

Efeito de metabólitos secundários produzidos por *Phoma dimorpha* sobre a germinação e crescimento de sementes de diferentes espécies vegetais

José Roberto Chaves Neto^{1,2}, Luciana Luft³, Tássia Carla Confortin^{1,2}, Izelmar Todero¹, Marcio Antônio Mazutti³, Giovani Leone Zobot¹, Marcus Vinícius Tres^{1*}

¹Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 42 – 1º andar, Cep: 97.105-900, Camobi, Santa Maria, RS, Brasil.

²Laboratório de Engenharia de Processos Agroindustriais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Cachoeira do Sul, Rua Sete de Setembro, 1040, Cep: 96508-010, Centro, Cachoeira do Sul, RS, Brasil.

³Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 9B, Cep: 97.105-900, Camobi, Santa Maria, RS, Brasil.

*Autor correspondente: marcus.tres@ufsm.br

Artigo enviado em 29/10/2019, aceito em 01/05/2020

Resumo: Algumas espécies do gênero *Phoma* são consideradas fonte potencial de substâncias biologicamente ativas, as quais podem ser utilizadas no meio agrícola. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos metabólitos secundários presentes no caldo fermentado do fungo *Phoma dimorpha* sobre a germinação, crescimento, massa fresca e seca de plântulas e em folhas destacadas de diferentes espécies de plantas bioindicadoras e daninhas encontradas em diferentes regiões do mundo: *Cucumis sativus*, *Triticum aestivum*, *Amaranthus cruentus*, *Bidens pilosa* e *Echinochloa sp.* Observou-se efeito significativo sobre a germinação de todas as espécies avaliadas. As sementes das espécies dicotiledôneas (*Cucumis sativus*, *Amaranthus cruentus* e *Bidens pilosa*) mostraram-se mais sensíveis, inibindo totalmente a germinação. As sementes das espécies monocotiledôneas apresentaram-se resistentes, com maior capacidade de germinação. Em geral, o crescimento das plântulas das espécies estudadas foi inibido pelo caldo fermentado do fungo *P. dimorpha*. No teste em folha destacada, lesões foram observadas, com amarelecimento e necrose acentuada nas folhas de todas as espécies estudadas. O caldo fermentado do fungo *P. dimorpha* apresenta compostos biologicamente ativos, com ação bioherbicida com alta atividade fitotóxica.

Palavras-chave: fitotoxicidade, caldo fermentado, capacidade de germinação, plantas agrícolas, plantas daninhas.

Effect of secondary metabolites produced by *Phoma dimorpha* on the germination and growth of seeds of different vegetable species

Abstract: Some *Phoma* species are considered a potential source of biologically active substances that can be used in the agricultural environment. The aim of this study was to evaluate the effect of secondary metabolites present in the fermented broth of *Phoma dimorpha* on seedling germination, growth, fresh and dry mass, and on detached leaves of different species of bioindicators and weeds found in different world regions: *Cucumis sativus*, *Triticum aestivum*, *Amaranthus cruentus*, *Bidens pilosa* and *Echinochloa sp.* Significant effect on germination of all evaluated species was observed. The seeds of the dicotyledonous species (*C. sativus*, *A. cruentus* and *B. pilosa*) were more sensitive, totally inhibiting germination. The seeds of monocotyledonous species were resistant, with greater germination capacity. In general, the seedling growth of the studied species was inhibited by the fermented broth of the fungus *P. dimorpha*. In the detached leaf test,

lesions were observed, with yellowing and marked necrosis in the leaves of all studied species. The fermented broth of *P. dimorpha* presents biologically active compounds with bioherbicidal action with high phytotoxic activity.

Keywords: phytotoxicity, fermented broth, germination capacity, agricultural plants, weeds.

Introdução

A interferência das plantas daninhas sobre o desenvolvimento e produtividade das culturas agrícolas vem se agravando, interferindo diretamente no potencial produtivo das culturas, que podem chegar à perda total da lavoura, e por consequência, a grandes perdas econômicas. As plantas daninhas apresentam elevada capacidade em competir com plantas cultivadas por água, luz, nutrientes, energia térmica e dióxido de carbono (Penariol et al., 2008; Suriyagoda et al., 2014). As plantas daninhas apresentam grande agressividade contra as culturas agrícolas, por serem capazes de germinar, de maneira descontínua, através de inúmeros e complexos mecanismos de dormência de suas sementes, podendo até germinar e emergir das camadas mais profundas do solo. As sementes destas plantas possuem grande adaptação a variados ambientes e disseminação a curta e longa distância, com rápido crescimento vegetativo e florescimento (Merotto et al., 2002).

Atualmente o principal método de controle das plantas daninhas na agricultura é através da aplicação de herbicidas sintéticos, o qual é considerado muito eficiente (Chou et al., 2010; Bunkoed et al., 2017). No entanto, quando utilizado de maneira incorreta, com aplicações de doses superiores às recomendadas, acarretam riscos à saúde e ao meio ambiente. Além disso, doses excessivas podem favorecer o desenvolvimento de espécies de plantas daninhas com resistência múltipla ao

modo de ação de determinadas moléculas químicas, fato que vem sendo observado nos últimos anos (Jabran et al., 2015; Meuller-Steover et al., 2016). Desse modo, a busca por métodos de manejo que configura a agricultura sustentável vem tornando-se uma alternativa para o controle de plantas daninhas. Segundo Yang et al. (2014), o desenvolvimento de herbicidas não-poluentes, seguros e ambientalmente corretos, tornou-se necessário e indispensável.

