



VITÓRIA DA SILVA CAMBUÍ FEITOSA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS E
NEMATÓFAGOS: UMA ABORDAGEM INICIAL**

LAVRAS-MG

2026

VITÓRIA DA SILVA CAMBUÍ FEITOSA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E NEMATÓFAGOS:
UMA ABORDAGEM INICIAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Ludwig H. Pfenning
Orientador

LAVRAS-MG
2026

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Feitosa, Vitória da Silva Cambuí.

Bioprospecção de fungos entomopatogenicos e nematófagos : Uma abordagem inicial / Vitória da Silva Cambuí Feitosa. - 2026.
49 p.

Orientador: Ludwig H. Pfenning

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. Biodiversidade. 2. Controle biológico. 3. Inovação. 4. Manejo integrado de doenças e pragas. I. Pfenning, Ludwig H.. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

VITÓRIA DA SILVA CAMBUÍ FEITOSA

**BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E NEMATÓFAGOS:
UMA ABORDAGEM INICIAL**

**BIOPROSPECTING OF ENTOMOPATHOGENIC AND NEMATOPHAGOUS
FUNGI: AN INITIAL APPROACH**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2026.

Dr. Ludwig H. Pfenning UFLA

Dr. Lucas Magalhães de Abreu UFV

Dr. Alcides Moino Júnior UFLA

Dr. Ludwig H. Pfenning

Orientador

LAVRAS-MG

2026

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Programa de Pós-Graduação de Microbiologia Agrícola, pela oportunidade.

A todos do Departamento de Fitopatologia, onde estive na maior parte durante o meu mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da coordenação de aperfeiçoamento pessoal de nível superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Dra. Gláucia Moreira pelo suporte com a elaboração das filogenias deste trabalho. Ao meu orientador Prof. Ludwig H. Pfenning pelo apoio.

À minha mãe Anete Marques, minha avó materna Luzinete Marques, minha irmã Hosana Maria e ao meu pai José Cambuí por todo o incentivo e força durante esses dois anos longe de casa.

À minha família do coração que sempre fizeram parte da minha vida e durante toda a minha educação, minha segunda mãe Maria Dias, Pai Fernando, Elaine Cristina, Zora Yonara, Viviane Késsia e Fernanda (minha Ninha), que sempre estará no meu coração e nunca irei esquecer.

Ao meu amigo e irmão do coração, Anderson Caju.

Aos amigos que conquistei nessa aventura e fizeram dessa caminhada mais leve: Thiago, Vinícius, Indira e Heriberto.

À Leila, minha linda amiga, que foi o maior presente que entrou na minha vida nesse último ano.

Meus amigos companheiros de laboratório Egídio, Karol, Janaína, Gisele, Karen e Sara. E todos os outros que não citei aqui, mas que vou levar comigo com muito carinho, amo vocês.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Os fungos entomopatogênicos (FEs) e nematófagos são organismos de grande interesse para o controle biológico de pragas e patógenos que afetam plantas e animais. A diversidade desses fungos é extensa, especialmente em solos tropicais, e tem grande potencial para a formulação de defensivos biológicos. O presente estudo teve como objetivo a bioprospecção de fungos entomopatogênicos e nematófagos, utilizando diversos métodos de isolamento. Protocolos disponíveis na literatura foram avaliados e adaptados. Foram realizadas coletas de solo e cadáveres de artrópodes em fragmentos de vegetação nativa e áreas agrícolas, seguido do isolamento por meio da técnica do inseto-isca e do plaqueamento de suspensões de solo em meio Ágar-Água. Foram obtidos 23 isolados de fungos, que foram caracterizados e agrupados em morfotipos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Beauveria*, *Clonostachys*, *Monacrosporium*, *Metarhizium*, *Sesquicillium* e *Purpureocillium*. Uma parte das espécies foram identificadas por análise de filogenia molecular de regiões gênicas barcode. Os isolados são preservados por criopreservação e depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML), garantindo sua disponibilidade para estudos futuros. Podem ser avaliados quanto a sua eficácia de controlar insetos praga e fungos fitopatogênicos, com a finalidade de seleção de isolados fúngicos para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis de controle biológico. Foi possível validar métodos para o isolamento de fungos, que ocorrem no solo como patógenos ou parasitas de artrópodes e nematoides.

Palavras-chave: biodiversidade, controle biológico, inovação, manejo integrado de doenças e pragas.

ABSTRACT

Entomopathogenic (EPF) and nematophagous fungi are organisms of significant interest for the biological control of pests and pathogens affecting plants and animals. The diversity of these fungi is extensive, particularly in tropical soils, and holds great potential for the development of biological control products. The present study aimed to bioprospect entomopathogenic and nematophagous fungi using different isolation methods. Protocols available in the literature were evaluated and adapted. Soil samples and arthropod cadavers were collected from fragments of native vegetation and agricultural areas, followed by isolation using the insect-bait technique and soil suspension plating on Water Agar medium. A total of 23 fungal isolates were obtained, characterized, and grouped into morphotypes belonging to the genera *Arthrobotrys*, *Beauveria*, *Clonostachys*, *Monacrosporium*, *Metarhizium*, *Sesquicillium*, and *Purpureocillium*. Some of the isolates were identified by molecular phylogenetic analysis of barcode gene regions. The isolates are preserved by cryopreservation and deposited in the Mycological Collection of Lavras (CML), ensuring their availability for future studies. These isolates may be evaluated for their effectiveness in controlling insect pests and plant pathogenic fungi, aiming at the selection of fungal strains for the development of sustainable biological control technologies. We could validate methods for the isolation of fungi, which occur in soil as parasites or pathogens of arthropods or nematodes.

Keywords: biodiversity, biological control, innovation, integrated pest and disease management.

INDICADORES DE IMPACTO

Os principais indicadores de impacto dessa pesquisa estão relacionados ao potencial de aplicação prática dos fungos isolados. Entre eles, destacam-se o número de isolados obtidos e identificados, a diversidade de gêneros recuperados e a formação de uma coleção de fungos com potencial para controle biológico. Destacam-se a aplicação de diferentes metodologias para o isolamento de fungos com diferentes características. Outro indicador importante é a possibilidade de desenvolvimento de bioinsumos mais eficientes e adaptados às condições locais, o que pode melhorar o manejo de pragas e nematoides e aumentar a produtividade das culturas de forma mais segura e ecológica.

IMPACT INDICATORS

The main impact indicators of this research are related to the potential practical application of the isolated fungi. Among them, the number of isolates obtained and identified, the diversity of recovered genera, and the establishment of a fungal collection with potential for biological control stand out. The use of different methodologies for isolating fungi with distinct characteristics is also noteworthy. Another important indicator is the possibility of developing more efficient bioinputs adapted to local conditions, which may improve the management of pests and nematodes and increase crop productivity in a safer and more environmentally friendly way.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Espécies de fungos e produtos formulados.....	41
TABELA 2	Isolados de fungos obtidos neste estudo	43

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Insetos e nematoides colonizados por fungos	44
FIGURA 2	Fungos nematófagos	45
FIGURA 3	Espécies de <i>Clonostachys</i> e <i>Sesquicillium</i>	46
FIGURA 4	Fungos entomopatogênicos	47
FIGURA 5	Filogenia de <i>Metarhizium robertsii</i> e <i>M. brunneum</i>, baseada em sequências das regiões TEF e RPB2	48
FIGURA 6	Filogenia para <i>Sesquicillium lasiacidis</i>, baseada em sequências da região ITS	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Fungos entomopatogênicos e nematófagos: biologia, ecologia e aplicação ..	13
2.2	Controle biológico e bioprospecção de fungos	17
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo geral	18
3.2	Objetivos específicos	18
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	Amostragem de solo	21
4.2	Isolamento de fungos entomopatógenos com uso de inseto-isca	21
4.3	Isolamento de fungos nematófagos	22
4.4	Técnica de lavagem de solo (Soil Washing)	23
4.5	Preservação e identificação dos isolados de fungos	23
4.6	Amplificação de regiões gênicas barcode, sequenciamento e análise filogenética	24
5	RESULTADOS	26
6	DISCUSSÃO	27
6.1	Diversidade de fungos entomopatogênicos e nematófagos	29
6.2	Eficiência das metodologias de isolamento empregadas	29
6.3	Origem dos isolados e adaptação ecológica	30
6.4	Fungos nematófagos: diversidade funcional	30
6.5	Considerações sobre os fungos entomopatogênicos isolados	32
6.6	Integração dos resultados ao Manejo Integrado de Pragas	33
7	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	35
	REFERÊNCIAS	36
	ANEXO A - TABELAS	41
	ANEXO B - FIGURAS	44

1 INTRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

A intensificação dos sistemas agrícolas nas últimas décadas é acompanhada pelo aumento da incidência de pragas e nematoides, bem como pela crescente dependência de defensivos químicos para o seu controle. Embora eficazes a curto prazo, esses insumos provocam impactos ambientais significativos, incluindo contaminação do solo e da água, efeitos adversos sobre organismos não alvo e seleção de populações resistentes, comprometendo a sustentabilidade dos agroecossistemas (Alteri & Nicholls 2004; Tabashnik & Carriere 2017). Nesse contexto, o controle alternativo com o uso de insumos biológicos emerge como uma estratégia fundamental no manejo integrado de pragas, ao promover alternativas baseadas em processos ecológicos naturais e na utilização de fungos benéficos associados ao solo (Pfenning & Abreu 2010; Mascarin et al. 2018).

Entre os agentes de controle biológico, os fungos entomopatogênicos (FEs) e os fungos nematófagos (FNs) destacam-se por sua ampla distribuição, mecanismo de ação e capacidade de adaptação a diferentes ambientes. Esses fungos atuam como inimigos naturais de insetos e nematoides, desempenhando papel relevante na regulação populacional desses organismos em ecossistemas naturais e agrícolas. Diferentemente de outros agentes microbianos, como bactérias e vírus, os fungos entomopatogênicos infectam seus hospedeiros por contato direto com a cutícula, característica que amplia seu espectro de ação e potencial de aplicação em campo (Moino Junior & Cavalcanti 2010; Kryukova et al. 2021).

Os FNs, por sua vez, apresentam estratégias especializadas de parasitismo e predação, incluindo a formação de armadilhas e o parasitismo de ovos. O Brasil, com sua imensa biodiversidade impulsionada pela variedade de domínios fitogeográficos, revela um potencial ainda subexplorado de gêneros como *Clonostachys*. Este gênero engloba espécies com atividades nematófaga, parasita de outros fungos e endófitos. A bioprospecção em biomas como o Cerrado tem revelado novas espécies, a exemplo de *Clonostachys chloroleuca*. Espécies desse gênero exibem forte tolerância a estresses osmóticos e compatibilidade com inseticidas químicos, além de promoverem o crescimento vegetal (Moreira et al. 2016; Ren et al. 2025).

A prospecção de isolados nativos é considerada uma estratégia promissora para a seleção de agentes biológicos mais eficientes, uma vez que esses organismos se encontram adaptados às condições ambientais regionais, apresentando maior persistência no ambiente e maior eficiência de infecção quando comparados a isolados exóticos. O solo representa o principal reservatório desses fungos, abrigando elevada diversidade taxonômica e funcional, especialmente em ambientes com diferentes coberturas vegetais (Silva et al. 2018).

Entre as metodologias empregadas para o isolamento de fungos entomopatogênicos a partir do solo, destaca-se a técnica do inseto-isca, desenvolvida por Zimmerman (1986), amplamente utilizada por sua eficiência e seletividade. Esse método permite o isolamento de fungos efetivamente patogênicos por meio da infecção natural de larvas expostas às amostras de solo, favorecendo a obtenção de isolados biologicamente ativos e reduzindo o isolamento de fungos sapróbios sem interesse para o controle biológico.

De forma complementar, o isolamento de fungos nematófagos por meio de técnica de plaqueamento de amostras de solo em meio de cultura com baixa disponibilidade nutricional, como o ágar-água, constitui uma estratégia consolidada para induzir a transição do estado saprofítico para o predatório, favorecendo a formação de estruturas especializadas de captura, como redes adesivas, anéis constritores e botões adesivos (Barron 1977). A limitação nutricional, associada à presença de nematoides vivos, atua como estímulo-chave para a expressão dessas estruturas, permitindo a detecção funcional da atividade nematófaga e a seleção de isolados com elevado potencial para o manejo biológico de nematoides fitopatogênicos (Nordbring-Hertz et al. 2006; Nordring-Hertz et al. 1995).

