

Estado da publicação: O preprint não foi publicado em outro meio.

# Fungos endofíticos isolados da cana-de-açúcar e patogenicidade em adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae)

Raquel Moraes Costa Pereira, Julia Vaccari Bristotti, José Eduardo Marcondes Almeida

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.14490>

Submetido em: 2025-12-09

Postado em: 2025-12-09 (versão 1)

(AAAA-MM-DD)

**Fungos endofíticos isolados da cana-de-açúcar e patogenicidade em adultos de**  
***Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae)**

**Endophytic fungi isolated from sugarcane and pathogenicity in adults of**  
***Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae)**

Raquel Moraes Costa Pereira<sup>1</sup>

[gestao.ma@hotmail.com](mailto:gestao.ma@hotmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-4095-3071>

Julia Vaccari Bristotti<sup>1</sup>

[ju.bristotti@hotmail.com](mailto:ju.bristotti@hotmail.com)

<https://orcid.org/0009-0005-3786-2709>

José Eduardo Marcondes Almeida<sup>1</sup>

[jose.marcondes@sp.gov.br](mailto:jose.marcondes@sp.gov.br)

<https://orcid.org/0000-0003-2551-6313>

<sup>1</sup>Instituto Biológico

**Resumo**

Os gêneros mais comuns de fungos endofíticos encontrados em cana-de-açúcar são: *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Beauveria* sp. e *Cordyceps* sp. O objetivo deste trabalho foi de prospectar fungos endofíticos da cultura da cana-de-açúcar e verificar patogenicidade em *Sphenophorus levis*. Foram realizadas duas coletas de amostras de folhas e raízes em três regiões do Estado de São Paulo: Sertãozinho, Araras e Paraguaçu Paulista. As amostras foram levadas ao laboratório e passaram por processo de desinfestação superficial e desinfecção profunda com posterior cortes de folhas e raízes

inoculação das partes em placa de Petri contendo BDA, incubadas por até cinco dias em câmara BOD  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Seguiu-se com a classificação macroscópica e após a molecular. Os testes de patogenicidade foram realizados com adultos de *S. levis* com idades entre 10 e 40 dias. Foram três testes com o seguinte delineamento para todos: cinco tratamentos, incluindo a testemunha, com cinco repetições e cinco adultos de *S. levis* em cada. As variações concentrações das suspensões fúngicas foram: água,  $1\times 10^6$ ,  $1\times 10^7$ ,  $1\times 10^8$  e  $5\times 10^8$  conídios/mL. Foram identificadas as espécies: *Beauveria bassiana*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *Trichosporon asahii*, *Aspergillus sojae* e *Fusarium andiyazi*. A mortalidade de *S. levis* foi avaliada por sete dias consecutivos com colocação dos insetos em câmara úmida e incubados a temperatura  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  em BOD. Aos resultados foram aplicados testes ANOVA seguidos do teste Tukey ( $p>0,05$ ) por meio do software RStudio®. O melhor desempenho foi para *Fusarium oxysporum* com maior mortalidade em todas as concentrações testadas.

**Palavras-chave:** *Fusarium oxysporum*, mortalidade, besouro, avaliação molecular.

### Abstract

Some of the most common genera of endophytic fungi found in sugarcane are: *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Beauveria* sp., and *Cordyceps* sp. The aim of this study was to prospect endophytic fungi from commercial sugarcane fields and to evaluate their pathogenicity against *Sphenophorus levis*. In 2022, two sampling campaigns of leaves and roots were carried out in three regions of the State of São Paulo: Sertãozinho, Araras, and Paraguaçu Paulista. The samples were taken to the laboratory and subjected to surface sterilization followed by deep disinfection. Subsequently, segments of leaves and roots

were placed on Petri dishes containing PDA (Potato Dextrose Agar) and incubated in a BOD growth chamber at  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  for up to five days. Fungal isolates were initially classified based on macroscopic characteristics and later identified through molecular techniques. Pathogenicity tests were conducted using *S. levis* adults aged between 10 and 40 days. Three bioassays were performed, each using the same experimental design: five treatments (including the control), with five replicates per treatment and five beetles per replicate. The fungal suspension concentrations used were: T1 = sterile water (control), T2 =  $1\times 10^6$ , T3 =  $1\times 10^7$ , T4 =  $1\times 10^8$ , and T5 =  $5\times 10^8$  conidia/mL. The following species were identified: *Beauveria bassiana*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *Trichosporon asahii*, *Aspergillus sojae*, and *Fusarium andiyazi*. *S. levis* mortality was assessed daily for seven consecutive days. After exposure, insects were placed in a humid chamber and incubated at  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  in a BOD chamber. Data were subjected to ANOVA followed by Tukey's test ( $p > 0.05$ ), using RStudio software. The best performance was for *Fusarium oxysporum* with higher mortality at all concentrations tested.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum*, mortality, beetle, molecular evaluation

