



FRANCINE BOTELHO DE ABREU

**FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE
PRAGAS AGRÍCOLAS: RELATÓRIO DE ESTÁGIO
REALIZADO NA EMPRESA BIOMIP AGENTES
BIOLÓGICOS**

**LAVRAS – MG
2022**

FRANCINE BOTELHO DE ABREU

**FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS:
RELATÓRIO DE ESTÁGIO REALIZADO NA EMPRESA BIOMIP AGENTES
BIOLÓGICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Agronomia, para a
obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira
Orientador

**LAVRAS - MG
2022**

FRANCINE BOTELHO DE ABREU

**FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS:
RELATÓRIO DE ESTÁGIO REALIZADO NA EMPRESA BIOMIP AGENTES
BIOLÓGICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Agronomia, para a
obtenção do título de Bacharel.

Aprovado em: 22 de abril de 2022.

Membro 1: Dra. Fernanda Aparecida Abreu

Membro 2: Caroline Macedo Rezende

Prof. Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira
Orientador

LAVRAS - MG
2022

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, à Deus por todas as oportunidades e bênçãos que tenho recebido, e por ter colocado pessoas tão especiais em minha vida.

Agradeço aos meus pais, Ana Maria e Wagner, e ao meu irmão Clodoaldo, por todo o apoio e incentivo, a vocês toda minha admiração e amor.

À minha irmã, Claudine, por ser meu maior exemplo e inspiração, e por sempre estar ao meu lado, me ouvindo e aconselhando.

Ao meu namorado, João Pedro, por toda a ajuda e por estar presente em todos os momentos de minha vida.

Agradeço também a todos os meus familiares e amigos, e a cada um que, de forma direta ou indireta, colaborou para a conclusão desta importante etapa de minha vida.

Aos meus professores que me ajudaram a chegar até aqui, por todo o conhecimento e incentivo, em especial ao meu orientador Cleiton Lourenço de Oliveira.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Agricultura (DAG/ESAL) e aos seus colaboradores pelas oportunidades, por toda a amizade feita e pelos ensinamentos passados durante todo o tempo que estive lá.

Um agradecimento especial à empresa Biomip – Agentes Biológicos, por ter me proporcionado vários momentos de aprendizado, amizade, novas experiências e convívio com várias pessoas espetaculares que levarei para toda minha vida.

Obrigada a todos!

RESUMO

O uso de produtos à base de agentes biológicos para o controle de insetos-praga na agricultura tem apresentado forte crescimento nos últimos anos. Dentre os microrganismos utilizados, os fungos representam uma grande parcela, devido à abundância de gêneros e espécies. Sabendo disso, a Biomip é uma empresa que visa a produção massal de dois dos fungos mais utilizados atualmente nos programas de controle biológico, são eles: *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Em cumprimento às exigências da disciplina PRG 201 e sob orientação do Prof. Cleiton Lourenço de Oliveira, o presente trabalho teve o objetivo de descrever a rotina prática na empresa Biomip Agentes Biológicos. As atividades do estágio concentraram mais efetivamente com a produção de bioinseticidas. Ao longo do período, a discente acompanhou todos os processos desenvolvidos no laboratório, como inoculação de fungos, metodologias de produção e avaliação de qualidade. Com isso, teve a oportunidade de entender melhor o funcionamento de uma biofábrica focada no controle biológico de pragas agrícolas.

Palavras-chave: Controle biológico. Entomopatógenos. Bioinseticidas.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 OBJETIVO GERAL.....	8
2.1 Objetivos específicos.....	8
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	8
3.1 Controle biológico de pragas.....	8
3.2 Fungos entomopatogênicos.....	9
3.2.1 <i>Metarhizium anisopliae</i>.....	11
3.2.2 <i>Beauveria bassiana</i>.....	14
3.3 Processo de infecção dos entomopatógenos.....	16
3.4 Fatores que afetam os entomopatógenos.....	18
3.4.1 Fatores Abióticos.....	18
3.4.2 Fatores Bióticos.....	20
4 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	21
4.1 Local de trabalho.....	21
4.2 Produção industrial de fungos entomopatogênicos.....	24
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
REFERENCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

O setor agrícola desempenha papel de grande importância no cenário da economia brasileira. Diversas culturas vêm se destacando no cenário de produção nacional, dentre elas a soja, milho, feijão, trigo e arroz. Com esse crescimento, tais culturas tornam-se alvo de diversas pragas, que afetam praticamente todas as fases de desenvolvimento das plantas e acarretam graves prejuízos no potencial produtivo das mesmas.

