



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

LARISSA FONTES SIQUEIRA

**Obtenção de Metabólitos Especializados da Fermentação dos
Fungos Endofíticos Isolados das Sementes de *Cannabis sativa* L.**

Serra Talhada - PE

2026

LARISSA FONTES SIQUEIRA

Obtenção de Metabólitos Especializados da Fermentação dos Fungos Endofíticos Isolados das Sementes de *Cannabis sativa* L.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE/UAST), como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa, Dra. Lourinalda Luiza Dantas da Silva

Serra Talhada – PE

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Danilo Trindade Barbosa – CRB-4 002285/O

S563o Siqueira, Larissa Fontes.
Obtenção de metabólitos especializados da fermentação dos fungos endofíticos isolados das sementes de *Cannabis sativa* L. / Larissa Fontes Siqueira. – Serra Talhada, 2026.
93 f.; il.

Orientador(a): Lourinalda Luiza Dantas da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica Serra Talhada - UAST, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, BR-PE, 2026.

Inclui referências.

1. *Cannabis sativa* L. 2. Fungos endofíticos. 3. Fermentação. 4. Metabólitos 5. *Aedes aegypti*. I. Silva, Lourinalda Luiza Dantas da, orient. II. Título

CDD 574

LARISSA FONTES SIQUEIRA

Obtenção de Metabólitos Especializados da Fermentação dos Fungos Endofíticos Isolados das Sementes de *Cannabis sativa* L.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE/UAST), como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa, Dra. Lourinalda Luiza Dantas da Silva

Aprovado em: 10 de julho de 2026

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Lourinalda Luiza Dantas da Silva (Presidente da Banca e 1o Titular)

Dr. Daniel Luís Viana Cruz (2o Titular)

Profa. Msc. Jéssica Aparecida Sobrinho Silva (3o Titular)

Dedico este trabalho à minha mãe, que com os joelhos dobrados em oração me trouxe até aqui. Obrigada por lutar tanto para ver meus sonhos realizados e por trilhar comigo o caminho da fé. Se estou aqui hoje, é porque você sempre plantou no meu coração o sonho de estudar, sempre segurou minha mão nos momentos de dificuldade e nunca me deixou duvidar da minha capacidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me sustentou em todos os dias da minha vida, sua proteção é real em minha vida. Ele me deu ânimo nos dias tristes, me deu paciências nos dias estressantes, ouviu minhas reclamações, ouviu minhas preces e também meus agradecimentos. Ele esteve comigo quando as lágrimas rolaram, mas também esteve comigo quando o sorriso surgiu. As portas fechadas que cruzaram meu caminho foi Ele, assim como cada porta aberta também. Ele viu meus momentos de medo e Ele me deu coragem. Ele viu meu coração ansioso e Ele o acalmou. Ele me viu pedindo respostas, pedindo direcionamento e Ele respondeu. E que a Tua vontade continue prevalecendo na minha vida, que os Teus sonhos sejam os meus sonhos, pois a Tua vontade é boa e agradável e eu vivo para Ti.

Agradeço à minha orientadora, Lourinalda, por confiar a mim este trabalho tão importante e por acreditar no meu potencial para executá-lo. Espero ter correspondido às expectativas. Foi você quem me apresentou o mundo da pesquisa em laboratório, pelo qual me apaixonei, e quem me mostrou, ainda que indiretamente, o caminho que desejo seguir profissionalmente. Sou muito grata por todas as oportunidades e portas que me foram abertas.

Agradeço a minha mãe, Maria Vaneide, que sempre me guiou, me apresentou Jesus, e me inspirou em diversos aspectos, principalmente na fé. Ela que me criou sozinha trabalhando de domingo a domingo para investir no único bem precioso que ela tinha, eu. Ela não me deu apenas uma casa para me proteger da chuva, ela me deu um verdadeiro abrigo, um lugar para voltar quando estava cansada, um abraço quentinho, um beijo restaurador, um colinho que só mãe tem, e palavras, as vezes palavras acalentadoras, outras vezes palavras duras que me traziam de volta a realidade, mas sei que todas elas foram cheias de muito amor, porque você é a primeira e a principal pessoa que realmente deseja me deseja um bom futuro e a minha felicidade, por isso você lutou tanto, né? Por isso você me lapidou, né? Para que eu chegasse a lugares que você foi impedida de chegar. E eu agradeço por isso, mãe, hoje eu te entendo, e te amo ainda mais por tudo. Essa conquista é nossa, porque foi você quem segurou minha mão não apenas no meu primeiro dia de vida, mas também no meu primeiro dia de aula. Foi você quem me mostrou minha capacidade quando pensei em desistir, e quem vibrou comigo em todos os momentos, seja por uma boa nota em uma prova ou por uma aprovação em um estágio. Sempre que eu olhava para o lado, era você que estava lá. E também foi você quem esteve ao

meu lado nos momentos difíceis, fosse na tristeza de tirar uma nota baixa ou na dificuldade de aprender uma matéria. Sempre foi você ao meu lado. Te amo a cada batida do meu coração.

Agradeço à minha tia, Roseny, que é como uma segunda mãe para mim. Sempre me deseja as melhores coisas, sempre investiu nos meus estudos e sempre me aconselha quando preciso. Já chorou comigo, assim como também já sorriu ao meu lado. Esteve comigo nos momentos de doença e também nos momentos de saúde. É quem escuta minhas reclamações, minhas ideias malucas e sempre me acolhe com carinho. Foi quem me disse: “O curso de Biologia é bom, você vai gostar, você vai ver”, e me encorajou a entrar em um mundo novo, fazendo um curso com o qual eu achava que não me identificaria. Sem você e o seu incentivo, esse sonho também não seria possível. Obrigada por sempre me apoiar. Eu te amo, tia.

Agradeço à minha vó Maria, que, mesmo sem ter tido oportunidade de estudar e mal sabendo assinar o próprio nome, sempre me incentivou a buscar os estudos. Mesmo tendo recebido pouco carinho ao longo da vida, soube me amar da sua maneira. É um privilégio poder conviver com você, vó, ter vivências, histórias e lembranças que tenho prazer em compartilhar, assim como ouvir as suas histórias também. É um privilégio poder cuidar de quem um dia já cuidou de mim. Te amo.

Agradeço ao meu vô, Pascoal. Para ele não existe tempo ruim, e isso é inspirador. Diante de qualquer adversidade, está sempre com um sorriso no rosto. Mesmo doente, foi quem me mostrou o que é o amor de um pai; quem enxugou minhas lágrimas, brincou comigo, me deu colo e me arrancou — e ainda arranca — boas risadas. Eu te amo com todo o meu ser. Obrigada por fazer parte das melhores lembranças que tenho da minha infância.

Agradeço à minha tia, Auzeny, que me acompanhou em muitos momentos e que, quando minha mãe não podia estar presente, estava lá por mim. É quem sente a minha falta quando estou longe e se interessa em saber de todos os passos do meu dia a dia. Obrigada por tanto carinho, tia, e por tanto cuidado. Eu amo você.

Agradeço ao meu namorado, Alexandre. Ele pegou a tempestade no meio do caminho, mas mesmo assim escolheu ficar na esperança de ver um dia de sol. Serei eternamente grata por tudo o que fez por mim: pelas lágrimas que enxugou nas madrugadas, por me ver ensaiando para uma apresentação inúmeras vezes sem reclamar, por sempre me encorajar a correr atrás dos meus objetivos e não permitir que eu desanimasse, por me lembrar dos meus motivos e me mostrar que não existe nada neste mundo que eu não possa aprender e fazer. Você não esperou um dia de sol; você foi o sol na minha vida mesmo nos dias sombrios. Você coloriu os meus

dias cinzas, me ensinou a amar e me mostrou o sentimento de ser amada. Que bom que você entrou na minha vida.

Agradeço à minha prima, Jayane, por fazer parte da minha vida, por sempre me ajudar quando preciso e por ter me dado o melhor presente de todos: Eloah. Agradeço também a Wellington, por não medir esforços para me ajudar.

Agradeço à minha pequenininha, Eloah, por quem o meu coração se apaixonou à primeira vista. Saiba que a tia “Aissa” nunca vai medir esforços para te ver feliz. Você trouxe um novo significado à minha vida. Trouxe alegria no momento em que meu coração mais doía, recarregou minhas energias quando eu já me sentia esgotada e despertou em mim um amor que eu nem sabia que poderia existir. Você me salvou quando eu tinha certeza de que não haveria mais salvação. Te amo de um jeito que nem cabe no peito, minha pequena.

Agradeço à vovó Neuza, à Andréia e ao Seu Tião por todo o apoio, carinho e ajuda ao longo dessa trajetória. Sou profundamente grata por sempre acreditarem no meu potencial, mesmo nos momentos mais difíceis. Vocês são pessoas muito especiais para mim e verdadeiros anjos em minha vida.

Agradeço aos meus amigos de graduação, em especial Andriely que sempre esteve comigo desde o primeiro período, com quem estudei, com quem desabafei sobre relacionamento, sobre o estresse da vida e o estresse da vida acadêmica. Foi com quem realizei meu estágio obrigatório e que se disponibilizou a me ajudar em uma parte da minha pesquisa. Por isso serei eternamente grata, e principalmente por nunca soltar minha mão nos momentos de dificuldade. Sou feliz por ter sua amizade, por ter compartilhado risadas, conversas, conselhos, histórias, dias pesados e dias leves, você foi um dos motivos da minha permanência na faculdade, pois se eu estivesse sozinha talvez não tivesse conseguido trilhar esse caminho até o final. Obrigada minha amiga de profissão, de academia e de vida.

Agradeço também a Ellen e a Hanny, vocês me trouxeram apoio no momento em que eu mais me via sozinha, me ouviram e me acolheram com amor. Vocês são preciosas, e que sorte a minha Deus ter me dado a oportunidade de me aproximar de pessoas tão cheias de luz. Amo nossas conversas sérias, amo nossas tardes comendo bolo e jogando conversa fora, amo quando falamos sobre Deus. Amo a companhia de vocês, enfim, amo vocês.

Agradeço ao meu laboratório Laqaf e a todos os envolvidos. Entrar no laboratório me abriu portas que jamais imaginei entrar, por isso serei sempre grata. Em especial, agradeço à

Jayne, Alisson e à Juliana, que deram os primeiros passos para que eu pudesse continuar trilhando esse caminho.

Agradeço à todos do Departamento de Antibióticos da UFPE, em especial à professora Norma, por ser tão prestativa e pelas contribuições para o meu trabalho. Agradeço também à Nínive, que me acompanhou em cada processo com muita paciência, carinho e preocupação com a minha aprendizagem. Mesmo estando ocupada com o seu doutorado, sempre se disponibilizou e não mediu esforços para me ajudar. Sem a sua contribuição, esse sonho não seria possível.

Por fim, gostaria de registrar que a caminhada é árdua, mas é possível. Se você tem um sonho corra atrás, você coloca o pé e Deus coloca o chão, foi assim comigo. Espero que na sua caminhada você tenha pessoas incríveis para te guiar, te iluminar e te apoias, assim como eu tive. Todos os que eu citei aqui sei que foi Deus que os colocaram em meu caminho para me dar força e como resposta a algumas orações. Espero ter sido luz na vida de vocês, assim como vocês foram luz na minha.

“Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus. Eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.”

- Isaías 41:10

RESUMO

Cannabis sativa L. é uma espécie vegetal de grande importância econômica e medicinal, amplamente reconhecida pela produção de fitocanabinoides, principalmente o canabidiol (CBD) e o tetraidrocanabinol (THC). Além da planta, fungos endofíticos associados aos seus tecidos têm despertado interesse científico devido à capacidade de produzir metabólitos bioativos semelhantes aos sintetizados pelo hospedeiro, representando uma alternativa biotecnológica para a obtenção desses compostos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes meios de cultivo na produção de metabólitos por um fungo endofítico isolado da semente de *Cannabis sativa* L., bem como investigar o perfil cromatográfico dos extratos obtidos e seu potencial larvicida frente a *Aedes aegypti*. O fungo foi cultivado em quatro meios líquidos distintos (Sabouraud, Malt Extract, Milho e Batata Dextrose), sendo posteriormente submetido à fermentação, liofilização e extração por solventes orgânicos. Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando diferentes sistemas eluentes e reveladores, com comparação aos padrões de extratos ricos em CBD e THC. Além disso, foi realizado bioensaio larvicida utilizando larvas de terceiro estágio (L3) de *Aedes aegypti*. Os resultados demonstraram que a composição do meio de cultivo influenciou o crescimento do fungo, o rendimento da biomassa liofilizada e o perfil dos metabólitos excretados. A análise cromatográfica evidenciou a presença de substâncias com fatores de retenção compatíveis com compostos encontrados nos extratos de referência de CBD e THC, indicando o potencial biossintético do fungo endofítico. Os ensaios biológicos indicaram diferenças na mortalidade larval entre os extratos avaliados, reforçando a necessidade da continuidade das análises para confirmar seu potencial larvicida. Dessa forma, o estudo contribui para o conhecimento sobre fungos endofíticos de *Cannabis sativa* L. e destaca seu potencial como fonte alternativa de metabólitos de interesse biotecnológico.

Palavras-chave: *Cannabis sativa* L.; fungos endofíticos; fermentação; metabólitos secundários; *Aedes aegypti*

ABSTRACT

Cannabis sativa L. is a plant species of great economic and medicinal importance, widely recognized for the production of phytocannabinoids, mainly cannabidiol (CBD) and tetrahydrocannabinol (THC). In addition to the plant, endophytic fungi associated with its tissues have aroused scientific interest due to their ability to produce bioactive metabolites similar to those synthesized by the host, representing a biotechnological alternative to obtain these compounds. In this context, the present work aimed to evaluate the influence of different culture media on the production of metabolites by an endophytic fungus isolated from the seed of *Cannabis sativa* L., as well as to investigate the chromatographic profile of the extracts obtained and their larvicidal potential against *Aedes aegypti*. The fungus was cultivated in four different liquid media (Sabouraud, Malt Extract, Maize and Dextrose Potato), and was subsequently subjected to fermentation, freeze-drying and extraction by organic solvents. The extracts obtained were analyzed by thin layer chromatography (CCD), using different eluent and developer systems, with comparison to the standards of extracts rich in CBD and THC. In addition, a larvicidal bioassay was performed using third-stage larvae (L3) of *Aedes aegypti*. The results showed that the composition of the culture medium influenced the growth of the fungus, the yield of the lyophilized biomass and the profile of the excreted metabolites. The chromatographic analysis showed the presence of substances with retention factors compatible with compounds found in the reference extracts of CBD and THC, indicating the biosynthetic potential of the endophytic fungus. The biological assays indicated differences in larval mortality among the evaluated extracts, reinforcing the need for continuity of the analyses to confirm their larvicidal potential. Thus, the study contributes to the knowledge about endophytic fungi of *Cannabis sativa* L. and highlights its potential as an alternative source of metabolites of biotechnological interest.

Keywords: *Cannabis sativa* L.; endophytic fungi; fermentation; secondary metabolites; *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Tricomas das flores femininas de <i>Cannabis sativa</i> L.....	29
Figura 2 – Flor feminina de <i>Cannabis sativa</i> L.....	29
Figura 3- Anagrama com a palavra maconha.....	30
Figura 4 - Produtos feitos com semente de cânhamo	33
Figura 5 - Compostos químicos da <i>Cannabis sativa</i> L.....	35
Figura 6 - Esquema básico da biossíntese vegetal dos principais canabinoides C21 presentes na <i>Cannabis sativa</i> L.	37
Figura 7 - Estrutura dos fungos.....	38
Figura 8 - Formiga "zumbi" com fungo parasita	40
Figura 9 - Jardim de fungos dentro do formigueiro	40
Figura 10 - <i>Dichanthelium lanuginosum</i>	41
Figura 11 - <i>Curvularia protuberatus</i>	41
Figura 12 - Estruturas químicas de paclitaxel (2), podofilotoxina (3), camptotecina (4) e vimblastina (5)	42
Figura 13 - Fungos endofíticos encontrados em diferentes tecidos da <i>Cannabis sativa</i> L.	43
Figura 14 - Exemplo de fermentação sólida	45
Figura 15 – “Queijo azul” que tem o fungo <i>Penicillium roqueforti</i> adicionado em sua produção	45
Figura 16 - Fermentação Submersa.....	47
Figura 17 - Metabólitos secundários de importância industrial produzido por fungos	48
Figura 18 - Metabólitos secundários de origem endofítica com propriedades bioativas.....	50
Figura 19 - Ciclo de transmissão da dengue	53
Figura 20 - Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i>	54
Figura 21 - Meio de cultura líquido contendo blocos de gelose utilizados para a fermentação	58
Figura 22 - Blocos de gelose de 8 mm de diâmetro obtidos com auxílio de furador estéril. .	58
Figura 23 - Extratos aquosos obtidos a partir da massa liofilizada dos líquidos fermentados e larvicida biológico utilizado nos bioensaios.	60
Figura 24 - Tubos contendo água destilada e extratos aquosos preparados para a realização dos bioensaios larvicidas frente a <i>Aedes aegypti</i>	62
Figura 25 - Larvicida VectoBAC WG	63
Figura 26 – Reveladores utilizados na CCD	64
Figura 27 - Solventes utilizados na CCD	64
Figura 28 - Crescimento da colônia em meio Sabouraud em 48h	66
Figura 29 - Crescimento da colônia em meio Sabouraud em 96h	66
Figura 30 - Crescimento da colônia em meio Sabouraud em 144h	67
Figura 31 - Crescimento da colônia em meio Malt Extract em 48h	68
Figura 32 - Crescimento da colônia em meio Malt Extract em 96h	68

Figura 33 - Crescimento da colônia em meio Malt Extract em 144h.....	69
Figura 34 - Crescimento das colônias no meio de Milho em 48h	70
Figura 35 - Crescimento das colônias no meio de Milho em 96h	70
Figura 36 - Crescimento das colônias no meio de Milho em 144h.....	71
Figura 37 - Crescimento das colônias no meio Batata Dextrose em 48h.....	72
Figura 38 - Crescimento das colônias no meio Batata Dextrose em 96h.....	72
Figura 39 - Crescimento das colônias no meio Batata Dextrose em 144h.....	73
Figura 40 – Placa Cromatográfica 01 revelada em iodo sublimado	75
Figura 41 - Placa Cromatográfica 02 revelada com iodo sublimado	75
Figura 42 - Placa cromatográfica 03 revelada com ácido acético glacial	76
Figura 43 - Extratos brutos utilizados na CCD	77
Figura 44 - Curva Probit ajustada para a mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> expostas ao extrato bruto obtido no meio Sabouraud (SAB).	80
Figura 45 - Curva Probit ajustada para a mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> expostas ao extrato bruto obtido no meio Malt Extract (MEA)	81
Figura 46 - Curva Probit ajustada para o extrato MIL.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação botânica da Cannabis	27
Tabela 2 - Fungos produtores de metabólitos secundários de origem botânica	42
Tabela 3 - Composição do meio de Sabouraud	56
Tabela 4 - Composição do meio líquido de Malt Extract	56
Tabela 5 - Composição do meio líquido de Farinha de Milho	56
Tabela 6 - Composição do meio líquido Batata Dextrose	57
Tabela 7 - Concentração dos extratos aquosos	60
Tabela 8 - Concentração das amostras analisadas	61
Tabela 9 - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio Sabouraud nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação.	65
Tabela 10 - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio Malt Extract nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação.	67
Tabela 11 - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio de Milho nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação	69
Tabela 12 - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio Batata Dextrose nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação.	71
Tabela 13 - Massa do liofilizado e rendimento obtidos após a liofilização dos líquidos fermentados produzidos nos diferentes meios de cultivo.	74
Tabela 14 - Perfil das substâncias excretadas pelo fungo FV nos diferentes meios de fermentação, identificadas por cromatografia em camada delgada (CCD)	77
Tabela 15 - Substâncias identificadas nos extratos brutos liofilizados do fungo FV e seus respectivos fatores de retenção (Rf) obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD)..	77
Tabela 16 - Avaliação da Atividade Tóxica dos Extratos Brutos do FV (Quantidade de Larvas Vivas ao Final do Experimento)	78
Tabela 17 - Equações da regressão Probit e valores de significância (p) obtidos para os extratos brutos produzidos nos meios Sabouraud (SAB), Malt Extract (MEA), Milho (MIL) e Batata Dextrose (BDA) frente a larvas de Aedes aegypti.	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de etila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BDA	Batata Dextrose
Bti	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>
CBCA	Ácido canabicromênico
CBC	Canabicromeno
CBDA	Ácido canabidiólico
CBGA	Ácido canabigerólico
CBD	Canabidiol
C	Concentração
<i>C. sativa</i>	<i>Cannabis sativa</i> L.
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CL ₅₀	Concentração letal para 50% da população
CL ₉₀	Concentração letal para 90% da população
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EB	Extrato bruto
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FPP	Farnesil pirofosfato
FV	Fungo Verde
GPP	Geranil pirofosfato

IPP	Isopentenil pirofosfato
ITIS	<i>Integrated Taxonomic Information System</i>
L3	Larva de terceiro estágio de <i>Aedes aegypti</i>
LF	Líquido fermentado
mL	Mililitro
MEA	<i>Malt Extract</i>
MeOH	Metanol
Mg	Miligrama
MIL	Milho
MTCI	Medicina Tradicional, Complementar e Integrativa
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
Rf	Fator de retenção
RNA	Ácido ribonucleico
SAB	Sabouraud
SB	Substância bioativa
SUS	Sistema Único de Saúde
THC	Tetraidrocanabinol
Δ^9 -THCA	Ácido Δ^9 -tetraidrocanabinólico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 Geral.....	22
2.2 Específicos.....	22
3. REFERENCIAL TEÓRICO	23
3.1 Uso das Plantas Medicinais no Mundo.....	23
3.2 Uso das Plantas Medicinais no Brasil.....	25
3.3 Morfologia de <i>Cannabis sativa L.</i>	27
3.4 Uso Terapêutico de <i>Cannabis sativa L.</i>	29
3.5 Importância da Semente de <i>Cannabis sativa L.</i> na Alimentação	32
3.6 Marcadores Quimiotaxônicos Encontrados na <i>Cannabis Sativa L.</i>	34
3.7 Aspectos Gerais Sobre os Fungos.....	38
3.8 Aspectos dos Fungos Endofíticos	40
3.9 Biotecnologia da Fermentação de Microrganismos para Produção de Medicamentos.....	44
3.10 Fungos Edofíticos na Inovação de Medicamentos	48
3.11 Controle de <i>Aedes aegypti</i> : Importância da Avaliação de Novos Agentes Larvicidas ..	51
4. METODOLOGIA	55
4.1 Obtenção do Material de Pesquisa.....	55
4.2 Preparação dos Meios de Cultura.....	55
4.3 Processos Fermentativos Utilizados no Experimento	57
4.4 Liofilização dos Líquidos Fermentados.....	58
4.5 Inoculação em Três Pontos Equidistantes	59
4.6 Preparação dos Extratos da Massa Liofilizada dos Líquidos Fermentados.....	59
4.7 Teste de Toxicidade Frente <i>Aedes aegypti</i>	60
4.8 Cromatografia em Camada Delgada.....	63
4.9 Análise Estatística.....	64
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	65
5.1 Avaliação do Crescimento Micelial em Diferentes Meios de Cultura.....	65
5.2 Rendimento dos Líquidos Fermentados Após a Liofilização	73
5.3 Análise dos Metabólitos Secundários dos Extratos de Acetato de Etila (AcOEt) e Metanólico (MeOH) Obtidos do Líquido Fermentado do Fungo Verde.....	74

5.4	Análise dos Resultados da Atividade Tóxica dos Extratos Brutos do Fungo Verde Frente <i>Aedes aegypti</i>	78
6.	CONCLUSÕES.....	83

1. INTRODUÇÃO

Desde as mais antigas civilizações, as plantas já eram utilizadas tanto como alimento quanto para o tratamento de doenças. O conhecimento acerca de suas propriedades curativas ou nocivas foi adquirido, inicialmente, por meio da observação empírica do comportamento de animais e transmitido oralmente de geração em geração, até ser posteriormente registrado por escrito (BRANDELLI, 2017).