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância econômica para o Brasil, sendo o estado de São Paulo responsável por cerca de 60% da produção nacional (CONAB, 2024; ÚNICA, 2024). Um marco no manejo dessa cultura foi a promulgação da Lei Estadual nº 11.241/2002, que proibiu a queima da palha na pré-colheita. Embora essa medida tenha proporcionado melhorias na qualidade do solo, também trouxe um desafio agrônomo relevante: a manutenção da palha no solo sem causar outros prejuízos. Essa cobertura vegetal favorece a ocorrência de pragas subterrâneas, entre elas uma das pragas de maior importância para a cultura da cana-de-açúcar: o coleóptero

*Sphenophorus levis*. Esse coleóptero, apesar de baixa mobilidade em campo, tiveram suas populações aumentadas consideravelmente nos canaviais (DINARDO-MIRANDA, 2014; BRILHANTE et al., 2022).

Os danos causados por *S. levis* são expressivos, uma vez que o inseto afeta o sistema radicular da planta, comprometendo o desenvolvimento e a absorção de nutrientes. Em muitos casos, essa situação resulta na necessidade de replantio precoce, elevando os custos de produção (GIOMETTI et al., 2011; CASTELIANI et al., 2020). O manejo da praga é dificultado por seu ciclo de vida holometábolo e pelos hábitos crípticos da fase larval. Além disso, o controle químico apresenta limitações: além do risco de resistência (SATYANARAYANA et al., 2024), estudos relatam baixa mortalidade da praga mesmo com o aumento das doses aplicadas (FERREIRA et al., 2024).

Diante desses entraves, cresce o interesse por alternativas sustentáveis de manejo. Nesse cenário, o controle biológico com fungos entomopatogênicos surge como uma estratégia promissora (ALVES et al., 2008; PEREIRA et al., 2021; PEREIRA, et al., 2023). Em particular, os fungos endofíticos, que são aqueles que habitam os tecidos internos das plantas sem causar danos, destacam-se por seu potencial multifuncional: podem atuar no controle biológico de pragas, no antagonismo a patógenos e na promoção do crescimento vegetal, além de aumentar a tolerância a estresses ambientais (FORS et al., 2020; SILVA et al., 2024). Espécies como *Daldinia eschscholzii* e *Trichoderma* sp. já são reconhecidas por essas propriedades (ASNIAH, TAUFIK, 2025; SEKTIONO et al., 2023).

Neste cenário, abrem-se oportunidades favoráveis ao desenvolvimento de soluções biológicas e investigações voltadas à avaliação da patogenicidade desses microrganismos, o que podem fornecer subsídios importantes para futuras estratégias de controle biológico desta e de outras pragas. Isso corrobora com os índices do mercado de

bioinsumos no Brasil, que apresentou crescimento de 15% nas vendas na safra 2023/2024 (CROPLIFE BRASIL, 2024). No entanto, os estudos sobre o potencial patogênico de fungos endofíticos contra pragas edáficas, como *S. levis*, ainda são escassos.

Esta pesquisa teve como objetivo prospectar fungos endofíticos provenientes do cultivo de cana-de-açúcar e avaliar o potencial entomopatogênico de alguns isolados, identificados em nível molecular, contra adultos de *S. levis* em condições de laboratório.

## **Material e métodos**

### **Coletas**

Nos meses de março e abril de 2022, período chuvoso, foram realizadas coletas de amostras de folhas, raízes e solo da cultura da cana-de-açúcar em três regiões do Estado de São Paulo: Usina Santo Antônio (USA), localizada dentro da Fazenda Boa Esperança, Sertãozinho, São Paulo. O talhão escolhido foi o 24, possui 24 ha e foi subdividido em uma área de 12,28 ha. A variedade da planta foi a RB 85-5156, de 3º corte. O índice de infestação por *S. levis* na época foi de 17%; Usina São João (USJ), localizada dentro da Fazenda São João, Zona Rural, Araras, São Paulo. A área escolhida foi na zona 11004 e talhão 4 com área de 27,3 ha. A variedade cultivada foi a SP 80-3280, sendo de 3º corte e o local na época da coleta apresentou índice de infestação por *S. levis* em 18% e Agroterenas (AT), pertencente à Agroterenas S.A., Unidade de Maracá, Paraguaçu Paulista, São Paulo. O talhão escolhido foi o 6 com 7,7 ha, com cultivo da cana-de-açúcar da variedade CTC 9002, de 2º corte e índice de infestação por *S. levis* em 40% na época da coleta. Foram duas coletas em cada área sendo um total de seis coletas.

Em cada coleta foram obtidas 10 amostras de folhas, 10 amostras de raízes, totalizando assim 60 amostras de folhas e 60 amostras de raízes.