Os produtos químicos têm sido utilizados para o controle de pragas agrícolas e, embora eficientes, podem afetar a qualidade do alimento, a saúde do agricultor e a do consumidor. Além disso, apresentam efeitos negativos sobre organismos não alvos, incluindo os inimigos naturais das pragas, resultando em desequilíbrio biológico e ecológico (THOMAZONI et al., 2014)

A produção agrícola brasileira tem crescido gradativamente devido à demanda do mercado internacional, que é muito rígido em relação aos resíduos químicos. O uso do controle biológico apresenta-se como alternativa para reduzi-los, além de atender também a demanda nacional por programas de MIP (Manejo Integrado de pragas) (SOARES et al., 2009).

O controle biológico pode ser feito através de parasitoides, predadores e de entomopatógenos como fungos, bactérias, nematoides e vírus. Os fungos entomopatogênicos são agentes biológicos capazes de causar doenças em insetos, levando-os a morte. Possuem amplo espectro de ação, sendo capazes de infectar uma grande variedade de insetos e ácaros e de causar epizootias em condições naturais (ALVES et al., 2008). Esses patógenos também se diferem de outros grupos devido à capacidade de colonizar todos os estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (ALVES et al., 2008).

A fim de utilizar o potencial destes microrganismos, a empresa Biomip Agentes Biológicos tem o intuito de produzir em escala industrial os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, sendo esses dois gêneros os mais estudados e utilizados no Brasil. Os micoinseticidas produzidos pela empresa são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), possibilitando que essa tecnologia seja utilizada pelo produtor em sua propriedade rural.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho é descrever as atividades realizadas durante o período de estágio na empresa Biomip – Agentes Biológicos, localizada em Lavras, Minas Gerais.

2.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos foram: (1) proporcionar capacitação profissional, por meio de conhecimentos técnicos na área de controle biológico, com ênfase em microrganismos entomopatogênicos; e (2) fornecer embasamento para atuação no mercado de trabalho.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Controle biológico de pragas

Estima-se que, exista mais de 2,5 milhões de espécies de insetos, sendo conhecido cerca de 1 milhão. Desse total conhecido, cerca de 10% podem ser consideradas pragas, sejam elas urbanas ou agrícolas. Portanto, segundo Alves (1998), a patologia de insetos e o controle microbiano são de relativa importância no controle de insetos praga.

O controle biológico baseia-se em um dos fundamentos básicos das relações ecológicas entre os seres vivos de que cada espécie, seja animal, vegetal ou microbiana, possui inimigos naturais. Desta forma, organismos capazes de inibir o crescimento populacional de outros podem ser utilizados no controle de populações específicas que possam se tornar pragas. Um agente biocontrolador eficiente deve propiciar uma redução significativa dos danos causados por um organismo praga, por morte ou redução de seu crescimento populacional (MELO; AZEVEDO, 1998).

Dentre os organismos utilizados como agentes no controle biológico de pragas, os microrganismos destacam-se pela facilidade de manuseio e aplicação, baixo custo e conhecimento do processo de produção, além da eficiência pronunciada de algumas espécies já amplamente utilizadas com este intuito.

Existem muitos agentes com potencial para controlar pragas, dentre eles os insetos, vírus, bactérias e os fungos. Dentre os microrganismos, os fungos filamentosos são os mais proeminentes, pois estes não necessitam ser ingeridos para controlar efetivamente os organismos-alvo, desenvolvendo-se diretamente sobre o tegumento do hospedeiro.

3.2 Fungos entomopatogênicos

Fungos entomopatogênicos são um grupo de microrganismos filogeneticamente diversos, heterotróficos, eucarióticos, unicelulares ou multicelulares (filamentos) que se reproduzem por meio de esporos sexuais ou assexuados, ou ambos. Apresentam células quitinizadas e geralmente não móveis (BADII; ABREU, 2006).

O termo entomopatogênico refere-se àqueles microrganismos que são capazes de atacar insetos utilizando-os como hospedeiros para desenvolver parte de seu ciclo de vida (DELGADO; MURCIA, 2011), àqueles que reduzem as populações de insetos-praga a níveis que não causam danos econômicos às lavouras (TANZINI et al., 2001), ou àqueles que são um meio de controle na redução de vetores de doenças (SCHOLTE et al., 2004). Também são definidos como parasitas facultativos ou obrigatórios de insetos, com alta capacidade de esporulação e sobrevivência (DELGADO; MURCIA, 2011).

