagem obtidas com microscópio de luz (40x).



Fonte: Autores, 2023.

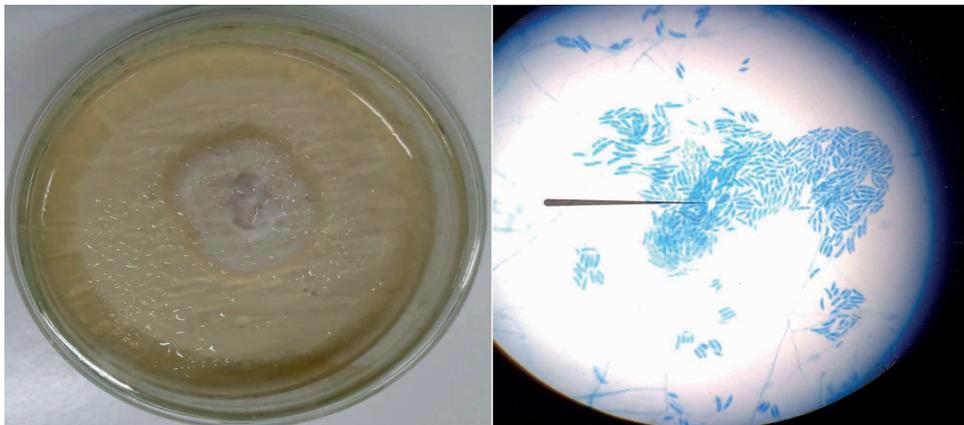
Este gênero demonstra grande importância ecológica e econômica, especialmente para a agricultura, por se tratar de um eficiente antagonista contra diferentes fitopatógenos de diversas plantas como: *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *C. ampelinum*, *Fusarium oxysporum*, *F. graminearum*, *F. semitectum*, *Rhizopus* sp, *R. solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*, dentre outros (SHENTU et al, 2014).

Estudos já comprovaram a capacidade de cepas do gênero *Trichoderma* em produzir ácido indol acético, uma importante substância indutora de crescimento vegetal, e solubilizar fósforo, bem como estimular o enraizamento beneficiando diretamente a nutrição das plantas. Além dos efeitos hormonais e nutricionais, atuam no controle biológico de fitopatógenos e na indução de resistência das plantas à ocorrência de doenças (STEFFEN et al., 2021).

Fusarium sp

A maioria das espécies de *Fusarium* sp (figura 4) é composta por fungos de solo com distribuição cosmopolita e são ativos na decomposição de substratos de plantas. Também pode ser encontrado em meio ao tecido foliar vivo, sem causar malefícios ao desenvolvimento da planta (ALMEIDA, 2021).

Figura 4. Crescimento micelial do fungo identificado como *Fusarium* sp em meio BDA em placa de Petri. Imagens obtidas com microscópio de luz (40x).



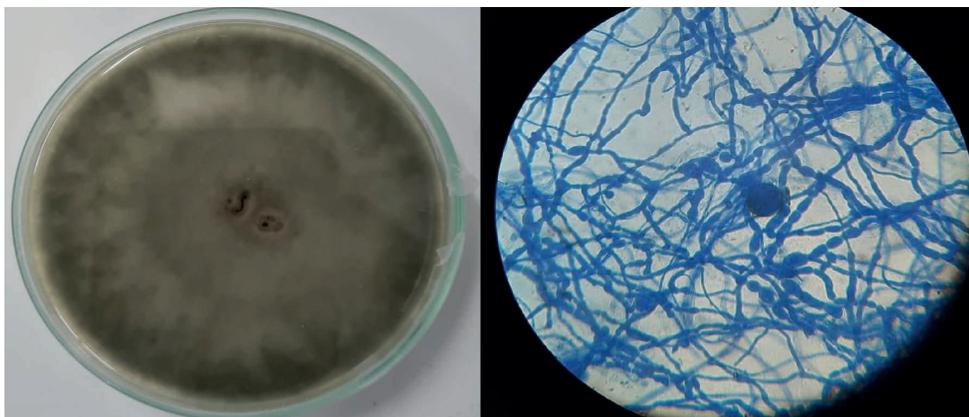
Fonte: Autores, 2023.