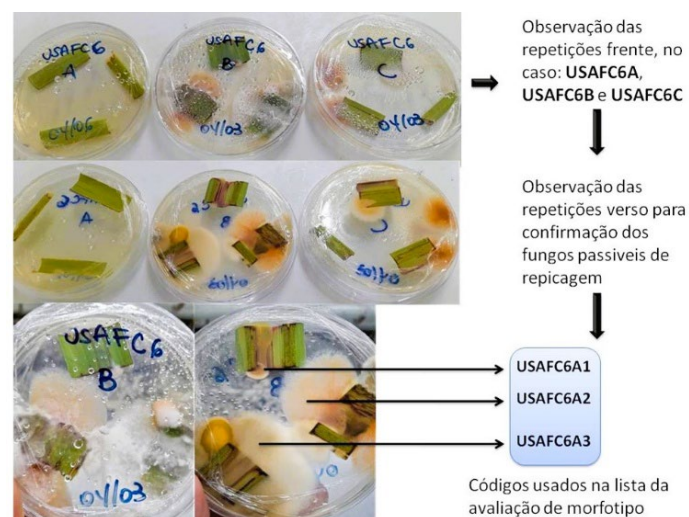
### **Critérios para avaliação macroscópica e molecular**

Para a avaliação macroscópica foi feita verificação dos seguintes parâmetros: coloração frente e verso, textura e topografia (CARVALHO; PEREIRA, 2016). Para a classificação da textura observou-se a altura dos micélios aéreos, sendo a classificação para estes em: cotonosa (micélio aéreo alto e denso), aveludada (micélio aéreo baixo), granular (superfície plana e esfarelenta) e glabra (sem micélio aéreo/leveduras). Para a avaliação da topografia da colônia, os parâmetros utilizados foram: rugosa (sulcos profundos/raios a partir do centro), umbilicada (elevação central), plana (sem elevação, mas partindo do centro) e verrucosa (superfície franzida e retorcida).

### **Isolamento de fungos endofíticos**

Para o isolamento dos fungos endofíticos as amostras recém-chegadas do campo passaram primeiramente por desinfestação superficial que consistiu em: lavagem com detergente neutro e em água corrente, visando à retirada de microrganismos epifíticos. Em seguida, as plantas foram classificadas em canas 1 a 10 e foi criado um código para cada usina, e então passaram pela desinfestação profunda. O método de desinfestação profunda foi feito com base nos protocolos do Serviço Laboratorial de Referência em Controle Biológico (SLRCB) do Instituto Biológico (IB) de Campinas, São Paulo, e adaptado de Araújo, 2002 e Mello 2011. O trabalho de desinfestação profunda foi realizado em câmara fluxo laminar, com a imersão do material em álcool a

70% por 3 minutos, em seguida imersão em hipoclorito de sódio a 2,5% de Cloro ativo por 10 minutos, em seguida imersão em álcool a 70 % por 1 minuto e enxágue por duas vezes em água destilada autoclavada. Uma gota desta última foi colocada em placa de Petri contendo o meio BDA (batata-dextrose-ágar) e incubada em câmara tipo BOD a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  por sete dias a fim de verificar a eficácia da desinfestação. Fragmentos do material foram secos em papel toalha e em seguida passaram por cortes de maneira que permitissem a colocação de três fragmentos com cerca de 1,5 cm cada (folha ou raiz) placa de Petri com meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). As placas com o material foram armazenadas em câmara climatizada tipo BOD a  $26^\circ\text{C} \pm 1$  e fotofase de 12 horas por quatro a cinco dias conforme o crescimento da colônia para os diferentes fungos. Cada placa foi identificada com o código criado contendo a sigla da usina, o número da cana, a letra da repetição e o número referente ao fungo observado (Fig. 1).



**Figura 1** – Fluxograma para geração dos códigos para a classificação macroscópica dos fungos expressos após os fragmentos ficarem em BOD  $26^\circ\text{C} \pm 1$  e fotofase de 12 horas por quatro a cinco dias. Fonte: Pereira, R.M.C., 2023.

Após esta etapa, foi feita nova repicagem com o objetivo de isolar cada fungo. Foi realizada a avaliação de todos os morfotipos com base em CARVALHO; PEREIRA (2016). Os fungos que cresceram após cinco repicagens consecutivas e acondicionados em temperatura  $18 \pm 1^\circ \text{C}$ , passaram por nova avaliação macroscópica, dessa vez de maneira comparativa com a placa da repicagem e a nova repicada, a fim de observar se houve diferenças na morfologia e envio para análise e identificação molecular.

### **Análise molecular e identificação de espécies**

Para a análise molecular e identificação das espécies, após seleção de cepas que apresentaram boa formação de colônias. Os isolados foram repicados em tréplica, com colônias dispostas em três pontos, livres de contaminações e com cerca de 10 dias e encaminhados em duplicata para empresa especializada em identificação molecular. O método para a identificação por sequenciamento utilizou marcadores comuns para os fungos: ITS (Internal Transcribed Spacer) e o TEF (Elongation Factor 1-alpha). Ao sequenciamento das bases foi aplicado procedimento de bioedição, sendo a determinação das espécies por comparação dos resultados de cada sequenciamento por meio da National Library of Medicinal; National Center of Biotechnology Information (NCBI), Blast®.