Constituem um grupo de grande interesse para o controle biológico de insetos. Aproximadamente 80% das doenças que ocorrem em insetos têm um fungo como agente causador. Praticamente todos os insetos-praga são suscetíveis a algumas das doenças causadas por esses fungos, que podem levar à morte (BATISTA, 1989).

Existem fungos que podem invadir insetos mortos, chamados saprófagos, e fungos que infectam insetos vivos, chamados entomófagos (BUTT et al., 2006). Das estimadas 1,5 a 5,1 milhões de espécies de fungos no mundo (HIBBETT et al., 2007), aproximadamente 750 a 1.000 são entomopatógenos fúngicos localizados em mais de 100 gêneros (ST. LEGER; WANG, 2010). As linhagens dos fungos entomopatogênicos estão concentradas nas ordens: Hypocreales (vários gêneros), Onygenales (gênero *Ascospaera*), Entomophthorales e Neozygitales (Entomophthoromycota) (MORA et al., 2017). Apesar disso, a maioria dos trabalhos refere-se principalmente a duas espécies de fungos: *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (STUMER et al., 2003).

O ciclo das relações fungo-hospedeiro depende das condições ambientais, como temperatura, luz, umidade, radiação solar, condições nutricionais e suscetibilidade do hospedeiro e apresenta as seguintes fases: a) adesão: os mecanismos envolvidos na adesão ainda não são totalmente conhecidos. Existem forças eletrostáticas envolvidas, além de relações de umidade e temperatura; b) germinação: quando o fungo encontra condições favoráveis de umidade (acima de 90%), temperatura de 23 a 30° C, pH (5,5 a 7,0), oxigênio e nutrição, o fungo germina produzindo o tubo germinativo; c) formação de apressórios: numa dilatação na extremidade do tubo germinativo. Nesta dilatação ocorre a migração de conteúdo citoplasmático tornando esta área num ponto de intensa atividade metabólica; d) formação do grampo de penetração: pode ocorrer uma diferenciação da hifa no apressório, tornando-a mais saliente, transformando-a numa espécie de grampo para perfuração da cutícula do inseto; e) penetração: na penetração estão envolvidos os processos físico e químico, sendo que neste ocorre a liberação de enzimas tais como: quitinases, lipases e proteases, que facilitam a penetração mecânica; f) colonização: a hifa penetra e inicia o crescimento e colonização do corpo do inseto a partir dos corpos gordurosos, passando para o tubo digestivo, causando paralisação da alimentação e interrupção alimentar, atinge o sistema nervoso, causando a paralisação do inseto, tornando o inseto rígido e atinge a traquéia por onde sai do corpo do inseto para se reproduzir; g) reprodução: o fungo pode se reproduzir por processos sexual ou assexual, sendo que a maioria dos trabalhos realizada para o controle de pragas é com a fase assexuada (ALMEIDA & BATISTA FILHO, 2006).

Segundo Almeida & Batista Filho (2006), os sintomas de insetos infectados com fungos são: manchas escuras pelo corpo, paralisação da alimentação, paralisia geral e perda de coordenação motora. Posteriormente, devido ao crescimento do micélio, o tegumento torna-se róseo, para depois assumir coloração esbranquiçada, e, a partir da esporulação, o inseto assume a coloração da espécie do fungo. Exemplo: branco para *Beauveria bassiana* e verde para *Metarhizium anisopliae*. Todas essas fases ocorrem entre 5 a 12 dias, dependendo do hospedeiro e da espécie do fungo.

Os fungos invadem os insetos por diversas vias, principalmente através da cutícula ou pele (tegumento). Uma vez dentro dos insetos, os fungos multiplicam-se rapidamente por todo o corpo. A morte é causada pela destruição dos tecidos e, ocasionalmente, pelas toxinas produzidas pelos fungos. Os fungos entomopatogênicos frequentemente emergem do corpo dos insetos, produzem esporos que, quando

espalhados pelo vento, chuva ou contato com outros insetos, podem causar uma epizootia (VALICENTE, 2009).