Dessa forma, a prospecção de isolados nativos representa uma abordagem estratégica para identificar espécies adaptadas a condições ambientais regionais e com alta virulência. A integração de estudos de biologia, morfologia e filogenia molecular é adotada para a seleção de candidatos promissores, garantindo que novas formulações biotecnológicas sejam não apenas eficazes, mas resilientes aos desafios climáticos e operacionais do campo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fungos entomopatogênicos e nematófagos: biologia, ecologia e aplicação

Os fungos entomopatogênicos constituem um grupo funcional altamente diverso, capazes de causar infecções letais em insetos por meio de um processo patogênico independente da ingestão pelo hospedeiro. Pertencem em sua maioria à ordem Hypocreales, a infecção inicia-se com a adesão dos conídios à cutícula do inseto, etapa mediada por interações hidrofóbicas e moléculas adesinas, seguida pela germinação e penetração ativa. Essa penetração resulta da combinação entre pressão mecânica exercida pelo apressório e a secreção de um complexo de enzimas hidrolíticas, como quitinases, proteases e lipases, responsáveis pela degradação da cutícula. Após a invasão da hemocela, o fungo se prolifera nos tecidos internos, produz metabólitos tóxicos e compromete funções fisiológicas vitais, culminando na morte do hospedeiro e na posterior esporulação externa, que assegura a dispersão e perpetuação do patógeno no ambiente (Moino Junior & Cavalcanti 2010; Kryukova et al. 2021).

Entre os gêneros mais estudados e aplicados comercialmente destacam-se *Beauveria*, *Metarhizium* e *Purpureocillium*, os quais apresentam amplo espectro de hospedeiros. No Brasil, *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* representam a base para a maior parte dos produtos registrados para uso agrícola, resultado de sua comprovada virulência, facilidade de produção em larga escala e capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais (Tabela 1). Esses atributos explicam sua ampla adoção em programas de manejo integrado de pragas, especialmente em culturas de grande importância econômica (Noriler et al. 2018; Mascarin et al. 2018; Brasil 2025).

A maior diversidade de fungos entomopatogênicos está associada a áreas de vegetação nativa, que oferecem condições ambientais mais estáveis e maior variedade de hospedeiros. Estudos de bioprospecção realizados em fragmentos do Cerrado brasileiro evidenciaram elevada riqueza de fungos com potencial entomopatogênico, reforçando o papel desses ambientes como reservatórios naturais de biodiversidade. Em contraste, áreas agrícolas sob manejo intensivo tendem a apresentar redução dessa diversidade; ainda assim, gêneros como *Metarhizium* e *Beauveria* permanecem frequentes, indicando adaptação ao solo cultivado (Silva et al. 2018; Mesquita et al. 2020; Domingues et al. 2022).

O gênero *Metarhizium* pertence à família Clavicipitaceae, Ordem Hypocreales e compreende fungos entomopatogênicos, comuns em solos sob vegetação natural, mas também em solos cultivados. Trata-se de um dos gêneros mais relevantes no controle biológico de

insetos-praga e ácaros devido ao amplo espectro de hospedeiros, incluindo espécies das ordens Coleoptera, Lepidoptera e Hemiptera (Vega et al. 2012; Liu et al. 2019). Estudos em solos de diferentes biomas brasileiros indicam elevada frequência e diversidade do gênero, reforçando seu papel como componente natural da microbiota do solo (Botelho et al. 2019).

A literatura recente destaca melhor desempenho de isolados nativos em relação a cepas exóticas, sobretudo em condições de campo. Ensaios conduzidos com isolados brasileiros de *Metarhizium anisopliae* demonstraram elevada persistência no solo e redução significativa de populações de carrapatos em ambiente natural controlado, corroborando a hipótese de que a adaptação local confere vantagens competitivas frente a estresses ambientais e interações no solo (Mesquita et al. 2020). De forma semelhante, isolados nativos de *Metarhizium rileyi* apresentaram alta virulência contra insetos-praga e capacidade de modular respostas imunológicas do hospedeiro, incluindo alterações na atividade de enzimas antioxidantes e de detoxificação, evidenciando interação fungo–hospedeiro complexas e altamente especializadas (Yao et al. 2025).

Metarhizium carneum apresenta um perfil funcional distinto entre as espécies do gênero *Metarhizium*, combinando características típicas de fungos entomopatogênicos com uma marcada adaptação ao ambiente. Antes chamado *Paecilomyces carneus* é comumente recuperado de solos agrícolas e naturais, indicando que o solo atua como principal reservatório ecológico da espécie e que parece desempenhar um papel relevante na regulação de populações de invertebrados em microambientes, incluindo ovos e estágios imóveis de hospedeiros, o que sugere uma estratégia ecológica mais associada à persistência no solo (Luz et al. 2007; Botelho et al. 2019). Ensaios em casa de vegetação indicaram que *M. carneum* apresentou eficácia no controle de nematoides, promovendo redução das populações de *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro quando comparado ao tratamento controle (Iwasaki et al. 2019).

O gênero *Beauveria* compreende fungos ascomicetos entomopatogênicos amplamente distribuídos no solo, sendo *Beauveria bassiana* a espécie-tipo e a mais estudada. Filogenias multilocus consolidaram o posicionamento do gênero na família Cordycipitaceae (Vega et al. 2012). A relevância do gênero é referente a sua ampla gama de hospedeiros, persistência no ambiente e uso consolidado em programas de controle biológico.

Além da mortalidade direta, os efeitos subletais promovidos por fungos entomopatogênicos são cada vez mais reconhecidos como componentes relevantes no controle populacional de pragas. Estudos com isolados nativos de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* demonstraram impactos expressivos sobre processos reprodutivos de

insetos, incluindo alterações em tecidos ovarianos, atraso no desenvolvimento dos ovários, redução da fecundidade e comprometimento da fertilidade. Esses efeitos contribuem para a diminuição gradual das populações-alvo e reforçam o potencial desses fungos como ferramentas estratégicas em programas de Manejo Integrado de Pragas, indo além da simples mortalidade imediata (Fathy et al. 2025).

Os fungos nematófagos constituem um grupo caracterizado pela capacidade de capturar, parasitar ou destruir nematoides por meio de diferentes estratégias adaptativas. Esses fungos podem atuar como predadores ativos, formando armadilhas especializadas — como redes adesivas e anéis constritores —, ou como parasitas, infectando diretamente ovos, juvenis ou adultos. Adicionalmente, há espécies capazes de colonizar ovos e cistos por meio da secreção de enzimas hidrolíticas, como quitinases, proteases e lipases, que degradam as estruturas de proteção dos nematoides, permitindo a penetração do micélio e a subsequente utilização do hospedeiro como fonte de nutrientes (Nordbring-Hertz et al. 2006).

Apesar do reconhecido potencial desses fungos como agentes de controle biológico ainda permanecem relativamente subexplorados. A maior parte das pesquisas anteriores concentrou-se em ambientes temperados, enquanto estudos recentes em ecossistemas brasileiros têm evidenciado a relevância da biodiversidade local. Trabalhos conduzidos em áreas de Cerrado demonstraram que isolados nativos de fungos nematófagos são capazes de reduzir significativamente o fator de reprodução de fitonematoides economicamente importantes, como *Meloidogyne javanica*, além de promover efeitos positivos no crescimento vegetal (Mendes et al. 2025).

No contexto taxonômico e funcional, destacam-se fungos pertencentes aos gêneros *Purpureocillium*, *Pochonia*, *Clonostachys*, *Arthrobotrys* e *Monacrosporium*, que são reconhecidos por sua atividade nematófaga. Essas espécies apresentam mecanismos de ação associados ao parasitismo direto, produção de metabólitos secundários e enzimas hidrolíticas capazes de comprometer ovos e juvenis de nematoides e a formação de armadilhas. Segundo Zhang et al. (2020), tais características conferem elevado potencial para a incorporação desses microrganismos em programas de manejo integrado de pragas e doenças, especialmente em estratégias sustentáveis que visam reduzir o uso de nematicidas químicos.

Clonostachys pertence à família Bionectriaceae (Hypocreales) e inclui fungos ascomicetos comuns em serapilheira, matéria orgânica do solo e na rizosfera. O gênero segue múltiplos mecanismos de ação, como micoparasitismo, antibiose, competição por espaço e nutrientes e ainda por indução de resistência em plantas. Esses mecanismos explicam a eficácia contra fitopatógenos fúngicos (ex.: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*) e também

contra nematoides, sobretudo por parasitismo de ovos e juvenis. *Clonostachys rosea* é a espécie tipo mais estudada no gênero, sendo descrita como endófito, saprófito, micoparásita, mas também parasita de nematoides (Schroers 2001; Anwar et al. 2018).

O principal interesse em *Purpureocillium lilacinum* reside em sua atividade contra ovos e juvenis de nematoides fitoparasitas. O fungo atua predominantemente por parasitismo de ovos, aderindo à superfície, penetrando a casca e colonizando o embrião. Esse processo é mediado pela secreção de enzimas hidrolíticas, como quitinases, proteases e lipases, responsáveis pela degradação da parede do ovo. Estudos demonstram reduções significativas na eclosão e na densidade populacional de nematoides após a aplicação de *P. lilacinum*, com eficiência variável conforme o isolado, a formulação e as condições climáticas e de solo (Kiewnick & Sikora 2006; Moraes et al. 2025). *Purpureocillium lilacinum* apresenta atividade entomopatogênica, ainda que menos explorada que sua ação nematófaga. Foi demonstrado ainda que isolados nativos de *Clonostachys* e *Purpureocillium* apresentam maior adaptação às condições ambientais regionais, maior persistência no solo e desempenho superior no controle biológico quando comparados a isolados exóticos ou comerciais (Souza et al. 2014; Moraes et al. 2025).

Arthrobotrys compreende fungos nematófagos pertencentes à família Orbiliaceae (Orbiliomycetes, Ascomycota), caracterizados pela capacidade de capturar e predação nematoides por meio de armadilhas formadas a partir de hifas especializadas. Esses fungos são amplamente distribuídos em solos agrícolas e ecossistemas naturais, desempenhando papel ecológico relevante na regulação natural das populações de nematoides (Aung 2011). Espécies de *Arthrobotrys* apresentam fase saprofítica predominante no solo, com a formação das armadilhas sendo induzida pela presença de nematoides ou por condições ambientais específicas. Esse comportamento permite que o fungo atue tanto como decompositor quanto como predador oportunista (Aung 2011; Nordbring-Hertz et al. 2006).

Outro gênero importante entre os fungos nematófagos que formam armadilhas é *Monacrosporium*, que faz predação ativa de larvas de nematoides, realizada por meio da formação de redes adesivas tridimensionais. Essas estruturas capturam mecanicamente os nematoides, que ficam imobilizados, permitindo a penetração de hifas e subsequente digestão do hospedeiro. Esse processo envolve a ação combinada de pressão mecânica e enzimas hidrolíticas, resultando na morte rápida do nematoide (Campos et al. 2007; Nordbring-Hertz et al. 2006).

Pochonia chlamydosporia consolida-se como um dos principais agentes de controle biológico devido à sua capacidade de parasitar ovos e fêmeas de nematoides fitoparasitas.

Segundo Mota et al. (2024), a eficácia desse fungo não se restringe apenas ao parasitismo direto, mas também à sua habilidade de colonizar o sistema radicular das plantas como um endófito, o que promove o crescimento vegetal e ativa mecanismos de defesa sistêmica na cultura hospedeira. Além disso, a revisão enfatiza que a integração de *P. chlamydosporia* em estratégias de manejo integrado de pragas (MIP) é favorecida por sua persistência no solo e compatibilidade com certas práticas agrícolas, tornando-o uma alternativa sustentável ao uso de nematicidas químicos convencionais.

A capacidade de adaptação dos fungos nematófagos nativos representa um diferencial estratégico para sua aplicação prática, apresentando maior tolerância a variações de temperatura, umidade e às interações com a microbiota do solo. Isolados autóctones tendem a exibir maior persistência e eficiência no ambiente natural quando comparados a isolados exóticos, reforçando a importância da bioprospecção local para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de controle biológico (Nordbring-Hertz et al. 2006; Soares et al. 2017).

2.2 Controle biológico e bioprospecção de fungos

A bioprospecção de fungos em ambientes naturais e agrícolas tem se mostrado como uma estratégia para a identificação de microrganismos com potencial biotecnológico. No Brasil, estudos conduzidos em biomas diversos e ameaçados, como o Cerrado brasileiro, a bioprospecção assume um papel central ao aliar conservação da biodiversidade e exploração racional de recursos genéticos e revelaram elevada diversidade de fungos, incluindo espécies com atividade entomopatogênica, nematófaga, antagonista a fitopatógenos e produtora de enzimas de interesse industrial (Silva et al. 2018; Noriler et al. 2018).