### **Experimentos com adultos de *Sphenophorus levis***

Dos fungos identificados, foram escolhidos ao acaso: fungo endofítico prospectado da folha, morfotipo 20 da amostra USJFC6B1, coleta I, Usina São João e identificado como *Beauveria bassiana*; o fungo endofítico *Trichosporon asahii*

prospectado da folha, morfotipo 21 da amostra ATFC5A2, coleta II, Usina Agroterenas e o fungo endofítico *Fusarium oxysporum* prospectado da raiz, morfotipo 40 da amostra USARC10C2, coleta I, Usina Santo Antônio. Para a elaboração das suspensões fúngicas, foi feita repicagem dos fungos em placas de Petri com BDA (batata-dextrose-ágar) para a obtenção de colônias jovens e conídios com maior probabilidade de viabilidade. As suspensões para os tratamentos foram: água,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  e  $5 \times 10^8$  conídios /mL. O método de aplicação foi por imersão em 1 mL de suspensão fúngica por 60 segundos. Foram cinco tratamentos, incluindo a testemunha, com cinco repetições e cinco besouros em cada. A mortalidade foi acompanhada e registrada por sete dias. Os besouros mortos foram acondicionados em placas de Petri estéreis contendo algodão hidrófilo umedecido com água destilada simulando câmara úmida e acondicionados em câmara climatizada tipo BOD com  $26 \pm 1^\circ \text{C}$  com fotofase 12 horas por até sete dias para observação da esporulação.

### **Análise estatística**

Aos resultados dos experimentos com adultos de *S. levis*, foi utilizado teste ANOVA seguido pelo teste Tukey ( $p < 0,5$ ) por meio do software RStudio.

### **Resultados**

#### **Isolamento dos fungos endofíticos**

Tanto para a coleta I quanto para a coleta II, após a observação e classificação morfológica macroscópica, foi possível o isolamento de um total de 480 de

endofíticos (folhas e raízes). Nesta etapa foi possível a observação macroscópica de alguns gêneros: *Beauveria* sp., *Rizophus* sp., *Aspergillum* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. No entanto, a maioria dos isolados não tiveram continuidade no crescimento após cinco repicagens em BDA (batata-dextrose-ágar), de maneira que não foi possível a identificação desses que apresentaram características fastidiosas. Assim, a identificação das espécies por meio da biologia molecular foi bastante reduzida.

### Avaliação molecular e espécies identificadas

Após as avaliações macroscópicas e verificação de condições de crescimento das colônias após as repicagens, 11 isolados foram listados (Tab. 01) e encaminhados para análise molecular.

**Tabela 01** – Isolados de fungos endofíticos da cana-de-açúcar, referentes às coletas I e II, folhas e raízes, enviados para avaliação molecular

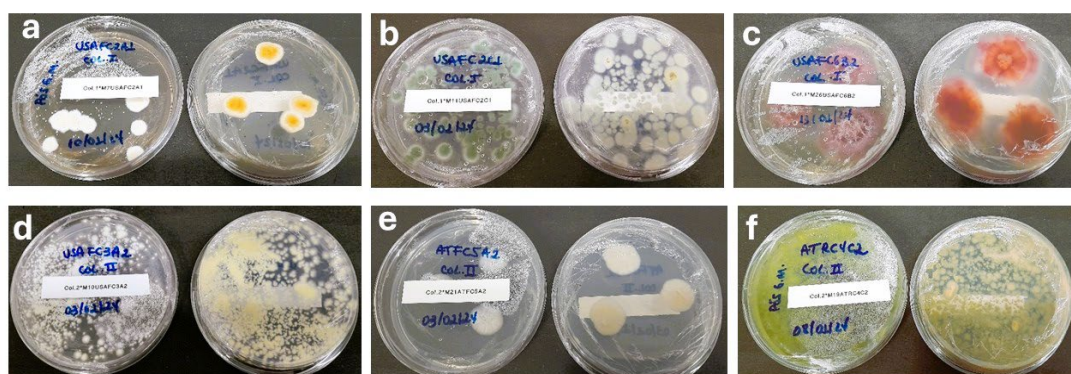
Coleta	M*	Código	Cor frente	Cor verso	Textura	Topografia	Crescimento Uniforme	Anéis Concêntricos
I	7	USAFC2A1	Branco	Amarelado	Aveludada	Umbilicata	Sim	Não
I	11	USAFC2C1	Branco/verde	Branco	Granular	Umbilicata	Sim	Não
I	26	USAFC6B2	Rosado	Rosado	Algodonosa	Umbilicata	Sim	Não
I	26	USARC7A1	Branco	Alaranjado/ Branco	Algodonosa	Umbilicata	Sim	Não
I	40	USARC10C2	Branco/laranja	Laranja	Algodonosa	Umbilicata	Sim	Não
I	20	USJFC6B1	Branco	Amarelado	Aveludada	Umbilicata	Sim	Não
I	29	USJFC9C1	Branco/creme	Amarelado	aveludada	Umbilicata	Sim	Não
II	10	USAFC3A2	Creme/branco	Creme/branco	Algodonosa	Umbilicata	Sim	Não
II	21	ATFC5A2	Creme	Creme	Aveludada	Rugosa	Sim	Não
II	5	ATRC1C2	Rosado	Roxo	Algodonosa	Umbilicata	Sim	Não
II	19	ATRC4C2	Verde	Verde/creme	Granular	Plana	Não	Não