Por causa do complexo mecanismo de ação dos fungos, que envolve a travessia da cutícula dos hospedeiros, o desenvolvimento de resistência por parte de insetos e ácaros é bastante improvável (SHAH; PELL, 2003). Essa vantagem é importante e desejável no contexto atual de redução de opções químicas para o agricultor, tanto pelo cancelamento de registro dos produtos químicos mais tóxicos quanto pela dificuldade de descoberta de novas moléculas inseticidas.

Os fungos entomopatogênicos podem infectar diferentes estágios de desenvolvimento dos hospedeiros como ovos, larvas, pupas e adultos, sendo essa característica desejável e muito peculiar desse grupo. Alguns são mais agressivos, porém a maioria é altamente especializada na penetração via tegumento, o que os coloca em vantagem quando comparados com outros grupos de patógenos que só entram no inseto por via oral (SHAH; PELL, 2003).

Empresas multinacionais produtoras de agrotóxicos perceberam a expansão do mercado de biológicos e, como resultado, têm adquirido empresas envolvidas com microrganismos entomopatogênicos. Até o momento, 148 produtos com formulação à base de fungos entomopatogênicos já se encontram disponíveis no Brasil (AGROFIT, 2022). Estes produtos são compostos pelo filo Ascomycota, destacando os gêneros *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria*.

Os gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* são os mais estudados e utilizados no Brasil, devido à ampla gama de insetos que podem ser controlados por estes, e também pela facilidade de produção em laboratório (ALMEIDA & MACHADO, 2006).

O número de empresas no Brasil com produtos biológicos registrados teve um aumento de 83% em menos de uma década. Um dos maiores programas de controle de artrópode-praga por meio de fungos ocorre no Brasil. Mais de 750 mil hectares de cana-de-açúcar e 250 mil hectares de pastagens são tratadas anualmente com *M. anisopliae* s.l. contra cercopídeos, especialmente de cigarrinhas do gênero *Mahanarva* (LI et al., 2010).

3.2.1 *Metarhizium anisopliae*

Metarhizium spp. é um fungo filamentoso, entomopatogênico e acaricida. São considerados fungos deuteromicetos pertencentes à classe Hiphomycetes. Apresenta

micélio hialino e septado, com conidióforos característicos, sobre os quais surgem conídios em colunas compactas. Os conídios apresentam parede lisa e espessa, são hialinos quando vistos isoladamente e a massa conidial apresenta coloração esverdeada (Figura 1) (LIMA, 1989; ALVES, 1998).



Figura 1 – *Metarhizium anisopliae*. Fonte: Caroline Macedo Rezende (2022).

De acordo com Alves (1998), os conídios são uninucleados, coloridos, formando-se sobre conidióforos simples, que formam uma massa sobre o inseto infectado, sendo a doença chamada de muscardine verde, pois no final da formação das estruturas fúngicas, as carcaças apresentam tons de verde que variam do claro ao escuro, acinzentado ou ainda esbranquiçado (Figura 2).



Figura 2 – Cigarrinha-das-raízes colonizada pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. Fonte: Pinto (2020).

Sua identificação data de 1879, quando o patologista russo Ilya Metschnikoff o isolou de larvas de besouro *Anisopliae austriaca* Hbst, classificando-o como *Entomophthora anisopliae*. Um ano depois, o mesmo pesquisador o descreve como *Isaria destructor*. Mais tarde, em 1883, este fungo foi classificado por Sorokin, como *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, permanecendo assim até os dias atuais (LIMA, 1989; ALVES, 1998).

Atualmente, *M. anisopliae* é um importante agente utilizado no controle biológico de pragas, tendo sua ação bastante estudada e amplamente utilizada (SHAH & PEEL, 2003). Este fungo infecta mais de 300 espécies de insetos, incluindo pragas importantes tanto para a agricultura como para pecuária (ALVES, 1998). No Brasil, *M. anisopliae* vem sendo utilizado como controlador da cigarrinha e da broca da cana-de-açúcar (*Mahanarva posticata* e *Diatrea saccharalis*), da cigarrinha das pastagens (*Deois flavopicta* e *Zulia entreriana*), de percevejos da soja dos gêneros *Nezara* e *Piezodorus*, e da broca do rizoma (*Cosmopolites sordidus*) em bananeira (ALVES, 1998).