O solo constitui importante reservatório de fungos entomopatogênicos e nematófagos, os quais desempenham papel fundamental na regulação natural de populações de insetos e nematoides, além de contribuírem para a estabilidade ecológica dos agroecossistemas. Estudos de diversidade em diferentes ambientes evidenciam que gêneros como *Beauveria*, *Metarhizium*, *Cordyceps*, *Purpureocillium*, e *Fusarium* são comuns no solo, apresentando estratégias de vida que incluem o parasitismo de insetos, a atividade nematófaga e endofítica e a persistência saprofítica (Domingues et al. 2022). Esses fungos integram naturalmente a biota do solo, que atua como um reservatório de estágios infectantes, permitindo sua manutenção mesmo na ausência imediata de hospedeiros. A persistência e a eficiência desses organismos no ambiente do solo são influenciadas por fatores abióticos e bióticos, como temperatura, umidade, radiação ultravioleta e interações com a microbiota do solo, os quais podem afetar

diretamente a viabilidade dos conídios e o sucesso do processo infeccioso (Pfenning & Abreu 2010; Botelho et al. 2019).

No âmbito do controle biológico, a bioprospecção de fungos entomopatogênicos nativos recebe crescente atenção, sobretudo pela maior adaptação desses isolados a condições ambientais regionais e aos hospedeiros-alvo. Estudos realizados na região dos Pampas argentinos demonstraram que a prospecção sistemática de insetos naturalmente infectados permitiu o isolamento de numerosas linhagens de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium* spp., com elevados níveis de virulência e patogenicidade contra o gafanhoto-praga *Dichroplus maculipennis*. Alguns isolados nativos foram capazes de causar mortalidade total das ninfas em curto intervalo de tempo, evidenciando que a biodiversidade local constitui uma fonte valiosa de agentes microbianos com potencial para programas de manejo integrado de pragas (Mancini et al. 2024).

A relevância dos isolados nativos também é evidenciada em estudos que avaliam sua persistência e desempenho em condições simuladas de campo. Ensaio com isolados nativos de *Metarhizium anisopliae* demonstraram elevada capacidade de persistência no solo e redução significativa de populações de carrapatos em sistemas tratados, reforçando a hipótese de que linhagens autóctones apresentam maior tolerância a estresses ambientais, como variações de temperatura e umidade, quando comparadas a isolados exóticos. Esses resultados fortalecem a bioprospecção como etapa fundamental para o desenvolvimento de bioinsumos mais eficazes e ambientalmente compatíveis (Mesquita et al. 2020).

De forma complementar, estudos recentes também ampliam o conceito de bioprospecção ao incluir fungos multifuncionais, capazes de atuar simultaneamente como entomopatogênicos, antagonistas de fitopatógenos e endófitos benéficos. A prospecção de linhagens nativas de *Clonostachys rosea* revelou isolados com elevada mortalidade sobre insetos-modelo, forte antagonismo contra patógenos agrícolas e capacidade de colonização endofítica, promovendo crescimento vegetal e aumento da resistência a estresses bióticos. Essas descobertas reforçam que a bioprospecção contemporânea não se limita à busca por um único efeito biológico, mas visa identificar microrganismos com múltiplas funções integráveis em sistemas agrícolas sustentáveis (Ren et al. 2025).

Ainda existem lacunas significativas no conhecimento sobre a diversidade funcional de fungos entomopatogênicos e nematófagos, especialmente no que se refere à caracterização de isolados nativos e à padronização de protocolos de coleta e isolamento. A maioria dos produtos comerciais disponíveis baseiam-se em um número restrito de espécies e isolados, o que limita a adaptabilidade e a eficácia dos bioinsumos em diferentes condições ambientais.

Nesse sentido, a bioprospecção sistemática de fungos entomopatogênicos e nematófagos, aliada à identificação morfológica e molecular, constitui uma abordagem promissora para ampliar o repertório de agentes de controle biológico disponíveis e fortalecer a agricultura sustentável no Brasil.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Adaptar e aperfeiçoar metodologias existentes na literatura para o isolamento de fungos entomopatogênicos e nematófagos.

3.2 Objetivos específicos

1. Obter, de forma direcionada, isolados fúngicos entomopatogênicos e nematófagos;
2. Realizar a caracterização morfológica e molecular dos isolados obtidos;
3. Estruturar uma coleção de fungos que podem ser utilizados em programas de controle biológico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem de solo

A prospecção de fungos entomopatogênicos e nematófagos foi realizada a partir de amostras de solo coletadas em diferentes fitofisionomias, incluindo áreas sob manejo agrícola e fragmentos de vegetação nativa. A amostragem foi conduzida de modo a minimizar a variabilidade espacial, sendo cada amostra composta pela junção de cinco subamostras coletadas em pontos espaçados aproximadamente dois metros entre si, na profundidade de 0 a 10 cm. O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos estéreis, devidamente identificados com informações referentes à localização geográfica (coordenadas obtidas por GPS), descrição da cobertura vegetal e data da coleta. As amostras foram então transportadas ao laboratório para posterior processamento e isolamento dos fungos.

4.2 Isolamento de fungos entomopatógenos com uso de inseto-isca

Esse método baseou-se em uma proposta publicada por Zimmermann (1986), que recorre ao uso de insetos-isca para isolamento de fungos entomopatogênicos a partir da matéria orgânica do solo. Amostras de solo juntamente com a camada orgânica de 0 a 10 cm, foram colocadas em bandejas e homogeneizadas, para a remoção de elementos como fragmentos de galhos, raízes ou folhas. Em seguida, procedeu-se o ajuste da umidade do solo, foi realizado por meio da adição gradual de água. Alíquotas de aproximadamente 300g de solo foram transferidas para recipientes plásticos estéreis, de cor escura e capacidade de 500 mL, os quais representaram as unidades experimentais. Em cada unidade, foram colocadas na superfície do substrato dez larvas que atuaram como insetos-isca. Após a introdução das iscas, os recipientes foram vedados e colocados em posição invertida. Dessa forma as larvas iniciam a migração por meio do solo, maximizando o contato entre os insetos e os propágulos de fungos presentes no solo, além de prevenir a evasão das larvas. A incubação foi feita em condições controladas, sob temperatura de aproximadamente 27 ± 1 °C e ausência de luz, por um período de dez dias consecutivos, sem perturbação das unidades experimentais.

Ao final do período de incubação, o conteúdo dos potes foi espalhado em bandeja para a recuperação das larvas, avaliando-se a mortalidade. Os cadáveres foram submetidos à lavagem superficial em água destilada estéril para remoção de partículas de solo aderidas. Em seguida, transferidos para câmara úmida, constituída por placas de Petri de 150 mm forradas com papel de filtro estéril umedecido, visando à indução da esporulação externa dos fungos.

Essas placas foram incubadas a 25 ± 1 °C, por um período de 2 a 5 dias. Cadáveres que apresentaram sinais característicos de infecção fúngica, como mumificação do tegumento e extrusão de micélio externo, foram selecionados para o isolamento. Fragmentos de micélio ou esporos foram transferidos para placas de Petri contendo Ágar Malte a 2% (MA2%), e incubados a 25 ± 1 °C, sob fotoperíodo de 12 h, até a obtenção de colônias puras e livres de contaminantes. Como inseto-isca, foram priorizadas larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera) e *Galleria mellonella* (Lepidoptera), pois estudos demonstraram a eficácia desse método para o isolamento de FEs (Vänninen 1996; Sharma et al. 2018).

4.3 Isolamento de fungos nematófagos

Para o isolamento de fungos nematófagos, foi utilizada a técnica adaptada de Barron (1977) que consiste em plaqueamento em meio de cultura com baixa disponibilidade de nutrientes, visando favorecer a expressão de estruturas predatórias. As amostras de solo foram individualmente homogeneizadas e submetidas à passagem em peneira com malha de 20 µm, para padronização do material e remoção de macrodetritos orgânicos.

Uma alíquota de cada amostra processada foi ressuspendida em água destilada estéril, obtendo-se uma suspensão de solo homogênea. O inóculo resultante foi aplicado sobre a superfície do meio Ágar-Água (AA) a 2%, previamente vertido em placas de Petri (Ø 90 mm), por meio de uma estria centralizada realizada com espátula de alumínio esterilizada. Para cada amostra de solo analisada, são estabelecidas no mínimo dez placas replicatas. Para indução da atividade predatória, quando necessário as placas foram suplementadas com 1 mL de uma suspensão aquosa contendo nematoides vivos, como *Panagrellus redivivus*, aplicada na periferia da estria de solo. Em seguida, as placas foram vedadas com filme de PVC e incubadas em estufa a temperatura de 27 ± 1 °C.

A inspeção microscópica foi iniciada após 72 horas de incubação, utilizando-se microscópio de luz invertida. As observações foram direcionadas à detecção de estruturas predatórias características, tais como anéis constritores, redes adesivas tridimensionais e botões adesivos, associadas à captura de nematoides. As placas onde se observou atividade nematófaga foram selecionadas para o isolamento dos fungos. Sob estereomicroscópio e em condições assépticas, conidióforos, conídios ou fragmentos de hifas associados às estruturas de captura foram transferidos para placas de Petri contendo meios de cultura ricos em nutrientes, como Ágar Malte a 2% (MA 2%) ou Ágar Farinha de Milho (CMA). A purificação dos isolados foi realizada por meio de repiques sucessivos, com incubação a 25 ± 1 °C, até a obtenção de culturas puras e livres de contaminação.

4.4 Técnica de lavagem de solo (Soil Washing)

O isolamento de fungos presentes em colóides do solo foi realizado com base em uma adaptação da metodologia originalmente descrita por Parkinson e Williams (1967) e Söderström e Bååth (1978), com adaptações. Inicialmente, foram pesados 10 g de solo fresco, os quais foram transferidos para bquer contendo 200 mL de água destilada estéril. A suspensão foi submetida à agitação em agitador suspenso a 180 rpm por 10 minutos, visando à dispersão dos agregados e liberação das frações coloidais. Após a agitação, a suspensão permaneceu em repouso por 2 minutos para decantação das partículas mais densas. O sobrenadante foi cuidadosamente descartado. Em seguida, adicionaram-se novamente 200 mL de água destilada estéril, repetindo-se o processo de agitação (10 minutos a 180 rpm) e decantação (2 minutos). Esse procedimento foi realizado por três ciclos consecutivos, com o objetivo de promover a lavagem progressiva do solo e concentração dos colóides.

Concluídas as etapas de lavagem, adicionou-se 1 L de água destilada estéril à amostra, seguida de agitação por 2 minutos para homogeneização. A suspensão resultante foi vertida sobre um conjunto de peneiras metálicas dispostas em série, organizadas da maior para a menor malha (1 mm, 710 μ m, 500 μ m e 212 μ m), promovendo a separação granulométrica das frações. Posteriormente, foram adicionados mais 2 L de água destilada estéril sobre o sistema de peneiras, a fim de facilitar a passagem das partículas finas e retenção dos colóides na peneira de 212 μ m. O material retido nesta última peneira foi cuidadosamente coletado com auxílio de espátula estéril, transferido para papel filtro estéril e mantido em ambiente asséptico até completa secagem.

Após a secagem, os colóides foram transferidos para placas de Petri estéreis. Com auxílio de alfinete previamente esterilizado, dez colóides foram selecionados e distribuídos equidistantemente sobre a superfície de placas contendo meio Ágar Malte a 2% (MA 2%). As placas foram incubadas a 25 ± 1 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, até o desenvolvimento das colônias fúngicas. As colônias emergentes foram monitoradas quanto às características morfológicas e posteriormente repicadas para obtenção de culturas puras, seguindo os mesmos procedimentos descritos para isolamento e purificação dos demais grupos.

4.5 Identificação dos isolados de fungos e preservação

Colônias obtidas foram cultivadas em placas de Petri contendo meio MA2% e incubados em câmara tipo BOD a temperatura de 25°C por 10 dias no escuro com fotoperíodo de 12 horas. Foram usadas para a avaliação aspecto do micélio e pigmentação das colônias (superfície e reverso). As características micromorfológicas, como forma e tamanho dos

conídios, formação de estroma, conidióforos foram avaliadas em meio MA2% sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, no período entre 10 a 15 dias em câmara BOD. Após feita a identificação, a manutenção dos isolados foi realizada em condições controladas, utilizando meio de cultura Malte 2% para preservar a viabilidade e a estabilidade genética. Os isolados estão sendo preservados por criopreservação em 15% de glicerol a -80°C, e depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML), Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil (<http://www.dfp.ufla.br/cml/>).

