UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM ÊNFASE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

ALANIS TRINDADE PORTO

CARACTERIZAÇÃO TAXONÔMICA E FILOGENÉTICA DE *Fusarium* LINK (SORDARIOMYCETES, ASCOMYCOTA) ASSOCIADOS AO CUPIM ARBORÍCOLA *Nasutitermes corniger* MOTSCHULSKY EM ÁREAS URBANAS DE PERNAMBUCO

Recife
2025

ALANIS TRINDADE PORTO

CARACTERIZAÇÃO TAXONÔMICA E FILOGENÉTICA DE *Fusarium* LINK (SORDARIOMYCETES, ASCOMYCOTA) ASSOCIADOS AO CUPIM ARBORÍCOLA *Nasutitermes corniger* MOTSCHULSKY EM ÁREAS URBANAS DE PERNAMBUCO

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel.

Orientador: Roger Fagner Ribeiro Melo

Coorientadora: Marília Pereira Rodrigues de Melo

Recife - PE

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Porto, Alanis Trindade.
CARACTERIZAÇÃO TAXONÔMICA E FILOGENÉTICA DE Fusarium LINK (SORDARIOMYCETES, ASCOMYCOTA) ASSOCIADOS AO CUPIM ARBORÍCOLA Nasutitermes corniger MOTSCHULSKY EM ÁREAS URBANAS DE PERNAMBUCO / Alanis Trindade Porto. - Recife, 2025.
50 p.

Orientador(a): Roger Fagner Ribeiro Melo
Cooorientador(a): Marília Pereira Rodrigues de Melo
(Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, , 2025.
Inclui referências, anexos.

1. cupins arboricolas. 2. fungos filamentosos. 3. filogenia. 4. fungos entomofílos. I. Melo, Roger Fagner Ribeiro. (Orientação). II. Melo , Marília Pereira Rodrigues de . (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

ALANIS TRINDADE PORTO

CARACTERIZAÇÃO TAXONÔMICA E FILOGENÉTICA DE *Fusarium* LINK (SORDARIOMYCETES, ASCOMYCOTA) ASSOCIADOS AO CUPIM ARBORÍCOLA *Nasutitermes corniger* MOTSCHULSKY EM ÁREAS URBANAS DE PERNAMBUCO

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel.

Aprovada em: 25/03/2025

COMISSÃO EXAMINADORA

gov.br Documento assinado digitalmente
ROGER FAGNER RIBEIRO MELO
Data: 01/04/2025 08:48:49-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo (orientador) (UFPE)

gov.br Documento assinado digitalmente
ANA CARLA DA SILVA SANTOS
Data: 04/04/2025 08:34:03-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dra. Ana Carla da Silva Santos (UFPE)

gov.br Documento assinado digitalmente
NEIVA TINTI DE OLIVEIRA
Data: 08/04/2025 14:18:48-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Neiva Tinti de Oliveira (UFPE)

Recife - PE

2025

À minha mãe, Michely.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família, meu porto seguro, meus pais Michely Trindade da Silva e Roberto Clayton Porto Barbosa, que trabalharam incansavelmente para me proporcionar o melhor, que me apoiaram em cada decisão, me incentivaram em cada desafio e me amparam em cada queda. Vocês são a minha base, a minha fortaleza e o meu maior orgulho. Amo vocês mais do que palavras possam expressar.

À minha querida irmã Aline Trindade Porto, que, além da implicância, aprendi sobre compartilhar e cuidar, minha companheira de aventuras, minha confidente, minha amiga para todas as horas, agradeço por cada risada, cada palavra de apoio. Você é meu porto seguro e meu pedaço de infância. Te amo demais!

Aos meus professores, que iluminaram e impulsionaram minha jornada acadêmica, sou imensamente grata pelos ensinamentos, incentivos e por acreditarem no meu potencial. Em especial à professora Dra. Laura Mesquita Paiva, meu eterno reconhecimento pela sua sabedoria, competência e cuidado, que foram fundamentais para a realização deste sonho.

Ao meu orientador, o professor Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo, por toda a metodologia e paciência durante todo esse processo, pelos ensinamentos durante a escrita e nesses dois anos. Irei levar todo o aprendizado em frente.

À minha maravilhosa coorientadora MSc. Marília Pereira Rodrigues de Melo, por confiar que eu seria capaz, por me inspirar, por compreender o meu tempo, por me oferecer recursos e por ter sido você! Foi uma honra ser orientada pela melhor de todas. Meu imenso obrigada por todos os ensinamentos, correções e soluções! Com você, eu nunca tive medo.

Agradeço aos membros do Laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores por terem me acolhido e me recebido tão bem, em especial à Joana Cavalcante de Moura e Ana Carla da Silva Santos, que foram essenciais para a construção dessa monografia e por terem confiado no meu potencial, à Athaline Gonçalves Diniz pelas palavras de apoio e aprendizado.

Agradeço aos meus amigos, meu “pequeno” grupo de 12 pessoas que me acompanharam durante a graduação, em especial às minhas amigas Adrienny Gomes, Camila Vicente, Evelyne Vitória e Maria Clara Soares, pela amizade que

criamos, que sempre acreditaram e confiaram em mim, foram fonte de risadas e companheirismo ao longo desses anos.

Por fim, mas não menos importante, meu sincero agradecimento a todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa etapa tão importante da minha vida. Cada palavra de apoio e incentivo, cada gesto de carinho foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

"*I never really noticed that I had to decide, to play someone's game or live my own life, and now I do, I wanna move, out of the black, into the blue*"

Lana Del Rey, 2017

RESUMO

Os fungos são organismos eucarióticos e heterotróficos amplamente distribuídos, associados a diversos ambientes e hospedeiros. No planeta, estima-se a existência de mais de 3 milhões de espécies, mas apenas cerca de 150 mil foram descritas. Algumas espécies de fungos interagem com insetos para dispersão de esporos, enquanto outras são cultivadas como alimento por certos grupos, como os cupins. Esses fungos podem contribuir para a digestão de celulose e lignina, além de influenciar o comportamento e a organização das colônias. O objetivo deste estudo foi investigar a diversidade, caracterização taxonômica e filogenética das espécies de *Fusarium* associadas ao cupim arborícola *Nasutitermes corniger* em área urbana de Pernambuco. Nesse estudo foram selecionados isolados de Fusarium obtidos previamente em uma coleta de cupins em três espécies vegetais (*Mangifera indica*, *Syzygium malaccense* e *Schinus terebinthifolius*) no campus da Universidade Federal de Pernambuco (Recife), entre março e agosto de 2019 (Melo, M.P.R. 2019). Os isolados fúngicos foram reativados de criopreservação e submetidos à purificação por cultura monospórica. A identificação taxonômica foi realizada por análise morfológica e molecular, utilizando os genes *EF-1α*, *RPB1* e *RPB2* para construção das árvores filogenéticas. Foram estudadas 35 colônias de *Fusarium.* Sequências de DNA foram obtidas para 24 isolados, dos quais 23 isolados pertenceram ao complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* (FFSC) e um ao complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (FOSC). No FFSC, 14 isolados foram identificados como *Fusarium sacchari* (PP = 0.93)*,* seis isolados como *Fusarium annulatum* (PP = 0.96)*,* e dois isolados como *Fusarium verticillioides* (PP = 0.99). Um isolado não agrupou com nenhuma espécie conhecida, indicando uma possível espécie nova irmã de *F. sacchari* (PP = 1)*.* Outros quatro isolados também formaram um clado genealogicamente exclusivo, irmão de *Fusarium giganteum* (PP = 1). Os resultados indicam uma alta diversidade de *Fusarium* associada aos cupins, incluindo linhagens potencialmente novas, contribuindo para o conhecimento das interações ecológicas entre cupins e fungos, bem como para a biodiversidade microbiana em áreas urbanas.

Palavras-chave: cupins arborícolas, fungos filamentosos, filogenia, fungos entomófilos.

ABSTRACT

Fungi are organisms distributed eukaryotic and heterotrophic organisms, associated with diverse environments and hosts. It is estimated that there are more than 3 million species on the planet, but only about 150 thousand have been described. Some species, such as *Fusarium*, interact with insects to disperse spores, while others are cultivated as food by certain groups, such as termites. These fungi can contribute to the digestion of cellulose and lignin, in addition to influencing the behavior and organization of colonies. The objective of this study was to investigate the diversity, taxonomic and phylogenetic characterization of *Fusarium* species associated with the arboreal termite *Nasutitermes corniger* in urban areas of Pernambuco. A total of 900 termites (soldiers and workers) were collected in three plant species (*Mangifera indica*, *Syzygium malaccense* and *Schinus terebinthifolius*) on the campus of the Federal University of Pernambuco (Recife), between March and August 2019. The fungal isolates were reactivated from cryopreservation and subjected to purification by monosporic culture. Taxonomic identification was performed by morphological and molecular analysis, using the EF-1α, RPB1 and RPB2 genes to construct phylogenetic trees. A total of 35 *Fusarium* colonies were isolated, of which 24 presented molecular results. Twenty-three isolates belonged to the *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC) and one to the *Fusarium oxysporum* species complex (FOSC). In the FFSC, 14 isolates were identified *as Fusarium sacchari* (PP = 0.93), six isolates as *Fusarium annulatum* (PP = 0.96), and two isolates as *Fusarium verticillioides* (PP = 0.99). One isolate did not group with any known species, indicating a possible new sister species of F. sacchari (PP = 1). Four other isolates also formed a genealogically exclusive clade, sister to *Fusarium giganteum* (PP = 1). The results indicate a high diversity of *Fusarium* associated with termites, including potentially novel lineages, contributing to the knowledge of ecological interactions between termites and fungi, as well as to microbial biodiversity in urban areas.

Keywords: Tree termites, filamentous fungi, phylogeny, entomophyll fungi

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Castas de *Nasutitermes corniger* com soldados e operários estéreis e reprodutores férteis…… 18

Figura 2 - Área vista de satélite dos três locais de coleta no Campus Recife da Universidade Federal de Pernambuco. (A) Estacionamento do Centro de Biociências; (B) Departamento de Antibióticos e (C) Centro de Ciências Médicas……..... 28

Figura 3 - Número de isolados de *Fusarium* spp. das a partir da micobiota nativa *de Nasititermes corniger* no Recife, apresentados por árvore, casta e método de obtenção……..……...
36

Figura 4 - *Fusarium* associado a *Nasutitermes corniger* em áreas urbanas de Pernambuco. A. *Fusarium annulatum*, verso e reverso de três isolados (25 °C no escuro, em meio BDA por 7 dias). B. *F. sacchari*, verso e reverso de três isolados (25 °C no escuro, em meio BDA por 7 dias). C. *Fusarium verticillioides*, verso e reverso de três isolados (25 °C no escuro, em meio BDA por 7 dias). *Fusarium annulatum:* conidióforos, fiálides e microconídios (D–G). *Fusarium oxysporum*: fiálide e conídios (H). *Fusarium sacchari*: conidióforos, fiálides e microconídios e macroconídios (I–L). *Fusarium verticillioides*: conidióforos, fiálides e microconídios (M–P). Micrografias em meio SNA, 25 °C em fotoperíodo, por 7 dias……. 38

Figura 5 - Árvore de Inferência Bayesiana (BI) do complexo FFSC baseada nas sequências de *EF-1α*……. 40

Figura 6 - Árvore de Inferência Bayesiana (BI) do complexo FOSC baseada nas sequências de *EF-1α*..…….... 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Primers utlizados na identificação molecular nas espécies de *Fusarium*.....32

Tabela 2 – Espécimes de *Fusarium* isoladas a partir da micobiota nativa de *Nasititermes corniger* no Recife. Árvores: Aroeira (A), Jambeiro (J) e Mangueira (M). Castas: Operários (O) e Soldados (S). Métodos: Câmara Úmida (c) e Isolamento em Meio de cultura (m).....35

Tabela 3 – Número de fungos isolados em operários (O) e soldados (S) de *Nasutitermes corniger* em aroeiras (A), jambeiros (J) e mangueiras (M) na Universidade Federal de Pernambuco (campus Recife),utilizando isolamento em meio de cultura (m) ou incubação em câmaras úmidas (c). 37

Tabela 4 – Identificação das espécies de fungos isolados de soldados (S) e operários (O) *de Nasutitermes corniger* em aroeiras (A), jambeiros (J) e mangueiras (M) da Universidade Federal de Pernambuco (campus Recife), utilizando-se técnicas de isolamento em meios de cultura (m) e incubação em câmara úmida (c). 37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral 15

2.2 Objetivos Específicos 15

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Nasutitermes corniger* Motschulsky 16

3.2 Fungos Filamentosos

3.2.1. Biologia e ecologia dos fungos 19

3.2.2 *Fusarium* Link 21

3.2.2.1 Complexo de espécies *Fusariumfujikuroi* 22

3.2.2.2 Complexo de espécies *Fusarium oxysporum* 23

3.2.2.3 *Neocosmospora* (antigo complexo *F. solani*) 24

3.3 Associação de fungos com insetos 24

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de Estudo 27

4.2 Coleta de cupins e isolamento fúngico 28

4.3 Identificação morfológica dos isolados fúngicos 28

4.4 Análise filogenética e molecular dos isolados fúngicos de *Fusarium* 29

4.5 Análise filogenética de *Fusarium* 38

5. RESULTADOS 33

6. DISCUSSÃO 41

7. CONCLUSÕES 43

8. REFERÊNCIAS 44

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são seres eucarióticos, heterotróficos, que variam amplamente em morfologia e ecologia, abrangendo desde leveduras microscópicas até cogumelos macroscópicos. Pertencem ao Reino Fungi e são classificados em diferentes grupos taxonômicos, como Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycota, Chytridiomycota e outros filos. Esses micro-organismos influenciam a vida humana, participando de processos tanto vantajosos quanto prejudiciais (Tortora, 2012). Se apresentam sob a forma unicelular, como as leveduras e na forma multicelular, filamentosa, como os bolores ou mofos. A forma filamentosa é constituída de um conjunto de estruturas tubulares, denominadas de hifas, que quando agrupadas, formam o micélio (Tortora Case; Funke, 2012). Os grupos variam amplamente em morfologia e ecologia, abrangendo desde leveduras microscópicas até cogumelos macroscópicos. Os filos Ascomycota e Basidiomycota são os grupos mais diversos e desempenham papéis fundamentais em ecossistemas terrestres.