Segundo a mesma autora, os primeiros registros sobre o uso terapêutico da biodiversidade vegetal datam de aproximadamente 2.600 a.C., entre os povos mesopotâmicos. Muitos desses ensinamentos permanecem válidos até os dias atuais e serviram de base para a ciência moderna no desenvolvimento de medicamentos, como os antigripais e antibacterianos. Isso evidencia que as plantas acompanharam a trajetória da humanidade, sendo utilizadas por todas as civilizações conhecidas no enfrentamento daquilo que mais aflige o ser humano: as doenças.

Algumas plantas medicinais abrigam fungos endofíticos associados aos seus tecidos saudáveis, como folhas, raízes, caules, frutos e sementes. Esses microrganismos completam, pelo menos parcialmente, seu ciclo de vida no interior da planta hospedeira, sem causar-lhe prejuízos aparentes (PETRINI, 1991). Os fungos auxiliam as plantas em sua adaptação a ambientes adversos e aumentam sua tolerância a fatores de estresse, como pH, salinidade, presença de metais pesados e ataque de herbívoros, entre outros (CANUTO; RODRIGUES; OLIVEIRA; GONÇALVES, 2012). O papel que esses organismos desempenham tem despertado interesse devido aos compostos bioativos que produzem, aplicáveis em diferentes áreas da indústria, como a medicinal, farmacêutica e agrícola (ZHAO; ZHOU; WANG; SHAN *et al.*, 2010).

Estudos demonstram que os fungos endofíticos podem produzir metabólitos secundários com propriedades bioativas de interesse farmacológico ou, ainda, compostos químicos que mimetizam substâncias produzidas pela planta hospedeira. Tais metabólitos vêm sendo amplamente explorados pela indústria farmacêutica na formulação de medicamentos e no desenvolvimento de novos fármacos (FERRARA, 2006)

Uma das plantas que vem sendo amplamente utilizada no tratamento de diversas doenças é *Cannabis sativa* L. Com o avanço tecnológico, tornou-se possível a extração de seus princípios ativos, os canabinoides, que desempenham importante papel terapêutico em diferentes contextos clínicos. Entre suas aplicações, destacam-se: o tratamento da dor neuropática, a analgesia em pacientes oncológicos, a estimulação do apetite, a atividade anticonvulsivante, o potencial antitumoral, a ação anti-inflamatória, os efeitos ansiolíticos em pacientes com ansiedade e depressão, o relaxamento muscular, além do alívio de náuseas e vômitos (RIBEIRO, 2014).

O uso de medicamentos à base de canabidiol tem ganhado destaque nas discussões no Brasil, tendo em vista que o plantio da Cannabis ainda é proibido no país. Essa restrição dificulta o acesso das pessoas que necessitam do medicamento, que passam a depender da importação e a enfrentar tanto o alto custo quanto a burocracia para sua obtenção (SILVA; JUNIOR; LÉLIS, 2024).

Segundo o mesmo autor, é necessário o desenvolvimento de tecnologias que facilitem o acesso ao medicamento de forma segura, legal, ágil e com qualidade. Dessa maneira, garante-se às pessoas o direito a uma saúde de qualidade e, em muitos casos, à própria vida, além de permitir equidade no tratamento, sem a necessidade de judicialização.

Apesar dos avanços no estudo de fungos endofíticos associados a diversas espécies vegetais, ainda são escassos os trabalhos que investigam fungos endofíticos isolados de sementes de *Cannabis sativa* L. como potenciais produtores de metabólitos com marcadores quimiotaxonômicos compatíveis com compostos produzidos pelos fitocanabinoides da planta. Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo obter e caracterizar os metabólitos produzidos por fungos endofíticos associados às sementes de *Cannabis sativa* L., visando propor uma possível alternativa biotecnológica para a produção de compostos de interesse farmacológico. Essa estratégia busca reduzir a dependência do cultivo medicinal da planta, explorando a replicação fúngica como uma alternativa potencialmente mais viável sob os pontos de vista técnico, ambiental e econômico.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificar e biomonitorar os metabólitos especializados obtidos da fermentação do fungo endofítico isolado das sementes de *Cannabis sativa* L.

2.2 Específicos

- Realizar processo de fermentação dos fungos isolados das sementes de *C. sativa* L;
- Realizar a extração dos líquidos fermentados dos fungos isolados das sementes de *C. sativa* L;
- Realizar a identificação dos metabólitos dos extratos fermentados das sementes de *C. sativa* L;
- Realizar o biomonitoramento dos extratos e metabólitos isolados obtidos da fermentação dos fungos endofíticos isolados das sementes de *C. sativa* L;
- Avaliar o padrão morfológico e de crescimento do fungo endofítico isolado das sementes de *C. sativa* L. em diferentes meios de cultura.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Uso das Plantas Medicinais no Mundo

Desde os primórdios, o ser humano mantém uma relação significativa com as plantas, seja para alimentação, seja para o tratamento de doenças. Ao longo dos séculos, diversos povos desenvolveram e ainda mantêm conhecimentos sobre o uso de plantas medicinais. As indústrias farmacêuticas, por sua vez, estão entre as que mais lucram com esses saberes tradicionais, produzindo fármacos com base nas propriedades químicas dessas plantas e posteriormente comercializando-os por preços elevados, o que muitas vezes torna esses medicamentos inacessíveis às populações que originalmente detinham esse conhecimento (Ferreira; Pinto, 2010)

Em praticamente todas as civilizações existem relatos e descrições do uso de plantas medicinais, sendo os registros mais antigos datados de aproximadamente 2.600 a.C., nos quais já havia descrições do uso de substâncias como óleo de cedro, mirra, alcaçuz e papoula. Um dos documentos mais importantes desse período é o Papiro de Ebers, que reúne mais de 800 receitas destinadas à produção de extratos, óleos, chás e outros remédios à base de plantas. Essa tradição perpassou diversas civilizações ao longo da história, incluindo egípcios, assírios, hebreus, gregos, indianos e chineses, entre outros povos (Brandelli, 2017).

Ainda segundo Brandelli (2017), no Ocidente os registros mais antigos datam do século III a.C., quando Teofrasto descreveu cerca de 455 espécies de plantas com possíveis efeitos terapêuticos. Essas descrições são consideradas um dos primeiros registros sistematizados sobre plantas medicinais no mundo ocidental e serviram de base para o desenvolvimento dos primeiros herbários. Outro nome importante para a medicina no contexto ocidental foi Dioscórides (40–90 d.C.), que catalogou e ilustrou mais de 600 plantas utilizadas para fins medicinais, descrevendo também seus usos terapêuticos. Em seus registros já havia, por exemplo, a descrição do uso do salgueiro-branco (*Salix alba* L.), tradicionalmente utilizado para o tratamento da dor e da febre, sendo considerada uma das fontes mais antigas para a obtenção do ácido acetilsalicílico, substância utilizada até os dias atuais. Estudos posteriores

também comprovaram a eficácia de alguns dos medicamentos descritos por Dioscórides no tratamento de problemas renais, epilepsia e em aplicações com ação diurética.

Na atualidade, o uso de plantas medicinais permanece amplamente difundido. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais para tratar sintomas de dor e desconforto. Esse crescimento nas últimas décadas ocorreu, principalmente, devido ao aumento do preço dos medicamentos alopáticos, o que dificulta o acesso por parte das populações mais vulneráveis, além da crescente resistência de microrganismos patogênicos aos fármacos sintéticos convencionais (Brasil, 2015).

Apesar da evolução da indústria farmacêutica, ainda existem diversos obstáculos que dificultam o acesso da população mais carente aos serviços de saúde, desde o acesso aos centros hospitalares e à realização de exames médicos até a obtenção de medicamentos. Nesse contexto, uma parcela significativa da população tem nas plantas medicinais um dos principais meios para tratar suas enfermidades, fortalecendo assim uma das tradições mais antigas da humanidade (Veiga Junior; Pinto; Maciel, 2005).

As plantas medicinais que possuem eficácia terapêutica comprovada contam com respaldo científico para sua utilização na Atenção Primária à Saúde. Essas plantas apresentam baixo custo e fácil acesso, além de carregarem saberes tradicionais que podem ser valorizados no contexto do cuidado em saúde. Sua comercialização ocorre amplamente em feiras livres, mercados populares e ervanários, o que contribui para seu fácil acesso pela população. Além disso, muitas espécies podem ser cultivadas pela própria população, desde que sejam respeitadas as condições adequadas para seu plantio e manutenção (Rodrigues, 2004).

Tendo isso em vista, foram reconhecidas e incentivadas as práticas de Medicina Tradicional, Complementar e Integrativa (MTCI). Essas práticas foram promovidas pela OMS como forma de complementar os sistemas de atenção básica à saúde, sendo baseadas em diferentes culturas e tradições e voltadas à promoção, prevenção e cuidado em saúde (OPAS, s.d.).

A retomada dos estudos científicos e o investimento nessa área também têm como objetivo valorizar os povos tradicionais, reconhecendo-os como grupos sociais fundamentais na construção e organização das práticas de cuidado em saúde. Nesse contexto, busca-se afirmar que o conhecimento advindo da experiência e da tradição é igualmente relevante ao conhecimento produzido pela ciência (Nespoli, 2021).

A utilização de plantas medicinais nos sistemas oficiais de saúde em diferentes partes do mundo, inclusive no Brasil, contribui para o fortalecimento de práticas de autocuidado. Quando esse uso é orientado por profissionais de saúde e associado a ações como oficinas, construção de hortas comunitárias, troca de saberes e disseminação de informações sobre manejo, benefícios e contraindicações destes remédios caseiros, promove-se maior autonomia nos cuidados primários à saúde (Castro, 2022).

3.2 Uso das Plantas Medicinais no Brasil

No Brasil, cerca de 82% da população utiliza plantas medicinais para tratar suas enfermidades, seja por meio do conhecimento tradicional transmitido oralmente entre gerações, especialmente por populações quilombolas e indígenas, seja no contexto da medicina convencional, por meio das orientações e diretrizes adotadas pelo sistema oficial de saúde (Gadelha et al., 2013).

Na medicina popular brasileira, destacam-se três principais influências: os povos ameríndios, os portugueses e os africanos (INEPAC, 2005). A miscigenação cultural também se refletiu no uso de plantas medicinais. Enquanto diversas espécies nativas foram levadas para outras regiões, plantas de origem europeia e africana foram introduzidas no Brasil e incorporadas à cultura local, tanto na culinária quanto nas práticas de cura. Exemplos dessas espécies incluem a mamona, o dendê, o inhame e o quiabo, de origem africana, além da erva-doce, da cidreira e do alecrim, de origem europeia. Nesse contexto, o sistema de cuidado à saúde constituiu-se como uma complexa rede que envolvia curandeiros, centros religiosos, o uso de diversas plantas medicinais e a participação ativa da comunidade (Almeida, 2011).

A biodiversidade brasileira constitui uma rica fonte de recursos naturais, incluindo espécies vegetais com potencial terapêutico. No entanto, ainda são poucos os medicamentos fitoterápicos ou fitofármacos desenvolvidos a partir de plantas nativas que possuem registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Ruppelt, 2022).

Ainda segundo Ruppelt (2022), o avanço do desmatamento e das queimadas nos últimos anos representa uma ameaça significativa à descoberta e ao desenvolvimento de estudos científicos sobre essa flora. Nesse contexto, muitas espécies de plantas e microrganismos podem ter sido extintas antes mesmo de serem descritas ou de terem seus potenciais farmacológicos devidamente investigados.

No Brasil, em 2006, foi criada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, com o objetivo de ampliar a inserção de medicamentos à base de plantas medicinais no sistema de saúde. Essa política busca promover o uso racional e seguro desses recursos, conscientizando a população de que o uso de fitoterápicos em doses elevadas pode causar efeitos tóxicos. Além disso, incentiva o uso sustentável da biodiversidade brasileira, a valorização dos conhecimentos tradicionais, o fortalecimento da agricultura familiar e a redução das desigualdades sociais relacionadas ao acesso à saúde (Brasil, 2016).

Atualmente, o Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza à população 12 medicamentos fitoterápicos, descritos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), lista atualizada periodicamente pelo Ministério da Saúde. No entanto, os municípios também podem, por meio de recursos próprios e de acordo com as necessidades regionais, incorporar outros fitoterápicos em suas redes de atenção à saúde. Além disso, foi elaborada a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), que reúne 71 espécies de plantas com potencial terapêutico. Essa lista tem como objetivo incentivar pesquisas científicas sobre essas espécies e seus compostos bioativos, visando ampliar o desenvolvimento de fitoterápicos e fortalecer sua utilização no sistema público de saúde (Brasil, s.d.).

Em decorrência da implementação dessas políticas, diversos serviços de saúde passaram a ofertar esse tipo de tratamento, havendo também um aumento no número de profissionais que utilizam a fitoterapia no cuidado aos pacientes. Além disso, a fitoterapia foi inserida na grade curricular de cursos da área da saúde e passou a se consolidar como uma importante linha de pesquisa científica. Entretanto, ainda existem obstáculos para sua ampla inserção, dentre os quais se destaca a estigmatização, que dificulta a consolidação dessa prática no SUS (Figueiredo; Gurgel; Gurgel Júnior, 2014).

Desta forma, pode-se afirmar que o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no SUS são práticas que tem muito potencial para fortalecer e promover a atenção básica a saúde, mas precisam de maiores apoios institucionais para conseguir se disseminar e consolidar no sistema oficial de saúde, é de suma importância também a capacitação dos profissionais que precisam ter conhecimentos prévios sobre os tipos de vegetação utilizados na região em que está atuando, tendo em vista que os tratamentos não são únicos e podem diferenciar de acordo com a localidade e a tradição (Nobre; Cadorin, 2024).

3.3 Morfologia de *Cannabis sativa* L.

A maconha tem sua origem na Ásia Central, onde provavelmente crescia em solos úmidos e bem drenados, geralmente próximos a corpos d'água e com grande disponibilidade de nitrogênio, proveniente do esterco de animais. Ao longo da história da humanidade, *C. sativa* foi utilizada para diversos fins, como na produção de fibras provenientes do caule, no uso narcótico com fins recreativos ou religiosos a partir das partes floridas da planta, como medicamento e também na alimentação humana e animal por meio de suas sementes, que podem ainda ser utilizadas para extração de óleo e produção de biocombustível (Small, 2015).

A espécie *Cannabis sativa* foi descrita pela primeira vez por Linnaeus em 1753. O termo *Cannabis* deriva do latim *cannabis*, que significa “junco com dois sexos”, e *sativa* significa “cultivada”, fazendo referência ao fato de ser uma planta domesticada e cultivada pela humanidade ao longo da história. Posteriormente, em 1785, Lamarck propôs a existência de uma segunda espécie, denominada *Cannabis indica*, considerada por ele uma forma distinta da espécie descrita anteriormente (Pollio, 2016).

Trata-se de uma planta dicotiledônea anual, cujas sementes são extremamente resistentes e adaptadas a diferentes condições ambientais, podendo desenvolver-se tanto em solos úmidos quanto em ambientes mais áridos. Seu porte pode variar entre aproximadamente 60 cm e 7 m de altura, dependendo das condições climáticas e do manejo de cultivo (Lanaro, 2008).

Sua classificação botânica encontra-se apresentada na Tabela 1 de acordo com o Integrated Taxonomic Information System (ITIS).

Tabela 1 - Classificação botânica da Cannabis

Categoria	Classificação
<i>Reino</i>	Plantae (Planta)
<i>Divisão</i>	Tracheophyta
<i>Classe</i>	Magnoliopsida
<i>Ordem</i>	Rosales

<i>Família</i>	Cannabaceae
<i>Gênero</i>	<i>Cannabis</i>
<i>Espécie</i>	<i>Cannabis sativa</i> L.

Fonte: Adaptado pela autora segundo o Integrated Taxonomic Information System (ITIS)

Cannabis sativa apresenta características morfológicas típicas de plantas herbáceas anuais, possuindo sistema radicular pivotante, caule do tipo haste, folhas simples serrilhadas e frutos do tipo aquênio (Azevedo, 2025; Souza, 2006; Lima, 2022; Lopes; Lopes, 1979). Entretanto, dentre as diferentes estruturas vegetais, as flores femininas destacam-se por sua importância farmacológica e biotecnológica, uma vez que concentram a maior quantidade de compostos bioativos produzidos pela planta.

A espécie é dióica, apresentando indivíduos masculinos e femininos. A diferenciação sexual ocorre apenas nas fases mais avançadas do desenvolvimento, quando as estruturas florais começam a se formar. As flores femininas (Figura 1) desenvolvem-se associadas às brácteas e apresentam grande quantidade de tricomas glandulares, estruturas microscópicas responsáveis pela produção e armazenamento dos principais canabinoides, como o CBD e o THC (Hourfane et al., 2023).

Os tricomas (Figura 2) possuem aspecto glandular e secretam uma resina rica em canabinoides, terpenos e outros metabólitos secundários. Essas estruturas estão distribuídas em diferentes partes aéreas da planta, como folhas, flores e brácteas, porém encontram-se em maior abundância nas inflorescências femininas, especialmente nas brácteas florais. Além da importância farmacológica, os tricomas exercem funções ecológicas relevantes para a planta, atuando na proteção contra herbivoria, radiação ultravioleta e diferentes estresses ambientais. Dessa forma, as flores femininas de *C. sativa* representam a principal região de interesse medicinal e biotecnológico da espécie devido à elevada concentração de substâncias bioativas produzidas nesses tecidos (Vieira; Silva; Carvalho, 2022).

Figura 2- Flor feminina de *Cannabis sativa* L



Fonte: Humboldt, 2025

Figura 1 - Tricomas das flores femininas de *Cannabis sativa* L.



Fonte: Humboldt, 2025

3.4 Uso Terapêutico de *Cannabis sativa* L.

Cannabis sativa L. é uma das plantas mais antigas cultivadas pela humanidade, havendo registros de seu cultivo pela população chinesa por volta de 4.000 a.C., principalmente devido ao uso de suas fibras na produção de cordas, tecidos e papel. Seu uso medicinal também possui longa trajetória histórica, com registros datados de aproximadamente 2700 a.C., sendo empregada no tratamento de dores reumáticas, constipação intestinal, distúrbios do sistema reprodutor feminino e malária (Zuardi, 2006).

Ainda segundo Zuardi (2006), na Índia, por volta de 1000 a.C., a planta já era utilizada para diversas finalidades terapêuticas, como analgésico, anticonvulsivante, tranquilizante, anti-inflamatório, antibiótico, antiparasitário, antiespasmódico, estimulante do apetite, digestivo, diurético e expectorante. Os assírios também faziam uso da planta no tratamento de hematomas, inchaços, depressão, impotência, artrite e cálculos renais. Ao longo do tempo, seu uso disseminou-se pelo Oriente, alcançando posteriormente a África, a Europa e, por fim, as Américas.