O controle biológico é uma alternativa sustentável para o manejo das plantas daninhas nas áreas agrícolas, o que permite a substituição gradativa e redução da aplicação de herbicidas sintéticos (Bettiol, 2008; Chagas et al., 2014). Caracteriza-se como técnica que utiliza organismos vivos, para controlar ou reduzir espécies de plantas indesejáveis, por meio da utilização de compostos bioativos produzidas pelo metabolismo secundário de fungos, bactérias e plantas. Essa estratégia de biocontrole denomina-se bioherbicida (Venzon et al., 2006).

Dentre estes microrganismos os fungos são os mais estudados para o controle de plantas daninhas, visto que diversas espécies de fungos fitopatogênicos possuem a capacidade de produzirem substâncias tóxicas às plantas daninhas (Villaverde et al., 2014). Além deste aspecto fundamental, os fungos são encontrados em abundância na natureza, apresentando facilidade de identificação e de fácil cultivo em meios artificiais para produção em massa (Li et al., 2003). Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos ao longo dos últimos anos

e têm mostrado que fitotoxinas produzidas por fungos fitopatogênicos apresentam atividade herbicida comprovada, como é o caso do fungo *Trichoderma* spp. (Javaid e Ali, 2011), *Diaporthe* sp. (Souza et al., 2015; Pes et al., 2016), *Phoma* sp. (Graupner et al., 2003; Cimmino et al., 2008; Cimmino et al., 2013; Evidente et al., 2016).

Estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de identificar fungos produtores de substâncias bioativas com potencial para serem explorados para a produção de bioprodutos destinados à agricultura (Kaul et al., 2012). Dentre estes, os fungos do gênero *Phoma* são um dos mais estudados, ganhando destaque em todo o mundo, por secretarem metabólitos secundários como pigmentos de fitotoxina e antraquinona, os quais possuem grande potencial comprovado para o controle biológico de plantas daninhas (Rai et al., 2009; Kim et al., 2012; Hubbard et al., 2014; Brun et al., 2016).

Pesquisas recentes evidenciam a ação bioherbicida de metabólitos produzidos pelo fungo *Phoma* sp. sobre plantas daninhas. Todero et al. (2018a) avaliaram a adição de adjuvantes aos metabólitos secundários produzidos pelo fungo *Phoma* sp. para potencializar o efeito bioherbicida sobre plantas daninhas. Os autores constataram que a aplicação da formulação à base do caldo fermentado filtrado do fungo *Phoma* sp., óleo de palma e Tween®80, potencializou o efeito dos metabólitos produzidos pelo fungo em pré-emergência em três diferentes plantas daninhas: *A. retroflexus*, *B. pilosa* e *C. canadensis*. Luft et al. (2019), avaliando diferentes métodos de concentração (membranas de fibra oca de ultra e microfiltração) de biopolímeros extracelulares produzidos por *Phoma* sp. por fermentação submersa, constataram que a absorção dos biopolímeros extracelulares sobre folhas destacadas

de *C. sativus* gerou maiores danos quando concentrados por membrana de fibra oca de microfiltração.

Assim, os estudos de inibição da germinação por parte da aplicação de compostos presentes no caldo fermentado de fungos são de grande importância visto que a interrupção do processo germinativo de sementes de espécies de plantas daninhas cessa a perpetuação das espécies sendo um ponto crucial para o controle destas que interferem diretamente sobre a produção agrícola. A partir do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do caldo fermentado sem células do fungo *Phoma dimorpha* sobre a germinação, crescimento, massa fresca e seca de plântulas e em folhas destacadas de espécies de plantas bioindicadoras (*Cucumis sativus*, *Triticum aestivum*) e daninhas (*Amaranthus cruentus*, *Bidens pilosa* e *Echinochloa* spp.).

Materiais e métodos

Os bioensaios foram realizados no período de maio a setembro de 2018 no Laboratório Biotec Factory do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS. Para os ensaios de pré-emergência, assim como em folha destacada, foram utilizadas sementes e folhas jovens de diferentes espécies de plantas, divididas em dois grupos: bioindicadoras e plantas daninhas (Tabela 1).

A resistência ou tolerância aos compostos presentes no caldo fermentado de fungos é uma característica espécie-específica, existindo aquelas mais sensíveis como *Cucumis sativus* L. (pepino) e *Triticum aestivum* (trigo), as quais são consideradas plantas indicadoras de atividade alelopática. Para que seja indicada como planta teste, uma determinada espécie deve apresentar

germinação rápida e uniforme, e um grau de sensibilidade que permita expressar os resultados sob baixas concentrações

das substâncias alelopáticas (Gabor e Veatch, 1981; Ferreira e Áquila, 2000).

Tabela 1. Espécies de plantas utilizadas no teste de germinação em função da aplicação dos metabólitos secundários provenientes da fermentação submersa do fungo *P. dimorpha*.