Além disso, são reconhecidos por suas funções na decomposição da matéria orgânica, na reciclagem de nutrientes e em interações simbióticas com outros organismos, incluindo plantas, animais e microrganismos. Além disso, podem estabelecer relações mutualísticas, comensais e parasíticas com diversos insetos, incluindo cupins. Além de sua importância ecológica, os fungos possuem diversas aplicações industriais e biotecnológicas. São utilizados na indústria de alimentos, na produção de produtos fermentados e bebidas alcoólicas, na indústria farmacêutica, na fabricação de antibióticos e outras substâncias bioativas. Também desempenham um papel essencial no processo de biodegradação, no tratamento biológico de efluentes e na produção de enzimas de interesse industrial e biotransformação. No contexto agrícola e ecológico, sua especificidade na decomposição da matéria orgânica permite a degradação de substâncias tóxicas e a manutenção do equilíbrio ambiental (Abreu et al., 2015).

Estima-se que existam mais de 3 milhões de espécies de fungos no planeta, das quais apenas 150 mil foram descritas cientificamente. Isso significa que apenas cerca de 6% da diversidade total dos fungos é conhecida, representando um dos grupos microbianos com o maior número de espécies na natureza (Hawksworth & Lucking, 2017).

Essas associações são frequentemente estratégicas, promovendo a adaptação dos fungos ao ambiente e beneficiando os insetos hospedeiros em aspectos nutricionais, defensivos ou estruturais. No caso dos cupins, fungos associados podem contribuir para a digestão de celulose e lignina, além de influenciar o comportamento e a estruturação social das colônias (Bignell et al., 2011; Chouvenc et al., 2012).

No gênero *Fusarium* Link (Sordariomycetes, Ascomycota), essas interações ganham relevância devido à diversidade funcional do grupo, que abrange desde espécies saprofíticas a patógenas oportunistas (Leslie & Summerell, 2006). Estudos prévios indicam que *Fusarium* é frequentemente encontrado em associação com cupins, desempenhando potenciais funções simbióticas ou antagonistas, adaptadas às pressões ambientais urbanas (Mikheyev et al., 2015; Vega et al., 2009). Em áreas urbanas da Mata Atlântica, como Pernambuco, o entendimento das associações entre *Fusarium* e o cupim arborícola *Nasutitermes corniger* Motschulsky pode revelar novos aspectos sobre a ecologia das interações fungo-inseto e fornecer subsídios para a caracterização taxonômica e filogenética desses organismos.

O cupim *Nasutitermes corniger* possui uma micobiota composta predominantemente por fungos com características entomopatogênicas e decompositoras. Esses fungos desempenham papéis fundamentais na digestão da celulose presente no material vegetal consumido pelos cupins, promovendo a decomposição e contribuindo para a nutrição dos insetos (Bignell et al., 2011; Chouvenc et al., 2012). Apesar de alguns fungos atuarem como patógenos e afetarem a saúde dos cupins, a maioria tem função principal como decompositores, colaborando com o processamento de matéria orgânica sem causar danos significativos às colônias (Vega et al., 2009; Hyodo et al., 2003).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a diversidade taxonômica e filogenética das espécies de *Fusarium* associadas ao cupim arborícola *Nasutitermes corniger* em área urbana de Pernambuco, contribuindo para o entendimento das interações ecológicas e a biodiversidade microbiana neste contexto.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar as espécies de *Fusarium* isoladas de indivíduos de *Nasutitermes corniger* em diferentes áreas urbanas de Pernambuco.
- Realizar análises morfológicas e moleculares para caracterizar as espécies de *Fusarium* encontradas.
- Construir filogenias moleculares para inferir as relações evolutivas entre as espécies identificadas.
- Investigar possíveis interações simbióticas ou ecológicas entre *Fusarium* e *Nasutitermes corniger*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. *Nasutitermes corniger* Motschulsky

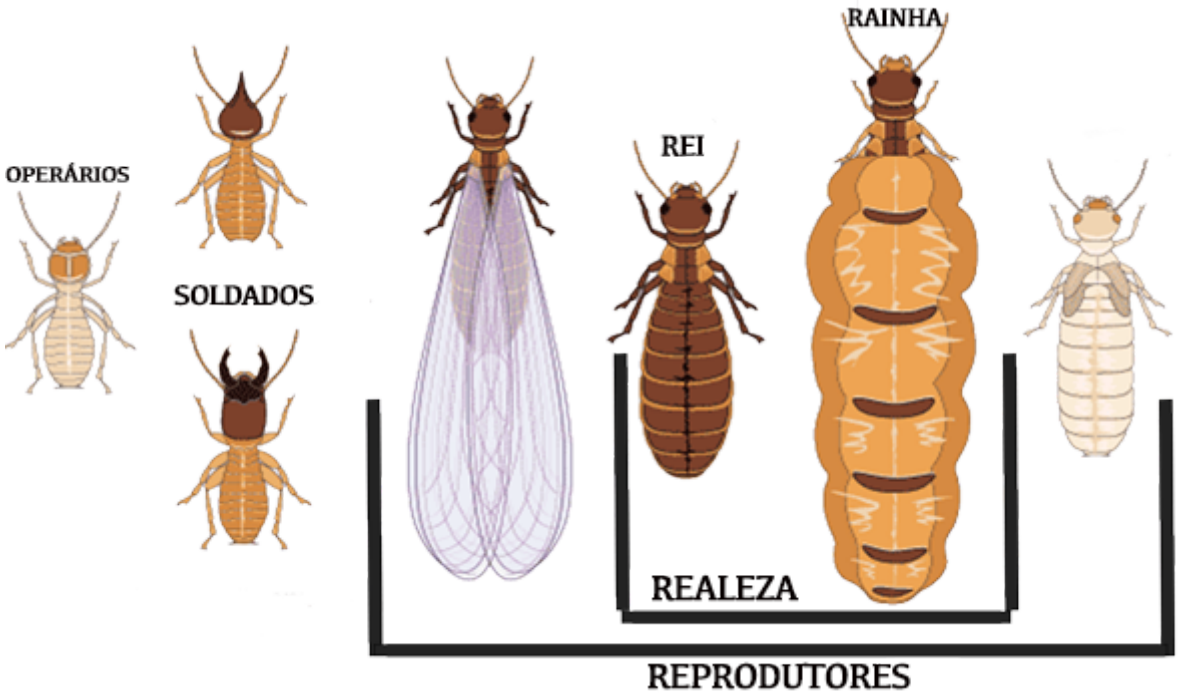
Cupins são insetos sociais, conhecidos principalmente por sua importância econômica como pragas de madeira e de outros materiais celulósicos, tendo atraído a atenção de muitos pesquisadores por serem insetos sociais (Constantino,1999). A espécie de cupim arborícola *Nasutitermes corniger* Motschulsky é bem distribuído na região Neotropical e é a terceira em número de espécies de cupins conhecidas (Constantino, 2016). É distribuído em muitas outras regiões, como Colômbia, Venezuela, Guiana, Brasil, Equador, Bolívia e Argentina (Snyder, 1926; Araújo, 1977; Torales; Armua, 1986; Constantino, 1998). *Nasutitermes corniger* é classificado na ordem Blattodea, família Termitidae, sendo um dos membros mais conhecidos do gênero *Nasutitermes.* O gênero é considerado o mais diverso e amplamente distribuído entre os cupins. Conta com 254 espécies válidas, sendo o gênero mais numeroso dentro da família Termitidae (Boulogne, Constantino; Amusant; Falkowski et al., 2016).

Esses insetos são de grande importância econômica e ecológica, uma vez que suas atividades de forrageamento desempenham papéis cruciais na ciclagem de nutrientes, na alteração da qualidade do solo e na biodiversidade local (Bandeira & Vasconcellos, 2002;Costa-Leonardo, 2002), sendo conhecidos como ‘’engenheiros do ecossistema’’ influentes que no solo (Kaiser et. al., 2017).

Nasutitermes corniger é uma espécie arborícola, que vive em colônias organizadas em castas, incluindo operários, soldados e reprodutores (rei e rainha). Os operários, que são estéreis e cegos, têm a responsabilidade de construir e manter os túneis de forrageamento, além de alimentar os demais membros da colônia por meio da trofalaxia, um importante e complexo comportamento que existe entre os insetos sociais, tais como, abelhas, vespas, cupins e formigas, proporcionando a troca nutricional e a comunicação, realizada com a função de proteger o ninho (Sleigh, 2002). Os soldados, por sua vez, são encarregados da defesa da colônia, possuindo uma cabeça de formato peculiar, com um "nasus", uma estrutura que expele secreções químicas defensivas contra predadores. A orientação liberada pelo nasus permite aos soldados atacar à distância, minimizando o contato direto com o inimigo. Os reprodutores alados, conhecidos como rei e

rainha, são os únicos indivíduos férteis na colônia. Após o acasalamento, o rei e a rainha permaneceram como o casal reprodutor principal, garantindo a continuidade da colônia ao longo do tempo. Durante o período de revoada, que ocorre principalmente durante a estação chuvosa, os reprodutores alados deixam o ninho em busca de formação de novas colônias (Figura 1) (La Cruz et al., 2014).

Figura 1. Castas de *Nasutitermes corniger* com soldados e operários estéreis e reprodutores férteis.



Fonte: Encyclopædia Britannica, Inc. (2008).

No Brasil, o gênero *Nasutitermes* é encontrado em uma ampla variedade de biomas, como a Mata Atlântica, o Cerrado e a Caatinga (Zorzenon & Potenza, 1998; Constantino, 1999). Sua distribuição abrange as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do país (Bandeira et al., 1998; Constantino, 2002; Costa-Leonardo, 2002).

A região Neotropical, é a terceira em número de espécies conhecidas de cupins, ficando atrás das regiões Etiópica e Oriental. Nessa região há, atualmente,

aproximadamente 600 espécies descritas (Constantino, 2016), que se dividem em cinco famílias: Stolotermitidae, Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae, a mais diversa – aproximadamente 2165 espécies descritas (Constantino, 2016) – e que abriga a espécie deste estudo (Motschulsky, 1855). Dentro da família Termitidae, o gênero *Nasutitermes* é o mais amplamente distribuído, abrangendo todas as regiões tropicais (Constantino, 2016).

Os cupins exercem um importante papel nos ecossistemas naturais. Possuem um papel crucial na ciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais e urbanos, principalmente por sua habilidade de decomposição de madeira e outros materiais celulósicos. Sua dieta à base de celulose permite a reciclagem de matéria orgânica e aeração do solo, o que facilita a infiltração de água e a dispersão de nutrientes essenciais às plantas (Sands, 1969; La Fage & Nutting, 1978; Amburgey, 1979). Participam ativamente da decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (Adamson, 1943; Lafage e Nutting, 1978; Sands e Wood, 1978) e aumentam a porosidade e aeração do solo (Lee e Wood, 1971). Entretanto, algumas espécies também se tornam pragas tanto em áreas rurais quanto urbanas (Grassé, 1982; Edwards e Mill, 1986; Oliveira et al., 1986).