Fungos do gênero *Fusarium*, podem ser considerados tanto endofíticos como fitopatogênicos, esta relação depende das condições e possivelmente do tipo fisiológico que o hospeda, no entanto este é importante na proteção vegetal hospedeira, produzindo metabólitos que inibem outros fungos patogênicos (AL-QARALLEH et al., 2021)

Cladophialophora sp

Espécies de *Cladophialophora* (Figura 5) apresentam colônias restritas, pulverulentas à lanosas, verde-acinzentado a verde-oliváceo. (DE HOOG; GENE; FIGUERAS, 2014).

Figura 5. Crescimento micelial de *Cladophialophora* sp em placa de Petri, contendo meio batata dextrose ágar (BDA). Imagem obtida com microscópio de luz (40x).



Fonte: Autores, 2023.

Apesar dos fungos melanizados serem encontrados no ambiente, o isolamento a partir de fontes ambientais é difícil, isolando-se pouca variedade de espécies, pois estes fungos perdem na competitividade de crescimento frente a vários de crescimento rápido, sendo esta uma das razões pelas quais a distribuição destes fungos ainda não é totalmente elucidada (RAMOS, 2020).

No ano de 2006, Marques et al., analisaram amostras de Babaçu, inclusive a casca do coco, e outros diferentes substratos naturais em uma vila do município de Pinheiro, no Maranhão, para verificar a presença de fungos melanizados. *Cladophialophora* sp. foi isolada somente em amostra de madeira do vegetal. Na Amazônia, Alves (2015) isolou o gênero *Cladophialophora* em diferentes substratos, principalmente em espinhos de Jurubeba e Laranjeira.

Curvularia sp

O gênero *Curvularia* (Figura 6) pertence à família Pleosporaceae, na classe dos Ascomycotas, possuindo características filamentosas. O *Curvularia* é bastante associado a doenças em plantas, sendo comumente isolado em vegetais, na forma saprofítica, endofítica ou como parasita. Pesquisas sobre o metabolismo desses fungos revelam uma ampla variedade de subprodutos adquiridos através de processos de isolamento. Antraquinonas, benzofenonas, compostos fenólicos e lactonas são apenas alguns casos de produtos derivados do metabolismo secundário desses fungos (MOURÃO et al., 2017; SOUZA, 2008).

Figura 6. Crescimento micelial de *Curvularia* sp em placa de Petri, contendo meio batata dextrose ágar (BDA). Imagem obtida com microscópio de luz (40x).



Fonte: Autores, 2023.

Com base na caracterização morfológica, o fungo isolado de *Curvularia sp* apresentou micélio cotonoso, em meio de cultivo BDA. Quanto às formas do bordo, o isolado foi regular, a pigmentação da cor da colônia, o padrão variou entre cinza e branco, prevalecendo a cor cinza, e o reverso da colônia apresentou coloração escura. A presença de conídios foi observada no isolamento após os 5 a 7 dias de incubação.

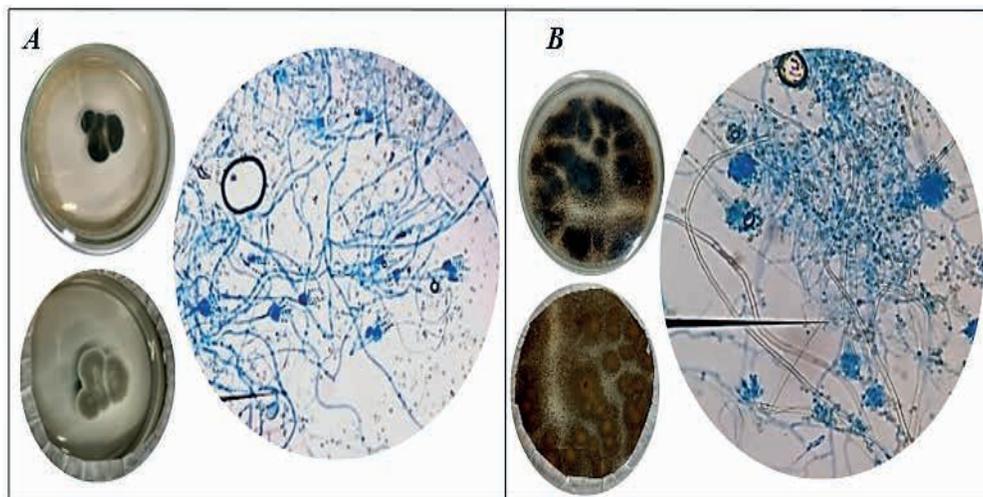
De acordo com Gomes et al. (2021), o extrato de *S. aromaticum* teve uma ação de inibição em maior escala sobre o fungo *Curvularia sp*. Essa inibição deu-se devido a planta em estudo possuir compostos fenólicos, como exemplo o eugenol que possui características antimicrobiana, entre outros.