No Brasil, o cânhamo foi introduzido no período colonial, por volta de 1500, sendo utilizado inicialmente nas cordas e velas das caravelas portuguesas. Seu uso foi posteriormente fortalecido com a chegada dos povos africanos, que já possuíam conhecimento sobre suas aplicações e contribuíram para sua disseminação no território brasileiro. Nesse contexto, a planta passou a ser popularmente conhecida como “maconha”, termo associado às influências culturais africanas que fizeram um anagrama da palavra cânhamo (Figura 3). Durante

determinado período, a maconha foi comercializada livremente no Brasil, inclusive sob a denominação de “cigarros de índio”, sendo utilizada para fins medicinais, como no tratamento de bronquite crônica em crianças, catarro e insônia (Lopes; Lopes, 2024).

Figura 3- Anagrama com a palavra maconha



Fonte: Carlini, 2006

Atualmente, *Cannabis sativa* apresenta diversas aplicações terapêuticas já comprovadas cientificamente. Entre elas, destacam-se o tratamento do glaucoma, devido à sua capacidade de reduzir a pressão intraocular, e o controle de náuseas, especialmente aquelas causadas pela quimioterapia em pacientes com câncer. Além disso, a planta pode ser utilizada no controle da anorexia e da caquexia associadas à AIDS, pois estimula o apetite e contribui para o ganho de peso. Também apresenta efeitos analgésicos, sendo empregada no tratamento de dores crônicas, e ação anti-inflamatória, auxiliando em doenças como artrite reumatoide e enfermidades inflamatórias do trato gastrointestinal, como retocolite ulcerativa, úlceras e doença de Crohn (Varella, 2020).

Ainda segundo Varella (2020), *Cannabis sativa* L. também demonstra benefícios no tratamento da esclerose múltipla, especialmente na redução de dores neuropáticas e distúrbios do sono, bem como na epilepsia, com potencial para reduzir significativamente a frequência de crises convulsivas. Outros efeitos terapêuticos incluem a atenuação de sintomas associados a doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson, além de benefícios relatados em indivíduos com transtorno do espectro autista (TEA).

O Brasil foi um dos primeiros países a estabelecer restrições ao uso da maconha, com registros que remontam ao século XIX, por volta de 1830. Nesse período, medidas proibitivas

estavam associadas, entre outros fatores, ao controle social de populações marginalizadas, especialmente pessoas escravizadas, sob a justificativa de que o uso da planta poderia provocar comportamentos considerados inadequados ou indesejados (Costa Netto; Souza, 2019).

Segundo os mesmos autores, a partir desse contexto, a planta passou a ser retratada de forma negativa na imprensa, sendo associada a termos pejorativos como “charuto do capeta”, “erva do diabo”, “diamba” e “pito do pango”. Dessa forma, observa-se que a criminalização da maconha esteve fortemente relacionada a fatores sociais, culturais e históricos, mais do que exclusivamente a evidências científicas sobre seus efeitos.

A regulamentação da maconha varia entre países e regiões, apresentando desde legislações mais restritivas até normas mais permissivas. Em algumas nações, a proibição é total, podendo gerar multas ou até mesmo prisão para usuários ou portadores da planta. Em outros países, o uso é permitido apenas para fins medicinais, mediante prescrição médica. Há também locais onde o uso recreativo é autorizado, permitindo inclusive o cultivo de pequenas quantidades para consumo pessoal. Em determinadas regiões, o uso permitido restringe-se ao âmbito industrial, voltado principalmente para a produção de óleo de cânhamo e fibras têxteis. Além disso, alguns países já autorizam a exportação de produtos derivados da cannabis, o que tem impulsionado o desenvolvimento de uma indústria economicamente relevante. Por outro lado, existem países que impõem restrições à importação desses produtos, estabelecendo limites para as concentrações de tetraidrocanabinol (THC) e canabidiol (CBD) presentes nas formulações (Dias et al., 2025).

No Brasil, *Cannabis sativa* integra a lista de plantas capazes de produzir efeitos entorpecentes, sendo regulamentada pela Lei Antidrogas (Lei nº 11.343/2006), que estabelece a proibição de atividades como produção, preparo, transporte, importação, exportação, armazenamento e consumo da substância (Brasil, 2006). Entretanto, em 2014, o Conselho Federal de Medicina reconheceu as propriedades medicinais do CBD, autorizando sua prescrição para tratamentos médicos, inicialmente destinados a crianças e adolescentes com epilepsia refratária que não respondiam aos tratamentos convencionais, desde que os pacientes estivessem cadastrados em programa específico de controle (CFM, 2014). Em 2015, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária passou a permitir e regulamentar a importação de medicamentos à base de canabidiol (ANVISA, 2015).

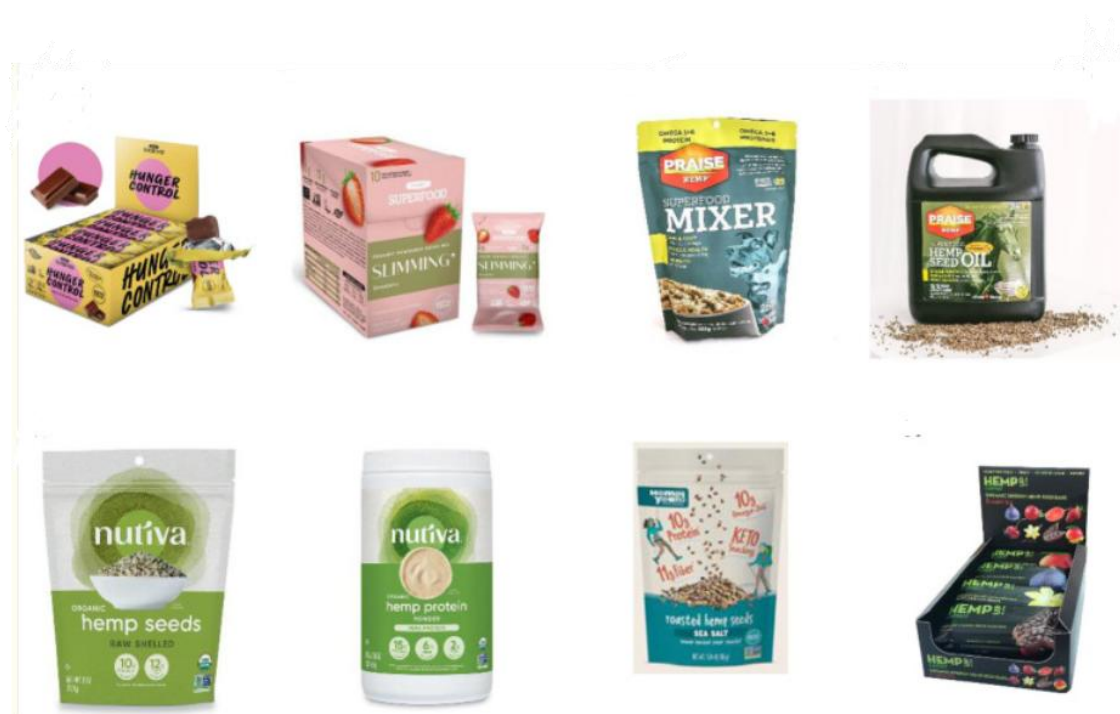
Nesse contexto, de acordo com Dias et al. (2025), apesar das autorizações judiciais e dos avanços regulatórios, o acesso a medicamentos derivados da cannabis ainda permanece limitado, principalmente em razão do elevado custo desses produtos. Paralelamente, o debate sobre o uso e a possível legalização da maconha no país vem ganhando força, especialmente entre grupos que defendem que a regulamentação pode contribuir para a redução da violência associada ao tráfico de drogas, além de diminuir a sobrecarga do sistema judicial e prisional e ampliar o acesso ao uso medicinal da planta.

3.5 Importância da Semente de *Cannabis sativa* L. na Alimentação

As sementes de cânhamo e seus derivados processados, como farinha, óleo e farelo, apresentam elevado valor nutricional devido à presença de compostos essenciais, incluindo lipídios, proteínas, fibras alimentares, vitaminas e minerais. Historicamente, essas sementes foram utilizadas principalmente como matéria-prima para a produção de fibras e na alimentação animal. Entretanto, nas últimas décadas, o interesse pelo seu uso na alimentação humana tem aumentado, em razão de sua composição nutricional equilibrada e de suas propriedades benéficas à saúde (Montero et al., 2013).

Segundo Montero (2023), a indústria alimentícia disponibiliza atualmente diversos produtos derivados das sementes de cânhamo (Figura 4), incluindo sementes descascadas, proteína em pó, fibras e óleo de semente de cânhamo. Esses produtos são obtidos exclusivamente a partir das sementes e apresentam ampla aplicação na formulação de alimentos, rações animais e cosméticos. Na alimentação humana, destacam-se produtos como barras proteicas, granolas à base de sementes de cânhamo, smoothies, sementes descascadas para consumo direto, proteína orgânica em pó e óleo de semente de cânhamo, este último amplamente utilizado como ingrediente culinário e no preparo de saladas. Além disso, os derivados das sementes também são empregados na alimentação animal, sendo incorporados em formulações destinadas a cães e cavalos. As sementes descascadas e as cascas de sementes de cânhamo são utilizadas na produção de rações com elevado teor de proteínas e fibras, sendo ainda comercializadas como suplemento alimentar devido ao seu conteúdo de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, que contribuem para o desenvolvimento e a manutenção de funções fisiológicas, como o desenvolvimento do sistema nervoso e da visão.

Figura 4 - Produtos feitos com semente de cânhamo



Fonte: Montero, 2023

Os produtos derivados das sementes de cânhamo apresentam elevado valor nutricional, fornecendo aproximadamente o dobro de proteínas, maior quantidade de ácidos graxos e ferro, além de menor teor de carboidratos por porção, quando comparados a produtos convencionais. Além do seu valor nutricional, as sementes de cânhamo têm despertado crescente interesse da indústria alimentícia devido às propriedades funcionais de seus compostos bioativos. Nesse contexto, extratos e compostos obtidos a partir das sementes vêm sendo estudados para aplicação em embalagens ativas, conservação de alimentos, alimentos funcionais e nutraceuticos. O potencial dessas aplicações está relacionado ao amplo espectro de atividades biológicas atribuídas aos compostos presentes nas sementes de cânhamo, incluindo ação antioxidante, anti-inflamatória, neuroprotetora, prebiótica, antimicrobiana e antifúngica. Além disso, extratos de sementes descascadas demonstraram atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Enterococcus faecalis*, evidenciando seu potencial para o desenvolvimento de ingredientes funcionais e conservantes naturais para a indústria alimentícia. Outro produto de destaque é a farinha de cânhamo, que tem sido utilizada para reduzir o teor de glúten em pães e na elaboração de produtos de panificação sem glúten. Estudos

demonstram que sua incorporação melhora a qualidade nutricional dos alimentos, promovendo aumento do teor de proteínas, redução das alterações na dureza do miolo e incremento do índice de escurecimento dos produtos panificados (Montero, 2023).

Embora as sementes de *Cannabis sativa* L. apresentem elevado valor nutricional e ampla aplicação na indústria alimentícia, a maioria dos fitocanabinoides é biossintetizada nos tricomas glandulares localizados nas partes aéreas da planta, especialmente nas flores femininas. Consequentemente, esses compostos não são encontrados nas sementes de cânhamo ou estão presentes apenas em quantidades baixas. Dessa forma, os produtos alimentícios que contêm fitocanabinoides são produzidos, principalmente, pela adição de óleos ou extratos obtidos das partes aéreas da planta (Montero, 2023).

3.6 Marcadores Quimiotaxônicos Encontrados na *Cannabis Sativa* L.

O uso de metabólitos como marcadores quimiotaxonômicos, principalmente em plantas e microrganismos, tem sido amplamente utilizado para identificar relações entre os seres vivos em diferentes níveis hierárquicos, como população, família, espécies, gêneros e tribos. Essa abordagem baseia-se na análise de macromoléculas e micromoléculas produzidas pelos organismos, permitindo compreender relações evolutivas e contribuindo para estudos filogenéticos. A quimiotaxonomia classifica as substâncias produzidas pelos organismos em três grupos principais: metabólitos primários, metabólitos secundários e semantídeos. Os metabólitos primários são aqueles envolvidos diretamente nas funções vitais dos organismos, como o ácido cítrico, aminoácidos, ácidos graxos e lipídeos, estando relacionados aos processos básicos do metabolismo celular. Os metabólitos secundários, por sua vez, correspondem a compostos naturais que não são essenciais para a sobrevivência imediata da planta, mas desempenham importantes funções ecológicas e fisiológicas. Entre esses compostos destacam-se alcaloides, compostos fenólicos, glucosinolatos, terpenos e cumarinas. Esses metabólitos podem apresentar diversas funções, atuando como pigmentos, óleos essenciais, aleloquímicos, resinas e substâncias de defesa contra herbívoros e patógenos. Por fim, os semantídeos correspondem às moléculas responsáveis por armazenar e transmitir a informação genética dos organismos, como o ácido desoxirribonucleico (DNA) e o ácido ribonucleico (RNA), sendo fundamentais para estudos de evolução e relações filogenéticas (Brant, 2003).

Ao longo dos anos, muitas substâncias químicas que compõem a classe dos produtos naturais foram identificadas em *C. sativa* (Figura 5). Atualmente, mais de 750 substâncias já foram descritas na espécie, incluindo monoterpenos, sesquiterpenos, esteroides, flavonoides, compostos nitrogenados e canabinoides. Dentre essas, mais de 100 são canabinoides, compostos encontrados exclusivamente em plantas do gênero *Cannabis* (Borille, 2016).

Figura 5 - Compostos químicos da *Cannabis sativa* L.

Classe	Número de compostos encontrados na planta	Classe	Número de compostos encontrados na planta
<i>Canabinóides</i>	61	<i>Cetonas simples</i>	13
Canabigerol (CBG)	6	<i>Ácidos simples</i>	20
Canabicromeno (CBC)	4	<i>Ácidos graxos</i>	12
Canabidiol (CBD)	7	<i>Ésteres e lactonas simples</i>	13
$\Delta^{1(9)}$ -THC	9	<i>Esteróides</i>	11
$\Delta^{2(8)}$ -THC	2	<i>Açúcares e análogos</i>	34
Canabiciolol (CBL)	3	Monossacarídeos	13
Canabielsoin (CBE)	3	Dissacarídeos	2
Canabinol (CBN)	6	Polissacarídeos	5
Canabinodiol (CBND)	2	Ciclitóis	12
Canabitriol (CBT)	6	Amino-açúcares	2
Outros canabinóides	13	<i>Terpenos</i>	103
<i>Compostos Nitrogenados</i>	20	Monoterpenos	58
Bases quartenárias	5	Sesquiterpenos	38
Amidas	1	Diterpenos	1
Aminas	12	Triterpenos	2
Alcalóides espermidinas	2	Mistura de terpenóide	4
<i>Aminoácidos</i>	18	<i>Fenóis não-canabinóides</i>	16
<i>Proteínas, glicoproteínas e enzimas</i>	9	<i>Glicosídeos Flavonóide</i>	19
<i>Hidrocarbonetos</i>	50	<i>Vitaminas</i>	1
<i>Álcoois simples</i>	7	<i>Pigmentos</i>	2
<i>Aldeídos simples</i>	12	Total	421

Fonte: Honório, 2005

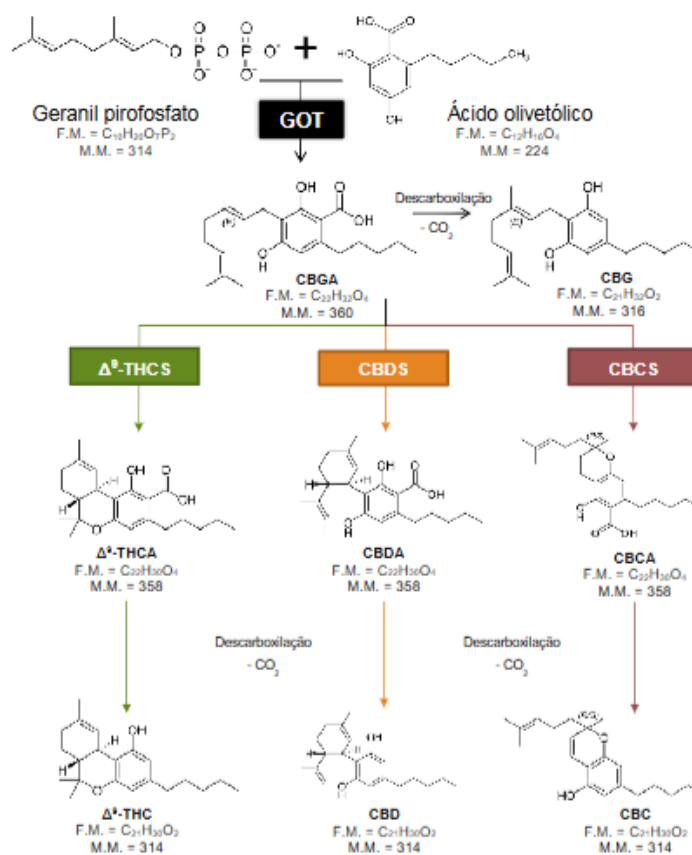
De acordo com Borille (2016), os terpenos constituem os principais componentes dos óleos essenciais das plantas e são responsáveis pelo aroma característico da cannabis. Os mono- e sesquiterpenoides desempenham papel fundamental nas características organolépticas das diferentes variedades, sendo os sesquiterpenos, especialmente o óxido de cariofileno, frequentemente associados ao odor típico da planta. Outros terpenoides identificados, tanto em plantas jovens quanto em adultas, incluem β -mirceno, limoneno, β -cariofileno, α - e β -pineno, trans-ocimeno, α -terpinoleno e α -humuleno, apresentando elevada variabilidade em composição e concentração.

Os canabinoides pertencem à classe dos metabólitos secundários terpenofenólicos, apresentando caráter predominantemente apolar e, conseqüentemente, baixa solubilidade em água (Borille, 2016).

Segundo Borille (2016), a biossíntese dos canabinoides ocorre a partir de precursores comuns às vias dos terpenoides. O geranil pirofosfato (GPP) é um dos principais compostos envolvidos, atuando como precursor tanto dos canabinoides quanto dos terpenoides. Na via de formação dos terpenoides, o GPP pode originar monoterpenoides nas células secretoras ou, ao se combinar com o isopentenil pirofosfato (IPP), formar o farnesil pirofosfato (FPP), que dá origem aos sesquiterpenoides.

No caso da biossíntese dos canabinoides, o geranil pirofosfato se condensa com o ácido olivetólico, uma fração fenólica com cadeia lateral pentil, formando compostos do tipo C₂₁ (Figura 6), que são os canabinoides mais abundantes e, conseqüentemente, os mais estudados. Essa reação é catalisada pela enzima geraniltransferase, resultando na formação do ácido canabigerólico (CBGA), considerado o principal precursor dos demais canabinoides. A partir do CBGA, ocorre a formação dos ácidos canabinoides, como o ácido tetrahydrocannabinólico (Δ^9 -THCA), o ácido canabidiólico (CBDA) e o ácido canabicromênico (CBCA). Posteriormente, esses compostos sofrem descarboxilação não enzimática, dando origem às formas neutras Δ^9 -THC, CBD e canabicromeno (CBC). Esse processo pode ocorrer durante o armazenamento da planta ou quando esta é exposta ao calor e à luz (Borille, 2016).

Figura 6 - Esquema básico da biossíntese vegetal dos principais canabinoides C21 presentes na *Cannabis sativa* L.



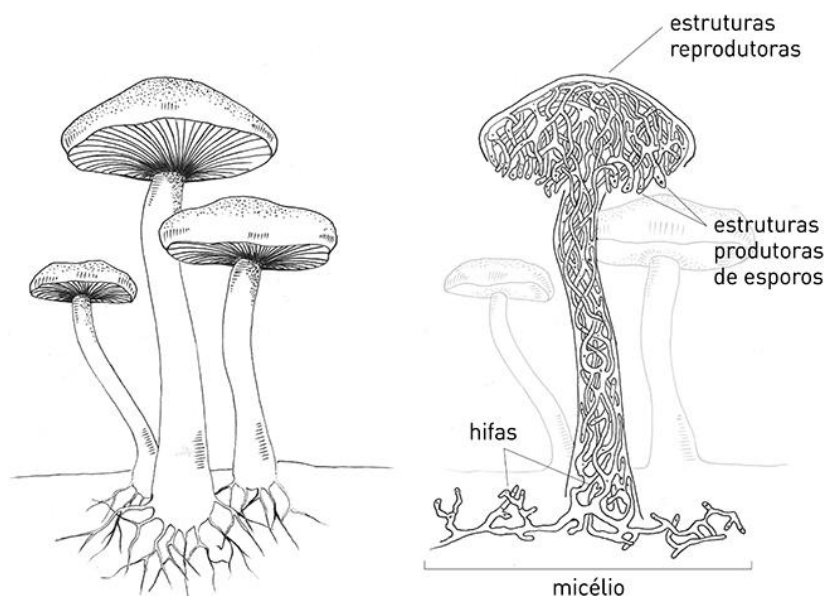
Fonte: Borille, 2016

Até o momento, diversos fitoquímicos já foram descritos no cânhamo (*Cannabis sativa*), e suas propriedades farmacológicas parecem ir muito além dos efeitos psicoativos, apresentando potencial para atender diferentes necessidades terapêuticas, como o alívio de náuseas e da anorexia associadas à quimioterapia, bem como a mitigação de sintomas relacionados à esclerose múltipla. A contínua descoberta de novos compostos e protótipos de fármacos derivados dessa espécie é de extrema importância para o enfrentamento de desafios futuros em saúde pública, uma vez que cannabis apresenta um elevado potencial para ampliar o repertório de metabólitos bioativos com aplicação terapêutica. Os compostos de interesse podem ser obtidos a partir de diferentes fontes e estratégias, incluindo tricomas da planta, culturas de suspensão celular, sistemas de raízes adventícias e processos de biotransformação de precursores como o Δ⁹-THCA e o CBDA, utilizando células fúngicas, bacterianas ou vegetais (André; Hausman; Guerriero, 2016).