Sua patogenicidade tem sido ainda demonstrada para alguns vetores de doenças humanas (SHERLOCK & GUITTON, 1992) e para carrapatos de diferentes gêneros e espécies (FRAZZON *et al.*, 2000). O primeiro relato de ocorrência natural de *M. anisopliae* infectando fêmea ingurgitada de carrapato foi realizado por DA COSTA *et al.* (2002), no município de Paracambi, no estado do Rio de Janeiro. Este fato evidenciou a possibilidade do uso de *M. anisopliae* como biocontrolador do carrapato

bovino *Boophilus microplus*, para o qual foi demonstrada elevada mortalidade em ovos, larvas e fêmeas ingurgitadas.

3.2.2 *Beauveria bassiana*

A partir de análises filogenéticas moleculares, o fungo *Beauveria bassiana* foi incluso no grupo dos Ascomycetos, ordem Clavicipitales, Classe Hyphomycetes, Família Moniliaceae e é comumente encontrado no solo. É um “fungo imperfeito” uma vez que seu estágio sexual não é conhecido, sendo sua reprodução principalmente assexuada em que os esporos são produzidos por sucessivas divisões celulares. Por formarem-se em hifas, denominadas conidióforos, os esporos podem ser chamados de conídios (DALZOTO; UHRY, 2009).

O gênero *Beauveria* Vuill. foi estabelecido por Vuillemin em 1912, em homenagem a Beauverie, renomado entomologista francês da época. O fungo foi encontrado causando a doença muscardine branca sobre *Bombyx mori*, o bicho da seda. Agostinho Bassi foi quem primeiro demonstrou que essa doença era causada por um fungo. Como Bassi não era micologista, enviou a cultura do fungo para Balsamo na Itália. Este o colocou no gênero *Botrytis*, e o nomeou de *Botrytis bassiana*. Mais tarde, muitos estudos foram realizados e as características não eram de *Botrytis*. Deste modo, em 1912, Vuillemin reestudou o fungo e denominou de *Beauveria bassiana*, permanecendo até os dias atuais.

B. bassiana tem as seguintes características: filamento micelial de cor branca (Figura 3), cilíndrico, 3,5 µm de diâmetro, hialino, septado, conidióforos simples ou ramificados, ovóides, célula conidiogênica em forma de garrafa com terminação em zigue-zague, medindo de 1,5 a 5 µm e conídios globosos (0,5 a 1 µm) (MACLEOD, 1954).

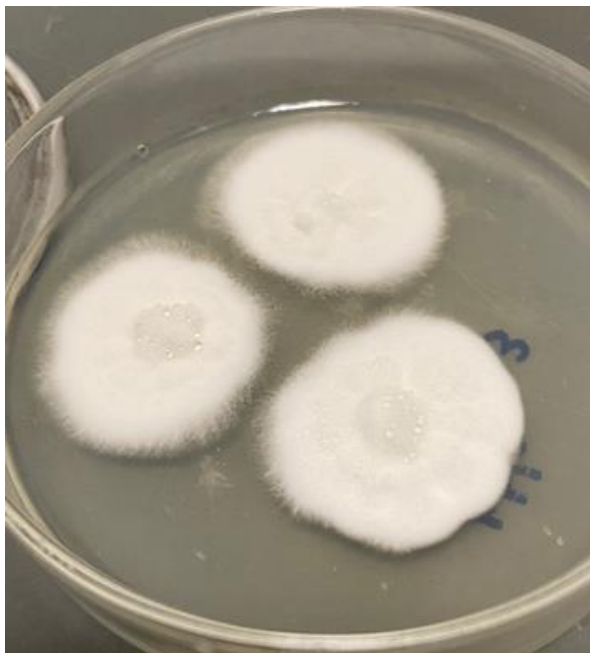


Figura 3 – *Beauveria bassiana*. Fonte: Caroline Macedo Rezende (2022).

O ciclo biológico da *B. bassiana* proporciona sua caracterização como um parasita facultativo, onde seus conídios têm a capacidade de penetrar em qualquer parte da cutícula do inseto mediado por enzimas líticas, podendo também ocorrer pelos aparelhos respiratório e digestório. Os conídios já dentro do inseto criam tubos germinativos e hifas que transpassam o tegumento. Logo, o fungo se propaga na hemolinfa do hospedeiro criando uma vasta massa de hifas, ocasionando posteriormente a morte do inseto (Figura 4). Assim, com a redução dos nutrientes, e em condições favoráveis, o fungo aflora, externando suas hifas e formando uma massa branca na superfície do cadáver (DALZOTO e UHRY, 2009).



Figura 4 – Broca-do-café colonizada pelo fungo *Beauveria bassiana*. Fonte: José Nilton Medeiros Costa (2009).