4.6 Amplificação de regiões gênicas barcode, sequenciamento e análise filogenética

Para análise de filogenia molecular foram utilizados os barcodes ITS (Internal Transcribed Spacer), TEF-1 α (Translation Elongation Factor 1-alpha) e RPB2 (RNA Polymerase II subunit), selecionados de acordo com o gênero fúngico.

A amplificação da região ITS foi conduzida sob um único protocolo de PCR, aplicado de forma padronizada a todos os isolados, independentemente do gênero. As reações foram realizadas com os primers ITS4/ITS5, sob as seguintes condições: desnaturação inicial a 94 °C por 1 minuto, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 40 segundos, anelamento a 55 °C por 55 segundos e extensão a 72 °C por 2 minutos, com extensão final a 72 °C por 5 minutos.

Para TEF-1 α , utilizando os primers EF1/EF2. As condições consistiram em desnaturação inicial a 94 °C por 2 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 54 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 40 segundos, com extensão final a 72 °C por 4 minutos.

Para RPB2, empregando-se os primers os 5F2/7cR, as reações de PCR consistiram em desnaturação inicial a 94 °C por 2 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 94 °C por 15 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 1 minuto, com extensão final a 72 °C por 5 minutos.

Uma parte dos isolados ainda está em fase de sequenciamento para a elaboração das análises filogenéticas e a outra parte foi sequenciada nas direções senso e antiseno, em um sequenciador automático da empresa Psomagen, USA. Os eletroferogramas gerados serão montadas e editadas usando SeqAssem (Hepperle, 2004) e depois comparadas usando a base de dados GenBank, do National Center for Biotechnological Information - NCBI, por meio da ferramenta BLAST. Os Alinhamentos múltiplos das sequências de nucleotídeos serão gerados utilizando-se a ferramenta CLUSTALW (Thompson et al. 1994) e implementado no software

MEGAX (Kumar et al. 2018). Sequências de referência previamente obtidas do GenBank serão incluídas nos alinhamentos. As análises filogenéticas serão realizadas usando os métodos de máxima parcimônia (MP) e máxima verossimilhança (ML) com o software MEGAX.

5 RESULTADOS

Foram coletadas 19 amostras de solo sob vegetação natural e três de solo cultivado com café. Utilizando o método inseto-isca para fungos entomopatogênicos adaptado foram obtidos 13 isolados, com o método para fungos nematófagos foram obtidos seis isolados, ainda três isolados através de lavagem de solo e um isolado através da coleta direta de inseto colonizado, resultando em um total de 23 isolados de fungos, distribuídos entre sete gêneros (Tabela 2).

A recuperação de isolados por meio da técnica do inseto-isca (13 isolados) evidencia a eficiência do método na detecção de fungos entomopatogênicos no solo, uma vez que a infecção ocorre apenas quando há interação efetiva entre o fungo e o hospedeiro suscetível. A metodologia empregada, baseada em Zimmermann (1986) e detalhada nos protocolos adotados favorece a seleção de isolados com comprovada capacidade infectiva, diferentemente de técnicas exclusivamente baseadas em plaqueamento.

De forma complementar, o isolamento de fungos nematófagos por plaqueamento em Ágar-Água, metodologia adaptada, descrita originalmente por Barron (1977), demonstrou eficiência na expressão de estruturas predatórias, como redes adesivas e anéis constritores, permitindo a recuperação de seis isolados com atividade nematófaga confirmada. Essa estratégia está alinhada aos princípios descritos para fungos predadores de nematoides, nos quais a baixa disponibilidade nutricional atua como estímulo à formação de armadilhas.

A recuperação adicional de isolados por lavagem de solo (3 isolados) permitiu a detecção de propágulos livres no solo. Já o isolamento direto a partir de inseto naturalmente colonizado reforça a ocorrência ativa dos entomopatógenos no ambiente estudado, estratégia frequentemente utilizada na prospecção de isolados nativos com potencial de controle biológico. Os isolados foram agrupados em morfotipos, baseado na avaliação de marcadores morfológicos. A identificação das espécies é confirmada por análise filogenética de sequências de regiões barcode.

O gênero *Arthrobotrys* é representado por quatro isolados. É caracterizado por conídios septados e formação de armadilhas típicas para a captura de nematoides, estruturas que foram observadas em placas durante a aplicação da metodologia para isolamento de fungos nematófagos. O isolado VCF1 foi identificado como *Arthrobotrys oligospora*, por possuir conídios com formato obvoídes com um septo abaixo da região mediana e a formação de redes adesivas (Figura 2 a-b, k). Os isolados VCF5, VCF6, VCF40 e VCF57 foram identificados como *Arthrobotrys dactyloides*, por apresentarem conídios mais alongados, com septo mediano; conidióforos com até oito conídios que são formados em denticulos e a

formação de anéis constritores (Figura c-d, l) (De Hoog 1985). O gênero *Monacrosporium* também é caracterizado como fungo nematófago e também forma armadilhas para a captura de nematoides e possui conídios septados. O que os diferencia do gênero *Arthrobotrys* é o formato fusiforme dos conídios divididos por quatro septos transversais. O isolado VCF58 identificado como *Monacrosporium aphrobrochum* ainda possui conidióforos solitários, eretos, que se desenvolvem separados uns dos outros também denominados mononematosos (Figura 2 e-f, m) (Rubner 1996).

O gênero *Metarhizium* é representado por cinco isolados. Os isolados VCF10, VCF25, VCF38 e VCF48 foram identificados como *M. robertsii*, um membro do complexo de espécies *M. anisopliae*, que inclui aproximadamente 20 espécies. Agrupa próximo das espécies *M. anisopliae*, *M. brunneum* (isolado VCF28) e *M. humeri*, *M. pingshaense* (Figura 5). Essas espécies são morfologicamente indistinguíveis. São consideradas patógenos generalistas de artrópodes. A morfologia conidial de *M. robertsii* é muito semelhante à de *M. anisopliae*. Foi observado em placa contendo MA2% que o padrão de crescimento e coloração da colônia entre os isolados de *M. robertsii* e *M. brunneum* apresentam diferenças pontuais. Em *M. brunneum* a tonalidade é predominante verde-claro e toma toda a placa com o envelhecimento do cultivo. Em *M. robertsii* o tom verde é escuro e o micélio branco mais presente mesmo com o envelhecimento da colônia. Por não conter mais isolados da espécie para a comparação, não se sabe se essas características são padrão das espécies ou apenas ocasionalidade (Mongkolsamrit et al. 2020) (Figura 4 c-d, j-k).

Metarhizium carneum que já foi inserido no gênero *Paecilomyces*, possui características distintas de outras espécies de *Metarhizium*, tanto na sua morfologia quanto na biologia. É considerado um fungo nematófago. Cultivado em MA2%, inicialmente a coloração da colônia é branca e logo tornando-se levemente esverdeada. O reverso da placa, levemente rosada. Conídios subglobosos/elipsoidais e rugosos (Figura 4 g-h, m-n) (Samson 1974).

Beauveria bassiana é representado por VCF14, VCF21 e VCF26, isolados a partir de amostras de solo e VCF29 obtido através da coleta de artrópode infectado naturalmente. A espécie tem como principal característica o aspecto cotonoso das colônias com coloração branca, cor que se mantém ao longo do cultivo e o verso da colônia levemente amarelado. Os conidióforos dispostos de forma irregular ao longo do micélio aéreo. As fiáldes com formato globoso na base, com ápice afilado, formando estruturas em zigue-zague. Os conídios predominantemente globosos e que são produzidos em pequenos agrupamentos na

extremidade das fiálides, conferindo o aspecto pulverulento típico às colônias (Figura 4 a-b, i) (De Hoog 1972; Soares et al. 2017).

Purpureocillium lilacinum, representado por VCF41, VCF49 e VCF55, é caracterizado principalmente pela coloração lilás/violeta-claro da colônia e textura aveludada, sendo esbranquiçada nas fases iniciais. O reverso varia de incolor a levemente violáceo (Figura g-h, l) (Samson 1974; Paes 2025).

O gênero *Clonostachys* representado por VCF18, VCF37 e VCF46, apresentarem conidióforos verticilados e penicilados e colônias com coloração branca nas fases iniciais de cultivo. *Clonostachys compactiuscula*, representado por VCF46, a principal característica distintiva entre outras espécies do gênero é a presença de conídios cilíndricos (Figura 3 e-f, m-n) (Schroers 2001). *Clonostachys chloroleuca*, representado por VCF37, apresenta colônias com coloração variando de branco-esverdeada a verde-oliva pálida, tonalidade que se intensifica com a maturação da cultura. Coloração característica e que se difere de outras espécies do gênero neste estudo (Figura 3 c-d, k-l) (Moreira et al. 2016). *Sesquicillium lasiacidis* (sin. *Clonostachys lasiacidis*) representado por VCF39, apresenta colônias inicialmente de coloração branca, tornando-se rosadas com o envelhecimento da cultura. Conídios predominantemente elipsoides. A morfologia é similar a *C. rosea* e a distinção entre as espécies foi possível com a análise molecular (Figura 6 e 3 a-b, i-j) (Schroers 2001).

6 DISCUSSÃO

6.1 Diversidade de fungos entomopatogênicos e nematófagos

Os resultados obtidos nesta pesquisa evidenciam elevada diversidade de fungos entomopatogênicos e nematófagos associados a amostras de solo, reforçando o papel do solo como principal reservatório natural desses microrganismos. Essa diversidade é consistente com estudos que demonstram que solos agrícolas e naturais abrigam comunidades fúngicas complexas, compostas por organismos com diferentes estratégias ecológicas e mecanismos de ação sobre insetos e nematoides (Soares et al. 2017; Dhar et al. 2019). A coexistência de fungos entomopatogênicos e nematófagos em um mesmo ambiente indica a ocorrência de diferentes níveis de regulação biológica, ampliando o potencial de controle natural de pragas do solo e da superfície.

6.2 Eficiência das metodologias de isolamento empregadas

A utilização das metodologias para fungos entomopatogênicos e nematófagos mostrou-se adequada para a recuperação da diversidade fúngica observada. A metodologia inseto-isca possibilitou o isolamento de fungos como *Beauveria*, *Metarhizium* e *Clonostachys* confirmando a sua eficácia para a prospecção de fungos patogênicos a insetos a partir do solo (Dalbon et al. 2024). Por sua vez, a técnica para fungos nematófagos foi determinante para o isolamento de fungos nematófagos, como *Arthrobotrys*, *Monacrosporium* e *Purpureocillium*. Estudos prévios indicam que meios pobres em nutrientes favorecem a expressão de estruturas de captura e o crescimento seletivo desses fungos, permitindo sua detecção e isolamento (Liu et al. 2022; Berhanu et al. 2020).

No entanto, a utilização de *Tenebrio molitor* e *Galleria mellonella* como inseto-isca predominante pode favorecer o isolamento de espécies generalistas mais comuns, como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Estudos recentes demonstram que diferentes espécies de *Metarhizium* apresentam especificidade ecológica e variação de virulência entre hospedeiros (Zhao et al. 2023). Assim, a inclusão de insetos representativos de diferentes ordens (Hemiptera, Orthoptera, Lepidoptera) pode ampliar a diversidade funcional recuperada.

As metodologias complementares: lavagem de solo e coleta de artrópode colonizado ajudaram para ampliar o espectro de isolamento desses fungos. A aplicação combinada dessas metodologias amplia significativamente a eficiência da prospecção, uma vez que diferentes

grupos fúngicos apresentam estratégias ecológicas distintas e respondem de maneira variável às condições de cultivo in vitro.

6.3 Origem dos isolados e adaptação ecológica

A maioria dos isolados obtidos nesta pesquisa teve origem em amostras de solo, reforçando a importância desse ambiente como fonte primária de fungos com potencial para o controle biológico. Um isolado de *Beauveria bassiana* foi obtido a partir de um inseto naturalmente infectado (Percevejo-marrom), evidenciando a ocorrência espontânea de infecções fúngicas em condições naturais, aspecto considerado altamente desejável na seleção de agentes biocontroladores (Dalbon et al. 2024). Adicionalmente, um isolado de *Purpureocillium lilacinum* foi proveniente de uma amostra do estado de Espírito Santo, permitindo a comparação entre isolados de diferentes origens geográficas. A literatura demonstra que a adaptação ao ambiente local influencia diretamente a eficiência do fungo, especialmente no que se refere à persistência no solo, competitividade microbiana e capacidade de parasitismo (Dhar et al. 2019; Souza et al. 2014).