Apesar de existirem poucas espécies de cupins consideradas pragas de áreas urbanas, estas provocam enormes prejuízos (Fontes, 1995; Amaral, 2002). A condição de praga urbana é determinada com base no impacto econômico do dano, expresso em custos de prevenção, controle e reparo (Robinson, 1996). No Brasil os cupins causam anualmente enormes prejuízos e danificam edificações históricas onde a perda não é só econômica, mas também artística e histórica (Costa-Leonardo, 2002). Os danos causados a construções urbanas são atribuídos principalmente a espécies de cupins *Nasutitermes* (Isoptera: Termitidae) (Costa-Leonardo, 2002). Nas últimas décadas, a espécie de *Nasutitermes corniger* teve grande importância econômica devido ao aumento de danos em residências e prédios históricos em diversas cidades do Brasil e da Argentina, o que confirmou seu status de praga (Menezes et al. 2000; Constantino, 2002; Costa-Leonardo, 2002; Fontes e Milano, 2002;)

A maior parte dos estudos sobre o forrageamento de *Nasutitermes* tem sido feita com *N. corniger* explorando novas fontes de alimento principalmente à noite quando a colônia está mais ativa (Muradian et al.,1998). Os cupins podem mostrar preferência para forragear madeiras específicas (Smythe e Carter, 1969; Behr et al.,

1972; Agbogba e Noel, 1982). Inclusive, existem evidências que essas preferências podem ser modificadas através da experiência alimentar (McMahan, 1966). A preferência estaria determinada por propriedades físico-químicas como a densidade, umidade, dureza e concentração de nutrientes, resinas e metabólitos secundários (Price, 1984). A densidade é determinada pela porcentagem de espaços vazios contidos na madeira e pode variar de uma espécie a outra de 0,20 a 1,20 g/cm^3. Segundo alguns autores, a espécie *N. corniger* prefere as madeiras de densidade baixa (Kããrik, 1974; Bosshard, 1984; Bustamante, 1993). Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas que os cupins buscam por sua vez podem atuar como repelentes e atraentes de certas espécies de cupins (Wolcott, 1957; Wood, 1978; Carter et al., 1983).

Os cupins superiores, como *N. corniger*, diferenciam-se dos cupins inferiores por sua independência de simbiontes protozoários na digestão de celulose. Ao invés disso, eles utilizam enzimas próprias para digerir a madeira que consomem (Brugerolle & Radek, 2006; Correia et al., 2008). No entanto, *N. corniger* estabelece interações ecológicas importantes com fungos decompositores. Os fungos presentes no ambiente podem alterar a qualidade da madeira consumida pelos cupins, transformando alimentos de baixa qualidade em recursos palatáveis ou tornando alimentos bons em impalatáveis, dependendo do tipo de fungo e da espécie de cupim (Gilbertson, 1984). Além disso, os cupins desempenham um papel indireto no favorecimento de outros decompositores, como fungos e bactérias, que se beneficiam da partimentalização da matéria orgânica promovida pelos cupins (Bignell, 2018). Ao facilitar o acesso de outros organismos a resíduos vegetais parcialmente digeridos, os cupins ajudam a manter a biodiversidade e a funcionalidade dos ecossistemas em que habitamos.

3.2. Fungos filamentosos

3.2.1. Biologia e ecologia dos fungos

Os fungos verdadeiros representam uma linhagem de opistocontes com alimentação quimioheterotrófica, que apresentam crescimento apical e estruturas reprodutivas diferenciadas das somáticas e quitina como componente da parede celular. A reprodução dos fungos se dá por meio de esporos (com algumas

exceções) que são dispersos majoritariamente pelo vento e, por isso, esses microrganismos podem ser encontrados em diversos habitats como solos, águas e até em outros animais e vegetais, atuando como patógenos e em relações de simbiose, também podem ser encontradas em ambientes extremos, como frio, calor e alta umidade (Silva & Coelho, 2006; Deacon, 2006).

A classificação dos fungos é baseada principalmente em suas relações filogenéticas e estruturas reprodutivas (Tedersoo et al., 2018). Em termos gerais, os fungos possuem dois sistemas: o sistema somático e o reprodutivo. Fungos com um sistema somático unicelular são conhecidos como leveduras, presentes nos fungos superiores (Subreino Dykaria). No entanto, a maioria dos fungos é multicelular, apresentando um corpo constituído de hifas que formam um micélio. Essas hifas penetram no substrato, ramificam-se e colonizam o ambiente, utilizando a matéria orgânica como fonte de nutrientes. Após acumular energia, o fungo investe no desenvolvimento do sistema reprodutivo, onde esporos são formados para dispersão (Deacon, 2006).

A identificação dos fungos se baseia principalmente nas estruturas reprodutivas, pois observar apenas as hifas ou o sistema somático não é suficiente para a determinação de espécies. Como em outros organismos, a classificação atual dos fungos depende de suas relações filogenéticas, inferidas por dados moleculares. A primeira tentativa de classificar fungos com base em sua filogenia foi realizada por Hibbett et al. (2007). Nessa classificação, filos como Zygomycota (atual Murcoromycota) e Deuteromycota deixaram de ser válidos por não representarem grupos monofiléticos. Mas recentemente, Tedersoo et al. (2018) propuseram novos filos, como Aphelidiomycota e Calcarisporiellomycota, ampliando a classificação para nove sub-reinos e 18 filos.

Evolutivamente, os fungos são divididos em dois grandes grupos: os fungos inferiores, com 15 filos, e fungos superiores, com três. Dentro dos fungos inferiores, destacam-se os zoospóricos, que são os únicos fungos com esporos flagelados, e os zigospóricos, caracterizados pela formação de zigosporos resultantes da copulação gametangial. Entre os zoospóricos, os filos Chytridiomycota, Blastocladiomycota e Neocallimastigomycota se destacam, cada um com adaptações específicas ao ambiente aquático e parasitismo. (Tedersoo et al., 2018)

Os fungos zigospóricos, antes classificados no extinto Filo Zygomycota, são filamentosos com hifas cenocíticas. Eles crescem rapidamente e apresentam

estratégias ruderais, sendo amplamente sapróbios. Neste clado, Glomeromycota é o grupo dos fungos micorrízicos arbusculares, que têm papel crucial na ecologia das plantas terrestres (Spatafora et al., 2016).

Os fungos superiores evoluíram com adaptações que garantem maior sucesso evolutivo. Entre os principais filos, Ascomycota é o maior grupo, com cerca de 70 mil espécies, caracterizado pela formação de ascosporos em ascos. Esse grupo inclui fungos leveduriformes, filamentosos e muitos dos fungos que formam associações mutualísticas, como líquens. O filo Basidiomycota inclui os fungos macroscópicos mais conhecidos, como cogumelos e orelhas-de-pau, sendo importantes decompositores de madeira e formadores de podridão branca ou cúbica (Kendrick 2017; Maciel, Silva & Ribeiro, 2010).

3.2.2. *Fusarium* Link

As espécies de *Fusarium* (Link ex Grey) são fungos filamentosos amplamente distribuídos no ambiente, encontrados no ar, água, solo, plantas, insetos e substratos orgânicos. Pertencentes à família Nectriaceae, da ordem Hypocreales, dentro do filo Ascomycota, essas espécies possuem hifas hialinas, septadas e ramificadas, sendo reconhecidas por sua plasticidade ecológica e capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais (Hatmi, 2016; O'Donnell et al., 2013). O gênero *Fusarium* é bem conhecido por sua importância em diversas áreas, desde agricultura e medicina.

Muitas espécies compreendem patógenos devastadores de plantas, produzindo metabólitos secundários como micotoxinas (por exemplo, fumonisinas, tricotecenos e zearalenona), que representam riscos à saúde humana e animal, além de causar perdas significativas na produção agrícola (Santos et al., 2019; Villani et al., 2019). Dessa forma, *Fusarium* está entre os principais gêneros causadores de perdas econômicas, com espécies associadas a doenças em culturas como milho, trigo, arroz, eucalipto, cucurbitáceas e outras de interesse econômico. As infecções ocorrem principalmente no sistema radicular e vascular das plantas, manifestando-se como murchas, podridão radicular e cancros vasculares (Hussein M. 2019).

Em humanos, o gênero é responsável por infecções conhecidas como fusarioses, que podem se manifestar de forma superficial, localmente invasiva ou

disseminada, especialmente em pacientes imunossuprimidos, como aqueles com neutropenia prolongada ou submetidos a transplantes de medula óssea (Nelson et al., 1994; GOV, 2024). Estudos indicam que aproximadamente 40-60% das infecções humanas por *Fusarium* são causadas pelo complexo *F. solani*, seguido por *F. oxysporum* (~20%) e *F. fujikuroi* (~10%), sendo *F. solani* a espécie mais virulenta e responsável pela maioria dos casos graves (Nussi, 2007). A forma disseminada da doença é comum em pacientes com imunossupressão severa, evoluindo para fungemia em cerca de 70% dos casos. Devido à alta resistência intrínseca de muitas espécies de *Fusarium* aos antifúngicos disponíveis, a identificação precisa das espécies e o teste de sensibilidade são cruciais para o manejo clínico (Gov, 2024).

Apesar de sua associação majoritária a plantas, algumas espécies também demonstram patogenicidade a insetos, sem causar danos às culturas agrícolas, como *Fusarium proliferatum*, eficaz contra *Thaumastocoris peregrinus*, mas não fitopatogênico em plantas como tomate, cana-de-açúcar, milho e eucalipto (Laso, 2012). Assim, no campo da entomologia, as espécies de *Fusarium* também se destacam como entomopatógenos. A eficácia desses fungos tem sido confirmada contra várias ordens de insetos, incluindo Hemiptera (*Dactylopius opuntiae* e *Coccus hesperidum*), Hymenoptera (*Dryocosmus kuriphilus)*, Lepidoptera (*Galleria mellonella* e *Spodoptera frugiperda*), Coleoptera (*Brahmina coriacea*) e Blattodea (*Nasutitermes corniger*) (Velez et al., 2019; Fan et al., 2014; Addario et al., 2011; Diniz et al., 2020). Esses estudos destacam o potencial do gênero não apenas no controle biológico de pragas agrícolas, mas também como modelo para compreender interações fungo-inseto. A ampla distribuição, adaptabilidade ecológica e versatilidade funcional do gênero *Fusarium* os tornam um dos grupos mais importantes e estudados de fungos filamentosos, com aplicações significativas em áreas como manejo agrícola, controle de pragas, e saúde pública.

O gênero *Fusarium* é conhecido por sua diversidade morfológica e genética, o que levou à sua divisão em vários complexos de espécies. Esses complexos agrupam linhagens geneticamente relacionadas que compartilham características fenotípicas semelhantes, mas diferem em aspectos como patogenicidade, metabolismo e adaptação ecológica (O'Donnell et al., 2013). Entre os principais complexos de espécies estão o *Fusarium solani species complex* (FSSC), *Fusarium oxysporum species complex* (FOSC) e *Fusarium fujikuroi species complex* (FFSC), que apresentam diferentes impactos ambientais e clínicos (Nishi et al., 2021).

A classificação dentro desses complexos é baseada em análises filogenéticas de múltiplos genes ortólogos, permitindo uma identificação precisa das linhagens e auxiliando no entendimento das relações evolutivas dentro do gênero (Summerell, 2019). Estudos filogenéticos apontam que as espécies de *Fusarium* exibem uma notável variação em suas células basais e na formação de conídios, características que reforçam a importância de abordagens moleculares para a sistemática do grupo (Lombard et al., 2015; Gräfenhan et al., 2011). Essa organização é fundamental para estudos taxonômicos, filogenéticos e para o manejo de doenças associadas ao *Fusarium* (Goswami & Kistler, 2004).

3.2.2.1 Complexo de espécies ***Fusarium fujikuroi***

O complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* é amplamente conhecido por incluir patógenos vegetais responsáveis por diversas doenças agrícolas, como a doença bakanae em plantas de arroz (*Oryza sativa*), que representa um problema significativo para a agricultura em diversas regiões produtoras. A doença bakanae é caracterizada pelo crescimento anormalmente alongado das plantas, causado pela produção excessiva de giberelinas pelo fungo, o que leva ao enfraquecimento dos tecidos, tombamento e, eventualmente, à morte das plantas infectadas (Mitchell et al., 1951; Wulff et al., 2010). Além do arroz, espécies dentro do complexo *F. fujikuroi* impactam outras culturas economicamente importantes, como milho (*Zea mays)*, trigo (*Triticum aestivum*), cana-de-açúcar (*Saccharum spp*.) e aspargos (*Asparagus officinalis)*. Nessas plantas, o fungo pode causar diversas doenças, comprometendo a produtividade e qualidade dos produtos agrícolas (Leslie & Summerell, 2006; Santos et al., 2017). Adicionalmente, esse complexo de espécies é conhecido pela produção de metabólitos secundários, como fumonisinas, giberelinas e outros compostos tóxicos, que não apenas desempenham papéis no desenvolvimento das doenças nas plantas, mas também representam riscos para a saúde humana e animal ao contaminarem alimentos e rações (Proctor et al., 2004). A identificação e caracterização dos fungos dentro do complexo *F. fujikuroi* são essenciais para o manejo integrado de doenças em culturas agrícolas. Estudos filogenéticos têm contribuído para entender a diversidade genética e as adaptações ecológicas dessa

espécie, destacando sua importância como modelo de pesquisa em interações fungo-hospedeiro e biossíntese de metabólitos secundários (O'Donnell et al., 1998).