\*Morfotipo=isolado

Das amostras enviadas para avaliação molecular seis foram espécies diferentes com nível de confiabilidade acima de 98 % conforme critérios de comparação dos resultados de cada sequenciamento por meio da National Library of Medicinal; National Center of Biotechnology Information (NCBI), Blast® (Tab. 02) (Fig. 02).

**Tabela 03** – Espécies identificadas após análise molecular dos fungos endofíticos da cana-de-açúcar, referentes às coletas I e II, folhas e raízes

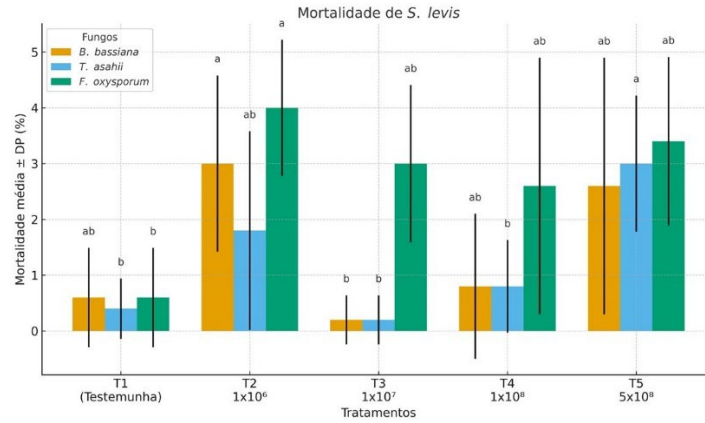
Coleta	M*	Código	Bases	Confiabilidade	Espécie confirmada
I	7	USAFC2A1	541/541 bases ITS	100%	<i>Beauveria bassiana</i>
I	11	USAFC2C1	550/550 bases ITS 609/611 bases TEF	99%	<i>Penicillium chrysogenum</i> group
I	26	USAFC6B2	514/514 bases ITS 521/514 bases TEF	100%	<i>Fusarium andiyazi</i>
I	26	USARC7A1	515/515 bases ITS 577/578 bases TEF	99 %	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex ( <i>foetens</i> )
I	40	USARC10C2	515/515 bases ITS 563/563 bases TEF	100%	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex ( <i>foetens</i> )
I	20	USJFC6B1	541/541 bases ITS	100%	<i>Beauveria bassiana</i>
I	29	USJFC9C1	538/538 bases ITS	100%	<i>Beauveria bassiana</i>
II	10	USAFC3A2	515/515 bases ITS 564/564 bases TEF	100%	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex ( <i>foetens</i> )
II	21	ATFC5A2	509/510 bases ITS	99%	<i>Trichosporon asahii</i>
II	5	ATRC1C2	515/515 bases ITS 581/581 bases TEF	100%	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex ( <i>foetens</i> )
II	19	ATRC4C2	564/564 bases ITS 597/599 bases TEF	99%	<i>Aspergillus sojae</i>

**Figura 02** – Fungos identificados em nível de espécie; a) *Beauveria bassiana*, b) *Penicillium chrysogenum*, c) *Fusarium andiyazi*, d) *Fusarium oxysporum*, e) *Trichosporon asahii*, f) *Aspergillus sojae*. Imagens: Pereira, R.M.C., 2024.

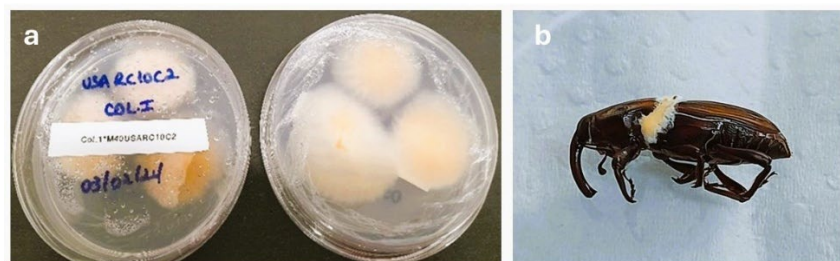
### Experimentos com adultos de *S. levis*

Os resultados indicam que os isolados endofíticos testados tiveram efeitos variáveis em resposta às diferentes concentrações de esporos aplicados. A resposta dose-dependente observada em USJFC6B1 e ATFC5A2 sugere que concentrações nos tratamentos T2 e T5 apresentaram maior eficácia. Já o isolado USARC10C2 mostrou

maior eficiência em todas as concentrações testadas, sugerindo que ele pode ser uma opção em termos de eficácia para o controle biológico de *S. levis*. (Figs. 03 e 04).