Nome científico	Nome comum
Plantas bioindicadoras	
<i>Cucumis sativus</i>	Pepino
<i>Triticum aestivum</i>	Trigo
Plantas daninhas	
<i>Amaranthus cruentus</i>	Caruru roxo
<i>Bidens pilosa</i>	Picão Preto
<i>Echinochloa</i> sp.	Capim-arroz

O microrganismo empregado no processo fermentativo foi o fungo *Phoma dimorpha* proveniente da coleção do Laboratório Biotec Factory do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Maria, onde são mantidas a 4°C em refrigerador.

Para a fermentação submersa, foram transferidos 2 discos (6 mm) de

micélio fúngico, em crescimento ativo cultivado em meio de batata-dextrose-ágar (BDA), para frascos Erlenmeyers de 250 mL, contendo 130 mL do líquido de cultivo esterilizado a 121°C em autoclave por 30 minutos. A composição do meio líquido de cultivo seguiu metodologia descrita por Para et al. (2005) e Zhang et al. (2012) (Tabela 2).

Tabela 2. Composição do meio líquido de cultivo para o processo de fermentativo do fungo *P. dimorpha*.

Componente	Quantidade
Extrato de Batata	200 g L ⁻¹
Dextrose	20 g L ⁻¹
Peptona	10 g L ⁻¹
Extrato levedura	7,5 g L ⁻¹
Sulfato de Amônio ((NH ₄) ₂ SO ₄)	2 g L ⁻¹
Sulfato Ferroso (FeSO ₄ .7H ₂ O)	1 g L ⁻¹
Sulfato de Magnésio (MgSO ₄)	0,5 g L ⁻¹
Sulfato de Manganês (MnSO ₄ .H ₂ O)	1 g L ⁻¹

Fonte: Para et al. (2005) e Zhang et al. (2012).

Em seguida, os frascos foram mantidos a temperatura de 28°C e agitação de 120 rpm (Innova 44R, New Brunswick) por um período de 10 dias, de acordo com metodologia descrita por Klaic et al. (2017). Após este período foi realizada a separação da biomassa do caldo fermentado do fungo, de modo a obter um caldo fermentado livre de

células, o qual foi armazenado para posteriores avaliações.

Para o teste de germinação das diferentes espécies, foram utilizadas 200 sementes por espécie, as quais foram semeadas em caixas gerbox (11x11x4 cm), contendo duas folhas de papel (Germitest®) previamente umedecidas com o tratamento na proporção de 2,5

vezes a massa do papel seco, e mantidas em câmara de germinação tipo BOD, nas respectivas temperaturas de cada espécie, estabelecidas nas Regras de Análise de sementes (Brasil, 2009), e fotoperíodo de 12/12 horas de luz/escuro.

A porcentagem de germinação (PG - %) foi estimada pela contagem diária do número de sementes germinadas, considerando como semente germinada protrusão da radícula com comprimento mínimo de 2 mm (Ferreira e Aquila, 2000). O período de avaliação variou para cada espécie. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

Ao final do teste de germinação foram realizadas avaliações de crescimento inicial, com o auxílio de um paquímetro digital (Topex 31C615, Polônia), aonde foi determinado o comprimento de dez plântulas por repetição, escolhidas ao acaso, e os resultados expressos em milímetros (mm) por plântula. Pesando-se em balança analítica (A42207c - Bel Engineering) todas as plântulas de cada repetição obtidas ao final do teste de germinação, estimou-se a massa fresca total de plântulas de cada espécie, e os resultados foram expressos em gramas por plântula. Em seguida, para obtenção da massa fresca total estas plântulas, foram acondicionadas em envelopes de papel pardo e submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada a temperatura de 70°C, até massa constante, e os resultados foram expressos em gramas por plântula.

Para avaliar o efeito fitotóxico da aplicação de metabólitos secundários do fungo *P. dimorpha* sobre folhas destacadas, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos em quatro repetições, sendo cada folha considerada uma repetição. Para isso foram coletadas folhas jovens

das diferentes espécies avaliadas. Estas folhas foram dispostas em caixas gerbox previamente desinfestadas com etanol 70% e forradas com duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada, para evitar o ressecamento das folhas (Pedras e Ahiahonu, 2004).

A aplicação dos tratamentos foi realizada com o auxílio de uma pipeta automática, adicionando-se 3 mL sobre o algodão envolto ao pecíolo das folhas. Como controle no tratamento T1 aplicou-se apenas água destilada e no T2 aplicou-se o caldo fermentado do fungo *P. dimorpha*. Em seguida, as caixas gerbox foram acondicionadas em câmara incubadora tipo BOD (POLEKO, modelo KK 350, Polônia) com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12/12 horas de luz/escuro (Toderó et al., 2018b).

A avaliação foi realizada no 9º dia após a aplicação, quantificando a área foliar com sintomas com o auxílio do software Compu Eye (Bakr, 2005). Para isso, as folhas foram fotografadas individualmente. Os arquivos de imagem foram anexados e analisados pelo software, tendo como resultado a porcentagem de área afetada (sintomas) para cada folha.

Para a análise estatística dos resultados foi utilizado o programa estatístico SISVAR versão 5.1 (Ferreira, 2014). Os resultados foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade dos erros, em seguida à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$).