3.2.2.2 Complexo de espécies *Fusarium oxysporum*

O complexo de espécies *Fusarium oxysporum* é um dos grupos mais importantes de fungos fitopatogênicos, amplamente distribuído e capaz de causar doenças em diversas culturas agrícolas. Além de seu impacto em plantas, esse complexo também possui relevância médica, sendo documentado como agente infeccioso em modelos animais, incluindo camundongos (Dean et al., 2012; Ortodena, 2004). Dentre as formas especiais (*forma specialis*) de *F. oxysporum*, destaca-se *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, um patógeno devastador em algodão (*Gossypium spp.*). Nos Estados Unidos e no Oriente Médio, essa forma especial tem causado grandes perdas econômicas, sendo considerada de alta importância quarentenária na Austrália, onde foi relatada pela primeira vez em 1993 (Kochman, 1995). Os fungos do complexo *F. oxysporum* invadem o sistema vascular das plantas, causando murcha e morte, especialmente em cultivares suscetíveis. Além disso, *F. oxysporum* tem sido relatado por sua capacidade entomopatogênica. Estudos detalhados demonstraram a infectividade de espécies desse complexo em larvas de *Galleria mellonella*, um modelo amplamente utilizado para estudos de patogenicidade. A mortalidade larval causada por *F. oxysporum* foi atribuída a um mecanismo ativo de infecção, e não a efeitos físicos relacionados aos conídios fúngicos, como comprovado em estudos de dose-resposta (Navarro-Velasco, 2011). Esse achado ressalta a versatilidade ecológica do grupo, que pode atuar como patógeno em diferentes hospedeiros, desde plantas a insetos. A adaptabilidade genética e metabólica do complexo *F. oxysporum* faz dele um modelo importante para estudos de interação patógeno-hospedeiro, manejo de doenças em plantas e exploração de potenciais biocontroles entomopatogênicos.

3.3 Associação de fungos com insetos

Os microrganismos patogênicos de insetos são amplamente encontrados na natureza, com destaque para os fungos parasitas. Cerca de 80% das doenças que

afetam insetos são causadas por fungos, que pertencem a aproximadamente 90 gêneros e mais de 700 espécies. A maior parte dos gêneros de fungos entomopatógenos apresentam estratégias ecológicas distintas para infectar e regular populações de insetos, sendo amplamente estudados para aplicações no controle biológico de pragas (Alves, 1998).

Os fungos e insetos possuem uma longa história de associação, coexistindo em habitats onde ambos enfrentam condições ambientais semelhantes (Vega & Blackwell, 2005). Os fungos são encontrados em uma ampla gama de ambientes, sob diversas condições. Esses ambientes podem variar de gerais a mais específicos, incluindo aqueles onde fungos convivem e/ou interagem com insetos, seja no interior ou no exterior de seus corpos (Alves, 1998).

A relação entre fungos e insetos é bastante diversa e complexa, englobando aspectos ecológicos e evolutivos ainda pouco compreendidos, essa interação apresenta uma variedade de padrões e estratégias de vida (Vega & Blackwell, 2005). Os insetos atuam como vetores para dispersar os propágulos dos fungos, que podem incluir esporos sexuados como no caso de *Chaetomium* spp. ou assexuados como *Graphium* spp., sorédios de líquens como *Lepraria* spp., propágulos espermaciais de parasitas superficiais como *Meliola* spp. e até mesmo estruturas fúngicas inteiras os ascomas, que podem ser removidas do substrato por insetos como em *Kernia* spp.

Fungos podem utilizar insetos como meio de dispersão de seus esporos, o que pode levar à morte do inseto. Alguns fungos entomófilos adotam uma estratégia necrotrófica, alimentando-se dos corpos dos insetos e se reproduzindo sobre eles. Fungos entomopatógenos, por exemplo, desempenham um papel importante no controle natural das populações de insetos, sendo frequentemente utilizados no controle biológico de pragas. No entanto, para que essa aplicação seja viável, é necessário não apenas entender a interação ecológica entre fungo e inseto, mas também considerar a produção de biomassa e a capacidade de disseminação no ambiente (Alves, 1998).

Além dessas interações evidentes, há outras mais sutis, como a presença de fungos de diferentes grupos taxonômicos no trato digestivo de insetos. Nesses casos, os fungos obtêm nutrientes do material que os insetos ingerem, utilizando enzimas para degradar parte da matéria orgânica que, de outra forma, seria inacessível ao inseto (Suh & Blackwell, 2005).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo (local de coleta)

A área de estudo abrange diferentes pontos de coleta localizados no campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em Recife, Pernambuco, em que cupins foram obtidos a partir de espécies vegetais de *Mangifera indica* (mangueira), *Syzygium malaccense* (jambeiro) e *Schinus Terebinthifolius* (aroeira). Os insetos foram coletados em regiões arborizadas da UFPE. A primeira coleta foi realizada no estacionamento do Centro de Biociências, a segunda no Departamento de Antibióticos e arredores, e a terceira e última coleta, no estacionamento do Centro de Ciências Médicas e arredores.

Figura 2 - Área vista de satélite dos três locais de coleta no Campus Recife da Universidade Federal de Pernambuco. (A) Estacionamento do Centro de Biociências; (B) Departamento de Antibióticos e (C) Centro de Ciências Médicas

Fonte: Google Earth Pro

4.2. Coleta e processamento do material biológico

Três coletas foram realizadas entre os meses de março a agosto de 2019, com intervalo de cinco semanas entre cada coleta. As árvores de jambeiro, mangueira e aroeira foram selecionadas aleatoriamente ao longo do campus da UFPE conforme a presença de cupins da espécie *Nasutitermes corniger*. Cerca de 50 soldados e 50 operários foram coletados, totalizando 100 insetos por árvore e 300 insetos por coleta. Os insetos foram coletados com o auxílio de pinça entomológica, utilizada para fragmentar os túneis de forrageamento e ter acesso aos cupins, que foram retirados com pincéis de cerdas macias e transferidos para placas de Petri esterilizadas e levados para o Laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores localizado no Departamento de Micologia no Centro de Biociências da UFPE.

Para o isolamento dos fungos, os soldados e operários de *N. corniger* foram condicionados a temperatura de -6 °C por 15 minutos e após, procedeu-se o processo asséptico a partir da desinfestação dos insetos, que foram submersos em álcool 70% durante 1 minuto, hipoclorito de sódio a 2,5% durante 1 minuto e quatro enxágues em água destilada esterilizada. Os fungos foram isolados a partir de condições de crescimento distintas, como o crescimento direto em meio de cultura e em câmara úmida. Dessa forma, após a desinfestação dos insetos metade dos soldados e dos operários (cerca de 25 insetos de ambas as castas) foram distribuídos em tubos de ensaio contendo meio Batata Dextrose Ágar (BDA) + cloranfenicol a 0,01% e a outra metade foi transferida para placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada esterilizada e acondicionados em BOD a temperatura de 25±3°C durante oito dias. Após o crescimento dos fungos procedeu-se a purificação dos isolados por meio da técnica de esgotamento em placa, a partir da transferência dos fungos para placas de Petri contendo meio BDA + cloranfenicol a 0,01%.

4.3 Identificação morfológica

Os fungos foram mantidos em criopreservação, método utilizado para manter as características originais dos organismos, tais como capacidade de esporular e patogenicidade. O método utilizado consiste na inoculação do microrganismo em meio BDA, incubado sob refrigeração (5 a 8 °C), para manter esses organismos vivos.

As colônias das espécies de *Fusarium f*oram adicionadas em placas de Petri com meio BDA e mantidos em BOD a temperatura de 28°C durante oito dias. Após o crescimento, as colônias desenvolvidas foram purificadas pela técnica de cultura monospórica (Fernandes, 1993), porções do isolamento fúngico em BDA foram transferidas para um eppendorf com 5µl de Tween a (0,1%) e agitada em vórtex. Logo após, 3µl da suspensão de esporos foram transferidos para o meio ágar-água e espalhados com uma alça de Drigalski. Após 14 h, realizou-se o isolamento monospórico em que, sob microscópio óptico, se retirou um conídio com a presença de um tubo germinativo, transferindo-o para meio BDA, seguido da incubação em BOD a 25°C por sete dias.

Uma vez purificados, as características micromorfológicas foram observadas a partir da confecção de lâminas obtidas do microcultivo dos isolados em meio de cultura SNA (Synthetic Nutrient Agar). Características micromorfológicas como a forma e cor da hifa, septação do micélio, clamidosporos, tamanho, tipo e arranjo dos conídios, etc, foram observadas em meio SNA a 25°C em fotoperíodo por 5 dias. As observações macromorfológicas foram realizadas em meio BDA, como a coloração e diâmetro das colônias, textura, presença de exsudatos, cor do reverso da colônia, etc. Foram observadas em 25°C no escuro, em meio BDA por 7 dias. (Summerell, Salleh e Leslie, 2003; Leslie e Summerell, 2006).

Para a identificação dos isolados, foram utilizadas literaturas específicas para o gênero *Fusarium*. Os fungos foram fotografados e as fotografias foram organizadas em pranchas utilizando o CorelDRAW GraphicsSuite 2017.

4.4 Análise filogenética e molecular dos isolados fúngicos de *Fusarium*

O DNA genômico total foi extraído seguindo o protocolo do kit de purificação DNA Wizard Genomic DNA Purification Kit, com algumas adaptações. Os micro-organismos foram cultivados em tubos de ensaio contendo meio líquido

preparado como o BD (Batata Dextrose), previamente esterilizado e incubado em BOD a 27 °C. Após três dias, os micélios fúngicos foram coletados e transferidos para microtubos de extração contendo ‘glass beads’. Em cada tubo, adicionou-se 500 uL de solução de Nuclei Lysis Solution, que foram submetidos a agitação em Fastprep e incubados por 15 minutos em banho seco a 65°C. Em seguida, foram acrescentados 200 L de solução de precipitação de proteínas (Protein Precipitation Solution) e as amostras foram homogeneizadas em vórtex a alta velocidade por 30 segundos. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 14.000 rpm. O sobrenadante, em volume de 500 uL, foi transferido para novos tubos de 1,5 mL, contendo 600 uL de isopropanol gelado e previamente identificados com os códigos dos fungos. Posteriormente, as amostras foram incubadas no freezer por 20 minutos e, novamente, centrifugadas a 1400 rpm por 5 minutos, resultando na formação de um pellet visível. O sobrenadante foi descartado e o DNA extraído foi submetido a uma nova lavagem com 600 uL de etanol 70% gelado, seguida de centrifugação por 2 minutos a 14.000 rpm O etanol foi removido e o material de DNA extraído foi seco em estufa a 35°C por cerca de 1 a 2 horas. Após a secagem, o material genético foi reidratado com 50 uL de água ultra-pura e armazenado em geladeira por 24 horas. A quantificação do DNA extraído foi realizada por leitura de 1 uL de cada amostra em aparelho Nanodrop, e os valores obtidos foram utilizados para diluição na concentração de 25 ng/uL de DNA em reação de PCR em volume de 20 uL, para um novo estoque, utilizando a fórmula C1V1=C2V2.

Para confirmar a presença de DNA e estimar sua concentração, foi realizada eletroforese em gel de agarose, com posterior visualização em transiluminador.

As condições de ciclagem foram de 5 min a 95 °C, seguidos de 35 ciclos de 45 s a 95 °C, 45 s a 52 °C, 90 s a 72 °C e extensão final de 72 °C durante 8 min para EF-1α. Os produtos de PCR foram purificados usando PureLink - Kit de Purificação de PCR - Invitrogen e sequenciados com os mesmos primers pela Plataforma Multi-Usuária de Sequenciamento e Expressão Gênica da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.

Tabela 1 - Primers utlizados na identificação molecular nas espécies de *Fusarium.*

Espécie	Região	Primers	Árvore hospedeira
F. annulatum	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira

F. annulatum	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
F. annulatum	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
F. annulatum	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. oxysporum	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
F. annulatum	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
F. annulatum	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
F. sacchari	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
F. verticiloides	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
F. verticiloides	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Jambeiro
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Aroeira
Fusarium sp.	*TEF1*	EF1 e EF2	Mangueira

Fonte: A autora, (2025)

Os eletroferogramas foram analisados e editados no software Staden Package 2.0 e as sequências obtidas foram utilizadas para busca das mais semelhantes depositadas no GenBank, utilizando a ferramenta BLASTn. Análises filogenéticas foram construídas usando o método de inferência bayesiana (BI) no

portal CIPRES Science Gateway (Miller et al. 2010), utilizando o MrBayes 3.2.6 (Huelsenbeck e Ronquist 2001; Ronquist e Huelsenbeck 2003), com 5.000.000 gerações e uma fração de burn-in de 25% e modelos de substituição de nucleotídeos determinados com o software MrModeltest 2.3 (Nylander 2004), com base no critério de informação AIC.

5. RESULTADOS

Neste estudo foram caracterizados 35 isolados do gênero *Fusarium*, obtidos em três coletas de cupins realizadas em trabalho prévio (Melo,2019) (Tabela 1). Com relação às árvores utilizadas para as coletas, aroeiras e mangueiras apresentaram o maior número de isolados (14 e 13, respectivamente), enquanto nove foram obtidas a partir de jambeiros. A diferença não mostrou-se significativa (p= 0,8144). Os representantes de *Fusarium* da micobiota nativa do cupim estudado não mostraram, no presente estudo, distinção quando considerada a casta do cupim (p= 0,8144), sendo 18 cepas obtidas em soldados e 17 em operários. Considerando o método de obtenção dos fungos, o isolamento em meio de cultura mostrou-se mais promissor na recuperação dos fungos deste grupo nestes microbiomas, com 22 isolamentos bem-sucedidos a partir de meio de cultura e 13 a partir de placas de incubação (câmaras úmidas), apresentando assim diferença significativa (p = 0,0316).