**Figura 03** – Mortalidade de *S. levis* após aplicação de suspensões fúngicas de fungos endofíticos prospectados da cana-de-açúcar. Letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,5$ ).



**Figura 04** – Fungo endofítico (espécie) prospectado da raiz da cana; a) placa de Petri com colônias; b) adulto de *S. levis* infectado e esporulado em experimento. Imagens: Pereira, R.M.C., 2024.

## Discussão

### Fungos endofíticos

A prospecção de fungos endofíticos em cana-de-açúcar resultou no isolamento de um número expressivo de colônias (480), das quais a maioria não se desenvolveu após

repicagens. Esse desafio na manutenção pode ser atribuído a exigências específicas desses microrganismos, como a necessidade de interações com outros micro-organismos ou com o próprio hospedeiro (DUAN et al., 2024; ISHIDA et al., 2022). O declínio das colônias após cinco repicagens, juntamente com o crescimento diminuído e a alteração de suas características morfológicas, sugere que muitos dos isolados possuíam um endofitismo mais dependente, o que dificultou sua preservação *in vitro*. Espécies como *Epicoccum nigrum* mostram endofitismo facultativo, podendo viver dentro ou fora da planta (FÁVARO et al., 2012). Em alguns casos, como na formação da "raiz branca" associada a *Dictyophora indusiata*, há interações complexas com bactérias que afetam o metabolismo vegetal (DUAN et al., 2024). Embora muitos endófitos sejam adaptáveis, alguns parecem depender de condições ou parceiros específicos para se desenvolver, o que pode indicar exigências semelhantes às de organismos fastidiosos e justificar o declínio da maioria dos isolados neste estudo, pois aqueles que não se desenvolveram após as repicagens, também apresentaram colônias diminutas e com características macroscópicas diferentes da inicial. A variabilidade de isolados também pode estar relacionada às condições ambientais do entorno dos talhões e aos bioinsumos aplicados (HUANG et al., 2020), uma vez que as amostras foram coletadas em um curto intervalo de tempo durante o período chuvoso. As características morfológicas diversas, como a variação na coloração das colônias, corroboram a plasticidade fenotípica desses microrganismos (BERNARDI-WENZEL et al., 2012).

Apesar do potencial significativo dos fungos endofíticos para a saúde e produtividade da cana-de-açúcar, a escassez de pesquisas sobre a interação desses microrganismos com o hospedeiro limita o seu uso como agentes de biocontrole ou biofertilizantes (Kumar et al., 2018). Por isso, estudos que elucidem a biodiversidade e o potencial desses fungos são essenciais para otimizar seu uso na agricultura sustentável.

## **Análise molecular**

A ubiquidade dos fungos é indiscutível, pois estes podem ser encontrados em diferentes ecossistemas e em diferentes hospedeiros. Os resultados da análise molecular das cepas obtidas nas coletas I e II indicaram a predominância de fungos do gênero *Fusarium* sp., especialmente do complexo de espécies *F. oxysporum*. A alta confiabilidade de identificação (98% a 100%) sugere a adaptação dessas cepas ao ambiente agrícola da cana-de-açúcar. Embora o *Fusarium* sp. seja amplamente conhecido por sua natureza fitopatogênica em diversas culturas, sua identificação como endófito mostra a possibilidade de dualidade de funções: como patógeno em certas condições e endófito em outras, reforçando a complexidade das interações planta-microrganismo e a necessidade de mais estudos para elucidar essas dinâmicas (MICHEREFF et al., 2005; LUCAS et al., 2023). Já a presença de *Beauveria bassiana* é outro achado importante. Amplamente reconhecido por sua eficácia no controle de pragas agrícolas (PEREIRA et al., 2021), *B. bassiana* também pode ter propriedades endofíticas, o que pode explicar sua ocorrência nas amostras. Assim, o isolamento dessa espécie em cana-de-açúcar pode indicar um potencial endofítico ou uma adaptação facilitada pelo uso de bioinsumos na lavoura, reforçando seu papel como potencial agente de biocontrole na microbiota local (ROSWANJAYANA et al., 2021).

## **Experimentos com *S. levis***

Nos experimentos de patogenicidade os isolados endofíticos apresentaram efeitos variáveis contra adultos de *S. levis*. Surpreendentemente, *F. oxysporum* exibiu

uma mortalidade maior do que *B. bassiana*. Esse resultado contrasta com a literatura tradicional, que frequentemente aponta *B. bassiana* como um agente de biocontrole mais robusto. A menor eficácia de *B. bassiana* neste estudo sugere a necessidade de mais pesquisas para otimizar as condições de aplicação ou isolamento. Por outro lado, a maior mortalidade observada com *F. oxysporum* indica que esta cepa pode ter desenvolvido mecanismos de adaptação para atuar como endófito patogênico em *S. levis*, apesar de ser um agente causal de doenças em outras culturas (QUEVEDO et al., 2023).