6.4 Fungos nematófagos: diversidade funcional

Os fungos nematófagos isolados nesta pesquisa evidenciam elevada diversidade funcional, refletindo distintos modos de parasitismo e estratégias adaptativas no ambiente de solo. Para a captura de nematoides, *Arthrobotrys dactyloides* forma anéis constritores um mecanismo mecânico de captura distinto das redes adesivas que é característico de *A. oligospora*. Esses anéis se contraem rapidamente após o contato do nematoide, imobilizando-o antes da penetração e digestão (Li et al. 2005). Foi observado em placa tanto os anéis constritores quanto as redes adesivas de ambos isolados. A diferenciação morfológica dessas hifas especializadas é induzida principalmente pela presença de nematoides e por condições de baixa disponibilidade nutricional, evidenciando a transição entre fases saprofítica e predatória desses fungos (Nordbring-Hertz et al. 2006;

Metarhizium carneum (Duché & R. Heim) é representado pelo isolado VCF 58. Esse fungo é conhecido também por outros nomes, como *Paecilomyces carneus*. *P. carneus* (Duché & R. Heim) foi originalmente descrito como um fungo hifomiceto de ocorrência no solo, associado principalmente ao parasitismo de nematoides. Análises de marcadores morfológicos já indicavam que essa espécie seja distinta de outras espécies do gênero *Paecilomyces* seção Isarioidea (Samson 1974). Posteriormente, análises de filogenia molecular multilocus confirmaram seu posicionamento no gênero *Metarhizium*, passando a ser reconhecido como

Metarhizium carneum (Duché & R. Heim) Kepler, Rehner & Humber, em função de sua proximidade genética com espécies do complexo *Metarhizium anisopliae* sensu lato (Kepler et al. 2014; Lima 2023).

Apesar de sua inserção filogenética no gênero *Metarhizium*, *M. carneum* apresenta ecologia funcional distinta das espécies entomopatogênicas epizoóticas, sendo classificado predominantemente como fungo nematófago endoparasita. A espécie atua principalmente sobre ovos, juvenis de segundo estágio (J2) e fêmeas de nematoides fitoparasitas dos gêneros *Meloidogyne*, *Globodera* e *Heterodera*. O processo infeccioso envolve a adesão do fungo à superfície do hospedeiro, seguida de penetração ativa da cutícula e colonização dos tecidos internos, culminando na destruição do nematoide, mecanismo típico de fungos nematófagos especializados (Campos et al. 2007; Lima 2023). Descrições indicam ampla distribuição geográfica, com ocorrência em solos florestais e agrícolas, rizosfera de gramíneas, solos ricos em matéria orgânica e ambientes úmidos, onde apresenta maior incidência após períodos de elevada precipitação (Brown & Smith 1957; Samson 1974). A espécie tem sido isolada de diferentes tipos de solos, incluindo florestas de coníferas e folhosas, solos cultivados, solos arenosos finos e camadas subsuperficiais menos ácidas, o que evidencia sua adaptação a microambientes estáveis.

O gênero *Clonostachys* é reconhecido como sapróbio de solos, micoparasita e associado a nematoides, além de possuir atividade entomopatogênica. *Clonostachys rosea*, espécie-tipo, é descrita como parasita de fungos fitopatogênicos e frequentemente associada a cistos de nematoides dos gêneros *Heterodera* e *Globodera*, evidenciando potencial nematófago. Como micoparasita, tem sido testada com sucesso no controle biológico de patógenos como *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae* e espécies de *Botrytis*, atuando por meio da colonização e degradação de estruturas fúngicas no solo (Sutton et al. 1997; Toledo et al. 2006). Estudos mais recentes ampliaram seu espectro ecológico ao demonstrar sua capacidade entomopatogênica, com registros de infecção natural e ensaios de patogenicidade contra hemípteros como *Oncometopia tucumana*, *Sonesimia grossa* e *Bemisia tabaci*, nos quais o fungo coloniza o tegumento do hospedeiro e promove mortalidade significativa em condições laboratoriais. Esses dados evidenciam que *Clonostachys* constitui um gênero versátil dentro de Bionectriaceae, combinando estratégias como micoparasitismo, atividade nematófaga e entomopatogênica, o que reforça seu potencial em programas de controle biológico integrado (Toledo et al. 2006; Anwar et al. 2018). Isolados de *Clonostachys* sp. obtidos neste estudo por meio da metodologia destinada à prospecção de fungos entomopatogênicos (técnica do inseto-isca) constitui um resultado interessante,

evidenciando comportamento multifuncional no solo, atuando como sapróbio competitivo e, em alguns casos, como oportunista de insetos.

Assim, esse resultado amplia a compreensão sobre a diversidade funcional dos isolados recuperados, indicando que a metodologia de inseto-isca pode capturar não apenas fungos entomopatogênicos, mas também táxons com potencial nematófago e oportunistas, reforçando a importância do solo como reservatório estratégico para bioprospecção de agentes de controle biológico. Considerando que espécies de *Clonostachys*, especialmente *C. rosea*, são descritas como micoparasitas e também associadas a nematoides no solo, a proximidade filogenética de *S. lasiacidis* com esse grupo pode sugerir potencial funcional semelhante. Entretanto, até o momento não há evidências experimentais que confirmem atividade nematófaga para *S. lasiacidis*, sendo necessária a realização de estudos específicos de interação fungo-nematoide, incluindo ensaios de parasitismo e avaliação de produção de enzimas para verificar se essa espécie compartilha mecanismos ecológicos observados em linhagens próximas.

6.5 Considerações sobre os fungos entomopatogênicos isolados

Os isolados dos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* obtidos neste estudo integram um grupo amplamente reconhecido por sua importância no controle biológico de insetos-praga. Esses fungos infectam seus hospedeiros principalmente por contato com a cutícula, produzindo enzimas hidrolíticas e metabólitos secundários que culminam na morte do inseto. Além da mortalidade direta, estudos indicam efeitos subletais relevantes, como redução da fecundidade e alterações fisiológicas, que contribuem para a supressão populacional das pragas (Fathy et al. 2025).

Os três isolados de *Beauveria bassiana* provenientes de amostras de solo por meio da técnica do inseto-isca evidencia a eficiência desse método para recuperação de *B. bassiana* em solo, o que já é documentado, sendo descrita como estratégia eficaz para isolamento de fungos entomopatogênicos a partir de larvas de *Tenebrio molitor*. Além disso, a elevada frequência dessa espécie no solo é atribuída à sua ampla distribuição e adaptação ecológica, sendo considerada um dos fungos entomopatogênicos mais abundantes na natureza (Domingues 2022; Soares 2017).

Um isolado de *B. bassiana* obtido a partir de inseto naturalmente infectado reforça a ocorrência espontânea da infecção em condições de campo, confirmando seu ciclo patogênico caracterizado por adesão dos conídios à cutícula, germinação, penetração e posterior esporulação sobre o hospedeiro (Dalbon 2024). Em conjunto, esses resultados demonstram

que a combinação entre técnica de inseto-isca e coleta direta de insetos infectados amplia a recuperação de isolados com potencial para controle biológico.

A prospecção de *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium brunneum*, *Metarhizium carneum* e *Metarhizium robertsii* evidencia diversidade do gênero *Metarhizium* nos solos amostrados. Embora pertençam ao mesmo grupo filogenético, essas espécies apresentam diferenças ecológicas importantes. *M. anisopliae* e *M. robertsii* são amplamente reconhecidas como entomopatogênicas generalistas, com ampla distribuição em solos agrícolas e naturais, atuando no controle natural de insetos-praga. *M. brunneum* também apresenta potencial entomopatogênico, porém estudos demonstram variação de virulência entre isolados e especificidade ecológica associada ao hospedeiro (Zhao et al. 2023).

Por sua vez, *M. carneum* distingue-se por sua atuação predominante como fungo nematófago endoparasita, infectando ovos e juvenis de nematoides fitoparasitas, apesar de seu posicionamento filogenético próximo às espécies entomopatogênicas do complexo *M. anisopliae* (Kepler et al. 2014; Lima 2023). A ocorrência simultânea dessas espécies no solo reforça o papel desse ambiente como reservatório estratégico de agentes de controle biológico com diferentes mecanismos de ação, ampliando o potencial de aplicação em programas de manejo integrado de pragas e nematoides.

6.6 Integração dos resultados ao Manejo Integrado de Pragas

A diversidade de fungos entomopatogênicos e nematófagos obtida neste estudo reforça o potencial de sua utilização em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP). A coexistência de fungos com diferentes mecanismos de ação possibilita estratégias de controle mais estáveis e duradouras, reduzindo a dependência de insumos químicos e os impactos ambientais associados, além disso, fungos como *Clonostachys* sp. e *Purpureocillium lilacinum* apresentam potencial adicional como antagonistas de fitopatógenos, atuando por micoparasitismo e produção de enzimas hidrolíticas, o que amplia seu espectro de atuação e contribui para a saúde do solo. A seleção de isolados nativos, adaptados às condições de solo e clima locais, aumenta a probabilidade de sucesso em aplicações futuras e está alinhada às demandas atuais por sistemas agrícolas sustentáveis (Nordbring-Hertz et al. 2006; Soares et al. 2017; Moraes et al. 2025;).

Os resultados desta pesquisa demonstram que a prospecção em solo, associada ao uso de metodologias complementares de isolamento, permite recuperar ampla diversidade de fungos entomopatogênicos e nematófagos. A obtenção de isolados pertencentes a *Beauveria*, *Metarhizium*, *Clonostachys*, *Arthrobotrys*, *Purpureocillium* e *Monacrosporium* evidencia o

solo como fonte de agentes biocontroladores. Isolados autóctones apresentam vantagens ecológicas e funcionais, reforçando sua relevância para o desenvolvimento de estratégias de controle biológico e manejo integrado de pragas e nematoides em sistemas agrícolas tropicais.

7 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Os resultados deste estudo demonstram que a bioprospecção em solos de áreas naturais e agrícolas, aliada à aplicação integrada de metodologias de isolamento (inseto-isca, plaqueamento em ágar-água, lavagem de solo e coleta direta de artrópodes infectados), é uma abordagem eficiente para recuperar alta diversidade de fungos com potencial para o controle biológico. A obtenção de 23 isolados distribuídos em sete gêneros, incluindo fungos entomopatogênicos e fungos nematófagos, obtidos principalmente de amostras de solo evidencia esse ambiente como estratégico para o isolamento de fungos que atuam como reguladores naturais de populações de insetos e nematoides, com relevância para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) e para a redução da dependência de defensivos químicos. A combinação dos protocolos para fungos entomopatogênicos e nematófagos com metodologias complementares ampliou a representatividade da coleção obtida. Por fim, ao integrar caracterização morfológica e estratégias de identificação molecular, o estudo consolida uma base para seleção de linhagens nativas e para etapas futuros estudos para a seleção de isolados, contribuindo para o desenvolvimento de bioinsumos mais adaptados a condições regionais e alinhados às demandas por sistemas agrícolas sustentáveis.

REFERÊNCIAS

AUNG, O.M. Nematode-trapping fungi. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, v.1, 11–26, 2011.

ANWAR, W.; ALI, S.; NAWAZ, K.; IFTIKHAR, S.; JAVED, M.A.; HASHEM, A.; ALQARAWI, A.A.; ABD_ ALLAH E.F.; AKHTER, A. Entomopathogenic fungus *Clonostachys rosea* as a biocontrol agent against whitefly (*Bemisia tabaci*). *Biocontrol Science and Technology*, v. 28, 750–760. 2018.

ALTIERI, M.A.; NICHOLLS, C.I. Biodiversity and pest management in agroecosystems. New York: Haworth Press. v.2, 1-252, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). Plano de Transformação Digital. Brasília: MAPA, Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 31 out. 2025.

BARRON, G.L. The nematode-destroying fungi. Guelph. Canadian Biological Publications Ltd. 1-140, 1977.

BERHANU, T.; WUBIE, A.; ALEMAYEHU, A.; TESFAYE, K. Isolation and characterization of nematophagous fungi from soils of decomposed animal feces. *BMC Microbiology*, v. 20, 1–12, 2020.

BOTELHO, A.; Alves-Pereira, A.; PRADO R.C.; ZUCCHI, M.I.; DELALIBERA, J.I. *Metarhizium* species in soil from Brazilian biomes: a study of diversity, distribution, and association with natural and agricultural environments. *Fungal Ecology*, v.41, 289–300, 2019.