3.7 Aspectos Gerais Sobre os Fungos

Atualmente, estima-se que entre 100.000 e 150.000 espécies de fungos já tenham sido descritas. No entanto, acredita-se que a diversidade real desses organismos possa atingir cerca de 5 milhões de espécies, o que os torna um dos grupos mais diversos do planeta, ficando atrás apenas dos insetos. Os fungos são organismos eucariontes, heterotróficos, com nutrição por absorção e reserva energética na forma de glicogênio. Podem apresentar diferentes formas estruturais, sendo classificados como leveduriformes ou filamentosos. Além disso, podem apresentar fases haploides ou dicarióticas ao longo de seu ciclo de vida. Nos fungos filamentosos, os filamentos são denominados hifas, estruturas que, em conjunto, formam o micélio e são envolvidas por uma parede celular composta principalmente por quitina (Figura 7). A reprodução pode ocorrer de forma assexuada, por meio da formação de conídios, ou de forma sexuada, com a produção de esporos (Santos, 2015).

Figura 7 - Estrutura dos fungos



Fonte: Suárez, s.d.

Os fungos podem causar diversas doenças em humanos e animais, incluindo alergias respiratórias e cutâneas, infecções em mucosas e tecidos subcutâneos, além de infecções sistêmicas que podem se tornar crônicas e, em alguns casos, letais, atingindo órgãos internos. Esses microrganismos também podem contaminar alimentos, principalmente grãos e cereais,

comprometendo sua qualidade e segurança para o consumo. Entretanto, os fungos não apresentam apenas efeitos prejudiciais. Desde a antiguidade, esses organismos vêm sendo utilizados pelos seres humanos para diferentes finalidades, especialmente na alimentação. Atualmente, na indústria alimentícia, a produção e a qualidade de alimentos como pães, queijos, iogurtes, cervejas e vinhos dependem diretamente da ação de fungos específicos empregados em seus processos de fabricação. Além disso, na biotecnologia e na engenharia genética, os fungos desempenham papel fundamental, sendo utilizados na produção de ácidos orgânicos, etanol, antibióticos, pigmentos, vitaminas, enzimas e pesticidas biológicos. Também são amplamente utilizados como organismos-modelo em estudos com eucariontes, devido à facilidade de cultivo e manipulação em laboratório (Moraes; Paes; Holanda, 2013).

Alguns fungos são saprobiontes e atuam na decomposição de matéria orgânica morta, desempenhando um papel fundamental para o equilíbrio dos ecossistemas. As relações estabelecidas entre fungos e outros organismos são bastante diversificadas. Entre essas interações, destacam-se as associações mutualísticas, como as micorrizas, nas quais os fungos se associam às raízes das plantas, favorecendo a absorção de água e nutrientes, enquanto recebem compostos orgânicos produzidos pela planta. Outro exemplo de interação simbiótica ocorre entre fungos e insetos, como no caso de formigas que cultivam fungos em seus ninhos, alimentando-os com material vegetal e, em contrapartida, utilizando o fungo como fonte de alimento (Figura 9). Além disso, existem relações de parasitismo e predatismo, nas quais alguns fungos utilizam outros organismos para completar seu ciclo de vida, como ocorre com determinadas espécies que infectam insetos, exemplificado pelo fenômeno conhecido como “formiga-zumbi” (Figura 8). Outra interação relevante é a dos fungos endofíticos, que habitam o interior de tecidos de plantas saudáveis, como folhas, caules e sementes, sem causar danos aparentes. Esses fungos podem produzir metabólitos secundários capazes de mimetizar substâncias produzidas pela planta hospedeira ou atuar na defesa contra patógenos, insetos e herbívoros, contribuindo para a proteção e adaptação da planta ao ambiente (Santos, 2015).

Figura 9 - Jardim de fungos dentro do formigueiro



Fonte: Rodrigues, 2024

Figura 8 - Formiga "zumbi" com fungo parasita



Fonte: Costa Norte, 2022

3.8 Aspectos dos Fungos Endofíticos

Os fungos associados às plantas pertencem majoritariamente ao filo Ascomycota e podem ser agrupados em três categorias principais: endofíticos, epifíticos e fitopatogênicos (Canuto et al., 2012). Estima-se que, das aproximadamente 300 mil espécies de plantas existentes na Terra, cada uma abrigue em seus tecidos um ou mais fungos endofíticos, podendo totalizar cerca de 1 milhão de espécies de fungos quando considerados apenas esses microrganismos (Santos et al., 2013).

Os fungos endofíticos são microrganismos geralmente não patogênicos que colonizam o interior de tecidos vegetais saudáveis, como raízes, frutos, folhas e caules, dos quais obtêm nutrientes sem causar danos aparentes à planta hospedeira. No entanto, dependendo das condições ambientais, como altitude e precipitação, esses organismos podem se comportar como patógenos latentes. Esses fungos desempenham papel importante na adaptação das plantas a diferentes condições ambientais, como seca e baixas temperaturas, além de induzirem tolerância a estresses abióticos, incluindo salinidade, variações de pH e presença de metais pesados. Também contribuem para a defesa da planta contra herbívoros e a invasão por fitopatógenos. Um exemplo dessa interação é o fungo endofítico *Curvularia protuberata*. (Figura 11), que confere resistência térmica à gramínea *Dichanthelium lanuginosum* (capim-

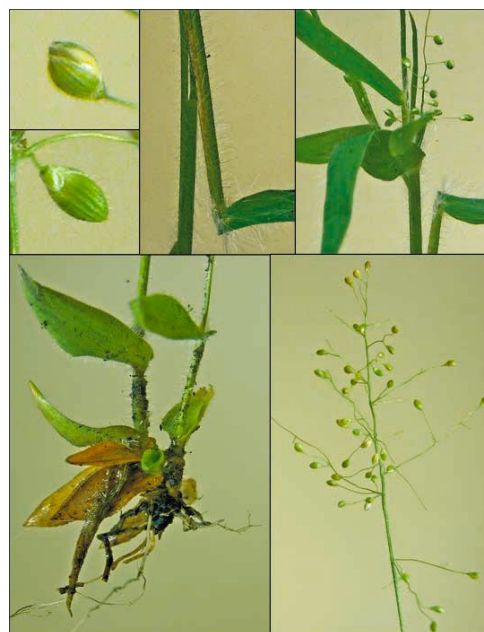
panaz) (Figura 10), por meio da biossíntese de melanina, substância capaz de dissipar calor e neutralizar radicais livres gerados pelo estresse térmico (Canuto et al., 2012)

Figura 11 - *Curvularia protuberatus*



Fonte: Marin, 2020

Figura 10 - *Dichanthelium lanuginosum*



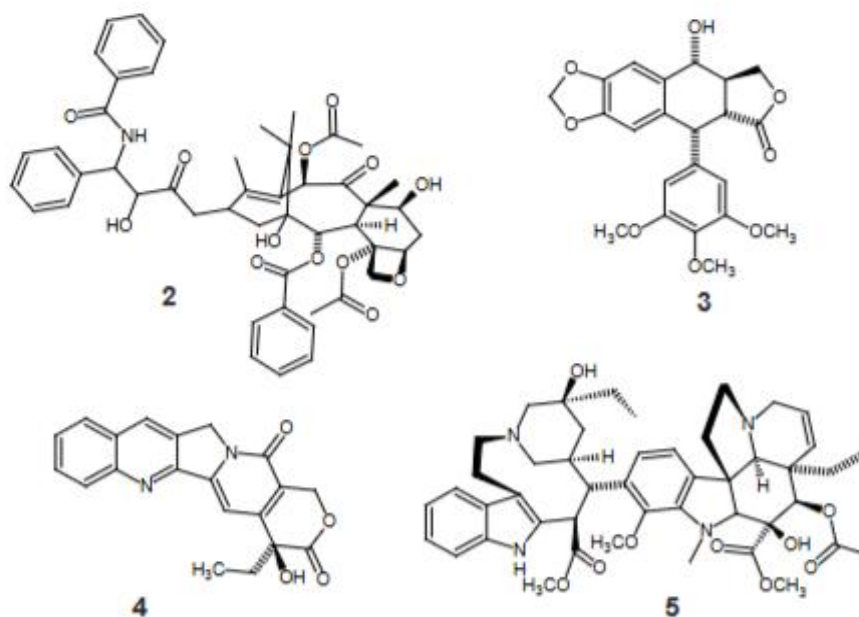
Fonte: New York Flora Atlas, s.d.

As substâncias bioativas do reino Fungi são produzidas por meio de metabólitos secundários, os quais originam compostos pertencentes a diversas classes químicas, como peptídeos, alcaloides, terpenos, esteroides e policetídeos, entre outros. Nos fungos endofíticos, a relação de simbiose estabelecida com a planta hospedeira pode conferir a esses microrganismos a capacidade de biossintetizar metabólitos semelhantes ou até idênticos aos produzidos pela própria planta. Um exemplo clássico é o paclitaxel, também conhecido como taxol, um composto inicialmente isolado de plantas do gênero *Taxus*, amplamente utilizado no tratamento de câncer de mama e de útero. Estudos demonstram que fungos endofíticos associados a essas plantas também são capazes de produzir esse mesmo composto químico (Canuto et al., 2012). Outros exemplos de metabólitos produzidos por fungos endofíticos estão apresentados na Tabela 2, enquanto suas respectivas estruturas químicas podem ser observadas na Figura 12.

Tabela 2 - Fungos produtores de metabólitos secundários de origem botânica

Fungo endofítico	Planta hospedeira	Metabólito bioativo
<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Taxus chinensis</i>	Paclitaxel (2)
<i>Fusarium lateritium</i>	<i>Taxus baccata</i>	Paclitaxel
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Podocarpus sp.</i>	Paclitaxel
<i>Phialocephala fortinii</i>	<i>Sinopodophyllum peltatum</i>	Podofilotoxina (3)
<i>Entrophospora infrequens</i>	<i>Nothapodytes foetida</i>	Camptotecina (4)
<i>Alternaria sp.</i>	<i>Catharanthus roseus</i>	Vimblastina (5)

Fonte: Adaptado de Canuto, 2012

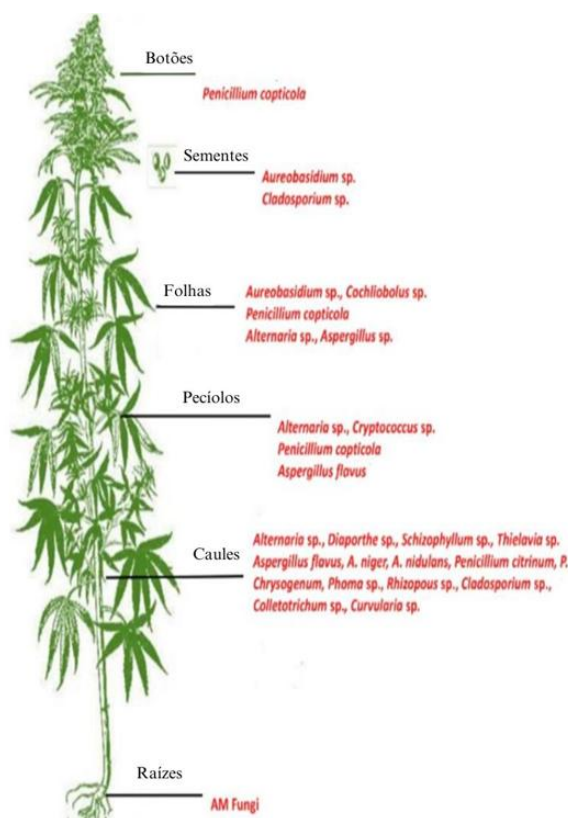
Figura 12 - Estruturas químicas de paclitaxel (2), podofilotoxina (3), camptotecina (4) e vimblastina (5)

Fonte: Canuto, 2012

Em diversas pesquisas, foram identificadas várias espécies de fungos endofíticos associadas aos diferentes órgãos e tecidos da *C. sativa* (Figura 13), após procedimentos de esterilização superficial. Essas amostras são obtidas, principalmente, de raízes, folhas, sementes, caules e inflorescências, sendo que a composição das comunidades microbianas pode variar de acordo com a origem geográfica e as condições de cultivo da planta. Os gêneros de fungos endofíticos mais frequentemente relatados incluem *Aspergillus*, *Cladosporium*,

Alternaria, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces* e *Chaetomium*. Diversos desses endófitos são descritos como promotores de crescimento vegetal, podendo conferir efeitos bioestimulantes em plantas de cannabis por meio de diferentes mecanismos, como a produção de fitohormônios e metabólitos secundários, resultando no aumento do vigor, da produtividade e dos níveis de canabinoides. Além disso, esses microrganismos podem intensificar as respostas de defesa da planta, por meio da ativação de vias de resistência, da produção ou solubilização de compostos benéficos, da competição por nichos ecológicos, da produção de substâncias antimicrobianas e do micoparasitismo, contribuindo para a maior adaptação e proteção da planta (Buir; Punja, 2025).

Figura 13 - Fungos endofíticos encontrados em diferentes tecidos da *Cannabis sativa* L.



Fonte: Taghinasab, 2020

Os fungos associados à *Cannabis sativa* apresentam grande potencial não apenas como agentes de biocontrole contra fitopatógenos conhecidos e emergentes, mas também como uma promissora fonte sustentável de metabólitos secundários biologicamente ativos. A produção desses compostos pode ser realizada por meio de processos fermentativos controlados, amplamente explorados pelas indústrias farmacêutica e biotecnológica, o que reforça o potencial desses microrganismos na obtenção de substâncias de interesse econômico e terapêutico (Kusari et al., 2013)

3.9 Biotecnologia da Fermentação de Microrganismos para Produção de Medicamentos

Em setembro de 1928, o médico inglês Alexander Fleming observou a ação de um fungo do gênero *Penicillium* sobre culturas bacterianas, identificando a presença de uma substância com propriedades antibacterianas, posteriormente denominada penicilina. Essa substância demonstrou capacidade de inibir o crescimento de diversas bactérias patogênicas, incluindo aquelas responsáveis por doenças como meningite, difteria e pneumonia. Esse acontecimento representou um marco na história da medicina, impulsionando o uso de metabólitos microbianos como agentes terapêuticos. A partir desse avanço, diversas substâncias de origem bacteriana e fúngica passaram a ser isoladas, principalmente por meio de processos fermentativos, possibilitando o desenvolvimento de medicamentos aplicados à saúde humana, veterinária e à agricultura (Chhabra; Taksandre; Munjewar; 2024).

Existem três principais formas de fermentação: fermentação em estado sólido, fermentação em superfície de meio líquido e fermentação submersa.

Na fermentação em estado sólido (Figura 14), o substrato é mantido em condição sólida, sendo apenas umidificado por uma fina camada de líquido, o que permite o crescimento dos microrganismos, especialmente fungos filamentosos. Esse tipo de fermentação tem origem em processos tradicionais utilizados na produção de alimentos, como pães, queijos (Figura 15) e produtos derivados de grãos, como soja e arroz-vermelho. A partir desses métodos tradicionais, houve o aprimoramento da técnica para diversas aplicações biotecnológicas modernas. Nas aplicações atuais, podem ser utilizados materiais sólidos inertes como suporte para o crescimento microbiano. Os substratos empregados podem ser classificados em dois tipos principais: nutritivos e inertes (Silva; Taniwaki; Sá, 2022).

Figura 14 - Exemplo de fermentação sólida



Fonte: Maia, 2024

Figura 15 – “Queijo azul” que tem o fungo *Penicillium roqueforti* adicionado em sua produção



Fonte: Kochhann, 2023

Os substratos nutritivos exercem dupla função, atuando tanto como suporte físico quanto como fonte de nutrientes para os microrganismos. Exemplos incluem farelos, tortas

prensadas provenientes da extração de óleos vegetais e outros materiais orgânicos. A escolha do substrato depende da finalidade do processo e da afinidade do microrganismo a ser cultivado (Silva; Taniwaki; Sá, 2022).

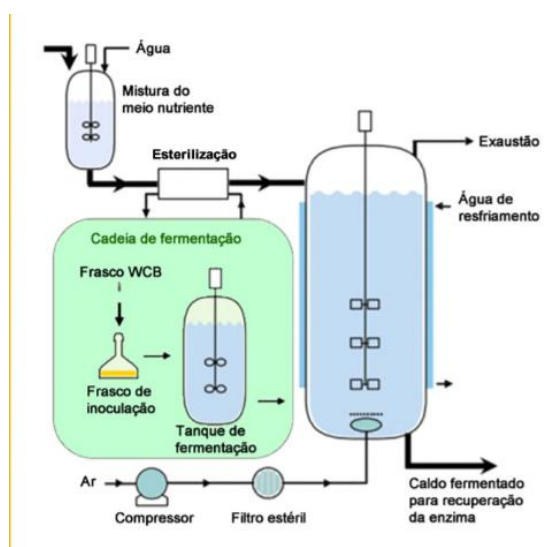
Por outro lado, os substratos porosos inertes, como espumas, perlita, vermiculita e resinas, atuam apenas como suporte físico, sendo os nutrientes fornecidos por meio de uma solução líquida que se distribui pelas lacunas do material. Essa abordagem permite maior controle sobre a composição dos nutrientes e facilita a recuperação da biomassa e dos metabólitos produzidos (Silva; Taniwaki; Sá, 2022).

Segundo Silva, Taniwaki e Sá (2022), a fermentação superficial em meio líquido é amplamente utilizada para o cultivo de fungos filamentosos, os quais crescem em um caldo nutritivo que pode permanecer estático ou sob agitação. Nesse processo, os microrganismos formam uma camada de biomassa micelial, geralmente localizada na superfície do líquido. Entre os principais gêneros fúngicos nos quais essa técnica pode ser aplicada destacam-se *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Mucorales* e *Rhizopus*, entre outros. Esse tipo de fermentação pode ser empregado tanto para a produção de biomassa quanto para a obtenção de enzimas e outros metabólitos de interesse, como proteínas, carboidratos, lipídeos, aminoácidos e vitaminas. Esses compostos podem posteriormente ser extraídos e purificados, dependendo da finalidade de uso. Após o período de fermentação, que pode variar de três a doze dias conforme a espécie de fungo utilizada, a biomassa formada na superfície do meio líquido é coletada e submetida a etapas de processamento posteriores, de acordo com o objetivo da aplicação ou da pesquisa.

Na fermentação líquida submersa (Figura 16), o cultivo dos microrganismos ocorre totalmente submerso em um caldo nutritivo, geralmente em reatores fechados e sob constante agitação, com o objetivo de manter níveis adequados de oxigênio dissolvido no meio. Esse tipo de fermentação é amplamente utilizado na indústria biotecnológica devido à possibilidade de controle rigoroso das condições ambientais e à elevada produtividade obtida durante o processo. Parâmetros como temperatura, potencial hidrogeniônico (pH), consumo de oxigênio e formação de dióxido de carbono são constantemente monitorados e controlados, permitindo a otimização do crescimento microbiano e da produção dos metabólitos desejados. De modo geral, os fungos são cultivados inicialmente em meios de cultura esterilizados e previamente definidos. A linhagem microbiana é inoculada em frascos menores para multiplicação inicial e, após um

período que pode variar entre cinco e dez dias, dependendo do microrganismo utilizado, os esporos ou células produzidas são transferidos para tanques de fermentação de médio porte. Posteriormente, após um a quatro dias de crescimento, a cultura é encaminhada para tanques maiores, nos quais ocorre a indução da produção de enzimas ou outros metabólitos de interesse por meio da adição de substâncias indutoras. Durante todo o processo, fatores como pH e temperatura são rigorosamente controlados, sendo a temperatura frequentemente mantida por sistemas de resfriamento com água. Além da produção de enzimas, a fermentação submersa também pode ser utilizada para obtenção de proteínas e diversos outros compostos de interesse nutricional, farmacêutico e industrial (Silva; Taniwaki; Sá, 2022).

Figura 16 - Fermentação Submersa



Fonte: Silva et al., 2022

Desse modo, existem diferentes formas de fermentação, cuja escolha depende tanto do microrganismo utilizado quanto do metabólito que se deseja produzir ou isolar. O emprego de fungos nesses processos evidencia o grande potencial biotecnológico desses organismos (Figura 17), especialmente na produção de antibióticos, agentes terapêuticos, probióticos, compostos químicos, polímeros de aplicação industrial e tecnológica, além de enzimas de interesse biotecnológico. Os fungos também desempenham papel importante em processos de biorremediação de poluentes, biolixiviação e recuperação de minérios, demonstrando ampla versatilidade metabólica. Além disso, suas aplicações se estendem às áreas médica, veterinária

e agrícola, contribuindo para o prognóstico, prevenção e controle de doenças que acometem humanos, animais e plantas. Nesse contexto, a biotecnologia permite que esses compostos bioativos sejam isolados, purificados e produzidos em larga escala, favorecendo o desenvolvimento de produtos inovadores, a redução de custos industriais e a ampliação do acesso a substâncias com elevado potencial terapêutico e tecnológico, capazes de contribuir significativamente para a melhoria da qualidade de vida e para a solução de diversos problemas de saúde pública e ambiental (Canhos; Manfio, 2010).