Resultados e discussão

Na Tabela 3 são apresentados os resultados do teste de germinação das diferentes espécies avaliadas, após a aplicação do caldo fermentado contendo metabólitos secundários produzidos pelo fungo *P. dimorpha*. Observou-se efeito bioherbicida significativo ($p \leq 0,05$)

para o tratamento com aplicação do caldo sobre a germinação de todas as espécies avaliadas (Tabela 3).

Observou-se maior sensibilidade das espécies dicotiledôneas (*C. sativus*, *A. cruentus* e *B. pilosa*). O tratamento com aplicação do caldo fermentado do fungo *P. dimorpha* inibiu em 100% a germinação (Tabela 3, Figura 1). Para as espécies monocotiledôneas *T. aestivum* e *Echinochloa* spp. observou-se no tratamento com aplicação dos metabólitos do fungo *P. dimorpha* baixas porcentagens de germinação, com médias de 2,0% e 4,12%, respectivamente (Tabela 3). Onde não ocorreu o desenvolvimento de parte aérea das plântulas, no entanto, houve uma leve protusão radicular, que no decorrer do teste veio a necrosar (Figura 1). Estes resultados mostram que os metabólitos secundários presentes no caldo fermentado do fungo *P. dimorpha* apresentam efeito inibitório de 100% sobre espécies de plantas bioindicadoras e daninhas de folhas largas, caracterizando-se como uma alternativa para a produção de bioprodutos destinados ao controle de plantas daninhas.

Resultados semelhantes foram observados por Bailey et al. (2011), que ao avaliarem o efeito de um bioherbicida

produzido a partir do caldo fermentado livre de células do fungo *Phoma* sp., contataram maior efeito sobre sementes de espécies dicotiledôneas do que em monocotiledôneas. Porém, o mesmo não foi observado por Brun et al. (2016), que ao aplicarem o caldo fermentado livre de células do fungo *Phoma* sp. constaram um amplo espectro de ação de herbicida em pré-emergência, onde observou-se inibição da germinação tanto para espécies monocotiledôneas (*Sorghum bicolor*) como de dicotiledôneas (*Cucumis sativus*).

De acordo com Zohaib et al. (2016), a diminuição da germinação e o prolongamento do tempo para atingir 50% de sementes germinadas podem estar relacionados à inibição de enzimas respiratórias e enzimas envolvidas na via das pentoses fosfato na germinação de sementes, em função dos compostos fenólicos presentes em extratos aquosos das plantas daninhas. A utilização de determinado bioherbicida em pré-emergência para o controle de plantas daninhas, principalmente na fase inicial do estabelecimento da cultura, permite a redução na emergência e na competição, favorecendo a diminuição do banco de sementes ao longo do tempo (Pes et al., 2016).

Tabela 3. Porcentagem média de germinação (% de plântulas normais) e eficácia do tratamento em função da aplicação dos metabólitos secundários do fungo *P. dimorpha* sobre sementes das diferentes espécies de plantas cultivadas e daninhas.

Espécies	Sementes germinadas (%)	
	Testemunha	Caldo Fermentado
<i>Cucumis sativus</i>	100 ± < 0,01A	0B
<i>Triticum aestivum</i>	100 ± < 0,01A	3 ± 2,00B
<i>Amaranthus cruentus</i>	74 ± 2,56A	0B
<i>Bidens pilosa</i>	79 ± 4,57A	0B
<i>Echinochloa</i> spp.	71 ± 1,15A	11 ± 4,12B

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

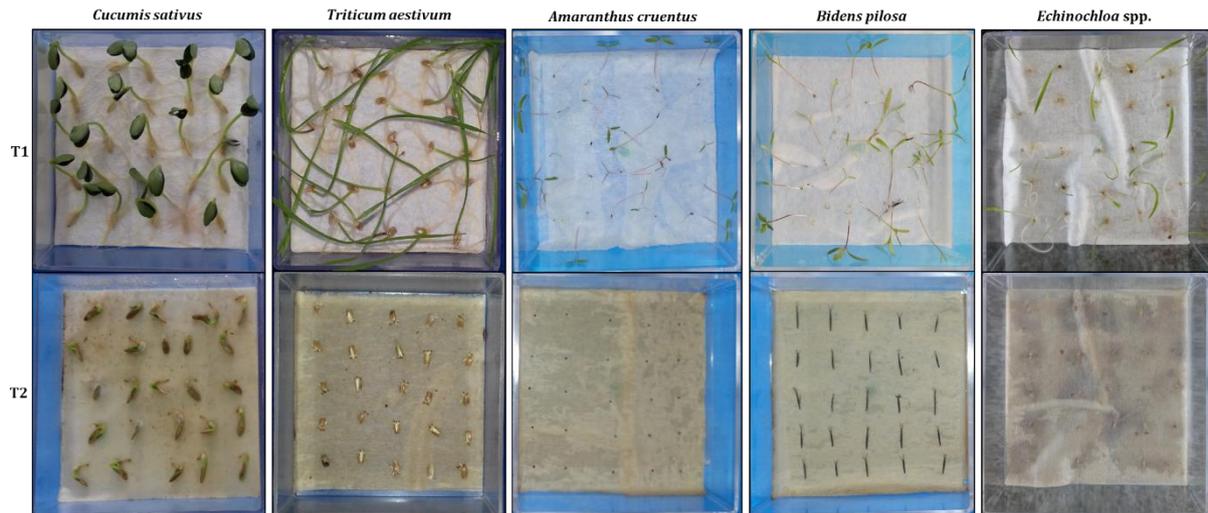


Figura 1. Ação fitotóxica da aplicação dos metabólitos secundários do fungo *P. dimorpha* sobre as espécies de plantas bioindicadoras e daninhas: T1) Tratamento testemunha; T2) Tratamento com aplicação de metabólitos secundários do fungo *P. dimorpha*.