A Tabela 2 apresenta o número de espécimes isolados nas seis assembleias estudadas (casta do cupim + espécie de árvore): (1) operários em aroeira, (2) soldados em aroeira, (3) operários em jambeiro, (4) soldados em jambeiro, (5) operários em mangueira e (6) soldados em mangueira, doravante denominadas AO, AS, JO, JS, MO e MS, respectivamente. Isolados obtidos a partir de crescimento em incubação em câmara úmida ou em isolamento utilizando meios de cultura nas assembléias estudadas têm em sua designação as letras ‘c’ e ‘m’, respectivamente. Em aroeiras, a maioria dos isolados foi obtida a partir de soldados (11), e somente 3 isolados em operários. Nas demais árvores, contudo, não houve diferença observável.

Considerando entidades taxonômicas, dos 35 espécimes de *Fusarium* estudados, foram identificadas seis espécies: *Fusarium annulatum, F. sacchari*, *F.*

verticilioides, Fusarium sp. 1*, Fusarium* sp. 2 e *Fusarium* sp. 3 (Tabela 2) a partir das análises filogenéticas. Para onze isolados não foi possível obter sequências e não puderam ser identificados.

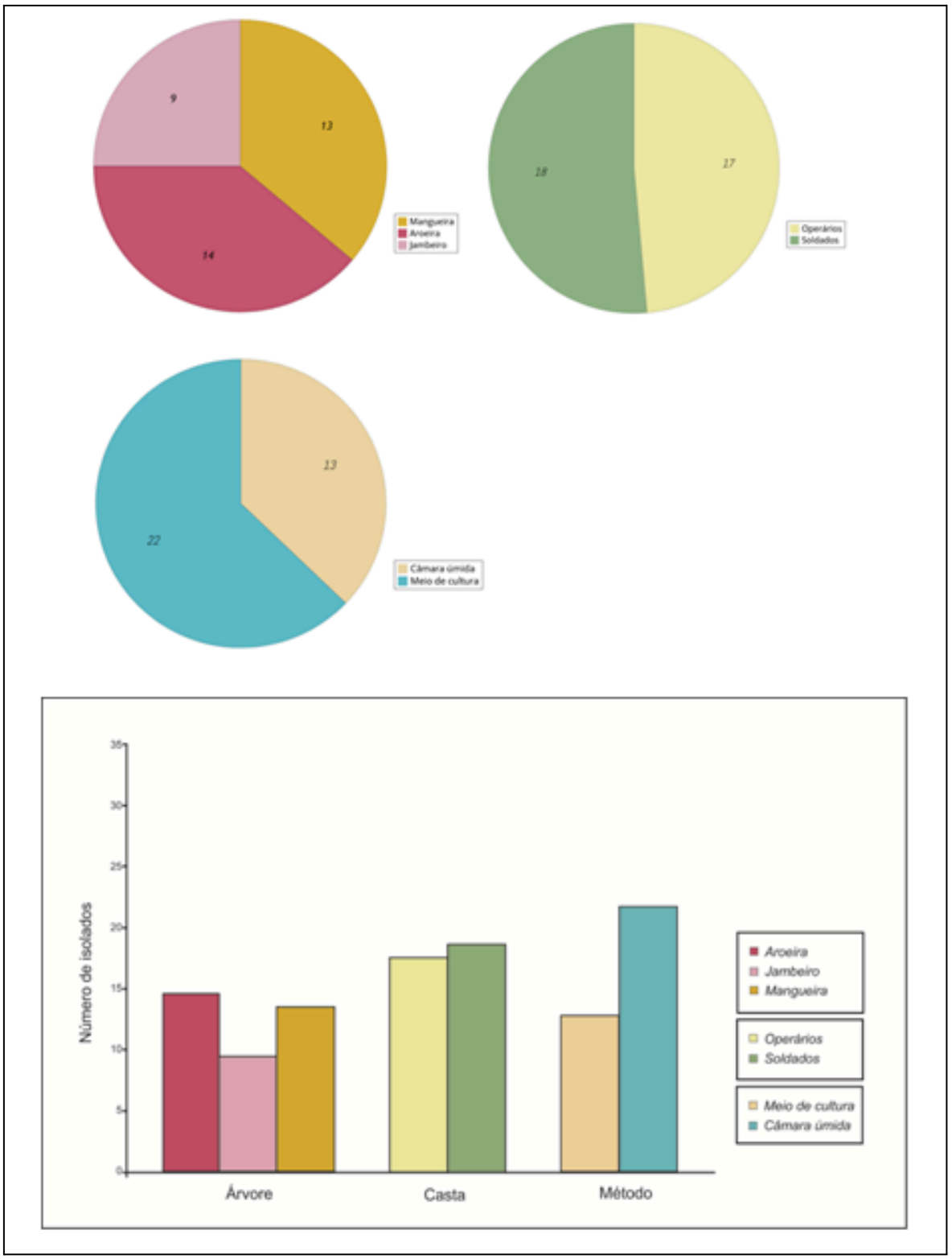
Tabela 2. Espécimes de *Fusarium* isoladas a partir da micobiota nativa de *Nasititermes corniger* no Recife. Árvores: Aroeira (A), Jambeiro (J) e Mangueira (M). Castas: Operários (O) e Soldados (S). Métodos: Câmara Úmida (c) e Isolamento em Meio de cultura (m).

	Árvore			**Casta**		**Método**			
	A	***J***	***M***	***O***	***S***	***c***	***m***	***Designação***	***Identificação***
Isolado 1	1	0	0	0	1	0	1	MOc 1.07	*F. sacchari*
Isolado 2	0	0	1	1	0	1	0	Moc 3.72	*F. annulatum*
Isolado 3	0	1	0	0	1	0	1	JSm 2.2	*F. annulatum*
Isolado 4	0	0	1	1	0	1	0	MOc 3.4	*Fusarium* sp. 2
Isolado 5	0	0	1	1	0	1	0	MOc 1.22	*Fusarium* sp. 2
Isolado 6	1	0	0	0	1	1	0	ASc 2.32	*F. verticilioides*
Isolado 7	0	0	1	1	0	1	0	MOc 1.5	*Fusarium* sp. 3
Isolado 8	0	0	1	1	0	0	1	MOm 1.0	*Fusarium* sp. 2
Isolado 9	1	0	0	0	1	1	0	ASc 2.31.1	*F. sacchari*
Isolado 10	1	0	0	0	1	1	0	ASc 2.31	*F. sacchari*
Isolado 11	0	0	1	1	0	1	0	MOc 3.44	*F. annulatum*
Isolado 12	0	0	1	1	0	0	1	MOm 3.11	*F. annulatum*
Isolado 13	1	0	0	0	1	0	1	ASm 1.17	*F. annulatum*
Isolado 14	1	0	0	1	0	0	1	AOm 1.28	*F. annulatum*
Isolado 15	1	0	0	0	1	0	1	ASm 1.11	*F. sacchari*
Isolado 16	1	0	0	0	1	0	1	ASm 2.6	*F. sacchari*
Isolado 17	0	1	1	1	0	0	1	JOm 2.1	*F. sacchari*
Isolado 18	0	0	1	1	0	1	0	MOc 2.34	*Fusarium* sp. 2
Isolado 19	0	1	0	0	1	0	1	JSm 1.19	*F. sacchari*
Isolado 20	0	1	0	1	0	1	0	JOc 2.9	*F. verticilioides*
Isolado 21	1	0	0	1	0	0	1	AOm 1.39	*F. sacchari*
Isolado 22	1	0	0	0	1	0	1	ASm 1.0	*F. sacchari*
Isolado 23	1	0	0	0	1	0	1	ASm 1.07	*Fusarium* sp. 1
Isolado 24	0	1	0	0	1	0	1	JSm 2.0	*F. sacchari*
Isolado 25	1	0	0	0	1	0	1	ASm 1.37	*Fusarium* sp.
Isolado 26	0	0	1	0	1	0	1	MSm 1.6	*Fusarium* sp.
Isolado 27	0	0	1	1	0	1	0	MOc 2.14	*Fusarium* sp.
Isolado 28	0	1	0	1	0	1	0	JOc 2.9	*Fusarium* sp.

Isolado 29	1	0	0	1	0	0	1	AOm 1.07	*F. sacchari*
Isolado 30	0	0	1	0	1	0	1	MSm 2.13	*F. sacchari*
Isolado 31	0	1	0	1	0	0	1	JOm 1.9	*Fusarium* sp.
Isolado 32	1	0	0	0	1	0	1	ASm 1.1	*Fusarium* sp.
Isolado 33	0	0	1	0	1	0	1	MSm 1.5	*Fusarium* sp.
Isolado 34	0	1	0	1	0	1	0	JOc 2.5	*F. sacchari*
Isolado 35	0	1	0	0	1	0	1	JSm 2.1	*F. sacchari*
TOTAL[1]	**14**	**9**	**13**	**17**	**18**	**13**	**22**		

Fonte: A autora (2025)

Figura 3. Número de isolados de *Fusarium* spp. das a partir da micobiota nativa de *Nasutitermes corniger* no Recife, apresentados por árvore, casta e método de obtenção.



Fonte: A autora, (2025)

Tabela 3 – Número de fungos isolados em operários (O) e soldados (S) de *Nasutitermes corniger* em aroeiras (A), jambeiros (J) e mangueiras (M) na

Universidade Federal de Pernambuco (campus Recife), utilizando isolamento em meio de cultura (m) ou incubação em câmaras úmidas (c).

Assembleias	Total de isolados
ASm	8
ASc	3
AS total	**11**
AOm	3
AOc	0
AO total	**3**
JSm	5
JSc	0
JS total	**5**
JOm	2
JOc	3
JO total	**5**
MSm	4
MSc	0
MS total	**4**
MOm	1
MOc	7
MO total	**8**

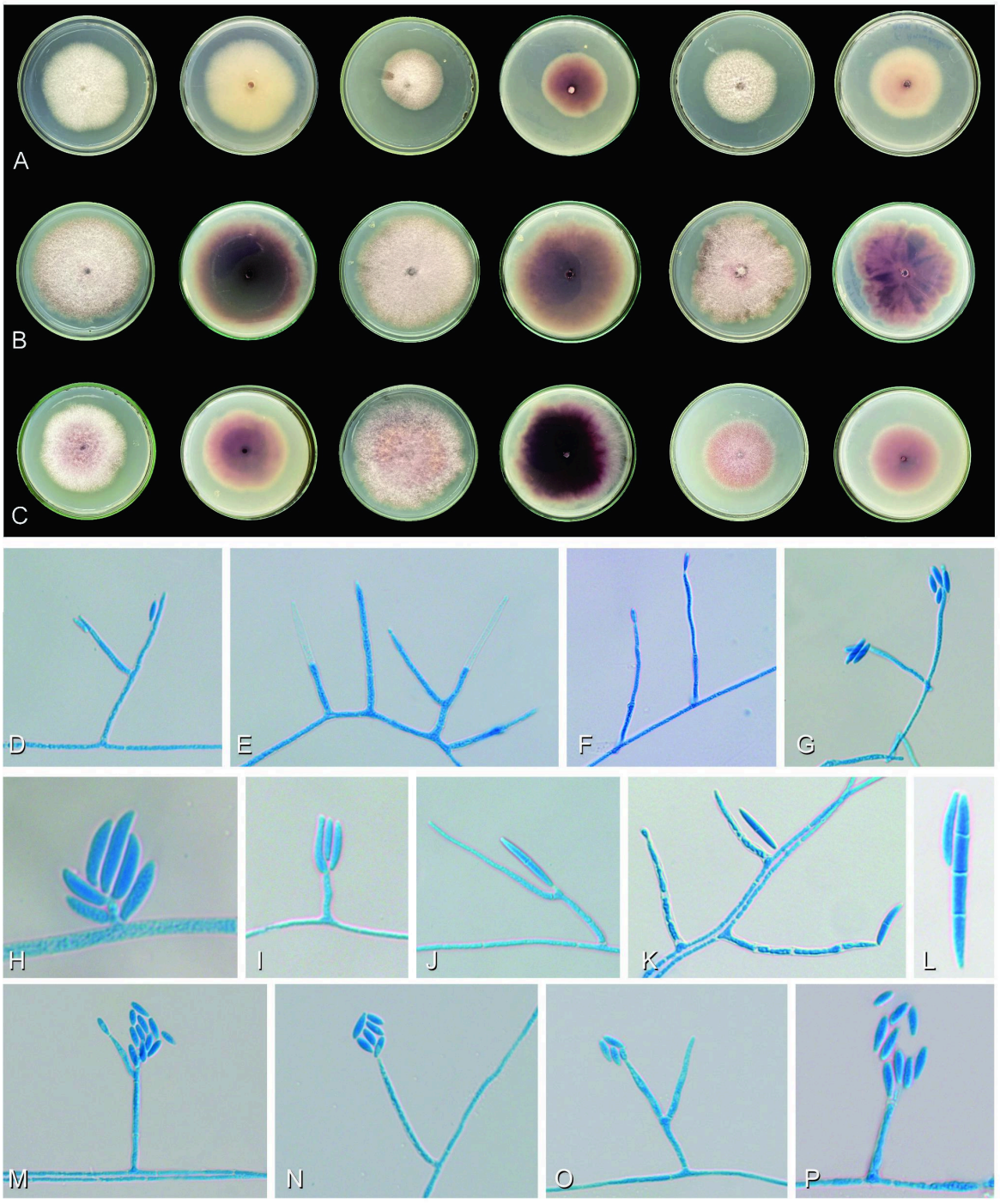
Fonte: A autora, (2025)

Tabela 4 - Identificação de fungos isolados de soldados (S) e operários (O) de *Nasutitermes corniger* em aroeiras (A), jambeiros (J) e mangueiras (M) da Universidade Federal de Pernambuco (campus Recife), utilizando-se técnicas de isolamento em meios de cultura (m) e incubação em câmara úmida (c).