Penicillium oxalicum e *Aspergillus sp*.

Embora o gênero *Penicillium* (Figura 7) seja alvo de amplo estudo, a identificação desse fungo geralmente se baseia em características tanto micro e macro morfológicas. No entanto, a identificação genética é de grande importância devido à existência de duas espécies filogenéticas irmãs de *Penicillium oxalicum*, que foram recentemente descritas como *Penicillium diatomitis* sp. nov. e *Penicillium soosanum* sp. nov. Ambas as espécies podem ser diferenciadas de *P. oxalicum* com base em dados moleculares, características morfológicas e perfis de extrólitos. *Penicillium diatomitis*, apesar de sua semelhança na morfologia macro e micro morfológica com *P. oxalicum*, pode ser distinguido por sua capacidade de produzir ácidos orgânicos (KUBÁTOVÁ et al., 2019).

O gênero *Aspergillus* (Figura 7) foi identificado há quase 300 anos por Pier Antônio Micheli, um botânico, e continua a ser um dos gêneros mais estudados no reino Fungi. Até o momento, a Comissão Internacional de *Penicillium* e *Aspergillus* reconheceu aproximadamente 339 espécies pertencentes a este gênero. Os fungos do gênero *Aspergillus* são do tipo filamentosos e fazem parte da classe Eurotiomycetes. Eles formam colônias com uma variedade de colorações, incluindo tons de verde, amarelo, cinza, preto, branco e marrom, o que auxilia na diferenciação das seções do gênero (MATOS, et al., 2023).

Figura 7: Crescimento micelial de *Penicillium oxalicum* e *Aspergillus* sp em placa de Petri, contendo meio batata dextrose ágar (BDA). Imagens obtidas com microscópio de luz (40x).



Fonte: Autores, 2023.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve início com a investigação de fungos endofíticos associados à planta *Dizygostemon riparius*, que foi recentemente catalogada por um grupo de pesquisadores do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Maranhão. No decorrer do estudo, uma micoteca foi estabelecida, contendo 53 isolados fúngicos, dos quais quatro fungos foram identificados a nível genérico: *Trichoderma*, *Fusarium*, *Cladophialophora* e *Curvularia*.

Os resultados deste estudo revelaram uma notável diversidade de fungos endofíticos associados à espécie vegetal *D. riparius*. Esta diversidade oferece um grande potencial a ser explorado, especialmente considerando que muitos desses fungos endofíticos ainda não foram relatados na literatura, tanto em relação ao gênero quanto à espécie da planta. Alguns desses fungos, como *Penicillium oxalicum* e *Aspergillus* sp., estão sendo investigados quanto à produção de metabólitos secundários, o que pode trazer benefícios significativos à sociedade, como a busca por metabólitos secundários com ampla gama de atividade biológica, capazes de resolver problemas da sociedade contemporânea.