BROWN, A.H.S.; SMITH, G. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Byssoschlamys* Westling. *Transactions of the British Mycological Society*, v.40, 17–89, 1957.

CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V.; ASSIS, R.C.L.; GANDRA, J.R.; GUIMARÃES, M.P. Viabilidade de formulação peletizada do fungo nematófago *Monacrosporium sinense* no controle biológico de nematóides parasitos gastrintestinais de bezerros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, 14–20, 2007.

DALBON, V.A.; ACEVEDO, J.P.M.; RIBEIRO, J.K.A.L.; SILVA, J.M.; FERRO, M.M.M.; NEGRISOLI, J.A.S.; FONSECA, H.G.; SANTANA, A.E.G.; PORCELLI, F. Native entomopathogenic fungi isolated from *Rhynchophorus palmarum* (Linnaeus, 1758) in Northeast Brazil. *Insects*, v.15, 159, 2024.

DE HOOG, G.S. The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium*. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures. *Studies in Mycology*, v.1, 1-41, 1972.

DE HOOG G.S. Taxonomy of the *Dactylaria* complex, IV. *Dactylaria*, *Neta*, *Nodulisporium* and allied genera. *Studies in Mycology*, v.26, 1–60, 1985.

DHAR, S.; RAHMAN, M.; GUPTA, S.; BHATTACHARYYA, B. Molecular characterization of new isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and their efficacy against *Spodoptera litura*. Egyptian Journal of Biological Pest Control, v.29, 1–11, 2019.

DOMINGUES, M.M.; SANTOS, P.L.; GÊA, B.C.C.; CARVALHO, V.R.; OLIVEIRA, F.N. & SOLIMAN, E.P.; SILVA, W.M.; ZANUNCIO, J.C.; SANTOS JUNIOR V.C.; WILCKEN, C.F. Diversity of entomopathogenic fungi from soils of eucalyptus and soybean crops and natural forest areas. Brazilian Journal of Biology, v.82 Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.263240>. 2022

FATHY, Z.; MUHAMMAD, J.; ALI, S.S. The pathology of native entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae), on biological processes and ovarian structure of the African migratory locust, *Locusta migratoria migratorioides*. Egyptian Journal of Biological Pest Control, v.35, 6. 2025.

HEPPERLE, D. SeqAssem (C) A sequence analysis tool, contig assembler and trace data visualisation tool for molecular sequences. SequentiX - Digital DNA Processing, Disponível em: http://www.sequentix.de/software_seqassem.php. 2004.

IWASAKI, H.; TOKIWA, T.; SHIINA, M.; ASAMI, Y.; SHIOMI, K.; OMURA, S. & NONAKA, K. *Metarhizium aciculare* sp. nov. for euvesperins A and B producing *Metarhizium* strains. Mycoscience, v.60, 313–318, 2019.

KIEWNICK, S.; SIKORA, R.A. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus*. Biological Control, v.38, 179–187, 2006.

KEPLER, R.M.; HUMBER, R.A.; BISCHOFF, J.F. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. Mycologia, v.106, 811–829, 2014.

KRYUKOVA, V.Yu.; YAROSLAVTSEVA, O.N.; GLUPOV, V.V. Physiological and Ecological Aspects of Interactions between Entomopathogenic Fungi (Ascomycota, Hypocreales) and Insects. Entomological Review, v.101, 1096–1112, 2021.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution, v.35, 1547–1549, 2018.

LI Y.; ZHANG K.; LIU, X. Morphological variability and molecular phylogeny of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium*. Mycological Progress, v.4, 221–239, 2005.

LIU, X.; LI, J.; ZHANG, K.Q. *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* for the biological control of gastrointestinal nematodes of cattle. Biological Control, v.164, 104771, 2022.

LIU, Y.; YANG, Y.; WANG, B. Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. Scientific Reports 9 art. 6898. 2019.

LIMA, D.L.; ULTRERA, D.A.; MELÉNDEZ J.A.O.; VILLAIN, L & CARRIÓN, G. *Metarhizium carneum* formulations: a promising new biological control to be incorporated in the integrated management of *Meloidogyne enterolobii* on tomato plants. *Plants*, v.12, 3431. 2023.

LUZ, C.; TAI, M.H.H.; SANTOS, A.H.; ROCHA, L.F.N.; ALBERNAZ, D.A.S.; SILVA, H.H.G. Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes on *Aedes aegypti*. *Journal of Medical Entomology*, v.44, 799–804, 2007.

MANCINI, M.A.; MARIOTTINI, Y.; ASTIGUETA, F.H.; MARINELLI, C.; CEPEDA, R.; SCATTOLINI, M.C. & PELIZZA, S.A. Studies on new isolates of native entomopathogenic fungi from the Argentinean Pampas region affecting grasshopper pest. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.96, 785, 2024.

MASCARIN, G.M.; LOPES, R.B.; DELALIBERA I.J.; FERNANDES, E.K.K.; LUZ, C.; FARIA, M. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.165, 46-53, 2018.

MENDES, B.L.; FARIA, D.R.; SOUSA, K.C.I.; COSTA, M.P.L.R.M.R.; ARAÚJO, L.G. Orchid mycorrhizal fungus from the Brazilian Cerrado exhibits biocontrol activity against *Meloidogyne javanica*. *Mycorrhiza*, v.35, 3–9, 2025.

MESQUITA, E.I. Efficacy of a native isolate of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* against larval tick outbreaks under semifield conditions. *BioControl*, v.65, 353–362, 2020.

MONGKOLSAMRIT, S.; KHONSANIT, A.; THANAKITPIPATTANA, D.; TASANATHAI, K.; LUANGSA-ARD, J. Revisiting *Metarhizium* and the description of new species from Thailand. *Studies in Mycology*, v.95, 171–251, 2020

MOINO JUNIOR, A & CAVALCANTI, R.S. Fungos e nematoides entomopatogênicos. In: Moreira FMS, Huising EJ, Bignell DE (eds.). *Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade*. Earthscan. v.9, 165-172, 2010.

MORAES, C.K.; LOPES, R.B.; TAMAN, M.A.; ALVES, S.B. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* and *Purpureocillium lilacinum* against plant-parasitic nematodes. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.55, 58317, 2025.

MOREIRA, G.M.; ABREU, L.M.; CARVALHO, V.G.; SCHROERS, H.J.; PFENNING, L.H. Multilocus phylogeny of *Clonostachys* subgenus *Bionectria* from Brazil and description of *Clonostachys chloroleuca* sp. nov. *Mycological Progress*. v.5, 1–15, 2016.

MOTA, F.C.; FIGUEIREDO, J.S.; SILVA, M.C. Biological control of root-knot nematodes: an overview of the role of *Pochonia chlamydosporia*. *Parasitologia*, v.3, 248–265, 2004.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H.B.; TUNLID, A. Trap formation and capture of nematodes by nematophagous fungi. *Mycological Research*, v.99, 473-482, 1995.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H.B.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. DOI: 10.1038/npg.els.0004293. 2006

NORILER, S.A.; SAVI, D.C.; ALUIZIO, R.; Palácio-Cortes, A.M.; POSSIEDE, Y.M.; GLIENKE, C. Bioprospecting and structure of fungal endophyte communities found in the Brazilian biomes, Pantanal and Cerrado. *Frontiers Microbiology*, v.9, 1526, 2018.

PAES, B.S.J.; ARAÚJO, H.R.; OLIVEIRA, C.M.G.; ALMEIDA, J.E.M. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* and *Purpureocillium lilacinum* isolates in the control of *Meloidogyne incognita* race 3 in cotton. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.55, 83171. 2025.

PARKINSON, D.; WILLIAMS, S.T. A method for isolating fungi from soil microhabitats. *Nature*, v.215, 609–610, 1967.

PFENNING, L.H.; ABREU, L.M. Fungos do solo como saprófitos e patógenos de plantas. In: Moreira FMS, Huising EJ, Bignell DE (eds.). *Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade*. Earthscan, v.8, 173-202, 2010.

REN, Hai-Yan; LIU, Fang-Fang.; LIANG, Chao-Peng.; RAO, Xiang-Jun. Isolation of a native strain of *Clonostachys rosea* with insecticidal, antiphytopathogenic, and endophytic activities. *Archives of Microbiology*, v.207, art. 240, 2025.

RUBNER, A. *Revision of predacious Hyphomycetes in the Dactylella–Monacrosporium complex*. Tese (Doutorado em Botânica Sistemática) – Institut für Systematische Botanik und Pflanzengeographie, Freie Universität Berlin, 1996.

SAMSON, R.A. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures. *Studies in Mycology*, v.6, 1-71, 1974.

SILVA, L.L.; MOREIRA, I.C.; SILVA, T.M.; SILVA, L.B.; SANTOS, T.A.A.; OLIVEIRA, L.M.; SOUZA, D.F.; BRITO, A.O.; SANTOS, S.X. Bioprospecção de fungos de um fragmento de Cerrado no Brasil Central para aplicações biotecnológicas. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, v.7, 288–305, 2018.

SCHROERS H.J. A monograph of Bionectria (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and its *Clonostachys anamorphs*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures. *Studies in Mycology*, v.46, 1-214, 2001.

SOARES F.B.; MONTEIRO A.C.; BARBOSA, J.C.; MOCHI, D.A. Population density of *Beauveria bassiana* in soil under the action of fungicides and native microbial populations. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.39, 465–474, 2017.

SÖDERSTRÖM, B.E.; BAATH, E. Soil microfungi in three Swedish coniferous forests. *Holarctic Ecology*, v.1, 62–72, 1978.

SOUZA, F.A.; ROCHA, L.; ARAÚJO, J.V. *Clonostachys rosea* and *Duddingtonia flagrans* in the biological control of plant-parasitic nematodes. *Biological Control*, v.75, 1–8, 2014.

SUTTON, J.C.; LI, D.W.; PENG, G.; YU, H.; ZHANG, P.; Valdebenito-Sanhueza, R.M. *Gliocladium roseum* a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Disease* v.81, 316–328, 1997.

TABASHNIK, B.E. & CARRIERE, Y. Surges in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. *Nature Biotechnology*, v.35, 926–935, 2017.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. Clustal W Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, v.22, 4673-4680, 1994.

TOLEDO, A.; VIRLA, E.; HUMBER, R.; PARADELL, S.; LASTRA, C.L. First record of *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) as an entomopathogenic fungus of *Oncometopiatucumana* and *Sonesimiagrossa* (Hemiptera: Cicadellidae) in Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.92, 10, 2006.

VEJA, F.E.; GOETTEL, M.S.; BLACKWELL, M.; CHANDLER, D.; JACKSON, M.A.; KELLER, S.; KOIKE, M.; MANIANIA, N.K.; MONZON, A.; OWNLEY, B.H.; PELL, J.K.; RANGEL, D.E.N.; ROY, H.E. Fungal entomopathogens. In: Vega F E, Kaya HK (ed.). *Insect Pathology*. San Diego: Elsevier,. v.2, 171–220, 2012.

YAO, Y.; FU, K.; WANG, X.; DU, G.; PENG, Y.; SMAGGHE, G.; WANG, W.; CHEN, B. Isolation and characterization of a native *Metarhizium rileyi* strain Mrpgbm2408 from *Paralipsa gularis* in maize: first data on efficacy and enzymatic host response dynamics. *Insects*, v.9, art.872, 2025.

ZHAO, J.; CHEN, Y.; NEMAT, O.Q.; WANG, C.; LI, Y.; PU, H.; LI, J.; LIU, S.; LAI, P.; ZHU, M.; HE, X.; CAI, S.; GUAN, X.; QIU, J. Isolation of a highly virulent *Metarhizium* strain targeting the tea pest, *Ectropis obliqua*. *Frontiers in Microbiology*, v.14, art. 1164511. 2023.

ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Biological control of plant-parasitic nematodes by *Clonostachys rosea*: mechanisms and applications. *Biological Control*, v.144, 104–214, 2020.

ZIMMERMAN, G. The ‘Galleria bait method’ for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal Applied Entomology*, v.102, 213-215, 1986.

ANEXO A - TABELAS

TABELA 1 - Espécies de fungos e produtos formulados. Apenas dois isolados são utilizados supostamente em mais de 250 formulações (Fonte: Brasil, 2025).