Identificação	n	Árvore			Casta		Isomento	
		A	J	M	S	O	c	m
Fusarium annulatum	6	2	1	3	2	4	2	4
Fusarium sp. 3	1	0	0	1	0	1	1	0
Fusarium sacchari	15	9	5	1	11	4	3	12
Fusarium verticilioides	2	1	1	0	1	1	2	0
Fusarium sp.	11	2	2	7	4	7	5	6
Total	**35**	**14**	**9**	**12**	**18**	**17**	**13**	**22**

Fonte: A autora (2025)

Figura 4. *Fusarium* associado a *Nasutitermes corniger* em áreas urbanas de Pernambuco. A. *Fusarium annulatum*, verso e reverso de três isolados (25 °C no escuro, em meio BDA por 7 dias). B. *Fusarium sacchari*, verso e reverso de três isolados (25 °C no escuro, em meio BDA por 7 dias). C. *Fusarium verticillioides*, verso e reverso de três isolados (25 °C no escuro, em meio BDA por 7 dias). *Fusarium annulatum*: conidióforos, fiálides e microconídios (D–G). *Fusarium oxysporum*: fiálide e conídios (H). *Fusarium sacchari*: conidióforos, fiálides e microconídios e macroconídios (I–L). *Fusarium verticillioides*: conidióforos, fiálides e microconídios (M–P). Micrografias em meio SNA, 25 °C em fotoperíodo, por 7 dias



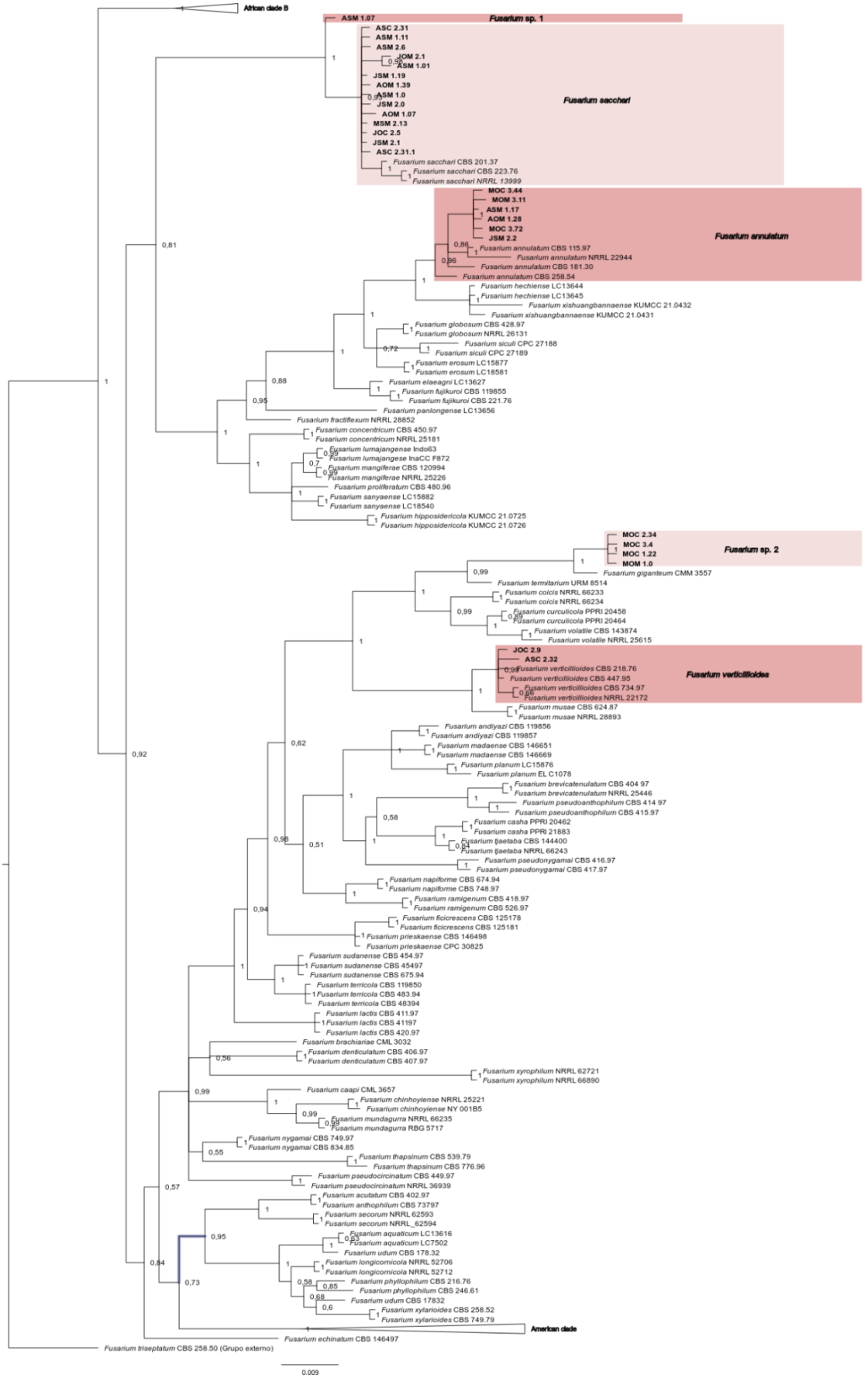
. Fonte: A autora (2025)

5.2. Análise filogenética

Dos 35 isolados do gênero *Fusarium* estudados, foram obtidas sequências parciais da região *TEF1* para 24 isolados. De acordo com a análise filogenética, 23 isolados pertencem ao complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* (FFSC) e um ao complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (FOSC). No FFSC (Figura 5), 14

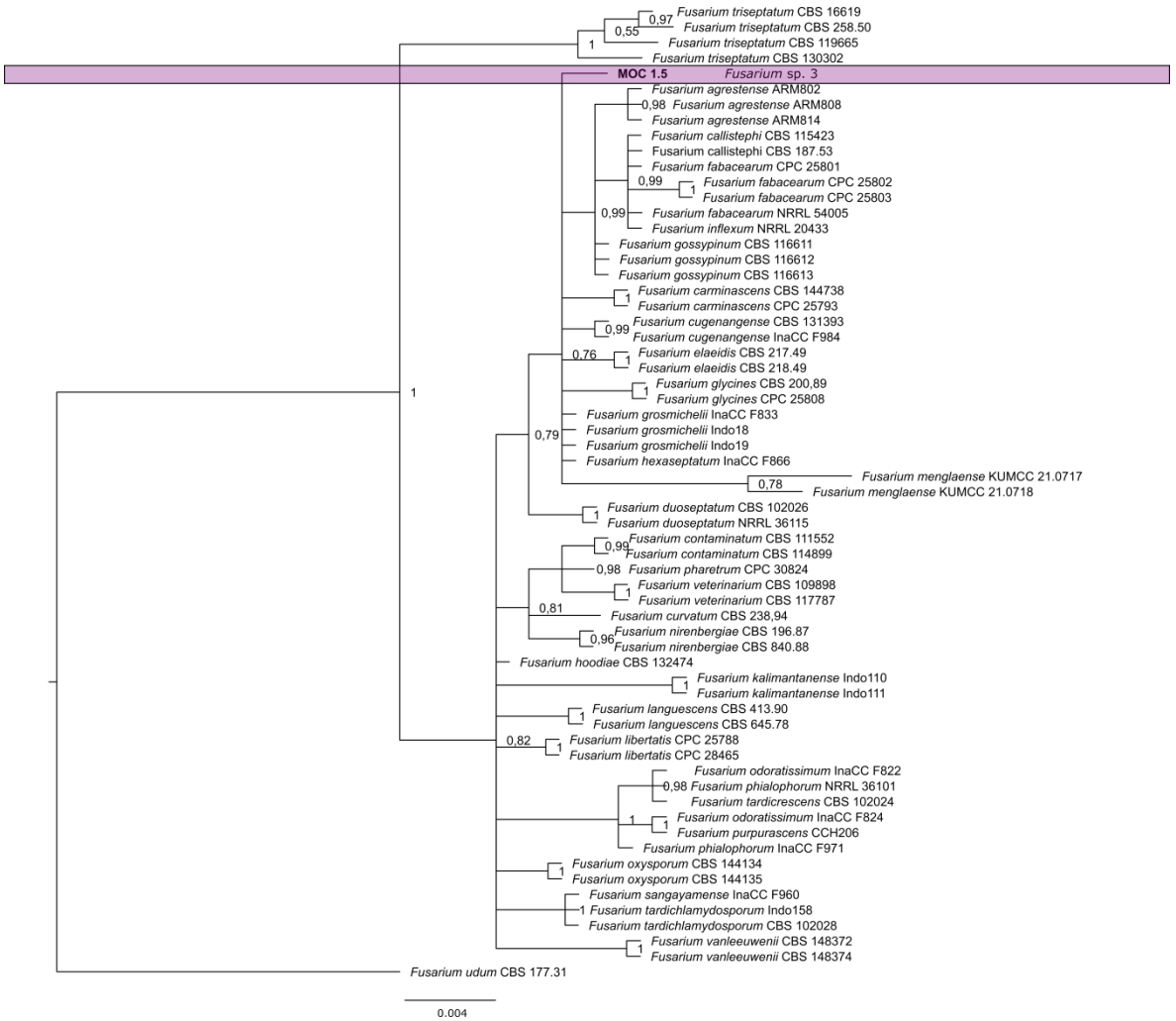
isolados foram identificados como *Fusarium sacchari* (PP = 0.93), seis isolados como *Fusarium annulatum* (PP = 0.96), e dois isolados como *Fusarium verticillioides* (PP = 0.99). Um isolado não agrupou com nenhuma espécie conhecida, indicando uma possível espécie nova irmã de *F. sacchari* (P= 1). Outros quatro isolados também formaram um clado genealogicamente exclusivo, irmão de *Fusarium giganteum* (PP = 1). Para confirmar se trata-se de duas espécies novas, estudos futuros são requeridos, incluindo o sequenciamento das demais regiões gênicas a serem incorporadas na análise filogenética. O isolado do FOSC (Figura 6) não se agrupou com nenhuma espécie previamente descrita, permitindo a possibilidade de uma nova espécie.

Figura 5. Árvore de Inferência Bayesiana (BI) do complexo FFSC baseada nas sequências de *TEF1*.