O gênero *Beauveria* é um dos agentes mais promissores para o controle biológico, visto que se dispersa facilmente, além de possuir extensa variedade de hospedeiros e habilidade de penetração. A espécie *Beauveria bassiana* é um dos fungos mais empregados para controlar pragas na agricultura já que é patogênico a várias espécies e também pela facilidade de produção in vitro (SANTORO et al., 2005). Este fungo pode ocasionar graves doenças em mais de 200 espécies de insetos (UHRY, 2007; DE MOURA et al., 2015).

O fungo tem sido altamente difundido no Brasil pela alta eficiência no controle da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), além de outras pragas-chaves de diversas culturas como a mosca-branca (*Bemisia tabaci* raça B), ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*), gorgulho-do-eucalipto (*Gonipterus scutellatus*), moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), e cochonilha (*Coccus viridis*) (DALZOTO; UHRY, 2009).

3.3 Processo de infecção dos entomopatógenos

Os mecanismos de ação das espécies *B. bassiana* e *M. anisopliae*, são geralmente os mesmos apresentados para outros fungos filamentosos. Durante o processo de infecção (Figura 5), os fungos constituem uma série de eventos com propriedades mecânicas e bioquímicas. Esse mecanismo inicia-se com a deposição de conídios na cutícula do hospedeiro (adesão), seguido pela germinação dos conídios (germinação), penetrando na cutícula por ação mecânica e processos enzimáticos (formação de apressórios e grampo de penetração), invasão, colonização do corpo do inseto, produção de toxinas, externalização das estruturas fúngicas, produção de conídios sobre a carcaça do hospedeiro e disseminação (ST. LEGER et al., 1996). O tempo de infecção e colonização pode variar, dependendo do hospedeiro e das condições ambientais (WANG et al., 2002).

Ao encontrar condições ambientais favoráveis, o fungo faz com que seus esporos interajam hidrofobicamente com a cutícula do hospedeiro. Depois de penetrar na cutícula através dos tubos germinativos, o fungo invade rapidamente os órgãos internos, resultando em paralisia e morte do hospedeiro (GARCIA et al., 2005). Quanto

mais conídios penetram, mais toxinas ou enzimas são liberadas, aumentando a mortalidade do inseto. Após a morte, se as condições forem adequadas, o fungo cresce e esporula servindo de fonte de inóculo para outros 15 indivíduos adicionais (DRIVER et al., 2000), A fonte natural de inóculo mais importante para iniciar uma epizootia é o solo (ALVES, 1998; FRANCESCHINI et al., 2001).

Alves (1998) relatou que os sintomas causados pela patogenia nos insetos infectados são inquietação, perda de sensibilidade, descoordenação motora e paralisia, devido a produção de metabólitos secundários que afetam os canais de resposta muscular e a estrutura da membrana celular, assim, a liberação de toxinas causa a morte do inseto, período que varia de 5 a 12 dias, dependendo das condições ambientais (temperatura, luz, umidade e radiação ultravioleta), condições nutricionais e susceptibilidade do inseto.