Figura 17 - Metabólitos secundários de importância industrial produzido por fungos

Composto	Fungos Filamentosos	Principal área de aplicação
Alcalóides do Ergot	<i>Claviceps purpurea</i>	Indústria farmacêutica (tratamento para enxaqueca)
Cefalosporina	<i>Acremonium chrysogenum</i>	Indústria farmacêutica (antibiótico)
Ciclosporina	<i>Tolypocladium nivenum</i>	Indústria farmacêutica (imunossupressor)
Giberelina	<i>Fusarium moniliforme</i>	Indústria agrônômica (Hormônio de crescimento de plantas)
Griseofulvina	<i>Penicillium griseofulvum</i>	Indústria farmacêutica (agente antifúngico)
Lovastatina	<i>Monascus ruber</i> , <i>A. terreus</i>	Indústria farmacêutica (hipocolesterolemiante)
Penicilina	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Indústria farmacêutica (antibiótico)

Fonte: Abreu et al., 2015

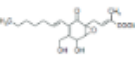
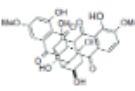
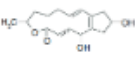
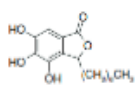
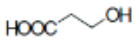
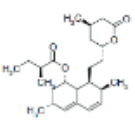
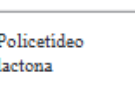
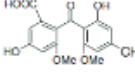
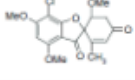
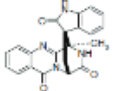
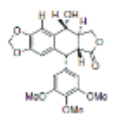
3.10 Fungos Edofíticos na Inovação de Medicamentos

Os organismos endofíticos, especialmente os fungos, vêm se destacando nas últimas décadas devido à sua capacidade de produzir metabólitos bioativos (Figura 18), representando uma importante fonte genética para aplicações biotecnológicas, principalmente na área farmacêutica. A capacidade desses microrganismos de produzir os mesmos metabólitos bioativos sintetizados pelas plantas hospedeiras pode reduzir a coleta excessiva de espécies vegetais raras, contribuindo para a preservação da biodiversidade. As diferentes classes de moléculas produzidas por fungos endofíticos podem apresentar atividades hormonais, antibióticas, antitumorais, antifúngicas, citotóxicas, antivirais, imunossupressoras e

antiparasitárias, entre outras. Entre os principais produtos naturais obtidos desses microrganismos destacam-se alcaloides, esteroides, terpenoides, isocumarinas, quinonas, fenilpropanoides, ligninas, fenóis, ácidos fenólicos, metabólitos alifáticos, lactonas, citocalasinas, flavonoides, peptídeos e xantonas. Diversas técnicas envolvendo conhecimentos de química, bioquímica, microbiologia e biologia molecular têm sido utilizadas para aprimorar o uso de microrganismos no isolamento de novos princípios ativos. Os microrganismos representam uma importante fonte de moléculas biologicamente ativas, sendo responsáveis por aproximadamente 10% dos produtos naturais bioativos conhecidos (Specian et al., 2014).

De acordo com Specian et al. (2014), a utilização de metabólitos de fungos endofíticos na indústria farmacêutica tornou-se especialmente evidente no século XX com a descoberta da produção do diterpenoide taxol pelo fungo endofítico *Taxomyces andreanae*. Esse composto antitumoral de elevada importância farmacológica havia sido inicialmente isolado de espécies vegetais do gênero *Taxus*. A descoberta da produção desse metabólito pelo fungo permitiu o desenvolvimento de métodos mais eficientes e menos dispendiosos para obtenção do fármaco, reduzindo a exploração excessiva das espécies vegetais utilizadas anteriormente como fonte do composto. Atualmente, o taxol é amplamente utilizado no tratamento de câncer de mama, pulmão e ovário, atuando na inibição da multiplicação de células cancerosas. Outros exemplos de metabólitos produzidos por fungos endofíticos incluem as citocalasinas sintetizadas por espécies de *Xylaria* sp., compostos que apresentam atividade antitumoral contra câncer de ovário e cólon, além de metabólitos com ação antifúngica contra *Candida albicans*. Outro composto de interesse farmacológico é o alcaloide camptotecina, produzido pelo fungo *Fusarium solani*, conhecido por sua atividade anticancerígena. Além disso, o policetídeo citrinina, obtido do fungo endofítico *Penicillium janthinellum*, demonstrou atividade contra espécies do gênero *Leishmania*.

Figura 18 - Metabólitos secundários de origem endofítica com propriedades bioativas

Microorganismo	Planta	Metabólito	Atividade biológica	Estruturas
<i>Pestalotiopsis microspora</i> <i>Monochaetia</i> sp.	<i>Torreya taxifolia</i>	Ácido ambuico	Agente antifúngico	
<i>Curvularia Lunata</i>	<i>Niphatas olemda</i>	Citosquirinas	Atividade antibacteriana, potencial agente anticancerígeno	
<i>Phoma medicaginis</i>	<i>Medicago sativa</i> <i>Medicago lupulina</i>	Brefeldina A	Atividade antibiótica, iniciação de apoptose em células cancerosas	
<i>Cytospora</i> sp. <i>Diaporthe</i> sp.	Fungo endofítico de Guanacaste (área de conservação da Costa Rica)	Cytosporone	Atividade Antibacteriana	
<i>Phomopsis phaseoli</i> <i>Melanconium betulinum</i>	<i>Betula pendula</i> , <i>B. pubescens</i> Folhas de uma árvore tropical	Ácido 3-hidroxi propiônico	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Caenorhabditis elegans</i>	
<i>Phomopsis</i> spp.	<i>Erythrina cristagalli</i>	Ácido mevinico	Atividade antiinflamatória	
<i>Phomopsis</i> spp.	<i>Erythrina cristagalli</i>	Phomol	Atividade citotóxica, antifúngica, antibacteriana e antiinflamatória	
<i>Rhizoctonia</i> sp.	<i>Cynodon dactylon</i>	Ácido rizotônico	Atividade anti- <i>Helicobacter pylori</i>	
<i>Xylaria</i> sp. F0010	<i>Abies holophylla</i>	Griseofulvina, Decloro-griseofulvina	Antibiótico e antifúngico	
<i>Eupenicillium</i> spp.	<i>Murraya paniculata</i>	Alantrifenona, Alantripinena, Alantrileunona	Inseticida	
<i>Trametes hirsuta</i>	<i>Podophyllum hexandrum</i>	Podofilotoxina, aril tetralina lignanas	Atividade anticancerígena	

Fonte: Adaptado de Specian, 2014

Estima-se que cerca de 80% dos fungos endofíticos estudados sejam capazes de produzir compostos com atividade antibacteriana, antifúngica ou herbicida. Dessa forma, destaca-se a importância do estudo desses microrganismos, visando ao isolamento de metabólitos capazes de combater infecções causadas por agentes patogênicos e contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos pela indústria farmacêutica (Specian et al., 2014).

Os fungos desempenham papel essencial na manutenção da saúde e da estabilidade dos ecossistemas terrestres, contribuindo significativamente para a sustentabilidade ambiental e para a biodiversidade. Nesse contexto, destaca-se a importância da biotecnologia na obtenção de diferentes substâncias por meio da manipulação de fungos, possibilitando o desenvolvimento de novas tecnologias voltadas tanto para a saúde humana quanto para o equilíbrio ambiental. No campo da indústria farmacêutica, ainda existe um amplo potencial a ser explorado em relação à utilização de microrganismos endofíticos. A elevada capacidade desses organismos em produzir substâncias bioativas os torna importantes fontes para a descoberta de novos princípios ativos de interesse terapêutico. Além disso, apresentam vantagens biotecnológicas relevantes, como baixo custo de produção, facilidade de cultivo e possibilidade de controle das variáveis ambientais, fatores que permitem otimizar e viabilizar a produção de metabólitos secundários em escala industrial (Abreu; Rovida; Pamphile, 2015).

3.11 Controle de *Aedes aegypti*: Importância da Avaliação de Novos Agentes Larvicidas

A dengue é uma arbovirose causada por vírus pertencentes ao gênero *Flavivirus*, transmitidos por artrópodes hematófagos. No Brasil, o principal vetor da doença é a fêmea do mosquito *Aedes aegypti*, responsável pela transmissão dos quatro sorotipos conhecidos do vírus da dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), os quais apresentam diferenças genéticas e podem ocasionar diferentes padrões epidemiológicos (Brasil, s.d.).

Acredita-se que *Aedes aegypti* tenha sido introduzido no Brasil por meio dos navios envolvidos no tráfico de pessoas escravizadas vindas da África. A primeira epidemia de dengue com confirmação clínica e laboratorial no país foi registrada entre 1981 e 1982, em Boa Vista, Roraima, sendo causada pelos sorotipos DENV-1 e DENV-4. Em 1986, novos surtos atingiram o estado do Rio de Janeiro e capitais da Região Nordeste, marcando o início da circulação contínua da doença no território nacional (Brasil, s.d.).

Desde então, a dengue tornou-se uma enfermidade endêmica no Brasil, chegando a quase 18 milhões de infectados nos últimos 25 anos. Fatores como a urbanização acelerada, o crescimento populacional desordenado, as deficiências no saneamento básico e as condições climáticas favoráveis contribuem para a proliferação do vetor e para a manutenção da transmissão viral. Além disso, a doença apresenta comportamento sazonal, com aumento

expressivo do número de casos entre os meses de outubro e maio. Embora indivíduos de todas as faixas etárias sejam suscetíveis à infecção, idosos e pessoas com comorbidades, como diabetes mellitus e hipertensão arterial, apresentam maior risco de desenvolver formas graves da doença, aumentando a probabilidade de complicações e de óbito (Brasil, s.d.).

Na década mais recente, entre janeiro de 2020 e junho de 2024, o Brasil registrou 11.236.426 casos prováveis de dengue, evidenciando a elevada carga da doença no país. A análise histórica dos casos de dengue com sinais de alerta, das formas graves e dos óbitos por dengue demonstra que o ano de 2024 apresentou números significativamente superiores aos observados nas epidemias anteriores, configurando uma das maiores epidemias já registradas no território nacional (Gurgel-Gonçalves; Oliveira; Croda, 2024).

Segundo os mesmos autores, entre os principais fatores associados a esse aumento destacam-se as mudanças climáticas globais, que favorecem a expansão da distribuição geográfica tanto do vírus quanto do mosquito *Aedes aegypti*. O aumento da temperatura, as alterações nos regimes de chuva e a ocorrência de eventos climáticos extremos criam condições mais favoráveis para a reprodução do vetor e para a transmissão viral. Como consequência, epidemias têm sido registradas em novas áreas do país, inclusive em regiões cujos sistemas de saúde apresentam menor capacidade de resposta diante de um grande número de casos, o que contribui para o aumento da morbidade e da mortalidade associadas à dengue.

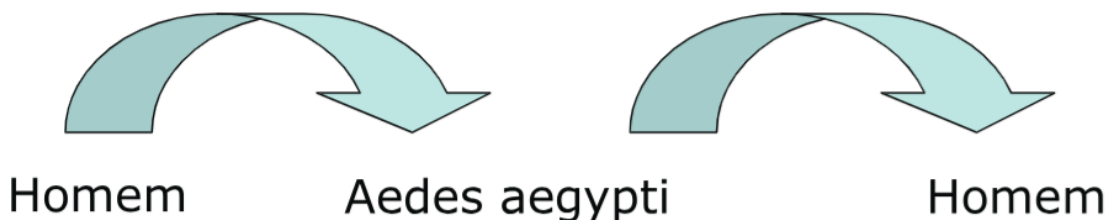
Na região Nordeste, foram registrados aproximadamente 93,2 mil casos prováveis de dengue, enquanto Pernambuco contabilizou 18.421 casos. Apesar da redução observada em relação ao mesmo período de 2025, a região continua apresentando elevada vulnerabilidade para a transmissão da doença, em razão das condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do *Aedes aegypti* e das deficiências no saneamento básico (Brasil, 2026).

Diante desse cenário, a vacinação contra a dengue passou a integrar o Calendário Nacional de Vacinação pela primeira vez em fevereiro de 2024. Embora a introdução da vacina represente um importante avanço nas estratégias de prevenção e controle da doença, sua disponibilidade ainda é limitada e não contempla todas as regiões do país. Ainda assim, observa-se uma redução expressiva no número de casos. Até 20 de junho de 2026, foram registrados aproximadamente 392,8 mil casos de dengue no Brasil, representando uma redução de 73% em comparação com o mesmo período do ano anterior. Apesar desses resultados

promissores, o controle do vetor continua sendo a principal medida de prevenção da doença, especialmente em áreas onde a cobertura vacinal ainda é insuficiente (Brasil, 2026).

O *Aedes aegypti* apresenta hábito predominantemente diurno e alimenta-se, em condições naturais, de néctar e seiva de plantas. Entretanto, as fêmeas necessitam de sangue para a maturação dos ovos durante o período reprodutivo. Quando uma fêmea realiza o repasto sanguíneo em um indivíduo infectado pelo vírus da dengue, pode adquirir o vírus e tornar-se capaz de transmiti-lo. Após um período de incubação extrínseca, que varia entre 10 e 12 dias, o vírus se multiplica no organismo do mosquito e alcança suas glândulas salivares. A partir desse momento, a fêmea infectada passa a transmitir o vírus a indivíduos suscetíveis durante novas picadas, mantendo o ciclo de transmissão (Figura 19) da doença entre o ser humano e o vetor (Espírito Santo, s.d.).

Figura 19 - Ciclo de transmissão da dengue

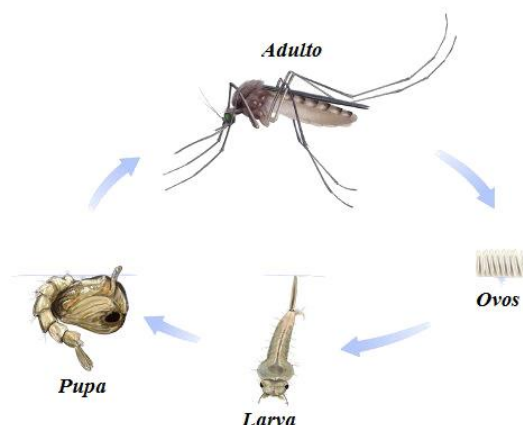


Fonte: Espírito Santo, s.d

O ciclo de vida do *Aedes aegypti* (Figura 20) compreende quatro estágios de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto. Em condições ambientais favoráveis, esse ciclo tem duração média de aproximadamente 40 dias, sendo cerca de 10 dias necessários para o desenvolvimento do ovo até o estágio adulto e aproximadamente 30 dias correspondentes à fase adulta do mosquito. Entretanto, a duração desse ciclo pode variar em função de fatores ambientais, principalmente da temperatura. Temperaturas mais elevadas aceleram o desenvolvimento das formas imaturas, favorecendo a eclosão dos ovos e reduzindo o tempo necessário para a formação de novos adultos. Dessa forma, as mudanças climáticas,

especialmente o aumento da temperatura, contribuem para o aumento da população de *Aedes aegypti*, favorecendo a transmissão da dengue e aumentando o número de casos da doença em diferentes regiões (Instituto Butantan, 2024).

Figura 20 - Ciclo de vida do *Aedes aegypti*



Fonte: Santos, 2026

O controle de *Aedes aegypti* baseia-se, principalmente, na utilização de inseticidas e larvicidas químicos, empregados para reduzir as populações do vetor nas fases adulta e larval. Entretanto, o uso intensivo desses produtos pode elevar os custos das ações de controle, além de ocasionar impactos ambientais e potenciais riscos à saúde pública. Outro fator preocupante é o desenvolvimento de resistência pelo mosquito aos princípios ativos utilizados. O uso contínuo de pesticidas químicos promove a eliminação dos indivíduos suscetíveis, favorecendo a sobrevivência e a reprodução daqueles geneticamente resistentes, o que reduz progressivamente a eficácia desses produtos (Polanzck; Garcia; Alves, 2003). Nesse contexto, torna-se fundamental o desenvolvimento de novos compostos com atividade larvicida, capazes de atuar como alternativas aos produtos convencionais e contribuir para o controle do vetor, especialmente em populações que já apresentam resistência aos inseticidas disponíveis.

4. METODOLOGIA

4.1 Obtenção do Material de Pesquisa

Foram selecionados os materiais que apresentavam melhores condições de crescimento do fungo verde (FV) para realização da repicagem. Inicialmente, as placas de Petri, pipetas e tubos de ensaio foram organizados e submetidos à esterilização a seco em estufa. Posteriormente, foi preparado o meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar, o qual foi esterilizado em autoclave. Em seguida, em cabine de fluxo laminar, o meio de cultura foi distribuído nas placas de Petri e nos tubos de ensaio com auxílio de pipeta estéril. Após esse procedimento, os materiais foram mantidos sob refrigeração até o resfriamento e solidificação do meio.

Posteriormente, um fragmento do fungo verde foi retirado com auxílio de uma alça de inoculação e transferido para um tubo contendo água destilada estéril. A suspensão obtida foi homogeneizada em agitador tipo vortex, com a finalidade de promover a liberação dos esporos presentes no material fúngico. Com auxílio de um swab estéril, a suspensão foi espalhada nas placas de Petri e nos tubos de ensaio por meio da técnica de estriamento. Após a inoculação, o material biológico foi incubado em estufa bacteriológica por sete dias, à temperatura de 40 °C, para promover o crescimento e desenvolvimento das colônias fúngicas.

4.2 Preparação dos Meios de Cultura

Todos os meios de cultura foram preparados na proporção de 150 mL, com exceção do meio à base de milho, cuja formulação foi preparada na proporção de 250 mL. Posteriormente, os meios foram distribuídos em alíquotas de 50 mL em três frascos Erlenmeyer devidamente identificados. Ressalta-se que nenhuma das formulações recebeu adição de ágar, com a finalidade de manter os meios em estado líquido, condição necessária para a realização do processo fermentativo. Após o preparo, os valores de pH de cada meio foram aferidos, sem realização de correção. Posteriormente, os meios de cultura preparados foram submetidos ao processo de esterilização em autoclave, visando garantir a eliminação de possíveis microrganismos contaminantes antes da inoculação fúngica.

Tabela 3 - Composição do meio de Saboraud

Meio Líquido de Sabouraud (SAB)
pH = 6,50
Dextrose 3g
Peptona 0,75g
Água Destilada 150 MI

Fonte: Autora, 2026

Tabela 4 - Composição do meio líquido de Malt Extract

Meio Líquido Malt Extract (MEA)
pH = 5,44
Extrato de Malte 3g
Glicose 3g
Peptona 0,15g
Água Destilada 150 mL

Fonte: Autora, 2026

Para o preparo do meio à base de farinha de milho (Tabela 5), foram pesados 25 g de flocos de milho (cuscuz), aos quais foram adicionados inicialmente 100 mL de água destilada para hidratação da massa. Em seguida, o material foi submetido ao aquecimento em micro-ondas para cocção, sendo adicionados, ao longo do processo, mais 100 mL de água destilada. Posteriormente, o conteúdo obtido foi filtrado em peneira, resultando em aproximadamente 100 mL de extrato. Após a filtração, foram adicionados mais 150 mL de água destilada, totalizando o volume final de 250 mL do meio de cultura.

Tabela 5 - Composição do meio líquido de Farinha de Milho

Meio Líquido de Farinha de Milho (MIL)
pH = 5,18
Farinha de Milho 25g
Água Destilada 350 mL

Fonte: Autora, 2026

Para o preparo do meio à base de batata-dextrose (Tabela 6), foram utilizados 30 g de batata descascada, cortada em pequenos fragmentos e adicionada a um volume inicial de água destilada. O material foi submetido ao cozimento em micro-ondas até o amolecimento da batata. Posteriormente, o conteúdo foi completado com água destilada até atingir o volume final de 150 mL, sendo então homogeneizado adequadamente. Após a homogeneização, foram adicionados 3 g de dextrose ao meio de cultura.

Tabela 6 - Composição do meio líquido Batata Dextrose

Meio Líquido Batata Dextrose (BDA)
pH = 6,81
Batata 30g
Dextrose 3g
Água Destilada 150 mL

Fonte: Autora, 2026

4.3 Processos Fermentativos Utilizados no Experimento

Uma porção de cada meio de cultura foi separada e adicionada de ágar com a finalidade de obtenção dos meios sólidos. Após o preparo, os meios foram esterilizados em autoclave e, posteriormente, vertidos em placas de Petri dentro de cabine de fluxo laminar, respeitando as condições assépticas.

Após a solidificação dos meios, o fungo foi repicado em duas placas de cada meio sólido por meio da técnica de estriamento. As placas foram incubadas em estufa a 40 °C durante três dias para crescimento das colônias fúngicas. Após esse período, as regiões com maior concentração de esporos foram perfuradas com auxílio de um perfurador de 8 mm de diâmetro (Figura 21), obtendo-se oito blocos de gelose, os quais foram transferidos para seus respectivos meios líquidos. Dessa forma, os blocos obtidos do meio sólido de farinha de milho foram inoculados no meio líquido de farinha de milho, ocorrendo o mesmo procedimento para os

demais meios de cultura. Os meios líquidos inoculados foram mantidos em estufa incubadora à temperatura de 30 °C durante o período de fermentação (Figura 22).

Figura 22 - Blocos de gelose de 8 mm de diâmetro obtidos com auxílio de furador estéril.