African clade B
ASM 1.07
Fusarium sp. 1
ASC 2.31
ASM 1.11
ASM 2.6
AOM 2.1
ASM 1.01
JSM 1.19
AOM 1.39
ASM 1.0
JSM 2.0
AOM 1.07
MSM 2.13
JOC 2.5
JSM 2.1
ASC 2.31.1
Fusarium sacchari
Fusarium sacchari CBS 201.37
Fusarium sacchari CBS 223.76
Fusarium sacchari NRRL 13999
MOC 3.44
MOM 3.11
ASM 1.17
AOM 1.28
MOC 3.72
JSM 2.2
Fusarium annulatum
Fusarium annulatum CBS 115.97
Fusarium annulatum NRRL 22944
Fusarium annulatum CBS 181.30
Fusarium annulatum CBS 258.54
Fusarium hechiense LC13644
Fusarium hechiense LC13645
Fusarium xishuangbannaense KUMCC 21.0432
Fusarium xishuangbannaense KUMCC 21.0431
Fusarium globosum CBS 428.97
Fusarium globosum NRRL 26131
Fusarium siculi CPC 27188
Fusarium siculi CPC 27189
Fusarium erosum LC15877
Fusarium erosum LC18581
Fusarium elaeagni LC13627
Fusarium fujikuroi CBS 119855
Fusarium fujikuroi CBS 221.76
Fusarium panlongense LC13656
Fusarium fractiflexum NRRL 28852
Fusarium concentricum CBS 450.97
Fusarium concentricum NRRL 25181
Fusarium lumajangense Indo63
Fusarium lumajangense InaCC F872
Fusarium mangiferae CBS 120994
Fusarium mangiferae NRRL 25226
Fusarium proliferatum CBS 480.96
Fusarium sanyaense LC15882
Fusarium sanyaense LC18540
Fusarium hipposidericola KUMCC 21.0725
Fusarium hipposidericola KUMCC 21.0726
MOC 2.34
MOC 3.4
MOC 1.22
MOM 1.0
Fusarium sp. 2
Fusarium giganteum CMM 3557
Fusarium termitarium URM 8514
Fusarium coicis NRRL 66233
Fusarium coicis NRRL 66234
Fusarium curculicola PPRI 20458
Fusarium curculicola PPRI 20464
Fusarium volatile CBS 143874
Fusarium volatile NRRL 25615
JOC 2.9
ASC 2.32
Fusarium verticillioides
Fusarium verticillioides CBS 218.76
Fusarium verticillioides CBS 447.95
Fusarium verticillioides CBS 734.97
Fusarium verticillioides NRRL 22172
Fusarium musae CBS 624.87
Fusarium musae NRRL 28893
Fusarium andiyazi CBS 119856
Fusarium andiyazi CBS 119857
Fusarium madaense CBS 146651
Fusarium madaense CBS 146669
Fusarium planum LC15876
Fusarium planum EL C1078
Fusarium brevicatenulatum CBS 404 97
Fusarium brevicatenulatum NRRL 25446
Fusarium pseudoanthophilum CBS 414 97
Fusarium pseudoanthophilum CBS 415.97
Fusarium casha PPRI 20462
Fusarium casha PPRI 21883
Fusarium tjaetaba CBS 144400
Fusarium tjaetaba NRRL 66243
Fusarium pseudonygamai CBS 416.97
Fusarium pseudonygamai CBS 417.97
Fusarium napiforme CBS 674.94
Fusarium napiforme CBS 748.97
Fusarium ramigenum CBS 418.97
Fusarium ramigenum CBS 526.97
Fusarium ficicrescens CBS 125178
Fusarium ficicrescens CBS 125181
Fusarium prieskaense CBS 146498
Fusarium prieskaense CPC 30825
Fusarium sudanense CBS 454.97
Fusarium sudanense CBS 45497
Fusarium sudanense CBS 675.94
Fusarium terricola CBS 119850
Fusarium terricola CBS 483.94
Fusarium terricola CBS 48394
Fusarium lactis CBS 411.97
Fusarium lactis CBS 41197
Fusarium lactis CBS 420.97
Fusarium brachiariae CML 3032
Fusarium denticulatum CBS 406.97
Fusarium denticulatum CBS 407.97
Fusarium xyrophilum NRRL 62721
Fusarium xyrophilum NRRL 66890
Fusarium caapi CML 3657
Fusarium chinhoyiense NRRL 25221
Fusarium chinhoyiense NY 001B5
Fusarium mundagurra NRRL 66235
Fusarium mundagurra RBG 5717
Fusarium nygamai CBS 749.97
Fusarium nygamai CBS 834.85
Fusarium thapsinum CBS 539.79
Fusarium thapsinum CBS 776.96
Fusarium pseudocircinatum CBS 449.97
Fusarium pseudocircinatum NRRL 36939
Fusarium acutatum CBS 402.97
Fusarium anthophilum CBS 73797
Fusarium secorum NRRL 62593
Fusarium secorum NRRL 62594
Fusarium aquaticum LC13616
Fusarium aquaticum LC7502
Fusarium udum CBS 178.32
Fusarium longicornicola NRRL 52706
Fusarium longicornicola NRRL 52712
Fusarium phyllophilum CBS 216.76
Fusarium phyllophilum CBS 246.61
Fusarium udum CBS 17832
Fusarium xylarioides CBS 258.52
Fusarium xylarioides CBS 749.79
American clade
Fusarium echinatum CBS 146497
Fusarium triseptatum CBS 258.50 (Grupo externo)
0.009

Fonte : A autora, (2025)

Figura 6. Árvore de Inferência Bayesiana (BI) do complexo FOSC baseada nas sequências de *TEF1*.



Fonte: A autora, (2025)

6. DISCUSSÃO

O gênero *Fusarium* foi inicialmente descrito por Link em 1809, tendo como principal característica a presença de conídios com formato semelhante a banana ou canoa como característica marcante. No entanto, revisões taxonômicas baseadas em análises moleculares revelaram que essa característica não se restringe apenas ao *Fusarium*, mas também é encontrada em vários outros gêneros (Gräfenhan et al. 2011, Schroers et al. 2011, Lombard et al. 2015, Sandoval-Denis et al. 2019). Esse estudo representa o primeiro levantamento dessas espécies de *Fusarium* associadas ao cupim arborícola *Nasutitermes corniger.*

A caracterização taxonômica e filogenética das espécies de *Fusarium* associadas ao *Nasutitermes corniger* revelou a presença de seis diferentes espécies: *Fusarium annulatum*, *Fusarium sacchari*, *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, *Fusarium* sp. 3 e *Fusarium verticillioides*. A diversidade de espécies encontrada reforça a plasticidade ecológica do gênero *Fusarium*, que está amplamente distribuído em diferentes ambientes e pode atuar em diversos nichos ecológicos, incluindo associações simbiontes e patogênicas com insetos (Summerell et al., 2010; Leslie & Summerell, 2006).

Os resultados obtidos corroboram estudos anteriores que apontam algumas espécies de *Fusarium* como entomopatogênicas, sendo capazes de infectar e potencialmente controlar populações de insetos (Santos et al., 2020; Teetor-Barsch et al., 1983). Em particular, *F. oxysporum* tem sido extensivamente estudado quanto ao seu potencial entomopatogênico e apresenta uma ampla gama de hospedeiros (Kuruvilla et al., 1979).

A presença de *F. verticilioides* e *F. sacchari* é particularmente relevante, pois estas espécies são frequentemente associadas à produção de metabólitos secundários, como a ácido fusárico, que pode atuar na interação com insetos hospedeiros (Bacon et al., 2006). No entanto, o papel específico dessas toxinas na interação entre *Fusarium* e *Nasutitermes corniger* ainda precisa ser mais investigado.

A filogenia das amostras isoladas indicou que alguns dos isolados de *Fusarium* podem representar novas linhagens dentro do gênero, o que demonstra a necessidade de estudos adicionais com técnicas mais detalhadas, como

sequenciamento das demais regiões do genoma (Diniz et al., 2020b). Esse dado é particularmente importante para a biogeografia do gênero *Fusarium*, visto que sua diversidade ainda é subestimada em ecossistemas tropicais e urbanos (Summerell & Leslie, 2011).

Os resultados deste estudo também têm implicações para o controle biológico de cupins e outros insetos pragas. Alguns isolados de *Fusarium* demonstraram patogenicidade contra *Ceratitis capitata* (mosca do mediterraneo) (Hallouti et al., 2021) e *Spodoptera frugiperda* (lagarta do cartucho) (Diniz et al., 2020b), sugerindo que as linhagens identificadas neste estudo podem ter potencial para futuras aplicações biotecnológicas.

7. CONCLUSÕES

Este estudo investigou a diversidade de espécies de *Fusarium* associados a *Nasutitermes corniger*, fornecendo uma caracterização taxonômica e filogenética detalhada desses microrganismos. Foram obtidos 35 isolados de *Fusarium* a partir de diferentes castas de cupins e árvores hospedeiras, evidenciando a riqueza de micobiota associada a esses insetos. A análise filogenética evidenciou a presença de diversas linhagens pertencentes ao gênero *Fusarium*, incluindo possíveis novas espécies ainda não descritas.

A presença de diferentes espécies de *Fusarium* associadas a *Nasutitermes corniger* evidencia a complexidade das interações entre fungos e insetos em ambientes urbanos. A continuidade das investigações pode contribuir para o avanço no entendimento da diversidade fúngica e suas possíveis aplicações no controle biológico, além de fornecer dados relevantes para a taxonomia e ecologia de fungos associados a cupins.

REFERÊNCIAS

ADAMSON, A.M. **Termites and the fertility of soils**. *Tropical Agriculture*, 20(6):107-202, 1943.

AL-MAWAALI, MA, et al. ***Fusarium neocosmospora* and its role in plant diseases**. *Journal of Phytopathology*, *Journal of Phytopathology* , 35(4), 213-220. 2013.

ADDARIO, L., et al. ***Fusarium* species as entomopathogens: a review.** *Controle Biológico* , 58(3), 272-279. 2011.

ALVES, SB. **Insetos como patógenos de fungos** (2ª ed.). São Paulo: Editora Agronômica Ceres. 1998.

AMBURGEY, TL**. Resistance of wood from paraquat-treated southern pines to subterranean termites, decay fungi, and marine borers.** *Ecological Entomology* , 8(4), 1203-1215. 1979.

ADAMSON, S. **The contribution of termites to the decomposition of organic matter.** *Ecological Entomology*, v. 16, n. 1, p. 50-60, 1943.

AL-ANI, L. K. T. et al. **First record of use *Fusarium proliferatum* fungi in direct treatment to control the adult of wheat flour *Tribolium confusum*, as well as, use the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana***. *Eco. Env. & Cons. 24 (3); pp. (1043-1047)*, 2018.

ARAÚJO, R. L. **Catálogo dos Isoptera do novo mundo.** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1977.

AMARAL, R. D. A. M. **Diagnóstico da ocorrência de cupins xilófagos em árvores urbanas do bairro de Higienópolis, na cidade de São Paulo**. 71p. (Dissertação) Mestrado, ESALQ/USP, Piracicaba, 2002.

AMBURGEY, T.L. **Review and checklist of the literature on interactions between wood-inhabiting fungi and subterranean termites**: 1960-1978. Sociobiology. 4(2):279-296, 1979.

BACON, C. W. et al. **Production of Fusaric Acid by *Fusarium* Species**. *USDA Agricultural Research Service, Toxicology and Mycotoxin Research Unit*, 2006.

BANDEIRA, A. G. et. al.. **Composição da fauna de cupins (Insecta, Isoptera) em área de Mata Atlântica em João Pessoa, Paraíba, Brasil**. Revista Nordestina de Biologia, 12(1/2): 9-17. 1998.

BANDEIRA. A. G. & A. VASCONCELLOS. **Estado atual sobre o conhecimento sistemático e ecológico sobre os cupins (Insecta, Isoptera) do Nordeste brasileiro**. Revista Nordestina de Biologia*,* 13 (½) 37-45, 1999.

BEHR, E. A.; BEHR, C.T.; WILSON, L.F. **Influence of wood hardness on feeding by the Eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae)**. Ann. Entomol. Soc. Am. 65: 457-460, 1972.

BIGNELL, D., R. et. al. Macrofauna, p. 91-148. In: Moreira, F.M.S., E.J. Huising & D.E. Bignell (Eds.). **Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo**. Instituto Nacional de Ecología, México, 337 p. 2012.

BOSSHARD, H.H. **Holzkunde. Bd. 2. Zur Biologie, Physik und Chemie des Holzes. 2.**; uberarb. Auflage, Birkhauser Verlag, Basel etc., 312pp. 1984

BOULOGNE, I. et. al. **Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs**. Journal of Pest Science, 90, n. 1, p. 19-37. 2016.

BRUGEROLLE, G., & RADEK, R. **Symbiotic Protozoa of Termites**. In: König, H., Varma, A. (eds) Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates. Soil Biology, vol 6. Springer, Berlin. 2006

BUSTAMANTE, N.C.R. **Preferências alimentares de 5 espécies de cupins Nasutitermes Dudley, 1980 (Termitidae: Isoptera) por 7 espécies de madeiras de várzea na Amazônia Central**. Dissertação de Mestrado, INPA/FUA, Manaus, 151p. 1993.

CARTER, F.L.; Jones, S.C.; Mauldin, J.K.; Camargo, C.C.R. **Responses of Coptotermes formosanus Shiraki to extracts from five Brazilian hardwoods**. A. Angenwandte Entomol., 95: 5-14. 1983.

CROUS, P.W, et al. **Fungal Planet description sheets**: 868–950. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, v. 44, p. 301-459, 2020.

COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-praga: morfologia, biologia e controle**. Rio Claro. 128p. 2002.

COSTA-LEONARDO, A.M. **Termitas e seu impacto econômico.** São Paulo: Editora Ceres. 2002.

COSTA-LEONARDO, A.M. **Biologia e controle de cupins em construções**. São Paulo: Editora Nacional. 2002.

CONSTANTINO, R. **Catalog of the living termites of the new world (Insecta: Isoptera)**. **Arquivos de Zoologia,** São Paulo, v. 135, p. 135-231, 1998.

CONSTANTINO, R. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. **Papéis avulsos de zoologia**. São Paulo 40 (25):387-448. 1999.

CONSTANTINO, R. **The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status**. J. Appl. Ent. 126:355-365. 2002.

CONSTANTINO, R. **Diversidade e ecologia de cupins na região Neotropical**. Campinas: Editora Unicamp. 2016.

DE LA CRUZ MNS et. al. **Terpenes from *Nasutitermes* genus termites (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae)**. Quım Nova, 37, n. 1, p. 95-103, 2014.

DEAN, RA, et al. ***Fusarium oxysporum* e seu papel em doenças de plantas.** Fungal Genetics and Biology , 58, 62-75. 2012.