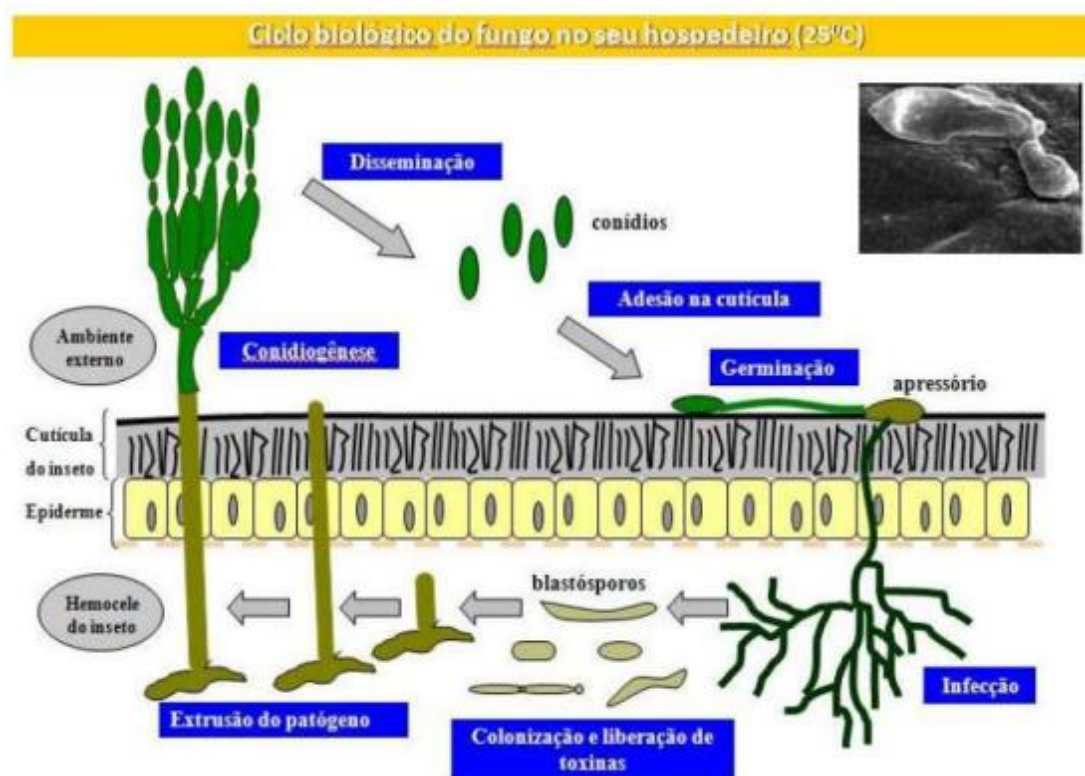


Figura 5 – Esquema ilustrativo representando o processo de infecção de um fungo entomopatogênico no seu hospedeiro. Fonte: Silva (2012).

De acordo com St. Leger et al. (1991), o processo de adesão dos conídios é fundamental para a formação de apressórios, pois representa o primeiro evento da

relação fungo hospedeiro visando à penetração no inseto. A fixação dos conídios no inseto hospedeiro representa o evento inicial na formação da micose, e ocorre através da cutícula à qual ele adere e germina. Alves (1998) mencionou que os fungos entomopatogênicos agem por contato e atuam de forma mais lenta que os inseticidas químicos. No entanto, eles apresentam melhor controle, pois são capazes de permanecer sobre os insetos mortos na forma de conídios ou mesmo no solo, sendo este, considerado o maior reservatório. A velocidade de infecção destes fungos está relacionada à estrutura tegumentar dos hospedeiros. Eles produzem uma série de enzimas proteolíticas e quitinolíticas que podem estar envolvidas na sua patogenicidade (JOSHI et al., 1997), sendo responsáveis por regular e induzir a degradação da quitina (ST. LERGER et al., 1996). Proteases, quitinases e lipases estão envolvidas na patogenicidade dos fungos entomopatogênicos aos seus hospedeiros (ST. LEGER 16 et al., 1999), agindo sinergisticamente para degradar e penetrar na cutícula do hospedeiro antes de atingir a hemolinfa, rica em nutrientes (JOSHI et al., 1997).

3.4 Fatores que afetam os patógenos de insetos

Como relatado por Alves & Lecuona (1998), somente a presença de uma estrutura do patógeno sobre um inseto ou dentro dele não é condição suficiente para a ocorrência de uma doença. Os entomopatógenos, ao serem aplicados no campo, estão sujeitos a uma série de fatores bióticos e abióticos que podem ter influência na sua sobrevivência, propagação e infecção no hospedeiro, de acordo com Franco (2005). Os fatores bióticos são aqueles que estão relacionados aos patógenos e aos hospedeiros, sendo que abióticos relacionados ao ambiente.

3.4.1 Fatores Abióticos

Dos vários fatores ambientais que afetam os patógenos de insetos, a temperatura, umidade e radiação solar são provavelmente os mais severos (INGLIS et al., 1996).

A temperatura afeta diretamente o crescimento, germinação e potencial de infecção de fungos entomopatogênicos (DIMBI et al., 2004; Brooks et al., 2004). Portanto, a temperatura ideal no ciclo de vida do fungo é importante para o crescimento vegetativo e germinação dos esporos. Segundo Hallsworth & Magan (1999), o melhor

crescimento de *B. bassiana* é obtido a 25°C, mas este fungo apresenta bom crescimento na faixa de 20 a 30°C. Quando exposto a temperaturas mais altas (por exemplo, 37°C), o crescimento é quase zero. Portanto, qualquer estratégia de uso de *B. bassiana* como micoinseticida precisa levar em consideração as condições climáticas da área alvo (LUZ e FARGUES, 1997).