O comprimento de parte aérea e raiz das plântulas das diferentes espécies estudadas estão apresentados na Tabela 4. Houve diferença significativa para comprimento da raiz e da parte aérea de plântulas das espécies estudadas em função da aplicação do caldo fermentado do fungo *P. dimorpha*. O comprimento tanto de parte aérea como de raiz foi superior na testemunha, visto que as sementes germinaram e desenvolveram-se normalmente, o que não foi observado no tratamento com aplicação do caldo

fermentado, onde ocorreu inibição total da germinação das sementes das espécies dicotiledôneas. Para as espécies monocotiledôneas, a aplicação do caldo do fungo *P. dimorpha* gerou inibição total da emissão de parte aérea das sementes. Porém, houve um início da protrusão de radícula e posterior necrose (Tabela 2). Quanto à massa fresca, ocorreu diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos aplicados para todas as espécies estudadas (Tabela 4).

Tabela 4. Comprimento de parte aérea e de raiz (mm), massa fresca e massa seca (g) de plântulas das diferentes espécies de plantas bioindicadoras e daninhas estudadas, sob efeito da aplicação dos metabólitos secundários (caldo) do fungo *P. dimorpha*, provenientes do teste de germinação.

Espécies	Tratamento	Comp. de parte aérea (mm)	Comp. de raiz (mm)	Massa fresca (g)
<i>C. sativus</i>	Testemunha	21,84 ± 6,70a	81,91 ± 5,69a	4,73 ± 0,28a
	Caldo	0,00b	0,00b	0,00b
<i>T. aestivum</i>	Testemunha	89,91 ± 2,28a	140,33 ± 5,09a	4,416 ± 0,32a
	Caldo	0,00b	0,00b	2,33 ± <0,01b
<i>A. cruentus</i>	Testemunha	19,97 ± 0,94a	12,65 ± 0,83a	1,81 ± 0,03a
	Caldo	0,00b	0,00b	0,00b
<i>B. pilosa</i>	Testemunha	29,90 ± 3,92a	42,38 ± 8,58a	4,14 ± 0,47a
	Caldo	0,00b	0,00b	0,00b
<i>Echinochloa</i> spp.	Testemunha	41,74 ± 5,82a	26,67 ± 2,23a	0,24 ± 0,03a
	Caldo	0,00b	0,00b	0,00b

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Comp.: comprimento.

Na Tabela 5 está apresentada a porcentagem de fitotoxicidade (sintomas) da aplicação do caldo fermentado do fungo *P. dimorpha* sobre folhas destacadas das diferentes espécies avaliadas. Para as folhas destacadas de *C. sativus* observou-se lesões, com amarelecimento e necrose acentuada

(Figura 2). Resultados similares foram descritos por Brun et al. (2016), que ao avaliarem o efeito da aplicação dos metabólitos secundários de *Phoma* sp. sobre folhas destacadas de *C. sativus*, observaram a ocorrência de lesões como leve amarelecimento e leve necrose nas folhas destacadas de *C. sativus*.

Tabela 5. Teste de fitotoxicidade (%) em folhas destacadas das diferentes espécies de plantas biondicadoras e daninhas, 9 dias após a aplicação dos metabólitos secundários do fungo *P. dimorpha*.

Espécies	Sintomas (%)	Tratamento	
		Testemunha	Caldo Fermentado
<i>C. sativus</i>	Despigmentação leve	-	-
	Clorose	-	82,73
	Necrose	-	17,27
	Amarelecimento	-	-
	Despigmentação total	-	-
	Sadia	100	-
<i>S. bicolor</i>	Despigmentação leve	-	-
	Clorose	-	-
	Necrose	-	100
	Amarelecimento	-	-
	Despigmentação total	-	-
	Sadia	100	-
<i>A. cruentus</i>	Despigmentação leve	-	30,63
	Clorose	-	10,08
	Necrose	-	5,41
	Amarelecimento	-	28,86
	Despigmentação total	-	25,29
	Sadia	100	-
<i>Bidens pilosa</i>	Despigmentação leve	-	-
	Clorose	-	-
	Necrose	-	100
	Amarelecimento	-	-
	Despigmentação total	-	-
	Sadia	100	-
<i>Echinochloa</i> spp.	Despigmentação leve	-	-
	Clorose	-	100
	Necrose	-	-
	Amarelecimento	-	-
	Despigmentação total	-	-
	Sadia	100	-