DIÁCONO, J. **Fungal Biology** . Cambridge: Blackwell. 2006.

DINIZ, A. G., et al. **Evaluating *Fusarium* species as biocontrol agents for forest and agricultural pests**. Mycological Applications, 12(3), 300-315. 2020

DINIZ, A. G. et al. **Patogenicidade de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* para *Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae) e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**. *Revista Internacional de Manejo de Pragas*, v. 68, n. 2, p. 103-112, 2020b.

EDWARDS, R. & Mill, A. E. **Termites in buildings**: Their biology and control. Felcourt: Rentokil Ltda. 231p, 1986.

FAN, Y., et al. **Entomopathogenic activity of *Fusarium* species.** *Journal of Invertebrate Pathology*, 62(4), 121-129, 2014.

FONTES, FJP E MILANO, L. **Perda de patrimônio histórico devido a cupins** . São Paulo: Editora FAPESP. 2002.

FONTES, L. R. Cupins em áreas urbanas. In: E. BERTI FILHO; L. R. FONTES (eds.). **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. Piracicaba: FEALQ, p.57-76. 1995.

FORTUNA, Jorge. **PROTOCOLOS DE COLETAS, ANÁLISES, IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE FUNGOS AMBIENTAIS** - Projeto Fungus Extremus, 2020

GRASSÉ, P.P. **Termitologia.** Paris: Masson. v. 1. 1982.

GILBERTSON, RL. **O papel dos fungos na decomposição da madeira por cupins.** *Symbiosis* , 22(4), 67-75. 1984.

GOV (2024). ***Fusarium spp.*: Emerging fungal pathogens in clinical and agricultural settings.** *Journal of Mycology and Medical Research*, 58(1), 75-92.

GOSWAMI, R. S., & KISTLER, H. C. **Heading toward *Fusarium* genomics: Bridging the gap between fundamental and applied research**. *Fungal Genetics and Biology*, 41(6), 483–492. (2004)

GRÄFENHAN, T. et. al. **An overview of the taxonomy, genetics, and biology of *Fusarium* species causing diseases in plants and humans**. *Mycotoxin Research*, 27(1), 11–16. (2011)

HALLOUTI, A. et al. **Patogenicidade de isolados de *Fusarium* spp. contra a mosca da fruta do Mediterrâneo (*Ceratitis capitata*) e suas respostas à radiação ultravioleta-B e ao estresse hídrico**. *Aplic. Entomol. Exp.*, 2021.

HATMI, S. **Diversity and phylogeny of *Fusarium* species associated with soil and plants.** *Mycological Progress*, 15(1), 1-15. 2016.

HIBBETT, DS, et al. **Classificação e filogenia de fungos: a perspectiva de um taxonomista**. Mycologia, 98(6), 933-944. 2007.

HUSSEIN, M. ***Fusarium* na agricultura: Uma revisão.** *Agricultural Journal* , 50(3), 215-230. 2019.

KÃÃRIK, A.A. Decomposition of wood. In: C. H. Dickinson, G. J. F. (Eds.): **Biology of plant litter decomposition**, Academic Press, London & New York. pp 129-174. 1974.

KAISER, DORKAS, MICHEL LEPAGE, SOULEYMANE KONATÉ, e KARL EDUARD LINSENMAIR. “Ecosystem services of termites (Blattoidea: Termitoidae) in the traditional soil restoration and cropping system Zaï in northern Burkina Faso (West Africa)”. **Agriculture, Ecosystems & Environment** 236:198–211. 2017.

KENDRICK, B. **Ecologia e evolução fúngica**. Cambridge: Cambridge University Press. 2017.

KLICH, MA. ***Fusarium: Identificação de espécies de Fusarium*** . Holanda: Elsevier. 2002.

KOCHMAN, J. ***Fusarium oxysporum* e seu impacto econômico.** *Plant Pathology Journal* , 10(2), 45-49. 1995

KURUVILLA, S. et al. **Gama de hospedeiros do fungo entomopatogênico *Fusarium oxysporum* Schlecht e sua segurança para três plantas cultivadas**. *Ciências Atual*, 1979.

LA FAGE, J.P. & Nutting, W.L. **Nutrient dynamics of termites. In Production ecology of ants and termites** (M.V. Brian, ed.). Cambridge University Press, Cambridge, p.165-232. 1978.

LASO, M. S. R. **Pathogenicity of *Fusarium proliferatum* against *Thaumastocoris peregrinus* and its impact on non-target plants**. *Biocontrol Science and Technology*, 22(5), 541-549. 2012.

LEE, K.E.; Wood, T.G. **Termites and Soils**. London and New York, Academic Press, 251p. 1971.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* Laboratory Manual**. Blackwell Publishing, 2006.

LOMBARD,L., SANDOVAL-DENIS, M., LAMPRECHT, S. C., & CROUS, P. W. **Epitypification of *Fusarium oxysporum* – Clearing the taxonomic chaos**. *Persoonia*, 35, 1–16. (2015).

MACIEL, CL, SILVA, RP, & RIBEIRO, ML. **Basidiomycota e seus papéis ecológicos.** *Mycological Research* , 114(4), 284-290. 2010.

MCMAHAN, A.E.**Studies of termite Wood-Feeding Preferences**. Haw. Entomol. Soc. 19: 239-250. 1966.

MENEZES, M., et. al. **Cupins e o impacto econômico em residências.** *Revista de Entomologia Brasileira* , 34(3), 112-118. 2000.

MITCHELL, GP, et al.. ***Fusarium fujikuroi*: Giberelinas e crescimento vegetal.** *Plant Physiology* , 26(4), 923-935. 1951.

MILANO, S.; Fontes, L.R. **Cupim e Cidade: Implicações ecológicas e controle**, Conquista Artes Gráficas, São Paulo, 141p. 2002.

MOTSCHULSKY, F. **O gênero *Nasutitermes* em território Neotropical.** Entomologia, 14(3), 45-50. 1855.

MURADIAN, R.; ISSA, S.; JAFFÉ, K. **Energy comsumption of termites colonies of Nasutitermes ephratae (Isoptera: Termitidae).** Physiology & Behavior, 66(5): 731-735, 1998.

NAVARRO-VELASCO, R. ***Fusarium oxysporum:* Patogênese e interação com o hospedeiro.** *Journal of Applied Microbiology* , 19(1), 12-16. 2011.

NELSON, P. E., DIGNANI, M. C., & ANAISSIE, E. J. **Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species**. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4), 479-504. 1994.

NISHI, K., KIJIMA, S., & TAKAHASHI, H. **Phylogenetic diversity and evolution of *Fusarium* species complex: A comprehensive review**. *Mycological Progress*, **20**, 345–362. (2021)

NUSSI, M. **Clinical relevance and pathogenic mechanisms of *Fusarium* species in human infections**. *Medical Mycology*, 45(6), 561-575. 2007.

O'DONNELL, K., et. al. **Diversidade filogenética de espécies de *Fusarium*.** *Mycological Research* , 102(5), 765-772. 1998.

O'DONNELL, K., SUTTON, D. A., RINALDI, M. G., et al. **Molecular phylogenetics of *Fusarium* species causing invasive infections in humans and their resistance to antifungal agents**. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(12), 3661-3668. 2013.

O'DONNELL, K., et. al. **Filogenia e reclassificação de *Fusarium***. *Estudos em Micologia* , 98(2), 114-120. 2020.

OLIVEIRA, A. M. F. et. al. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação de madeiras.** São Paulo: IPT, v.I, p.99-278. 1986.

PITT, JI. **Biodiversidade fúngica e suas implicações na segurança alimentar**. Food Control, 3(1), 9-14. 2000.

PRICE, P.W. **Insect Ecology**. 2.Ed. New York: Wiley. 607pp. 1984.

PRICE, L. **Preferências de cupins por madeira: Uma revisão**. *Insect Behavior and Ecology* , 25(1), 107-112. 1984

PROCTOR, RH, **et al. *Fusarium fujikuroi* e a produção de fumonisinas**. *Mycopathologia* , 157(3), 233-245. 2004.

POTENZA, M.R.; ZORZENON, F.J. **Cupins: pragas em árvores e gramados urbanos** In: Alexandre, M.A.V; Duarte, L.M.L.; Campos-Farinha, A.E. de C. Plantas ornamentais: doenças e pragas. Cap. 11, p. 249-275, 2008.

ROBINSON, W.H. **Urban entomology: Insect and mite pests in the human environment**. 1 ed. London: Chapman & Hall, 430p, 1996

SANDS, W.A. **The association of termites and fungi. In Biology of termites** (K. Krishna & F.M. Weesner, eds.). Academic Press, New York, v.1, p.495-524. 1969

SANDS, W.A.; WOOD, T.G. **The role of termites in ecosystems**. In: Brian, M.V. (ed.). Production Ecology of ants Termites. Cambridge: Cambridge University Press, p.245- 292. 1978.

SANTOS, A. C. S. et. al. **Micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium*: Importância para saúde humana e animal.** *Ciência Rural*, 49(2), 2019.

SANTOS, A. C. S et al. **Espécies entomopatogênicas de *Fusarium*: uma revisão do seu potencial para o controle biológico de insetos, implicações e perspectivas**. *Fúngico. Biol. Rev.*, 2020.

SANTOS, MH, et al. **Espécies de *Fusarium* e seu impacto na saúde humana e animal**. *Journal of Fungal Biology* , 32(3), 191-205. 2019.

SILVA, RP, & COELHO, R. **Biodiversidade fúngica em florestas tropicais.** *Ecologia de Fungos* , 28(2), 97-106. 2006.

SNYDER, LH. **Ecologia de cupins em florestas tropicais.** *Science Journal* , 27(5), 102-110. 1926.

SPATAFORA, JW, et al. **Glomeromycota: Um novo filo fúngico**. *Mycology Journal* , 38(3), 175-190. 2016.

SLEIGH, MA. **Comportamento social de cupins**. *Insect Sociobiology* , 22(6), 67-72. 2002

SMYTHE, R.V.; Carter, F.L. **Feeding responses to sound wood by the eastern subterranean termite, Reticulitermes flavipes**. Ann. Entomol. Soc. Am. 62: 335-337. 1969.

SNYDER, T. E. Termites collected on the mulford biological exploration to the amazon basin, 1921-922. **Proceedings of the United States National Museum, Washington,** v. 68, p. 1-76, 1926.

SUMMERELL, B. A. et al. **Biogeografia e filogeografia de *Fusarium*: uma revisão.** *Fungal Divers*, 2010.

SUMMERELL, B. A.; LESLIE, J. F. **Cinquenta anos de *Fusarium*: como nove espécies poderiam ter sido o suficiente?** *Fungal Diversity*, v. 50, n. 1, p. 135–144, 2011.

TEDERSOO, L., et. al. **Classificação fúngica e história evolutiva** . Pesquisa micológica, 41(5), 148-157. 2018

TEETOR-BARSCH, G. H. et al. **Espécies entomógenas de *Fusarium***. *Micopatologia*, 1983.

TORALES, G. J.; ARMUA, A. C. **Contribución al conocimiento de las térmitas de Argentina (Provincia de Corrientes). *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae): primera parte.** FACENA, Corrientes, v. 6, p. 203-222, 1986.

VILLANI, A. et. al. ***Fusarium* mycotoxins: Occurrence, toxicity, and impact on crops**. *Mycotoxin Research*, 35(1), 1-20. 2019.

WOLCOTT, G.N. **Termite-repellent wood extractives**. J. Agr. Univ. Puerto Rico 37: 224-227. 1957.

WOOD, T.G. **Food and feeding habits of termites**. In: BRIAN, M.V. (Ed.). Production Ecology of Ants and Termites. Cambridge: CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, p.55- 1978.

WOOD, TW, & THOMAS, S. **Comportamento de cupins em ecossistemas tropicais** . Nova York: Springer. 2015.

VEGA, FE, & BLACKWELL, M. **Interações fúngicas com insetos** . Cambridge: Cambridge University Press. 2005

VELEZ, B. A. A. et. al. **Entomopathogenicity of *Fusarium* species in agricultural pest management**. *Fungal Ecology*, 10(2), 100-110. 2019.

VILLANI, A., et al. **Micotoxinas e suas implicações para a saúde** . Journal of Applied Microbiology, 36(4), 76-85. 2019.

ZORZENON, F.J.; JUSTI JUNIOR, J. **Manual Ilustrado de Pragas Urbanas e Outros Animais Sinatrópicos**. Instituto Biológico: São Paulo, 151p., 2006.

ZORZENON, F.J.; POTENZA, M.R. (Coords.). **Cupins: Pragas em Áreas Urbanas**. Boletim Técnico n.18, São Paulo, 66p., 2006.

ZORZENON, F.J. **Principais pragas das palmeiras**. In: Alexandre, M.A.V; Duarte, L.M.L.; Campos-Farinha, A.E. de C. Plantas ornamentais: doenças e pragas, Cap. 10, p. 207-247, 2008.

ZORZENON, F.J. **Levantamento, dimensionamento de danos e manejo de cupins subterrâneos e formigas carpinteiras em arborização urbana.** Instituto Biológico, Dissertação de Mestrado, 131p., 2009.