Agente Biológico	Isolado	Nº de Produtos Formulados	Categoria
<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 425	133	Inseticida
<i>Metarhizium anisopliae</i>	ASN 054	1	Inseticida
<i>Metarhizium anisopliae</i>	BV 12	1	Inseticida
<i>Metarhizium anisopliae</i>	CCT 8019	1	Inseticida
<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 348	1	Inseticida
<i>Metarhizium anisopliae</i>	E9	1	Inseticida
<i>Metarhizium anisopliae</i>	**	1	Inseticida
<i>Metarhizium riley</i>	CG 1153	1	Inseticida
<i>Metarhizium riley</i>	CCT 7771	2	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	IBCB 66	128	Acaricida/Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	ASN 053	1	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	BVF 15	1	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	CCT8006	1	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	BALL 6-2	2	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	CBMAI 1306	5	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	CBMAI 2359	1	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	CG 1420	1	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	ESALQ 1432	1	Inseticida
<i>Beauveria bassiana</i>	**	15	Inseticida
<i>Isaria fumosorosea</i>	**	7	Inseticida
<i>Isaria fumosorosea</i>	FUNG 14	1	Nematicida
<i>Isaria javanica</i>	BV 14	1	Inseticida
<i>Isaria javanica</i>	URM 7662	1	Inseticida
<i>Cordyceps javanica</i>	CBMAI 2831	1	Inseticida
<i>Cordyceps javanica</i>	CCT 5818	1	Inseticida
<i>Cordyceps javanica</i>	BRM 27666	1	Inseticida
<i>Cordyceps javanica</i>	ESALQ 3428	1	Inseticida
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	**	2	Inseticida
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	CCT 8068	1	Nematicida
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	CPQBA 040-11 DRM 10	1	Nematicida
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	URM 7661	2	Nematicida
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	UEL Pae 10*	1	Nematicida
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	**	3	Nematicida
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	CCT 8029	1	Nematicida
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	CBMAI 2833	1	Nematicida
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	BV 05	1	Nematicida

<i>Purpureocillium lilacinum</i>	PUR 1709	1	Nematicida
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	CCT 8030	1	Nematicida
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Pc 10	1	Nematicida
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	URM 8121	2	Nematicida
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	CCT 4077	1	Nematicida
<i>Clonostachys rosea</i>	CPQBA 040-11 DRM 07	1	Fungicida
<i>Trichoderma afroharzianum</i>	Th2RI99	2	Fungicida
<i>Trichoderma afroharzianum</i>	CEN 287	1	Fungicida
<i>Trichoderma asperelloides</i>	ESALQ 1306	1	Fungicida/Nematicida
<i>Trichoderma asperelloides</i>	ESALQ 2946	1	Fungicida
<i>Trichoderma asperellum</i>	**	5	Fungicida
<i>Trichoderma asperellum</i>	T2	1	Fungicida
<i>Trichoderma asperellum</i>	URM 8117	1	Fungicida
<i>Trichoderma asperellum</i>	BRM-29104 e BRM-295760	1	Fungicida
<i>Trichoderma asperellum</i>	BVF24	1	Fungicida
<i>Trichoderma asperellum</i>	CBMAI 1622*	4	Fungicida
Total geral		350	

Fonte: Da autora (2026)

TABELA 2 - Isolados de fungos obtidos nesse estudo

Gênero - espécie	Cód.	Hospedeiro / Substrato	Local	Barcode		
				ITS	TEF	RPB2
Método para fungos nematófagos						
<i>Arthrobotrys</i> cf. <i>oligospora</i>	VCF1	Mata	Lavras MG ₁	x		x
<i>Arthrobotrys</i> cf. <i>dactyloides</i>	VCF5	Mata	Lavras MG ₂	x		x
	VCF6	Café	Três Pontas MG	x		x
	VCF40	Mata	Conceição do Rio Verde MG	x		x
<i>Purpureocillium</i> cf. <i>lilacinum</i>	VCF57	Mata	Três Corações MG	x		x
	VCF55	Mata	Água Boa MT	x		x
Método para fungos entomopatogênicos com uso de inseto-isca						
<i>Beauveria</i> cf. <i>bassiana</i>	VCF14	<i>Tenebrio</i> / Mata	Lavras MG ₃	x	x	
	VCF21	<i>Galleria</i> / Mata	Lavras MG ₄	x	x	
	VCF26	<i>Galleria</i> / Mata	Lavras MG ₅	x	x	
<i>Clonostachys</i> sp.	VCF18	<i>Tenebrio</i> / Mata	Lavras MG			
<i>Clonostachys</i> cf. <i>compactiuscula</i>	VCF46	<i>Tenebrio</i> / Mata	Água Boa MT			
<i>Clonostachys</i> cf. <i>chloroleuca</i>	VCF37	<i>Tenebrio</i> / Mata	Três Corações MG			
<i>Sesquicillium lasiacis</i>	VCF39	<i>Tenebrio</i> / Mata	Barbacena MG	x	x	
<i>Metarhizium robertsii</i>	VCF10	<i>Tenebrio</i> / Mata	Lavras MG		x	x
	VCF38	<i>Tenebrio</i> / Mata	Barbacena MG		x	x
	VCF25	<i>Tenebrio</i> / Mata	Três Corações MG		x	x
<i>Metarhizium brunneum</i>	VCF28	<i>Tenebrio</i> / Mata	Lavras MG		x	x
<i>Metarhizium</i> cf. <i>robertsii</i>	VCF48	<i>Tenebrio</i> / Mata	Água Boa MT			
<i>Monacrosporium</i> cf. <i>aphrobrochum</i>	VCF56	Mata	Água Boa MT	x	x	
Métodos complementares						
<i>Beauveria</i> cf. <i>bassiana</i>	VCF29 _a	Percevejo-marrom (<i>Euschistus heros</i>)	Buritizal SP	x	x	
<i>Metarhizium</i> cf. <i>carneum</i>	VCF58 _b	Mata	Barbacena MG	x	x	
<i>Purpureocillium</i> cf. <i>lilacinum</i>	VCF49 _b	Solo sob Café	Linhares ES			
<i>Purpureocillium</i> cf. <i>lilacinum</i>	VCF41 _b	Mata	Barbacena MG	x	x	

Legenda: a = Isolamento direto. b = Lavagem de solo. Amostras: 1 = 21°13'58.2"S 44°59'33.3"W, 2 = 21°13'39.6"S 44°57'50.6"W, 3 = 21°13'51.5"S 44°59'06.1"W, 4 = 21°13'39.9"S 44°59'07.6"W, 5 = 21°13'46.6"S 44°59'10.3"W

Fonte: Da autora (2026)

ANEXO B - FIGURAS

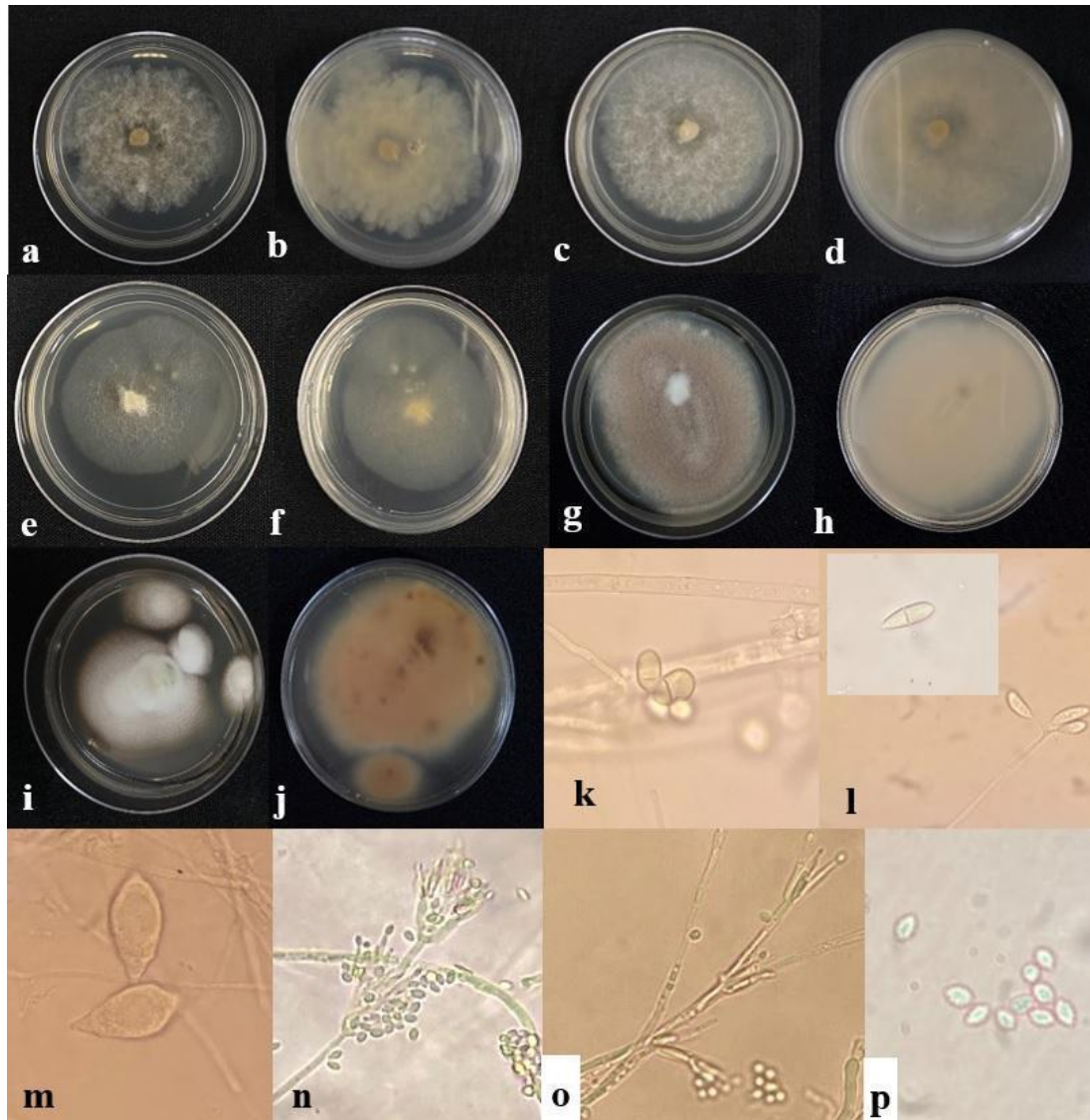
FIGURA 1 - Insetos e nematoides colonizados por fungos



Legenda: Técnica do inseto-isca (A-D), *Tenebrio molitor* colonizado por *Clonostachys* sp. (A); *Galleria mellonella* colonizada por *Beauveria bassiana* (B); *T. molitor* colonizado por *Metarhizium* spp. (C-D); Método de isolamento para fungos nematófagos (E-F), nematoides capturados por hifas especializadas de *Arthrobotrys* sp. (D), conídios de *Arthrobotrys* sp. (F); Coleta direta de inseto colonizado (G), Percevejo-marrom (*Euschistus heros*) colonizado por *B. bassiana* (G).