Fonte: Autora, 2026

Figura 21 - Meio de cultura líquido contendo blocos de gelose utilizados para a fermentação



Fonte: Autora, 2026

4.4 Liofilização dos Líquidos Fermentados

A liofilização de líquidos fermentados consiste em um processo de desidratação por sublimação, no qual a água congelada passa diretamente do estado sólido para o estado de vapor, sem transitar pela fase líquida. Essa técnica é amplamente empregada para preservar metabólitos bioativos, enzimas e a viabilidade de esporos de microrganismos, além de reduzir o volume das amostras e facilitar seu armazenamento.

Inicialmente, as amostras são congeladas em temperaturas inferiores a -18 °C, garantindo que toda a água presente permaneça no estado sólido. Em seguida, o sistema é submetido a vácuo, promovendo a sublimação do gelo. Como a amostra se encontra abaixo do ponto triplo da água, a redução da pressão permite que o gelo passe diretamente para o estado de vapor, sem ocorrer fusão. Na etapa final, denominada dessorção, a água residual adsorvida ao material é removida por meio do fornecimento gradual de calor, mantendo-se o vácuo no

interior do equipamento. Como a pressão permanece reduzida, não são necessárias temperaturas elevadas, o que contribui para a preservação da estabilidade e das características bioativas dos metabólitos presentes na amostra.

Na presente pesquisa, o processo de liofilização foi realizado utilizando o liofilizador Enterprise II – Terroni.

4.5 Inoculação em Três Pontos Equidistantes

Em placas de Petri contendo meio de cultura sólido, foi realizada a inoculação em três pontos equidistantes, com o objetivo de acompanhar o crescimento das colônias, bem como observar sua coloração e demais características morfológicas, seguindo a metodologia descrita por Ashcar (1971). Para a realização desse procedimento, durante a inoculação, a placa foi mantida com a base voltada para cima e a tampa voltada para baixo, a fim de evitar que esporos desprendidos durante o manuseio se depositassem em outras regiões do meio de cultura. Além disso, utilizaram-se placas de vidro, devido à sua maior transparência, facilitando a observação do desenvolvimento das colônias. Após a inoculação, as placas foram vedadas com filme plástico e incubadas em estufa a 40 °C, mantendo-se sempre a tampa voltada para baixo. As avaliações foram realizadas em três momentos, após 48, 96 e 144 horas de incubação, registrando-se o crescimento das colônias por meio de medições e fotografias. Durante todas as observações, as placas permaneceram na mesma posição de incubação, evitando que esporos eventualmente depositados na tampa caíssem sobre o meio de cultura e interferissem no crescimento das colônias.

4.6 Preparação dos Extratos da Massa Liofilizada dos Líquidos Fermentados

Para o preparo dos extratos aquosos, foi selecionado um tubo Falcon contendo a massa liofilizada de cada meio de cultivo. Foram escolhidos tubos com massas semelhantes, a fim de padronizar as concentrações dos extratos obtidos. Em seguida, adicionaram-se 50 mL de água destilada a cada tubo, promovendo a completa solubilização da massa liofilizada. Após esse processo, os extratos foram transferidos para frascos de vidro âmbar (Figura 23), onde permaneceram armazenados até sua utilização nos bioensaios. As concentrações finais dos extratos preparados estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Concentração dos extratos aquosos

AMOSTRAS	[C] mg / ml
<i>SAB</i>	7
<i>MEA</i>	7
<i>MIL</i>	7,4
<i>BDA</i>	9,2

Fonte: Autora, 2026

Figura 23 - Extratos aquosos obtidos a partir da massa liofilizada dos líquidos fermentados e larvicida biológico utilizado nos bioensaios.

Fonte: Autora, 2026

4.7 Teste de Toxicidade Frente *Aedes aegypti*

Os ovos das larvas, doados pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), foram incubados em água destilada até atingirem o terceiro estágio larval (L3). Nessa fase, as larvas apresentam maior resistência ao manuseio, reduzindo a ocorrência de mortalidade natural durante os bioensaios, além de possuírem tamanho adequado para facilitar sua visualização, sem que tenham atingido o estágio de pupa. Essas características contribuem para a obtenção de resultados mais precisos e padronizados, conforme recomendado pela World Health Organization (WHO, 2009). Os bioensaios foram realizados em triplicata, sendo adicionadas

cinco larvas em cada tubo. As concentrações utilizadas para cada amostra estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 - Concentração das amostras analisadas

	AMOSTRAS	[C] mg/mL
SAB	C ₁	0,49
	C ₂	0,70
	C ₃	1,05
MEA	C ₁	0,49
	C ₂	0,70
	C ₃	1,05
MIL	C ₁	0,52
	C ₂	0,74
	C ₃	1,11
BDA	C ₁	0,64
	C ₂	0,92
	C ₃	1,38

Fonte: Autora, 2026

Foram preparados 42 tubos, cada um contendo 50 mL de água destilada e o volume correspondente de extrato, de acordo com a concentração avaliada: 3,5 mL para a concentração C1, 5,0 mL para C2 e 7,5 mL para C3. Esse procedimento foi realizado para cada um dos quatro extratos obtidos dos diferentes meios de cultivo, além dos controles utilizados no experimento (Figura 24).

Figura 24 - Tubos contendo água destilada e extratos aquosos preparados para a realização dos bioensaios larvicidas frente a *Aedes aegypti*



Fonte: Autora, 2026

No controle negativo (CN), os tubos continham apenas água destilada, sem a adição de extrato, com o objetivo de verificar a mortalidade natural das larvas durante o período experimental. No controle positivo (CP), foi utilizado o larvicida biológico VectoBac WG (Figura 25), formulado à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (BTI). O larvicida foi doado pela XI Gerência Regional de Saúde de Serra Talhada. A recomendação do fabricante é a utilização de 0,5 g para 100 L de água.

Figura 25 - Larvicida VectoBac WG



Fonte: Autora, 2026

4.8 Cromatografia em Camada Delgada

Foi realizada a análise por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando os extratos de acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) (Figura 27). Na primeira análise, empregou-se o sistema de solvente Hexano:AcOEt (4:1), utilizando como amostras os padrões de extrato bruto rico em THC (tetraidrocannabinol), extrato bruto rico em CBD (canabidiol) e os extratos brutos em AcOEt obtidos dos meios Sabouraud (SAB), Malt Extract (MEA), Milho (MIL) e Batata Dextrose (BDA).

Na segunda análise cromatográfica, foram utilizados os extratos brutos em AcOEt dos meios SAB, MEA, MIL e BDA, empregando-se o sistema de solvente AcOEt:MeOH (3:2). Tanto a primeira quanto a segunda placa foram reveladas com iodo sublimado.

A terceira análise foi realizada utilizando as mesmas amostras e o mesmo sistema eluente da segunda análise, diferindo apenas quanto ao reagente revelador (Figura 26), sendo empregado o ácido acético glacial.

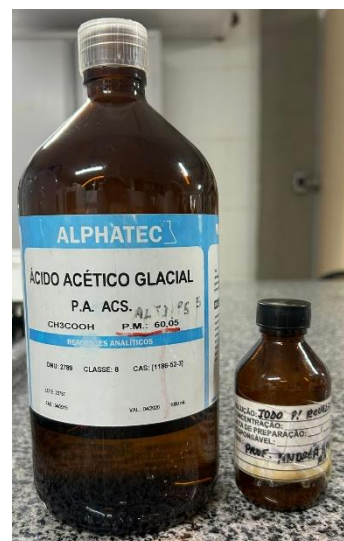
Ao final das análises cromatográficas, foi determinado o fator de retenção (R_f) de cada substância detectada, permitindo a comparação dos perfis cromatográficos e a identificação das substâncias presentes nos diferentes extratos.

Figura 27 - Solventes utilizados na CCD



Fonte: Autora, 2026

Figura 26 – Reveladores utilizados na CCD



Fonte: Autora, 2026

4.9 Análise Estatística

A mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* foi analisada por meio de regressão Probit utilizando o software Posit Cloud, empregando a função `glm()` com distribuição binomial e função de ligação Probit, disponível no pacote MASS. O modelo foi ajustado considerando a mortalidade das larvas em função do logaritmo decimal das concentrações dos extratos brutos, conforme a equação:

$$\text{Probit} = a + b \times \log_{10}(\text{dose})$$

em que a representa o intercepto e b o coeficiente angular da regressão. Foram estimados os coeficientes do modelo, seus respectivos valores de significância (p), bem como as estimativas da concentração letal para 50% (CL_{50}) e 90% (CL_{90}) da população larval. Além da análise

estatística, foram construídas curvas dose–resposta para representar graficamente o comportamento da mortalidade em função das concentrações testadas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Avaliação do Crescimento Micelial em Diferentes Meios de Cultura

Com o objetivo de avaliar a capacidade de desenvolvimento do fungo nos diferentes meios de cultura testados, foi realizada a inoculação de três pontos equidistantes em placas contendo cada um dos meios sólidos avaliados. O crescimento das colônias foi acompanhado a cada 48 horas durante o período experimental, sendo mensurado o diâmetro das colônias para comparação entre os tratamentos. O meio Sabouraud foi utilizado como controle positivo, uma vez que já era conhecido por favorecer o crescimento do microrganismo estudado. Os resultados obtidos encontram-se apresentados nas Tabelas de 9 a 12.

Tabela 9 - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio Sabouraud nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação.

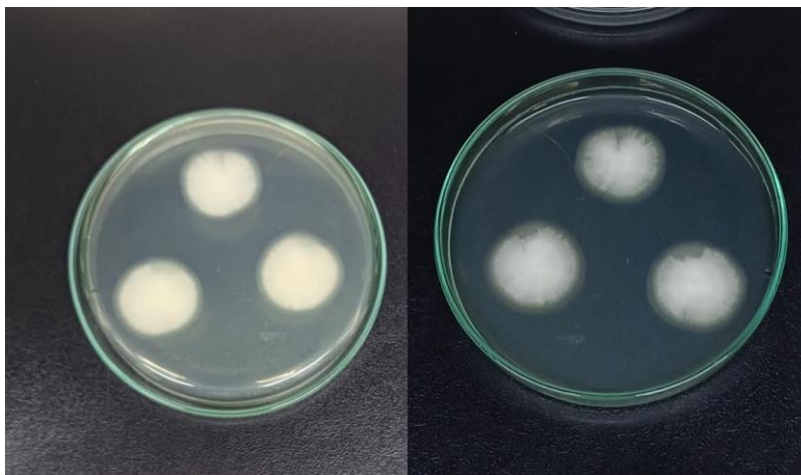
SAB	Colônia 1	Colônia 2	Colônia 3	Média
48h	2,1 x 1,9 cm	2,1 x 2,0 cm	2,0 x 2,0 cm	2,02 cm
96h	2,3 x 2,1 cm	2,3 x 2,3 cm	2,4 x 2,2 cm	2,27 cm
144h	2,2 x 2,1 cm	2,3 x 2,3 cm	2,4 x 2,2 cm	2,25 cm

Fonte: Autora, 2026

O fungo apresentou crescimento satisfatório em meio Sabouraud, atingindo diâmetro médio de 2,02 cm após 48 horas de incubação (Figura 28). O crescimento continuou até 96 horas, quando foi observada média de 2,27 cm (Figura 229), permanecendo praticamente estável até 144 horas com média 2,25 cm (Figura 30) . Esses resultados indicam que o meio Sabouraud forneceu condições adequadas para o desenvolvimento do fungo, sendo possível

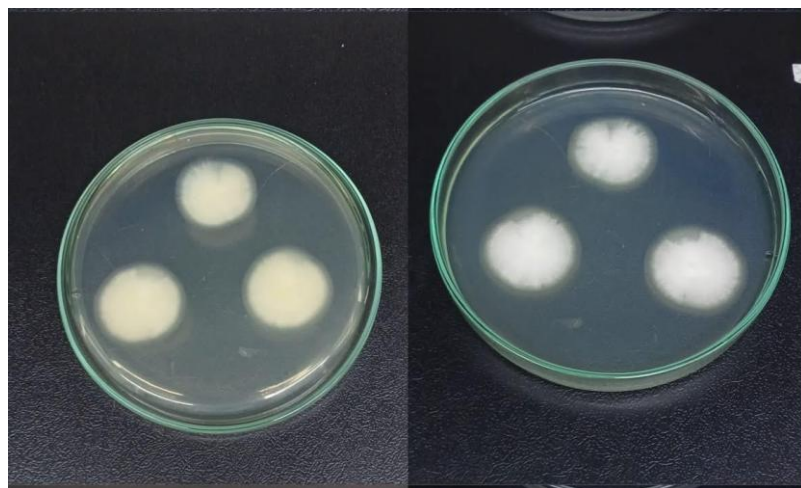
observar que o crescimento micelial ocorreu principalmente nos primeiros dias de incubação, seguido por uma fase de estabilização da colônia.

Figura 28 - Crescimento da colônia em meio Sabouraud em 48h

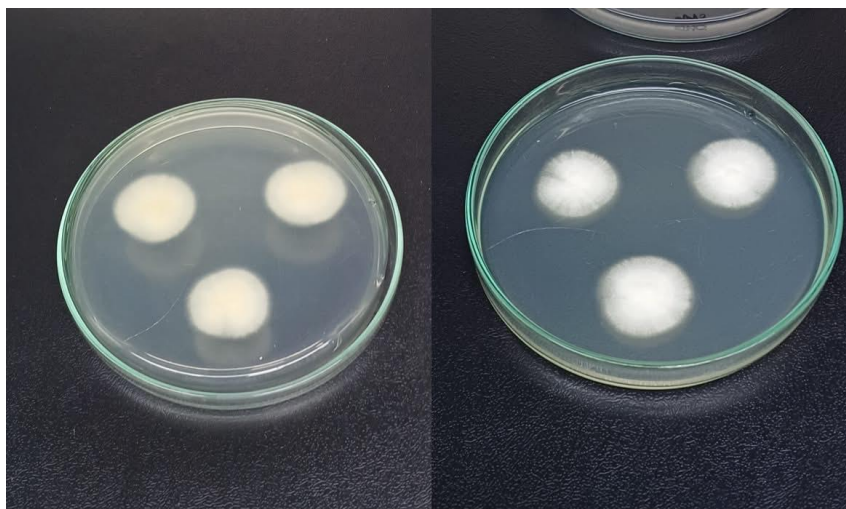


Fonte: Autora, 2026

Figura 29 - Crescimento da colônia em meio Sabouraud em 96h



Fonte: Autora, 2026

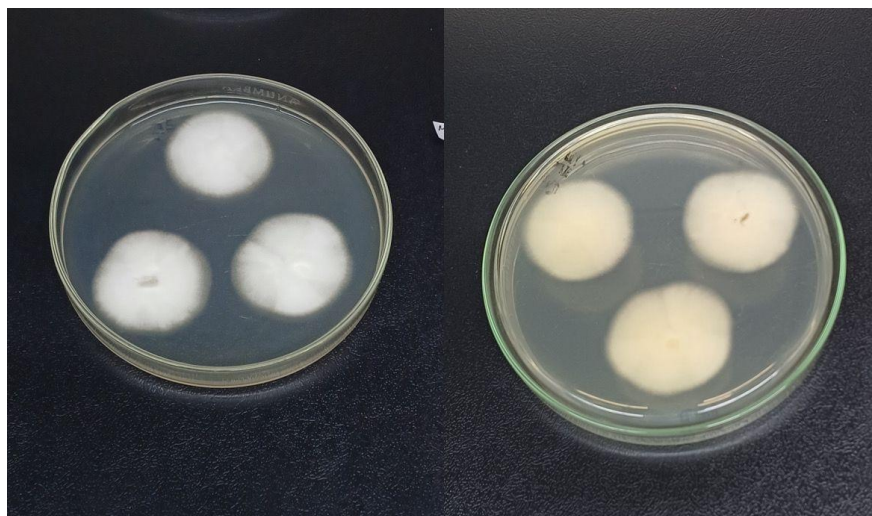
Figura 30 - Crescimento da colônia em meio Sabouraud em 144h**Fonte:** Autora, 2026**Tabela 10** - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio Malt Extract nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação.

MEA	Colônia 1	Colônia 2	Colônia 3	Média
48h	2,8 x 2,8 cm	2,9 x 2,8 cm	3,0 x 2,8 cm	2,85
96h	3,2 x 3,1 cm	3,0 x 3,1 cm	3,2 x 3,2 cm	3,13
144h	3,1 x 3,1 cm	3,2 x 3,1 cm	3,4 x 3,2 cm	3,18

Fonte: Autora, 2026

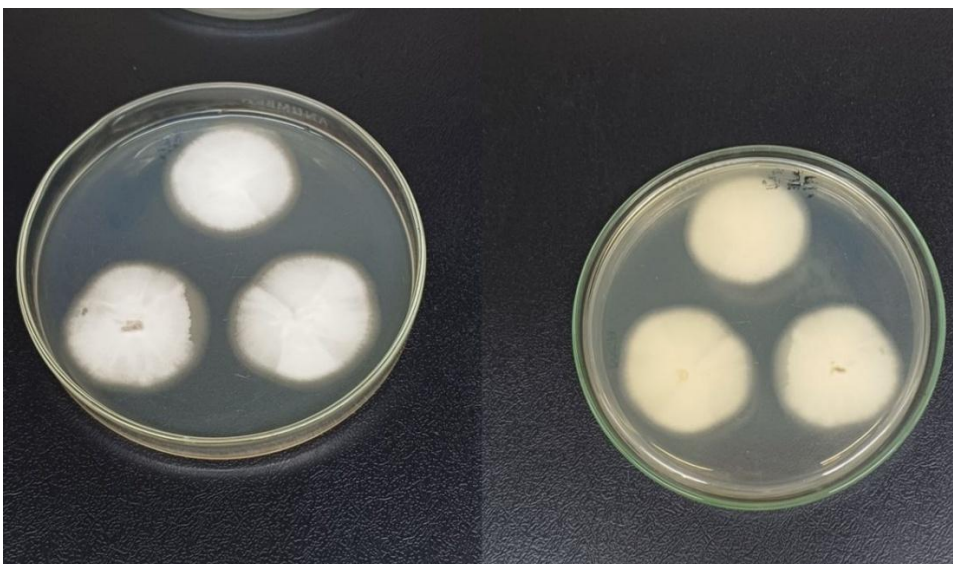
O fungo apresentou crescimento contínuo em meio Malt Extract durante todo o período experimental, passando de uma média de 2,85 cm após 48 horas (Figura 31), 3,13 cm após 96 horas (Figura 32) e por fim 3,18 cm após 144 horas de incubação (Figura 33). Esse resultado indica que o meio forneceu condições nutricionais favoráveis ao desenvolvimento micelial, promovendo crescimento superior ao observado no meio Sabouraud. Além disso, as colônias apresentaram crescimento homogêneo entre as repetições, demonstrando boa adaptação do fungo ao meio de cultivo.

Figura 31 - Crescimento da colônia em meio Malt Extract em 48h

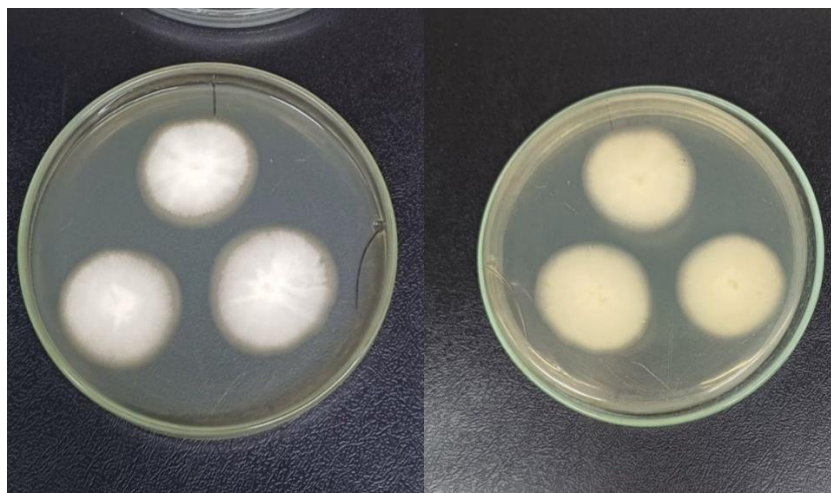


Fonte: Autora, 2026

Figura 32 - Crescimento da colônia em meio Malt Extract em 96h



Fonte: Autora, 2026

Figura 33 - Crescimento da colônia em meio Malt Extract em 144h

Fonte: Aurora, 2026

Tabela 11 - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio de Milho nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação

MIL	Colônia 1	Colônia 2	Colônia 3	Média
48h	1,6 x 1,5 cm	1,8 x 1,4 cm	1,2 x 1,4 cm	1,48
96h	2,6 x 2,7 cm	2,9 x 2,9 cm	2,6 x 2,9 cm	2,77
144h	2,7 x 2,7 cm	3,5 x 3,3 cm	2,8 x 2,5 cm	2,92

Fonte: Autora, 2026

O fungo apresentou crescimento progressivo em meio de milho durante todo o período experimental, passando de uma média de 1,48 cm após 48 horas (Figura 34) para 2,92 cm ao final de 144 horas (Figura 36) de incubação. Quando comparado ao meio Sabouraud, observou-se menor crescimento nas primeiras 48 horas. Entretanto, a partir de 96 horas (Figura 35), o meio de milho proporcionou maior desenvolvimento micelial, atingindo média superior à observada no meio controle ao final do experimento. Esses resultados indicam que o meio de milho favoreceu o crescimento do fungo após um período inicial de adaptação.