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Graupner et al. (2003) e Vikrant et al. (2006), ao avaliarem a eficácia da

aplicação do caldo bruto de diferentes espécies de *Phoma* sp. obtidos por

fermentação submersa sobre folhas destacadas de plantas de *Cirsium arvense* L. e *Parthenium hysterophorus* (losna branca), respectivamente, observaram rápido amarelecimento e clorose, seguida por necrose e morte das folhas, como também redução do crescimento. Zhou et al. (2004) constataram atividade bioherbicida de *Phoma macrostoma* Mont. (Var. *Macrostoma*) contra mudas de dente-de-leão. Bailey e Derby (2001) e Hubbard et al. (2014) também encontraram eficácia dos metabolitos produzidos pelo fungo *Phoma macrostoma* para o controle biológico de outras plantas daninhas, como cardo do Canadá (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) e camomila sem cheiro (*Matricaria perforata* Merat), respectivamente.

Resultados semelhantes foram descritos em estudo recente desenvolvido por Toderó et al. (2019). Os efeitos fitotóxicos de exopolissacarídeos produzidos por fermentação submersa de *Fusarium fujikuroi* e submetidos a diferentes métodos de concentração (membranas, liofilização e evaporação) foram avaliados por meio de ensaios de absorção em folhas destacadas de *Cucumis sativus*. Os autores constataram que a aplicação dos exopolissacarídeos concentrados produzidos por *F. fujikuroi* desenvolveram sintomas de necrose (5,85%), clorose (16,66%) e ligeira despigmentação (77,79%) sobre folhas de *C. sativus*. Quando é aumentada a concentração de exopolissacarídeos ocorre um aumento no poder herbicida do caldo fermentado do fungo *F. fujikuroi*.

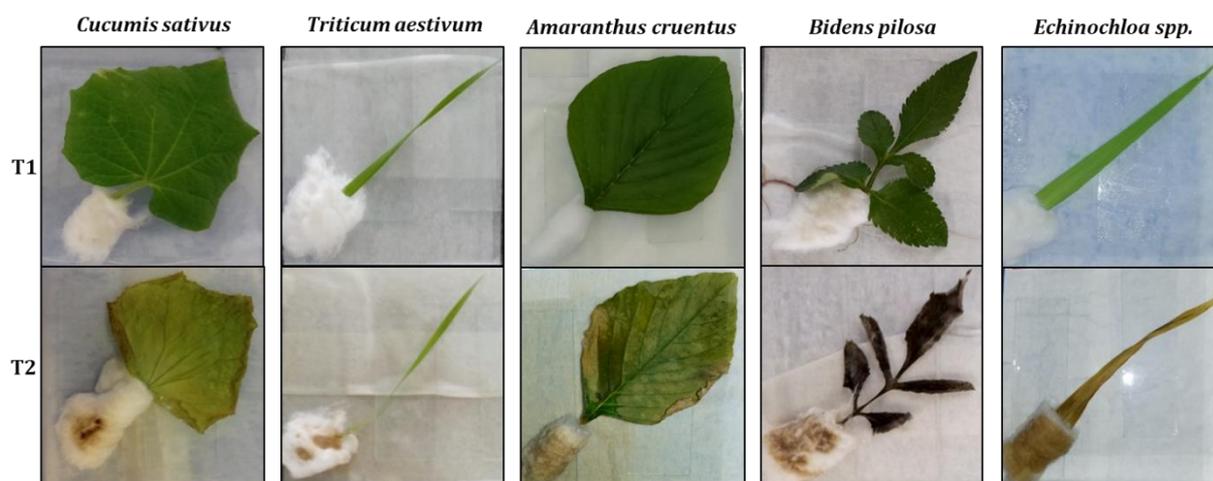


Figura 2. Efeito fitotóxico em folhas destacadas das diferentes espécies de plantas biondicadoras e daninhas, 9 dias após a aplicação dos metabólitos secundários do fungo *P. dimorpha*: T1) Tratamento testemunha; T2) Tratamento com aplicação de metabólitos secundários do fungo *P. dimorpha*.

Conclusões

A aplicação do caldo fermentado do fungo *P. dimorpha* inibiu totalmente a germinação das sementes das espécies monocotiledôneas e reduziu significativamente a germinação das espécies dicotiledôneas. Em folhas destacadas, o caldo fermentado causou

danos severos às folhas das espécies avaliadas. O caldo fermentado do fungo *P. dimorpha* apresenta compostos biologicamente ativos, com ação bioherbicida com alta atividade fitotóxica.