Por fim, as associações simbióticas entre fungos endofíticos e plantas, que quase sempre são específicas, têm revelado uma intrigante intimidade no nível bioquímico micromolecular. A habilidade demonstrada *in vitro* pelos organismos associados em produzir metabólitos secundários, algumas vezes idênticos aos produzidos pela planta hospedeira e vice-versa, tem chamado a atenção de diversos pesquisadores e portanto, acredita-se no potencial biotecnológico desses fungos endofíticos, e espera-se que estudos com microrganismos abram caminhos para novas pesquisas e perspectivas futuras na área de produtos naturais.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. S. F.; CORRÊA, A.; BENTES, J. L. S.. Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) by *Fusarium concolor* and inhibition of plant pathogens. **Summa Phytopathologica**, v. 47, p. 9-15, 2021.
- AL-QARALLEH, O. S.; AL-ZEREINI, W. A.; AL-MUSTAFA, A. H. Antibacterial, antioxidant and neuroprotective activities of crude extract from the endophytic fungus *Fusarium* sp. isolate OQ-Fus-2-F from *Euphorbia* sp. plant. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 9, n. 6, p. 755-765, 2021.
- BRANDÃO, C. M. Óleo essencial de *Dizyogostemon* sp. (Plantaginaceae): composição química e investigação larvívica contra *Aedes*. 2018. **Dissertação** (Mestrado em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Luís, 2018.
- CORREA, A. G. Z.; DÍAZ, S. G.; CALIX, E. P. Taxonomía, distribución geográfica y ecológica del género *Penstemon* (Plantaginaceae) en la Faja Volcánica Transmexicana, México. **Acta botánica mexicana**, n. 126, 2019.
- GOMES, F. G.; BARBOSA, G. S.; BIANCALANA, A. Avaliação do potencial antifúngico de extratos vegetais sobre fungos patógenos. **Biota Amazônia**, 2021.
- KUBÁTOVÁ, A., HUJSLOVÁ, M., FRISVAD, J.C et al. Revisão taxonômica das espécies de importância biotecnológica *Penicillium oxalicum* com a descrição de duas novas espécies de solos ácidos e salinos. **Mycol Progress** 18, 215-228 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1420-7>
- KUSARI, S.; JÁN, K.; ČELLÁROVÁ E.; SPITELLER M. Survival-strategies of endophytic *Fusarium solani* against indigenous camptothecin biosynthesis. **Fungal Ecol**, v. 4, p.219–23, 2011.
- LACAZ, C.S., PORTO, E., MARTINS, J.E.C.M., HEIS-VACCARI, E.M. & MELO, N.T. 2002. **Tratado de micologia médica**. 9º ed, Sarvier, São Paulo.
- MATOS, J. F. et al. Isolamento, identificação e possível ação deteriógena de fungos no Chafariz da Glória, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. **Revista de Arqueologia**, v. 36, n. 2, p. 140-151, 2023.
- MOURÃO, DALMARCIA DE SOUZA CARLOS et al. Identificação morfológica e molecular de *Curvularia* sp. agente causal da mancha foliar do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2017.
- REFLORA. **Plantaginaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://servicos.jbrj.gov.br/flora/search/Plantaginaceae>. Acesso em: nov. 2022.
- SCATIGNA, A. V.; BRANDÃO, C. M.; COLLERA, G. D. et al. *Dizyogostemon riparius* (*Plantaginaceae* , *Gratioleae*), uma nova espécie do Maranhão, nordeste do Brasil. **Willdenowia**, v. 49, p. 177–186, 2019.
- SCATIGNA, A.V.; MOTA, N. F. O. Flora of the cangas of Serra dos Carajás, Pará, Brazil: Plantaginaceae. **Rodriguésia**. v.68, n.3 (Especial), p.1077-1083, 2017.
- SHIRLING, EB T.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species1. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 313-340, 1966.
- SILVEIRA, F. F. **Flora Campestre, 2020**. Laboratório de Estudos em Vegetação Campestre - UFRGS. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/floracampestre/familia-plantaginaceae/>. Acesso em: 28/7/2023.

SOUZA, D. D. Biodroxilação de substratos orgânicos utilizando o fungo endofítico *Curvularia* sp. 2008. 72 f. **Dissertação** (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química., 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/97990>>.

SOUZA, P. R. de et al. Desenvolvimento nos métodos de glicosilação: uma chave para acessar suas aplicações na síntese de moléculas bioativas. **Química Nova**, v. 44, p. 432-459, 2021.

SOUZA, V. C.; GIULIETTI, A. M. Levantamento das espécies de Scrophulariaceae sensu lato nativas do Brasil. **Pesquisas, Botânica**, v. 60, p. 7-288, 2009.

STEFFEN, G. P. K. et al. Incremento da produtividade de milho pela inoculação de *Trichoderma Harzianum*. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 4455-4468, 2021.