Para validar esses achados e ratificar o uso dos fungos endofíticos prospectados como bioinseticidas, sugere-se mais testes de patogenicidade em laboratório, incluindo a avaliação de concentrações diferentes das já testadas e ainda, a realização de ensaios em condições de campo.

## **Conclusões**

- O fungo endofítico *Fusarium oxysporum* demonstrou maior patogenicidade contra adultos de *S. levis* do que *Beauveria bassiana* em testes de laboratório.
- É necessário a realização de testes de patogenicidade adicionais para validar o uso dos fungos prospectados como bioinseticidas eficazes no controle de *S. levis* em condições de campo.

## **Agradecimentos**

Ao Instituto Biológico e ao Programa de Pós-graduação, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e ao PROBAT - Fundepag.

## **AUTHORSHIP CONTRIBUTION (CONTRIBUIÇÃO DE AUTORIA)**

Raquel Moraes Costa Pereira

Conceptualization (Lead); Data curation (Lead); Formal analysis (Lead); Methodology (Lead); Project administration (Lead); Writing - original draft (Lead); Writing - review & editing (Lead)

Julia Vaccari Bristotti

Methodology (Equal); Visualization (Equal)

José Eduardo Marcondes Almeida

Conceptualization (Equal); Project administration (Equal); Resources (Lead); Supervision (Lead); Validation (Lead)

## **AVAILABILITY OF DATA AND MATERIAL (declaração de disponibilidade de dados de pesquisa)**

The datasets generated and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## **FUNDING**

Not applicable.

## **CONFLICTS OF INTEREST**

All authors declare that they have no conflict of interest.

## **ETHICAL APPROVAL**

Not applicable.

## Referências bibliográficas

ALVES, S.B. et al. **Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina**. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B (Eds.). Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba: Fealq, 2008. p.69-110.

ARAÚJO, W. L. et al. **Manual de Isolamento de microrganismos endofíticos**. Esalq, Piracicaba, 2002, 86 p.

ASNIAH, A.; TAUFIK, M. (2025). Morphological and Molecular Characteristics of Endophytic Fungi in Sugarcane as Antagonists of the Pathogen *Fusarium sacchari*. **Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences**, 181–192. <https://doi.org/10.22194/jgias/25.1538>

BRILHANTE, F. D. et al., **REVISÃO DE LITERATURA: Uso de *Beauveria bassiana* no controle biológico de *Sphenophorus levis* Vaurie 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar. Manejo de pragas e doenças: a busca por formas sustentáveis de controle**. vol 2, n. 1, p. 133-150, 2022.

BERNARDI-WENZEL, L. et al., Isolamento e atividade antagonística de fungos endofíticos de soja (*Glycine max.* (L.) Merrill). SaBios: Ver. Saúde e Biol., v.7, n.3, p.86-96, set-dez, 2012. ISSN:1980-0002.

CARVALHO, S. B. G.; PEREIRA, M. Fungos endofíticos em raízes de *Prosthechea pachycephala* (Orchidaceae) da Serra do Cipo – MG. **Natureza online**, Santa Tereza-ES, 9 p. 2016. Disponível em: < <https://naturezaonline.com.br/revista/article/view/86> >.

Acesso em: 10 set. 2023.

CASTELIANI, A. F. et al., (2020) Behavioral aspects of *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), damage to sugarcane and its natural infection by *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Rhabditidae) **Crop Protection**, v. 137, p. 105262, 2020.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Produção de cana-de-açúcar é estimada em 689,8 milhões de toneladas na safra 2024/2025**. Disponível em: <

[https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5685-producao-de-cana-de-acucar-e-estimada-em-689-8-milhoes-de-toneladas-na-safra-2024-](https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5685-producao-de-cana-de-acucar-e-estimada-em-689-8-milhoes-de-toneladas-na-safra-2024-2025#:~:text=Com%20uma%20estimativa%20de%208,em%2079.953%20quilos%20por%20hectare.>)

[2025#:~:text=Com%20uma%20estimativa%20de%208,em%2079.953%20quilos%20por%20hectare.>](https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5685-producao-de-cana-de-acucar-e-estimada-em-689-8-milhoes-de-toneladas-na-safra-2024-2025#:~:text=Com%20uma%20estimativa%20de%208,em%2079.953%20quilos%20por%20hectare.>). Acesso em: 12 set. 2024.

CROPLIFE (CLB), **Mercado de bioinsumos cresceu 15% na safra 2023/2024**.

Disponível em: < [Mercado de bioinsumos cresceu 15% na safra 2023/2024 - CropLife Brasil](#) >. Acesso em: 10 out.2024.

DINARDO-MIRANDA, L. L. **Nematoides e pragas da cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2014.

DUAN, Mingzheng et al. *Dictyophora indusiata* and *Bacillus aryabhatai* improve sugarcane yield by endogenously associating with the root and regulating flavonoid metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1326917, 2024.