Referências

- BAILEY, K. L.; PITT, W. M.; FALK, S.; DERBY, J. The effects of *Phoma macrostoma* on nontarget plant and target weed species. **Biological Control**, v.58, n.3, p.379-386, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.06.001>
- BAILEY, K. L.; DERBY, J. Fungal isolates and biological control compositions for the control of weeds. US Patent Application Serial No. 60/294475. Filed May 20, 2001.
- BAKR, E. A new software for measuring leaf area, and area damaged by *Tetranychus urticae* Koch. **Journal of Applied Entomology**, v.129, p.173-175, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2005.00948.x>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395 p.
- BRUN, T. RABUSKE, J. E.; TODERO, I.; ALMEIDA, T. C.; JUNIOR, J. J. D.; ARIOTTI, G.; CONFORTIN, T. C.; ARNEMANN, J. A.; KUHN, R. C.; GUEDES, J. V. C.; MAZUTTI, M. A. Production of bioherbicide by *Phoma* sp. in a stirred-tank bioreactor. **3 Biotech**, v.6, n.2, p.230-239, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0557-9>
- BUNKOED, W.; WICHITTRAKARN, P.; LAOSINWATTANA, C. Allelopathic Potential of Essential Oil from Bottle Brush (*Callistemon lanceolatus* DC.) on The Germination and Growth of *Echinochloa crus-gall* L. **International Journal of Agricultural Technology**, v.13, n.7.3, p.2693-2701, 2017.
- CHOU, C. H. Role of allelopathy in sustainable agriculture: Use of allelochemicals as naturally occurring bio-agrochemicals. **Allelopathy Journal**, v.25, n.1, p.3-16, 2010. <https://doi.org/10.1080/07352689991309414>
- CIMMINO, A.; ANDOLFI, A.; BERESTETSKIY, A.; EVIDENTE, A. Production of phytotoxins by *Phoma exigua* var *exigua*, a potential mycoherbicide against perennial thistles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.15, p.630-634, 2008. <http://dx.doi.org/10.1021/jf8004178>
- CIMMINO, A.; ANDOLFI, A.; ZONNO, M.C.; AVOLIO, F.; BERESTETSKIY, A.; VURRO, M.; EVIDENTE, A. Chenopodolans A-C: phytotoxic furopyrans produced by *Phoma chenopodiicola*, a fungal pathogen of *Chenopodium album*. **Phytochemistry**, v.96, n.1, p.208-213, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.10.007>
- DAYAN, F.; DUKE, S. O. Natural Compounds as Next-Generation Herbicides. **Plant Physiology**, v.166, n.1, p.1090-1105, 2014. <https://doi.org/10.1104/pp.114.239061>
- EVIDENTE, M.; CIMMINO, A.; ZONNO, M. C.; MAIS, M.; SANTORO E.; VERGURA, S.; BERESTETSKIY, A.; SUPERCHI, S.; VURRO, M.; EVIDENTE, A. Chenopodolans E and F, two new furopyrans produced by *Phoma chenopodiicola* and absolute configuration determination of chenopodolan B. **Tetrahedron**, v.72, n.51, p.8502-8507, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2016.11.024>
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.esp., p.175-204, 2000.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. **Alelopatia: uma área emergente da**

- ecofisiologia**. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.12, p.175-204, 2000.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>
- GABOR, W. E.; VEATCH, C. Isolation of phytotoxin from quackgrass (*Agropyron repens*) rhizomes. **Weed Science**, v.29, n.2, p.155-159, 1981. <https://doi.org/10.1017/S0043174500061713>
- GRAUPNER, P. R.; CARR, A.; CLANCY, E.; GILBERT, J.; BAILEY, K. L.; DERBY, J. A.; GERWICK, B. C. The macrocidins: novel cyclic tetramic acids with herbicidal activity produced by *Phoma macrostoma*. **Journal of Natural Products**, v.66, n.12, p.1558-1561, 2003. <http://dx.doi.org/10.1021/np030193e>
- HUBBARD, M.; HYNES, R. K.; ERLANDSON, M.; BAILEY, K. L. The biochemistry behind biopesticide efficacy. **Sustainable Chemical Processes**, v.2, n.18, p.1-8, 2014. <https://doi.org/10.1186/s40508-014-0018-x>
- JABRAN, K.; MAHAJAN, G.; SARDANA, V.; CHAUHAN, B.S. Allelopathy for weed control in agricultural systems. **Crop Protection**, v.72, p.57-65, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.03.00>
- JAVOID, A.; ALI, S. Alternative management of a problematic weed of wheat *Avena fatua* L. by metabolites of *Trichoderma*. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.71, n.2, p.205-211, 2011. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392011000200004>
- KAUL, S.; GUPTA, S.; AHMED, M.; DHAR, M. K. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. **Phytochemistry Reviews**, v.11, n.1, p.487-505, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9260-6>
- KIM, E.L.; LI, J.L.; DANG, H.T.; HONG, J.; LEE, C.O.; KIM, D.K.; YOON, W.D.; KIM, E.; LIU, Y.; JUNG, J.H. Cytotoxic cytochalasins from the endozoic fungus *Phoma* sp. of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.22, n.9, p.5752-5752, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.03.058>
- KLAIC, R.; SALLET, D.; FOLETTTO, E. L.; JACQUES, R. J. S.; GUEDES, J. V. C.; KUHN, R. C.; MAZUTTI, M. A. Optimization of solid-state fermentation for bioherbicide production by *Phoma* sp. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.34, n.02, p.377-384, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20170342s20150613>
- LUFT, L.; CONFORTIN, T. C.; TODERO, I.; CHAVES NETO J. R.; TONATO, D.; ZABOT, G. L.; MAZUTTI, M. A. Different techniques for concentration of extracellular biopolymers with herbicidal activity produced by *Phoma* sp. **Environmental Technology**, p.1-27. 2019. DOI: 10.1080/09593330.2019.1669720
- MEROTTO, J. A.; VIDAL, R. A.; FLECK, N. G.; ALMEIDA, M. L. Weed Interference in the Initial Development of Soybean and Rice Plants through Light Quality. **Planta Daninha**, v.20, n.1, p.9-16, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582002000100002>
- MEULLER-STEOWER, D.; NYBROE, O.; BARAIBAR, B.; LODDO, D.; EIZENBERG, H.; FRENCH, K.; SØNDERSKOV, M.; NEVE, P.; PELTZER, D. A.; MACZEY, N.; CHRISTENSEN, S. Contribution of the seed microbiome to weed management. **Weed Research**, v.56, n.5, p. 335-339,