Figura 34 - Crescimento das colônias no meio de Milho em 48h



Fonte: Autora, 2026

Figura 35 - Crescimento das colônias no meio de Milho em 96h



Fonte: Autora, 2026

Figura 36 - Crescimento das colônias no meio de Milho em 144h



Fonte: Autora, 2026

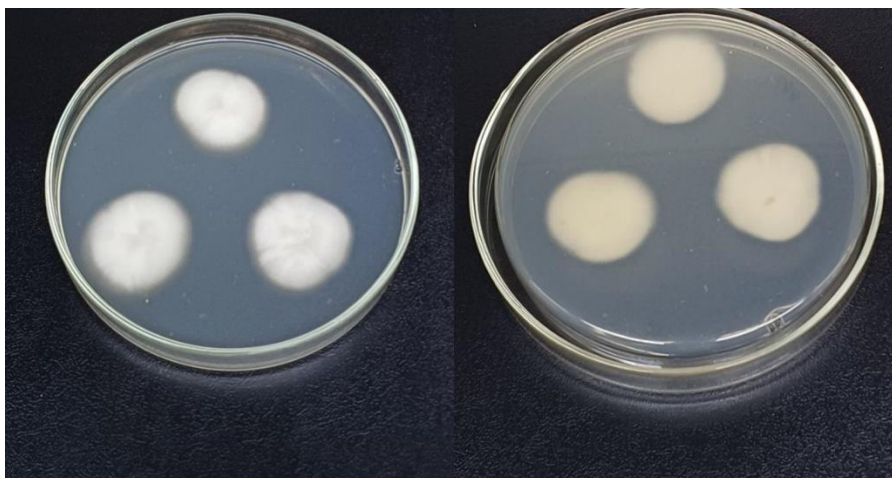
Tabela 12 - Medidas de crescimento das colônias fúngicas em meio Batata Dextrose nos tempos de 48, 96 e 144 horas de incubação.

BDA	Colônia 1	Colônia 2	Colônia 3	Média
48h	2,6 x 2,6 cm	2,4 x 2,5 cm	2,5 x 2,3 cm	2,48
96h	2,7 x 2,8 cm	2,6 x 2,7 cm	2,7 x 2,9 cm	2,73
144h	2,6 x 2,8 cm	2,6 x 2,7 cm	2,7 x 2,5 cm	2,65

Fonte: Autora, 2026

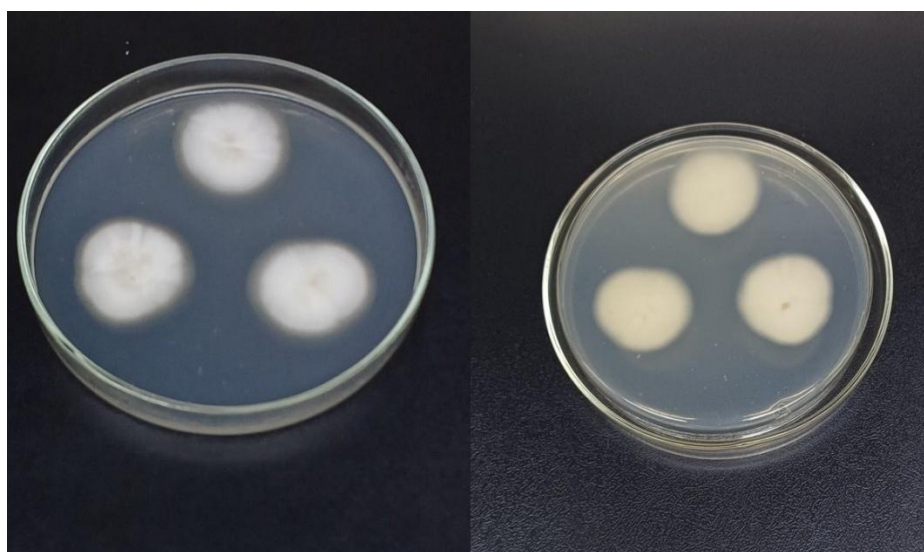
O fungo apresentou crescimento satisfatório em meio BDA, atingindo diâmetro médio de 2,48 cm após 48 horas de incubação (Figura 37). O crescimento aumentou até 96 horas com média de 2,73 cm (Figura 38), permanecendo praticamente estável até 144 horas com média de 2,65 cm (Figura 39). Quando comparado ao meio Sabouraud, o BDA proporcionou maior crescimento micelial em todos os períodos avaliados, indicando que sua composição nutricional favoreceu o desenvolvimento do fungo nas condições experimentais empregadas.

Figura 37 - Crescimento das colônias no meio Batata Dextrose em 48h



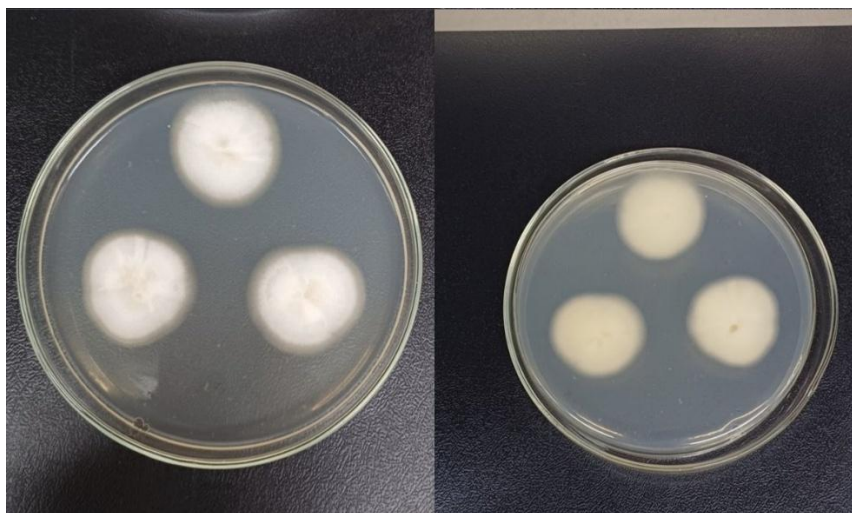
Fonte: Autora, 2026

Figura 38 - Crescimento das colônias no meio Batata Dextrose em 96h



Fonte: Autora, 2026

Figura 39 - Crescimento das colônias no meio Batata Dextrose em 144h



Fonte: Autora, 2026

De modo geral, observou-se que todos os meios de cultura foram capazes de sustentar o crescimento do fungo, porém com desempenhos distintos. O meio Malt Extract apresentou o maior crescimento micelial ao final do experimento, atingindo média de 3,18 cm após 144 horas de incubação, indicando que sua composição nutricional favoreceu o desenvolvimento do microrganismo. O meio de milho também apresentou resultados expressivos, alcançando média final de 2,92 cm e superando o meio Sabouraud após 96 horas de cultivo. O meio BDA proporcionou crescimento intermediário, com média final de 2,65 cm, enquanto o meio Sabouraud, utilizado como controle, apresentou o menor crescimento entre os meios avaliados, com média de 2,25 cm ao final do experimento. Esses resultados sugerem que a composição nutricional de cada meio influencia diretamente o desenvolvimento micelial do fungo, sendo o meio Malt Extract o mais promissor nas condições experimentais empregadas.

5.2 Rendimento dos Líquidos Fermentados Após a Liofilização

Após a liofilização dos líquidos fermentados (LF) produzidos em cada meio de cultivo, foi obtido material sólido correspondente aos metabólitos e demais componentes presentes no sobrenadante fermentado. Observou-se variação no rendimento entre os meios avaliados. Ao final do processo, foram obtidos oito tubos Falcon contendo o material proveniente do meio Sabouraud (SAB), seis tubos do meio Malt Extract Agar (MEA), cinco tubos do meio de milho

(MIL) e cinco tubos do meio Batata Dextrose Ágar (BDA). Os valores de rendimento para cada meio encontram-se apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 -Massa do liofilizado e rendimento obtidos após a liofilização dos líquidos fermentados produzidos nos diferentes meios de cultivo.

<i>AMOSTRAS</i>	<i>MASSA (LF) g</i>	<i>RENDIMENTO (%)</i>
<i>SAB</i>	2,25	5,10
<i>MEA</i>	2,38	4,47
<i>MIL</i>	2,51	5,02
<i>BDA</i>	3,44	6,88

Fonte: Autora, 2026

O meio BDA apresentou o maior rendimento de liofilizado (6,88%), seguido pelos meios SAB (5,10%), MIL (5,02%) e MEA (4,47%). Essas diferenças podem estar relacionadas à composição nutricional de cada meio de cultivo, que influencia o crescimento fúngico e a produção de metabólitos durante a fermentação. Segundo Bernardi (2008), a composição química do meio pode influenciar diretamente tanto a quantidade quanto o perfil dos metabólitos excretados pelo microrganismo. Nesse contexto, o fato de o meio BDA utilizado neste estudo ter sido preparado a partir de infusão de batata pode ter contribuído para o maior rendimento de massa liofilizada observado. Entretanto, não é possível afirmar que essa característica tenha sido a única responsável pelo resultado, sendo necessários estudos adicionais para confirmar essa hipótese.

5.3 Análise dos Metabólitos Secundários dos Extratos de Acetato de Etila (AcOEt) e Metanólico (MeOH) Obtidos do Líquido Fermentado do Fungo Verde

Na análise cromatográfica da placa 01 (Figura 40), revelada com iodo sublimado, foi possível identificar, por comparação com os padrões dos extratos brutos de THC e CBD, a presença das substâncias SB5 ($R_f = 0,59$) e SB6 ($R_f = 0,66$) nos extratos brutos liofilizados dos líquidos fermentados do fungo verde (FV) cultivado nos meios MEA, MIL e BDA.

Figura 40 – Placa Cromatográfica 01 revelada em iodo sublimado



Fonte: Autora, 2026

Na análise da placa 02 (Figura 41), também revelada com iodo sublimado, foram identificadas duas substâncias, SB1 ($R_f = 0,16$) e SB3 ($R_f = 0,34$). Dentre elas, a SB1 foi detectada em todos os extratos brutos analisados.

Figura 41 - Placa Cromatográfica 02 revelada com iodo sublimado



Fonte: Autora, 2026

Na análise da placa 03 (Figura 42), revelada com ácido acético glacial, foram observadas três substâncias: SB2 ($R_f = 0,31$), SB4 ($R_f = 0,56$) e SB7 ($R_f = 0,90$). A substância SB2 foi identificada nos extratos brutos obtidos dos meios SAB, MEA e MIL.

Figura 42 - Placa cromatográfica 03 revelada com ácido acético glacial



Fonte: Autora, 2026

De modo geral, os extratos brutos provenientes dos diferentes meios de fermentação apresentaram elevada diversidade de substâncias (Figura 43), conforme apresentado na Tabela 14. Ao todo, foram identificadas sete substâncias excretadas pelo fungo FV, cujas distribuições nos diferentes meios de cultivo encontram-se descritas na Tabela 15. Ressalta-se, entretanto, que a cromatografia em camada delgada (CCD) foi empregada como uma técnica de triagem cromatográfica, permitindo a comparação preliminar dos perfis químicos dos extratos com os padrões de referência utilizados. Dessa forma, a identificação das substâncias baseou-se na compatibilidade dos valores de fator de retenção (R_f) e no comportamento cromatográfico observado, não sendo suficiente para confirmar a identidade estrutural dos metabólitos detectados. A confirmação química dessas substâncias requer análises complementares, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e espectrometria de massas (MS), que possibilitam maior resolução analítica e a caracterização estrutural dos compostos produzidos pelo fungo.

Figura 43 - Extratos brutos utilizados na CCD

Fonte: Autora, 2025

Tabela 14 - Perfil das substâncias excretadas pelo fungo FV nos diferentes meios de fermentação, identificadas por cromatografia em camada delgada (CCD)

AMOSTRAS	RF's			
<i>EB THC</i>	0,59			
<i>EB CBD</i>	0,59		0,56	
<i>SAB</i>	0,16	0,31	0,34	0,59
<i>MEA</i>	0,16	0,31	0,66	0,90
<i>MIL</i>	0,16	0,31	0,59	0,66
<i>BDA</i>	0,16	0,56	0,59	0,90

Fonte: Autora, 2026

Tabela 15 - Substâncias identificadas nos extratos brutos liofilizados do fungo FV e seus respectivos fatores de retenção (Rf) obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD).

SUBSTÂNCIA	RF
<i>SB1</i>	0,16
<i>SB2</i>	0,31

<i>SB3</i>	0,34
<i>SB4</i>	0,56
<i>SB5</i>	0,59
<i>SB6</i>	0,66
<i>SB7</i>	0,90

Fonte: Autora, 2026

5.4 Análise dos Resultados da Atividade Tóxica dos Extratos Brutos do Fungo Verde Frente *Aedes aegypti*.

A avaliação da toxicidade foi realizada utilizando três concentrações para cada extrato bruto, conforme apresentado na Tabela 8. Comparando os resultados obtidos, observou-se que, na concentração C1 (0,49 mg/mL), comum aos meios Sabouraud (SAB) e Malt Extract (MEA), o extrato bruto obtido no meio MEA apresentou maior mortalidade larval em relação ao extrato obtido no meio SAB (Tabela 16).

Tabela 16 - Avaliação da Atividade Tóxica dos Extratos Brutos do FV (Quantidade de Larvas Vivas ao Final do Experimento)

AMOSTRA	C ₁	C ₂	C ₃
<i>CN</i>	15	15	15
<i>CP</i>	0	0	0
<i>SAB</i>	12	12	13
<i>MEA</i>	10	13	14
<i>MIL</i>	15	12	12
<i>BDA</i>	15	15	15

Fonte: Autora, 2026

A análise Probit foi realizada para os extratos brutos obtidos nos meios SAB, MEA, MIL e BDA com o objetivo de avaliar a relação entre a concentração dos extratos e a mortalidade das larvas de *Aedes aegypti*, os resultados obtidos estão representados na tabela 17.

Tabela 17 - Equações da regressão Probit e valores de significância (p) obtidos para os extratos brutos produzidos nos meios Sabouraud (SAB), Malt Extract (MEA), Milho (MIL) e Batata Dextrose (BDA) frente a larvas de *Aedes aegypti*.

AMOSTRAS	EQUAÇÃO PROBIT	P
<i>SAB</i>	Probit = -1,0483 – 0,8042 $\log_{10}(\text{dose})$	0,6226
<i>MEA</i>	Probit = -1,5166 – 3,3661 $\log_{10}(\text{dose})$	0,0672
<i>MIL</i>	Probit = -0,8226 + 3,1664 $\log_{10}(\text{dose})$	0,1029
<i>BDA</i>	-	-

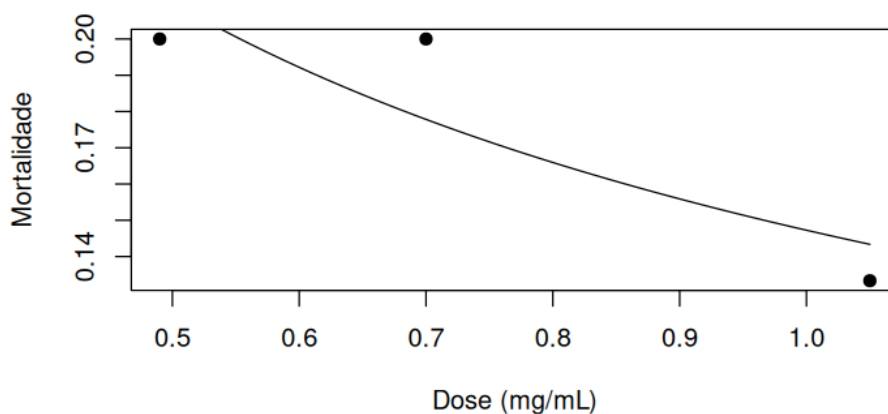
Fonte: Autora, 2026

O modelo ajustado para o extrato obtido no meio SAB resultou na equação:

$$\text{Probit} = -1,0483 - 0,8042 \times \log_{10}(\text{dose})$$

O coeficiente angular apresentou inclinação negativa, indicando tendência de redução da mortalidade com o aumento da concentração. Entretanto, não foi observada associação estatisticamente significativa entre a concentração do extrato e a mortalidade das larvas ($p = 0,6226$) (Figura 44).

Figura 44- Curva Probit ajustada para a mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas ao extrato bruto obtido no meio Sabouraud (SAB).



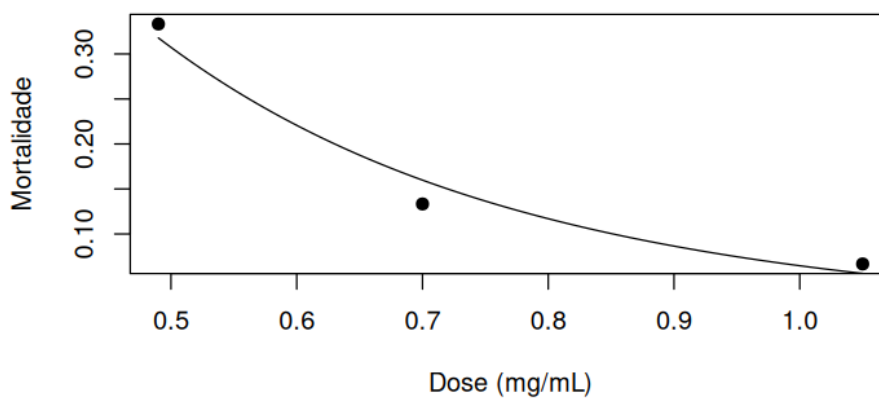
Fonte: Autora, 2026

Para o extrato obtido no meio MEA, o modelo ajustado foi representado pela equação:

$$\text{Probit} = -1,5166 - 3,3661 \times \log_{10}(\text{dose})$$

Assim como observado para o meio SAB, a regressão apresentou inclinação negativa, indicando diminuição da mortalidade com o aumento da concentração. Embora o coeficiente angular tenha apresentado maior magnitude, a relação entre concentração e mortalidade também não foi estatisticamente significativa ($p = 0,0672$), evidenciando apenas uma tendência de associação (Figura 45).

Figura 45 - Curva Probit ajustada para a mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas ao extrato bruto obtido no meio Malt Extract (MEA)

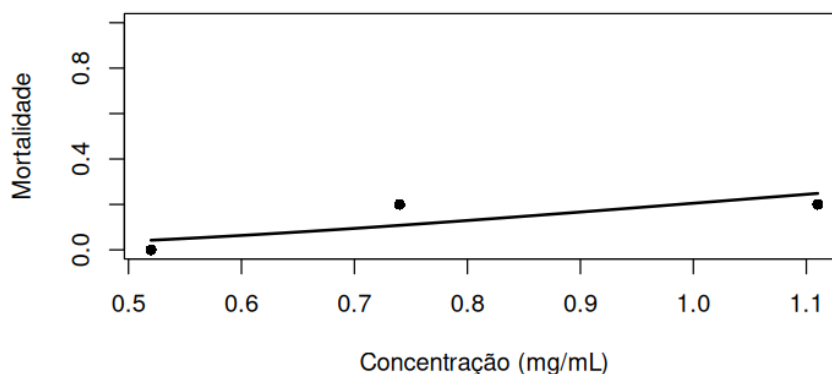


Fonte: Autora, 2026

Para o extrato obtido no meio de milho (MIL), o modelo foi descrito pela equação:

$$\text{Probit} = -0,8226 + 3,1664 \times \log_{10}(\text{dose})$$

Diferentemente dos meios SAB e MEA, o extrato do meio MIL apresentou inclinação positiva, indicando tendência de aumento da mortalidade com o incremento da concentração. No entanto, a associação entre concentração e mortalidade também não foi estatisticamente significativa ($p = 0,1029$) (Figura 46).

Figura 46 - Curva Probit ajustada para o extrato MIL

Fonte: Autora, 2026

O extrato bruto obtido a partir do meio Batata Dextrose (BDA) não apresentou atividade larvícida frente às larvas de *Aedes aegypti*. Em todas as concentrações avaliadas (C1, C2 e C3), não foi observada mortalidade das larvas durante o período experimental, permanecendo todos os indivíduos vivos ao final do bioensaio. Em razão da ausência de mortalidade, não foi possível ajustar o modelo de regressão Probit, uma vez que esse modelo estatístico requer variação na resposta biológica para estimar a relação entre a concentração do extrato e a mortalidade, bem como calcular os valores de CL_{50} e CL_{90} .

De modo geral, observou-se que apenas o extrato obtido no meio MIL apresentou comportamento compatível com uma resposta dose-dependente, embora sem significância estatística. Os extratos produzidos nos meios SAB e MEA apresentaram comportamento inverso ao esperado para bioensaios toxicológicos, com redução da mortalidade nas maiores concentrações avaliadas. Já o extrato obtido no meio BDA não promoveu mortalidade larval em nenhuma das concentrações testadas, impossibilitando o ajuste do modelo Probit e a avaliação da relação dose-resposta para esse tratamento.

Esses resultados devem ser interpretados com cautela, uma vez que os extratos avaliados correspondem a extratos brutos, constituídos por uma mistura complexa de metabólitos produzidos pelo fungo durante a fermentação. Dessa forma, a atividade biológica observada pode resultar de interações sinérgicas, aditivas ou antagonistas entre diferentes compostos presentes no extrato. Assim, a ausência de toxicidade detectável, como observado para o extrato

obtido no meio BDA, não invalida o potencial biotecnológico da amostra, podendo indicar que os compostos bioativos estejam presentes em baixas concentrações, que necessitem de isolamento para expressar sua atividade ou que atuem sobre outros alvos biológicos não avaliados neste estudo. Além disso, o número reduzido de concentrações testadas limita a detecção de uma relação dose–resposta consistente, reforçando a necessidade de estudos complementares com maior número de concentrações, ampliação das repetições experimentais e fracionamento dos extratos para identificação dos compostos responsáveis pela atividade larvívica observada.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que todos os meios de cultura avaliados foram capazes de sustentar o crescimento do fungo, evidenciando diferenças no desenvolvimento micelial e no rendimento da massa liofilizada. O meio Malt Extract (MEA) proporcionou o maior crescimento micelial durante o período experimental, indicando condições favoráveis ao desenvolvimento do microrganismo. Entretanto, esse maior crescimento não resultou no maior rendimento de massa liofilizada. O meio Batata Dextrose (BDA) apresentou o maior rendimento, seguido pelos meios Sabouraud (SAB) e milho (MIL), enquanto o MEA apresentou o menor rendimento entre os tratamentos. Esses resultados sugerem que o crescimento micelial e a produção de metabólitos não estão necessariamente relacionados de forma direta, sendo influenciados pela composição nutricional de cada meio de cultivo.