Fonte: Da autora (2026)

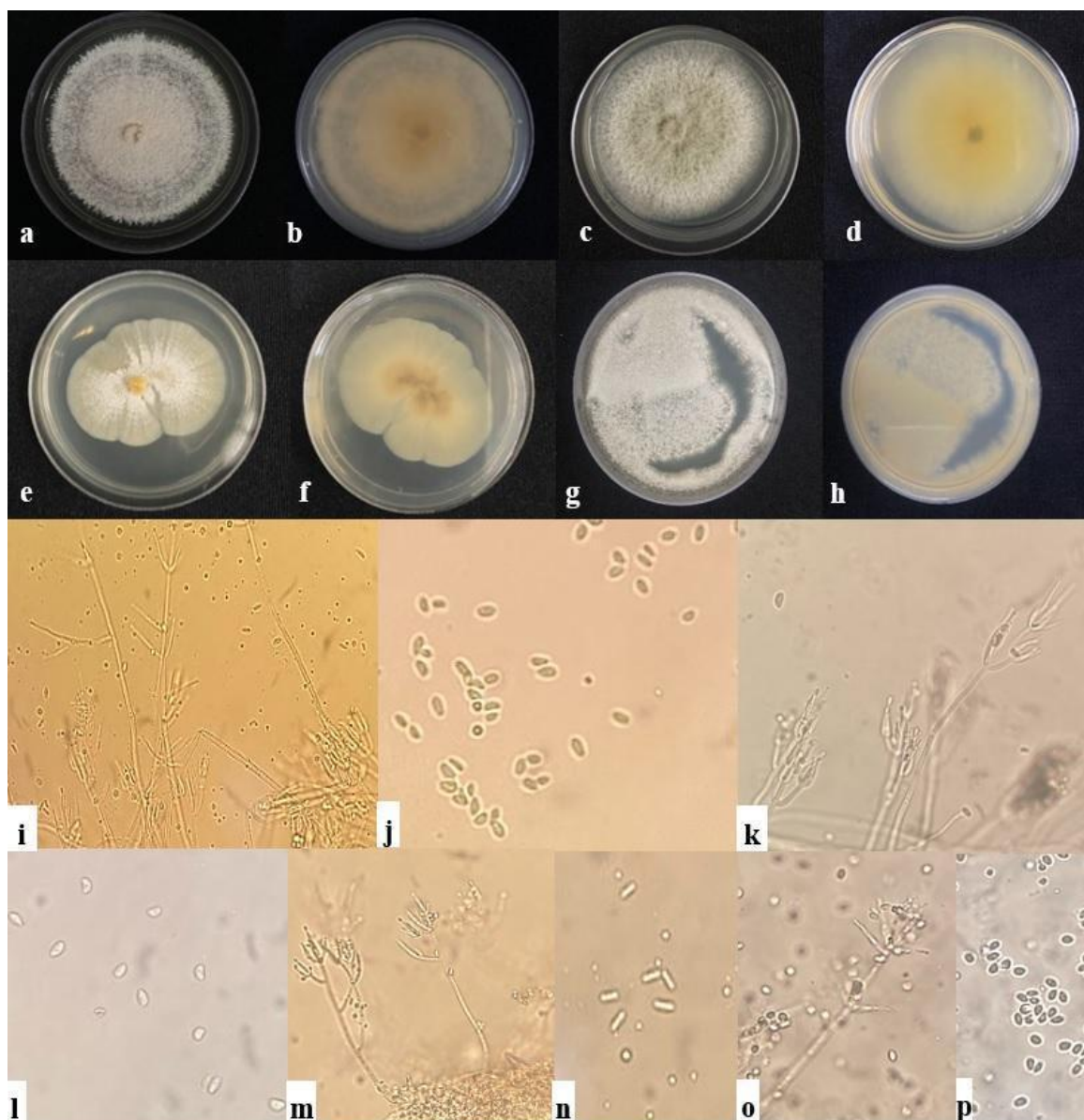
FIGURA 2 - Fungos nematófagos



Legenda: *Arthrobotrys oligospora* (a-b, k), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (a-b), conídios (k). *Arthrobotrys dactyloides* (c-d, l), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (c-d), conídios (l); *Monacrosporium aphrobrochum* (e-f, m), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (e-f), conídios (k); *Purpureocillium lilacinum* (g-h, n), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (g-h), conidióforo e conídios (l); *Metarhizium carneum* (i-j, o-p), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (i-j), conidióforo (o), conídios rugosos (p).

Fonte: Da autora (2026)

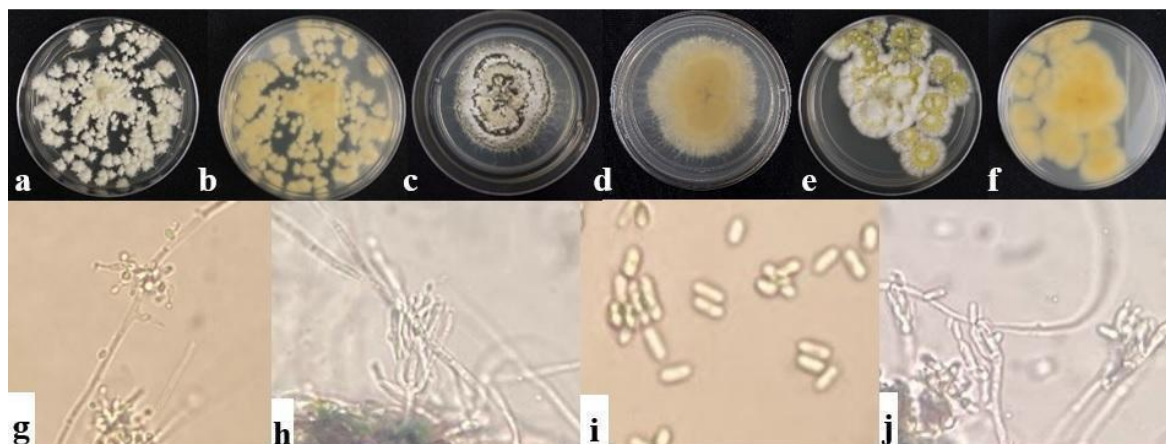
FIGURA 3 - Espécies de *Clonostachys/Sesquicillium*.



Legenda: *S. lasiacidis* (a-b, i-j), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (a-b), conidióforo verticilado e penicilado (i), conídios (j); *C. chloroleuca* (b-c, k-l) frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (c-b), conidióforo (k), conídios (l); *C. compactiuscula* (e-f, m-n), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (e-f), conidióforo (m), conídios com formato oblongos, cilíndricos (n); *Clonostachys* sp.(g-h, o-p), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (g-h), conidióforo (o), conídios com formato elipsoidal (p).

Fonte: Da autora (2026)

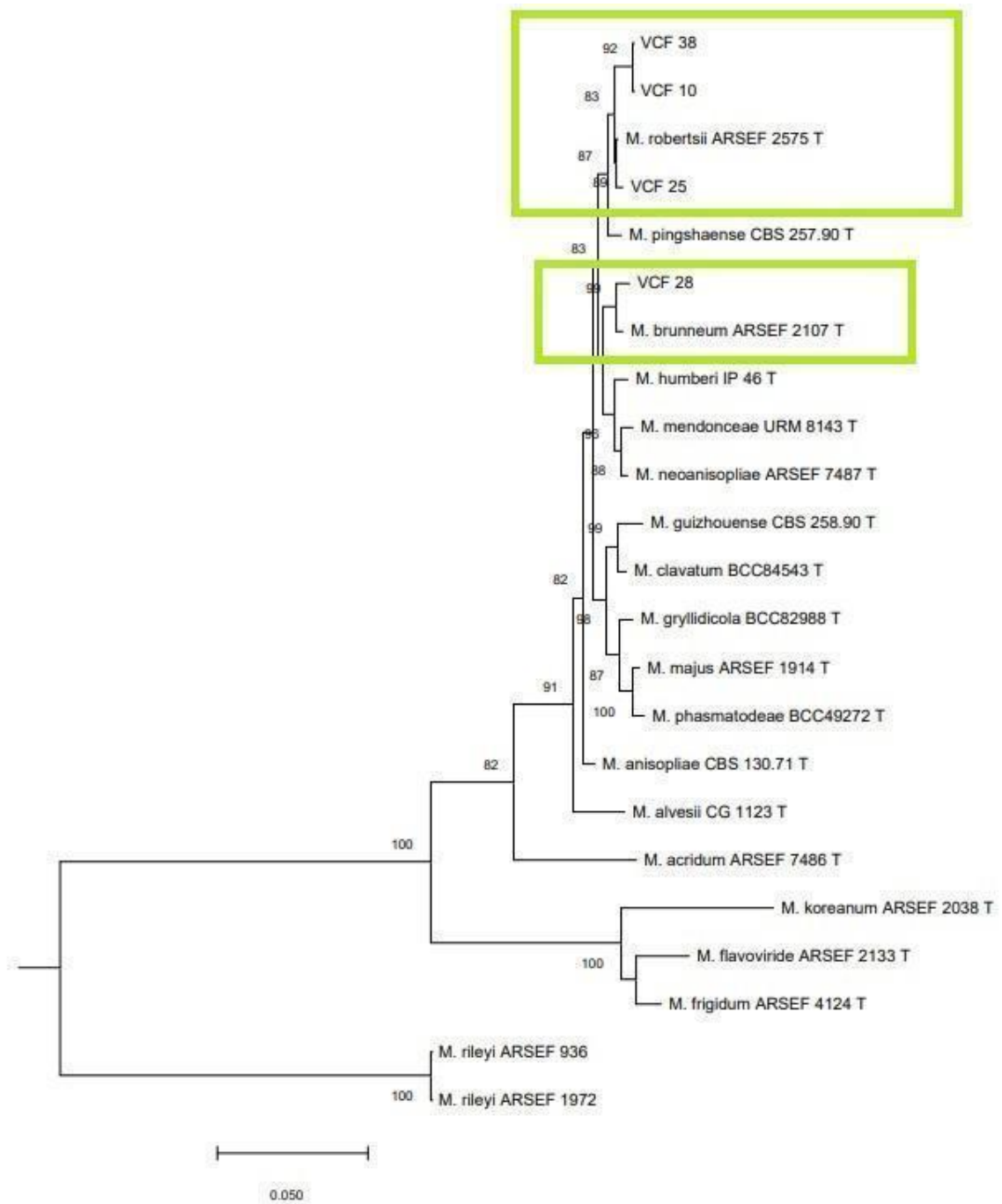
FIGURA 4 - Fungos entomopatogênicos



Legenda: *Beauveria bassiana* (a-b, g), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (a-b), conidióforo e fiálides (g); *Metarhizium robertsii* (c-d, h-i), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (c-d), conidióforo (h), conídios (i); *Metarhizium brunneum* (e-f, j), frente e verso da colônia em MA2% após 10 dias de incubação (e-f), fiálides e conídios (j).

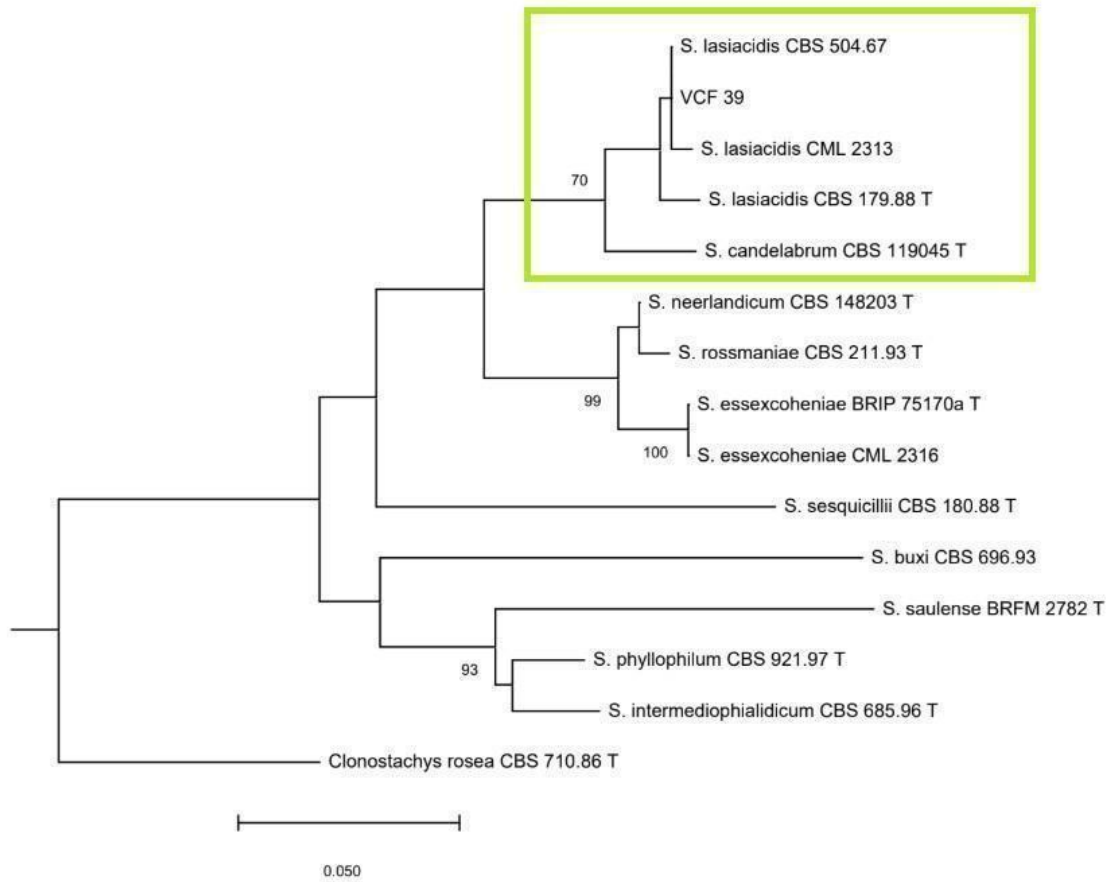
Fonte: Da autora (2026)

FIGURA 5 - Filogenia de *Metarhizium robertsii* e *M. brunneum* baseada em sequências das regiões TEF e RPB2



Fonte: Glaucia Mara Moreira (2026)

FIGURA 6 - Filogenia para *Sesquicillium lasiacidis* baseada em sequências da região ITS



Fonte: Glaucia Mara Moreira (2026)