2016.
<https://doi.org/10.1111/wre.12218>
- PARRA, R.; ALDRED, D.; MAGAN, N. Medium optimization for the production of the secondary metabolite squalestatin S1 by a *Phoma* sp. combining orthogonal design and response surface methodology. **Enzyme and Microbial Technology**, v.37, n.7, p.704-711, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.04.009>
- PEDRAS, M. S.; AHIAHONU, P. W. Phytotoxin production and phytoalexin elicitation by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Chemical Ecology**, v.30, n.11, p.2163-2179, 2004. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000048781.72203.6c>
- PENARIOL, M. C.; MONTEIRO, A. C.; PITELLI, R. A. Growth and sporulation of *bipolaris euphorbiae* cultivated under different nutritional conditions. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1907-1913, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000700016>
- PES, M. P.; MAZUTTI, M. A.; ALMEIDA, T. C.; Curioletti, L. E.; MELO, A. A.; GUEDES, J. V. C.; KUHN, R. C. Bioherbicide based on *Diaporthe* sp. secondary metabolites in the control of three tough weeds. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.42, p.4242-4249, 2016. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11639>
- RAI, M.; DESHMUKH, P.; GADE, A.; INGLE, A.; KÖVICS, G. J.; IRINYI, L. *Phoma Saccardo*: Distribution, secondary metabolite production and biotechnological applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v.35, n.3, p.182-196, 2009. <https://doi.org/10.1080/10408410902975992>
- SOUZA, A. R. C.; BORTOLUZZI, D.; LIMA, J.; PORTO, V.; MARCUZ, C.; FERRAZ, R. C.; KUHN, R. C.; JACQUES, R. J. S.; GUEDES, J. V. C.; MAZUTTI, M. A. Bioherbicide production by *Diaporthe* sp. isolated from the Brazilian Pampa biome. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.4, n.1, p.575-578, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.09.005>
- SURIYAGODA, L.; COSTA W. A. J. M.; LAMBERS, H. Growth and phosphorus nutrition of rice when inorganic fertiliser application is partly replaced by straw under varying moisture availability in sandy and clay soils. **Plant Soil**, v.384, n.1-2, p.53-68, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2049-1>
- TODERO, I.; CONFORTIN, T. C.; LUFT, L.; SEIBEL, J.; KUHN, R. C.; TRES, M. V.; MAZUTTI, M. A. Concentration of exopolysaccharides produced by *Fusarium fujikuroi* and application of bioproduct as an effective bioherbicide. **Environmental Technology**, v.1, n.1, p.1-21, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1580775>
- TODERO, I.; CONFORTIN, T. C.; LUFT, L.; BRUN, T.; UGALDE, G. A.; ALMEIDA, T. C.; ARNEMANN, J. A.; ZABOT, G. L.; MAZUTTI, M. A. Formulation of a bioherbicide with metabolites from *Phoma* sp. **Scientia Horticulturae**, v.241, n.1, p.285-292, 2018a. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.07.009>
- TODERO, I.; CONFORTIN, T. C.; SOARES, J. F.; BRUN, T.; LUFT, L.; RABUSKE, J. E.; KUHN, R. C.; TRES, M. V.; ZABOT, G. L.; MAZUTTI, M. A. Concentration of metabolites from *Phoma* sp. using microfiltration membrane for increasing bioherbicidal activity. **Environmental Technology**, v.22, n.1, p.1-9. 2018b. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1441330>

VENZON, M. ROSADO, M. C.; EUZÉBIO, D. E.; SOUZA, B.; SCHOEREDER, J. H. Suitability of leguminous cover crop pollens as food source for the green lacewing *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, v.35, n.3, p.371-376, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2006000300012>

VIKRANT, P.; VERMA, K. K.; RAJAK, R. C.; PANDEY, A. K. Characterization of a phytotoxin from *Phoma herbarum* for management of *Parthenium hysterophorus* L. J. **Phytopathol**, v.154, n.1, p.461-68, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2006.01129.x>

ZHANG, L.; WANG, S-Q.; LI, X-J.; ZHANG, A-L.; ZHANG, Q.; GAO, J-M. New insight into the stereochemistry of botryosphaeridione from a *Phoma* endophyte. **Journal of Molecular Structure**, v.1016, n.1, p. 72-75, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.02.041>

ZOHAIB, A.; ABBAS, T.; TABASSUM, T. Weeds cause losses in field crops through allelopathy. **Not Science Biological**, v.8, p.47-56, 2016. <https://doi.org/10.15835/nsb.8.1.9752>