A análise por cromatografia em camada delgada permitiu observar substâncias com valores de fator de retenção (R_f) compatíveis com os padrões de THC e CBD, sugerindo que o fungo verde excreta compostos com comportamento cromatográfico semelhante aos principais fitocanabinoides produzidos por *Cannabis sativa* L. As substâncias SB5 e SB6 apresentaram valores de R_f correspondentes aos padrões utilizados. A substância SB5 foi detectada em todos os meios de cultura avaliados, enquanto a SB6 foi observada apenas nos meios MEA e MIL. Dentre os meios testados, o meio de milho (MIL) foi o único que apresentou simultaneamente as substâncias SB5 e SB6, destacando-se como o meio mais promissor para a produção desses compostos em processos fermentativos.

Por fim, no bioensaio frente às larvas de *Aedes aegypti*, observou-se que os extratos obtidos nos meios Malt Extract (MEA) e Milho (MIL) apresentaram as maiores taxas de mortalidade

larval entre os meios avaliados. Em contrapartida, o extrato obtido no meio Sabouraud (SAB) apresentou menor atividade larvicida, enquanto o extrato proveniente do meio Batata Dextrose (BDA) não promoveu mortalidade em nenhuma das concentrações testadas. Comparando esses resultados com o perfil cromatográfico, verificou-se que os extratos dos meios MEA e MIL apresentaram em comum a presença da substância SB6, ausente nos extratos obtidos dos meios SAB e BDA. Além disso, a SB6 apresentou fator de retenção (Rf) compatível com o padrão de canabidiol (CBD), sugerindo que a maior atividade larvicida observada nesses extratos possa estar relacionada à presença dessa substância, isoladamente ou em associação com outros metabólitos produzidos pelo fungo. Entretanto, essa hipótese ainda necessita de confirmação por meio de análises estruturais e ensaios biológicos complementares.

A análise Probit dos extratos obtidos nos meios Sabouraud (SAB), Malt Extract (MEA) e Milho (MIL) não demonstrou relação estatisticamente significativa entre a concentração dos extratos e a mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* ($p > 0,05$). Os extratos dos meios SAB e MEA apresentaram inclinação negativa nas curvas dose-resposta, indicando comportamento inverso ao esperado para bioensaios toxicológicos, enquanto o extrato do meio MIL apresentou inclinação positiva, sugerindo tendência de aumento da mortalidade com o incremento da concentração, embora sem significância estatística. Para o extrato obtido no meio BDA, a análise Probit não pôde ser realizada, uma vez que não foi observada mortalidade larval em nenhuma das concentrações avaliadas, impossibilitando o ajuste do modelo estatístico e a estimativa dos valores de CL_{50} e CL_{90} .

De modo geral, esses resultados sugerem que a atividade larvicida observada está mais relacionada ao perfil qualitativo dos metabólitos produzidos pelo fungo do que à quantidade de biomassa ou de extrato obtido em cada meio de cultivo. Considerando que os meios MEA e MIL, responsáveis pelas maiores mortalidades, foram os únicos a apresentar a substância SB6, cujo fator de retenção foi compatível com o padrão de CBD, essa substância surge como uma potencial candidata à atividade larvicida observada. Contudo, são necessários estudos adicionais envolvendo um maior número de concentrações, maior número de repetições experimentais, isolamento e identificação estrutural da SB6, além de novos bioensaios, para confirmar sua participação na atividade biológica observada.

REFERÊNCIAS

- ABREU, Jéssica Aline Soares de; ROVIDA, Amanda Flávia da Silva; PAMPHILE, João Alencar. *Fungos de interesse: aplicações biotecnológicas*. Revista UNINGÁ Review, Maringá, v. 21, n. 1, p. 55–59, jan./mar. 2015. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20150101_115351.pdf. Acesso em 12 maio 2026.
- ALMEIDA, Mara Zélia de. *Plantas medicinais*. 3. ed. Salvador: EDUFBA, 2011. 224 p. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/xf7vy/pdf/almeida-9788523212162.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2026
- ANDRE, Christelle M.; HAUSMAN, Jean-Francois; GUERRIERO, Gea. Cannabis sativa: the plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 7, art. 19, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.00019. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4740396/#sec21>. Acesso em: 10 abr. 2026
- ASHCAR, Hassib. Nova técnica de montagem de colônias permanentes de fungos em placas de Petri. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 31, n. 1-2, p. 43–46, 1971. DOI: 10.53393/rial.1971.31.37005. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/year/ses-32177/ses-32177-6002.pdf>. Acesso em: 27 jun. 2026
- AZEVEDO, Humberto Caiado. *Cultivo de Cannabis sativa Cannabaceae (Linnaeus, 1753): métodos agronômicos para a produção sustentável no Brasil*. 2025. 66 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Cidade de Goiás, Goiás, 2025. Disponível em: https://repositorio.ifg.edu.br/bitstream/prefix/2388/1/TCC_Humberto%20Caiado%20Azevedo%20.pdf. Acesso em: 31 mar. 2026
- BERNARDI, E. et al. Diferentes meios de cultivo e condições de luz no crescimento e massa miceliana de *Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 375–378, jul./set. 2008. DOI: 10.1590/1808-1657v75p3752008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/sHNy7nFhPqycv9DQ5kJgf8z/?lang=pt#>. Acesso em: 29 jun. 2026
- BORILLE, Bruna Tassi. *Caracterização química da planta Cannabis sativa L. a partir de sementes apreendidas pela Polícia Federal no estado do Rio Grande do Sul*. 2016. Tese

(Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/159507/001023496.pdf?s>. Acesso em: 10 abr. 2026

BUIRS, Liam; PUNJA, Zamir K. *Endophytes in Cannabis sativa: Identifying and Characterizing Microbes with Beneficial and Detrimental Effects on Plant Health*. *Plants*, Basel, v. 14, n. 8, art. 1247, 2025. DOI: 10.3390/plants14081247. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/14/8/1247>. Acesso em: 20 abr. 2026

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 17, de 6 de maio de 2015*. Define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de canabidiol em associação com outros canabinoides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. *Diário Oficial da União: seção I*, Brasília, DF, 8 maio 2015. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0017_06_05_2015.pdf. Acesso em 30 mar. 2026

BRASIL. Ministério da Saúde. *Dengue*. Brasília, DF: Ministério da Saúde, [s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue>. Acesso em: 1 jul. 2026

BRASIL. Ministério da Saúde. *Ministério da Saúde alerta estados e municípios sobre possível aumento de arboviroses no país devido ao El Niño*. Brasília, DF, 8 jul. 2026. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias-ms/2026/julho/ministerio-da-saude-alerta-estados-e-municipios-sobre-possivel-aumento-de-arboviroses-no-pais-devido-ao-el-nino>. Acesso em: 22 jul. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Painel de Monitoramento das Arboviroses*. Brasília, DF: Ministério da Saúde, [2026]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses>. Acesso em: 22 jul. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos*. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2016. 192 p. ISBN 978-85-334-2399-2.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS*. Brasília, DF: Ministério da Saúde, [s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/plantas-medicinais-e-fitoterapicos/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus>. Acesso em 8 mar. 2026

BRASIL. Ministério da Saúde. *Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS: atitude de ampliação de acesso*. 2. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_praticas_integrativas_complementares_2ed.pdf. Acesso em 17 mar. 2026

BRANDELLI, Clara Lia Costa. Plantas medicinais: histórico e conceitos. In: MONTEIRO, Siomara da Cruz; BRANDELLI, Clara Lia Costa (org.). *Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicação*. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 1. Disponível em: https://www.bibliotecaagptea.org.br/agricultura/plantas_medicinais/artigos/PLANTAS%20MEDICINAIS%20HISTORICO%20E%20CONCEITOS.pdf#page=13.25. Acesso em: 1 ago. 2025.

BRANT, Antonio Jedson Caldeira. *Flavonóides, cumarinas e benzofuranos como marcadores quimiotaxonômicos em Asteraceae*. 2003. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003. DOI: 10.11606/D.46.2003.tde-02102008-085120. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46135/tde-02102008-085120/publico/AntonioJCBrant_Mestrado.pdf. Acesso em: 8 abr. 2026

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*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 35 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 154). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/951754/1/FungosEndofiticos.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2026.

CANHOS, Vanderlei Perez; MANFIO, Gilson Paulo. *Recursos microbiológicos para biotecnologia*. Campinas: RedeTec, 2010.

CASTRO, Marta Rocha. *A contribuição do uso de plantas medicinais na autonomia dos cuidados com a saúde*. *Asklepion: Informação em Saúde*, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 160–

171, 2022. Disponível em:

<https://revistaasklepion.emnuvens.com.br/asklepion/article/view/46/78>. Acesso em: 17 mar. 2026

COSTA NETTO, Eduardo Silva da. A criminalização da maconha no Brasil: raízes históricas e consequências sociais. In: *ENCONTRO INTERNACIONAL HISTÓRIA & PARCERIAS*, 2019, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: ANPUH-RJ, 2019. Disponível em:

https://www.historiaeparcerias2019.rj.anpuh.org/resources/anais/11/hep2019/1569004900_A_RQUIVO_d49fd9fe36f977ed192dd76698e7dff1.pdf. Acesso em 20 mar. 2026

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA (CFM). *Resolução CFM nº 2.113, de 30 de outubro de 2014*. Aprova o uso compassivo do canabidiol para o tratamento de epilepsias da criança e do adolescente refratárias aos tratamentos convencionais. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 16 dez. 2014. Disponível em:

https://sistemas.cfm.org.br/normas/arquivos/resolucoes/BR/2014/2113_2014.pdf. Acesso em 30 mar. 2026

CHHABRA, Sumeet; TAKSANDE, Avinash B.; MUNJEWAR, Pratiksha. *The Penicillin Pioneer: Alexander Fleming's Journey to a Medical Breakthrough*. *Cureus*, v. 16, n. 7, e65179, 2024. DOI: 10.7759/cureus.65179. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11339718/>. Acesso em: 20 abr. 2026

DIAS, José Manuel Cabral de Sousa et al. *Cannabis sativa: uso, regulamentação nos países e perspectivas para cultivo e pesquisa no Brasil*. Brasília, DF: Embrapa, 2025. 43 p. (Documentos / Assessoria de Estratégia, 3). e-ISSN 2966-1471. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1178471/1/Cannabis-sativa-uso.pdf#page=20.42>. Acesso em 30 mar. 2026

ESPÍRITO SANTO. Secretaria da Saúde. *Biologia do vetor da dengue*. Vitória: Secretaria da Saúde do Estado do Espírito Santo, [s.d.]. Disponível em:

https://mosquito.saude.es.gov.br/Media/dengue/Arquivos/biologia_do_vetor.pdf. Acesso em: 1 jul. 2026

FERRARA, M. A. Fungos endofíticos: potencial para a produção de substâncias bioativas. *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 73-79, jun./set. 2006. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/entities/publication/192b1cac-2525-4a0f-b594-ab1e84eede6f>. Acesso em: 9 set. 2025.

FERREIRA, Vitor Francisco; PINTO, Angelo da Cunha. A fitoterapia no mundo atual. *Química Nova*, São Paulo, v. 33, n. 9, p. 1829, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/m8sNfLg4s7GPmtXfrsQWKMy/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 14 mar. 2026.

FIGUEREDO, Climério Avelino de; GURGEL, Idê Gomes Dantas; GURGEL JUNIOR, Garibaldi Dantas. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 381-400, 2014. DOI: 10.1590/S0103-73312014000200004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/physis/a/fzMtXMF6QwLVHLk8nzxdFdM/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 17 mar. 2026

GADELHA, Claudia Sarmiento et al. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Mossoró, v. 8, n. 5 (Edição Especial), p. 208-212, dez. 2013. ISSN 1981-8203.

GURGEL-GONÇALVES, Rodrigo; OLIVEIRA, Wanderson Kleber de; CRODA, Júlio. A maior epidemia de dengue no Brasil: vigilância, prevenção e controle. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 57, e00203-2024, 2024. DOI: 10.1590/0037-8682-0113-2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11415067/>. Acesso em: 22 jul. 2026.

HOURLFANE, Sohaib et al. *A comprehensive review on Cannabis sativa ethnobotany, phytochemistry, molecular docking and biological activities*. *Plants*, Basel, v. 12, n. 6, art. 1245, 2023. DOI: 10.3390/plants12061245. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10058143/#B42-plants-12-01245>. Acesso em 8 abr. 2026

INSTITUTO BUTANTAN. *Aedes aegypti: dengue*. São Paulo: Instituto Butantan, 2024. Disponível em: <https://parquedaciencia.butantan.gov.br/assets/arquivos/Livreto%20Aedes%20Aegypti%20-%20Dengue.pdf#page=7.08>. Acesso em: 1 jul. 2026

KUSARI, Parijat et al. *Endophytic fungi harbored in Cannabis sativa L.: diversity and potential as biocontrol agents against host plant-specific phytopathogens*. *Fungal Diversity*, Dordrecht, v. 60, p. 137–151, 2013. DOI: 10.1007/s13225-012-0216-3.

LANARO, Rafael. Determinação de paraquat e glifosato em amostras de *Cannabis sativa* encaminhadas para exame pericial. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001716946>. Acesso em: 31 mar. 2026

LOPES, Maria Gabriela Moita; LOPES, Licurgo Teixeira. Revisão bibliográfica histórico-social da *Cannabis* no Brasil. *Revista Interfaces*, Suzano, ano 16, n. 12, jul. 2024. ISSN 2965-9825.

MONTERO, Lidia et al. Hemp seeds: nutritional value, associated bioactivities and the potential food applications in the Colombian context. *Frontiers in Nutrition*, v. 9, 2023. DOI: 10.3389/fnut.2022.1039180. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9875026/>. Acesso em: 29 jun. 2026

MORAES, Aurea Maria Lage de; PAES, Rodrigo de Almeida; HOLANDA, Verônica Leite de. Micologia. In: MOLINARO, Etelcia Moraes et al. *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde*. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Fundação Oswaldo Cruz, 2012. v. 4. Disponível em: <https://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/cap4.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2026

NESPOLI, Grasielle et al. (org.). *Educação popular e plantas medicinais na atenção básica à saúde*. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV/Fiocruz), 2021. Disponível em: https://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/educacaopopularplantasmedicinaisatencaobasicasaude_2023.pdf. Acesso em: 16 mar. 2026

NOBRE, Josemilson de Oliveira; CADORIN, Eufrásia. Uso de plantas medicinais da Amazônia e fitoterapia no estado do Acre: práticas integrativas e complementares no SUS. *Revista FT*, São Paulo, v. 28, ed. 133, abr. 2024. DOI: 10.5281/zenodo.11100274. Disponível em: <https://revistaft.com.br/uso-plantas-medicinais-da-amazonia-e-fitoterapia-no-estado-acre-praticas-integrativas-e-complementares-no-sus/>. Acesso em: 17 mar. 2026

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). *Medicinas tradicionais, complementares e integrativas*. Brasília, DF: OPAS, [s.d.]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/medicinas-tradicionais-complementares-e-integrativas>. Acesso em: 16 mar. 2026

PETRINI, Orlando. O *Fungal endophytes of tree leaves*. In: ANDREWS, J.; HIRANO, S. S. (ed.). *Microbial ecology of leaves*. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 179-197.

POLANCZYK, Ricardo Antonio; GARCIA, Marcelo de Oliveira; ALVES, Sérgio Batista. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 37, n. 6, p. 813–816, 2003. DOI: 10.1590/S0034-89102003000600020.

POLLIO, Antonino. The name of *Cannabis*: a short guide for nonbotanists. *Cannabis and Cannabinoid Research*, New Rochelle, v. 1, n. 1, p. 234–238, 2016. DOI: 10.1089/can.2016.0027. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5531363/>. Acesso em: 31 mar. 2026

RIBEIRO, José António. *A Cannabis e suas aplicações terapêuticas*. 2014. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/entities/publication/192b1cac-2525-4a0f-b594-ab1e84eede6f>. Acesso em: 9 set. 2025.

RODRIGUES, Vanda Gorete Souza. *Cultivo, uso e manipulação de plantas medicinais*. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2004. 30 p. (Embrapa Rondônia. Documentos, 91). ISSN 0103-9865.

RUPPELT, Bettina Monika. Plantas medicinais nativas brasileiras: por que conservar e preservar? *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 154-155, 2022. DOI: 10.32712/2446-4775.2022.1482. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1482/1093>. Acesso em 17 mar. 2026

SANTOS, Elisandro Ricardo Drechsler dos. *Material complementar ao livro Sistemática Vegetal I: fungos: baseado no capítulo original de Paulo Antunes Horta Júnior*. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2015. 47 p. Disponível em: <https://antigo.uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Fungos.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2026

SANTOS, Luciane da Silva et al. A interação harmônica entre fungos e plantas: aspectos da relação endófito/hospedeiro. *SaBios: Revista de Saúde e Biologia*, Campo Mourão, v. 8, n. 1,

p. 92–101, jan./abr. 2013. Disponível em:

<https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/1335/487>. Acesso em: 15 abr. 2026

SILVA, Gabriel Beltrão Guerra; LEMOS JUNIOR, Eloy Pereira de; LÉLIS, Henrique Rodrigues. O plantio medicinal da *Cannabis* no Brasil: aspectos gerais e novos horizontes em respeito aos direitos humanos. *Revista Contemporânea*, v. 4, n. 12, 2024. DOI: 10.56083/RCV4N12-145.

SILVA, Neusely da; TANIWAKI, Marta Hiromi; SÁ, Patrícia Blumer Z. Rodrigues de. *Fermentação e processos fermentativos*. São Paulo: Tiki Books; The Good Food Institute Brasil, 2022. (Série Tecnológica das Proteínas Alternativas). E-book. Disponível em: <https://gfi.org.br/wp-content/uploads/2022/11/Serie-Tecnologica-Fermentacao-e-processos-fermentativos-GFI-Brasil.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2026

SOUZA, Daniele Z. et al. *Roteiro ilustrado para identificação morfológica da Cannabis sativa L.* *Perícia Federal*, Brasília, ano 7, n. 24, p. 16–22, maio/ago. 2006. Disponível em: <https://apcf.org.br/wp-content/uploads/2020/06/24.pdf#page=19.11>. Acesso em: 31 mar. 2026

SMALL, Ernest. Evolution and classification of *Cannabis sativa* (Marijuana, Hemp) in relation to human utilization. *The Botanical Review*, New York, v. 81, n. 3, p. 189–294, 2015. DOI: 10.1007/s12229-015-9157-3.

SPECIAN, Vânia et al. Metabólitos secundários de interesse farmacêutico produzidos por fungos endofíticos. *UNOPAR Científica: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 16, n. 4, p. 345–351, 2014. Disponível em: <https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/393/370>. Acesso em: 12 maio 2026

VARELLA, Drauzio. *Efeitos benéficos da maconha*. Portal Drauzio Varella, São Paulo, 14 jul. 2014. Revisado em: 11 ago. 2020. Disponível em: <https://drauziovarella.uol.com.br/drogas-licitas-e-ilicitas/efeitos-beneficos-da-maconha-artigo/>. Acesso em: 18 mar. 2026

VEIGA JUNIOR, Valdir Florêncio da; PINTO, Angelo da Cunha; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/CHhqMPvgfDyKcv9XD3HSBsc/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 16 mar. 2026

VIEIRA, Ana Cláudia de Macêdo; SILVA, Dayane Praxedes da; CARVALHO, Virgínia Martins de. Caracterização morfológica de três variedades de *Cannabis* para uso medicinal. In: *PRÁTICAS INTEGRATIVAS E COMPLEMENTARES: visão holística e multidisciplinar*. v. 2. Guarujá, SP: Editora Científica Digital, 2022. p. 21–29. DOI: 10.37885/211006412. Disponível em: <https://www.editoracientifica.com.br/books/chapter/211006412>. Acesso em 8 abr. 2026

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides*. Geneva: World Health Organization, 2009. Disponível em: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/b1db05d8-0e97-469e-b529-464dca6de540/content>. Acesso em: 29 jun. 2026

ZHAO, J.; ZHOU, L.; WANG, J.; SHAN, T.; *et al.* *Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants*. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (ed.). *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Badajoz: Formatex Research Center, 2010. p. 567-576. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Tijiang-Shan/publication/229024535_Endophytic_fungi_for_producing_bioactive_compounds_originally_from_their_host_plants/links/55e2663008ae6abe6e8cda37/Endophytic-fungi-for-producing-bioactive-compounds-originally-from-their-host-plants.pdf. Acesso em: 27 set. 2025.

ZUARDI, Antonio Waldo. History of cannabis as a medicine: a review. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 153-157, 2006. DOI: 10.1590/S1516-44462006000200015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbp/a/ZcwCkpVxkDVRdybmBGGd5NN/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 18 mar. 2026