FÁVARO, L. C. L., SEBASTIANES, F. L. S., ARAÚJO, W. L. (2012). *Epicoccum nigrum* P16, a Sugarcane Endophyte, Produces Antifungal Compounds and Induces Root Growth. **PLoS one**, v. 7, n. 6, p. e36826, 2012.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036826>.

FERREIRA, P. H. U., FERREIRA, M. C., VIEIRA, E. (2024). *Improving Sphenophorus levis* Adult Mortality with Solid Insecticide Applications and Increased Insecticide Dose. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4018984/v1>

FORS, R. O. et al. Dark septate endophytic fungi associated with sugarcane plants cultivated in São Paulo, Brazil. **Diversity**, v. 12, n. 9, p. 351, 2020.  
<https://doi.org/10.3390/d12090351>

GIOMETTI, F.H.C. et al., (2011). Virulência de nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae). **Bragantia**, 70: 81-86.

HUANG, W.; SUN, D.; FU, J.; ZHAO, H.; WANG, R.; AN, Y. Effects of Continuous Sugar Beet Cropping on Rhizospheric Microbial Communities. **Genes**, v.11, p.13, 2020.

ISHIDA, Juliane K. et al. Towards defining the core *Saccharum* microbiome: input from five genotypes. **BMC microbiology**, v. 22, n. 1, p. 193, 2022.

KUMAR, N. M. et al. Genetically modified organisms and its impact on the enhancement of bioremediation. **Bioremediation: applications for environmental protection and management**, p. 53-76, 2018. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7485-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7485-1_4)

LUCAS, S. S. et al. Fusariose no Semiárido Brasileiro: Impacto e danos em culturas agrícolas. In: Avanços da pesquisa e inovação em sistemas agrícolas: conjuntura das ciências agrárias. **Editora Científica Digital**, 2023. p. 21-41.

MELLO, S. C. M. Manual de Curadores de Germoplasma, Microorganismos: Fungos filamentosos. In: Sueli Corrêa Marques de Mello, Ailton Reis e João Batista Tavares da Silva. Brasília, DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 25 p., 2011. (Documento técnico 134).

MICHEREFF, S. J. et al. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J. et al. Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife, Imprensa Universitária UFRPE, p. 1–18, 2005.

PEREIRA, R. M. C.; ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. Comparison of different application methods to biological control *Hypothenemus hampei*. *Coffee Science*, Lavras, v. 16, p. 1-7, 2021. <https://doi.org/10.25186/v16i.1873>

PEREIRA, R.M.C.; ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. Applying different infective structures of *Beauveria bassiana* to *Coffea arabica* infested with *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) under field. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 89, 2023. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000182022>

QUEVEDO, A. C. et al. Ação antagonista in vitro de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum*. **Ciência Florestal**, v. 32, p. 2288-2303, 2023.

ROSWANJAYA, Y. P.; SARYANAH N. A.; DEVI L. (2022). Conidia production of *Beauveria bassiana* in solid substrate fermentation using a biphasic system. First Asian PGPR Indonesian chapter international e-conference 2021, KnE life sciences, volume 2022, pages 648-663. DOI 10.18502/cls.v7i3.11169

RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, **Boston**, MA, disponível em: URL <http://www.rstudio.com/>.

SATYANARAYANA, P., et al., Exploring the Impact of Pesticide Resistance in Agricultural Pest Management. <https://doi.org/10.30955/gnj.05931>

SEKTIONO, A. W., et al., (2023). Potential of Endophytic Fungi as Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF) Against Growth of Single Bud Set Seedlings on Sugarcane Plants (*Saccharum officinarum* L). 008(08), 71–79. DOI: [10.21776/ub.jpt.2023.008.1.8](https://doi.org/10.21776/ub.jpt.2023.008.1.8)

SILVA, L., et al., (2024). Characterization of dark septate endophytic fungi *Periconia macrospinosa* isolated from roots of sugarcane in São Paulo, Brazil. **Anais da Academia**

**Brasileira de Ciências**, 96 suppl 3, e20231367 . <https://doi.org/10.1590/0001-3765202420231367>.

ÚNICA – União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. 2024. Disponível em: <  
<https://unica.com.br/noticias/safra-2023-2024-termina-como-a-maior-da-historia/>>.

Acesso em: 22 set. 2024.

## Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que os dados, aplicativos e outros conteúdos subjacentes ao manuscrito estão referenciados.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa, quando aplicável, estão descritas no manuscrito.
- Os autores declaram que uma vez que um manuscrito é postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo só poderá ser retirado mediante pedido à Secretaria Editorial do SciELO Preprints, que afixará um aviso de retratação no seu lugar.
- Os autores concordam que o manuscrito aprovado será disponibilizado sob licença [Creative Commons CC-BY](#).
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores e declaração de conflito de interesses estão incluídas de maneira explícita e em seções específicas do manuscrito.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.
- O autor submissor declara que todos os autores do manuscrito concordam com a submissão ao SciELO Preprints.