Alexandre et al. (2008) mostraram o efeito da temperatura na virulência de *M. anisopliae* e *B. bassiana* contra larvas e adultos do cascudinho, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). Todos os isolados foram patogênicos a 26°C, com as maiores taxas de mortalidade de 93,3 e de 95,5% para *M. anisopliae* e *B. bassiana*, respectivamente. Quando estes fungos foram incubados a 32°C, a mortalidade larval foi de 68,9 e 28,9 %. Nessa temperatura apenas *B. bassiana* causou mortalidade de adultos (26,6%).

Luz & Fargues (1997), observaram em seus experimentos o efeito da umidade relativa (UR) no desenvolvimento de *B. bassiana*. Estes autores notaram que aproximadamente 100% dos conídios de *B. bassiana* germinaram quando a UR foi acima de 95,5%. Diferentemente, quando a UR foi abaixo de 90%, não houve germinação até 96 horas de observação.

Em um estudo que investigou os efeitos da temperatura e da umidade no desenvolvimento de *M. anisopliae* no carrapato *Rhipicephalus annulatus* Say, o aparecimento de clamidosporos na superfície desse carrapato foi registrado pela primeira vez. Nos testes a 25°C e 100% UR, a mortalidade foi de 100% e foram observados conídios na superfície dos carrapatos infectados. No entanto, quando os ovos foram incubados a 30°C e 100% UR ou 25°C e 55% UR, eles tiveram uma taxa de mortalidade de quase 73% e tinham apenas clamidosporos na superfície. A presença de clamidosporos apenas em condições desfavoráveis sugere que eles podem ser uma estrutura alternativa de sobrevivência para fungos entomopatogênicos e, assim, reiniciam o ciclo de vida apenas em condições favoráveis (MENT et al., 2010).

Vários autores têm demonstrado os efeitos adversos causados pela radiação ultravioleta, sendo muito importante na seleção de linhagens para formulações de bioinseticidas para aplicação no campo (BRAGA et al., 2002; RANGEL et al., 2005; FERNANDES et al., 2007). Segundo Nicholson et al., (2000), a radiação solar ultravioleta (UV) pode inativar os conídios e provocar mutações e danos letais ao DNA. De acordo com Braga et al. (2001), a radiação UV reduz a eficiência do fungo no

campo, principalmente a radiação UV-B, que tem efeito prejudicial aos propágulos de fúngicos.

Braga et al. (2001) mostraram que a exposição à radiação UV-B atrasou a germinação de *M. anisopliae*, que é diretamente proporcional ao tempo de exposição. Fernandes et al. (2007) mostraram que entre 53 isolados de *B. bassiana* expostos à luz UV-B por 2 horas, apenas cinco puderam ser consideradas como bons tolerantes (50 a 80% de germinação). Ottati-de-lima et al., (2010) analisando o efeito da radiação UV sobre *B. bassiana* e *M. anisopliae*, observaram que 25 segundos foram suficientes para diminuir o índice de germinação dos conídios de *B. bassiana* produzidos em arroz de 97,08% para 32,67%. Eles também observaram que os conídios deste fungo quando expostos à radiação por 50 segundos foram mais resistentes do que os de *M. anisopliae*. Assim, a sobrevivência dos conídios deve ser significativamente maior se os fungos forem aplicados em períodos do ano e/ou do dia, quando a irradiação é menor.

3.4.2 Fatores Bióticos

Em relação aos fatores bióticos que afetam diretamente os patógenos, Alves & Lecuona (1998) listaram a reprodução, disseminação, vias de inoculação, transmissão, capacidade de sobrevivência, potencial do inóculo, infectividade, patogenicidade e virulência como os mais importantes.

A transmissão de um agente patogênico, ou seja, sua passagem de uma fonte de inóculo ou de um hospedeiro infectado para outro hospedeiro sadio, pode ser do tipo horizontal ou vertical, ocorrendo direta ou indiretamente com a ajuda de agentes de disseminação do ambiente. Na horizontal, o patógeno é transmitido de inseto para inseto, enquanto que na vertical o patógeno é disseminado pelos ovos de maneira hereditária (ALVES & LECUONA, 1998). A viabilidade da transmissão horizontal representa uma nova oportunidade para programas de manejo integrado de pragas (TOLEDO et al., 2007) e oferece algumas vantagens como a redução da quantidade do inóculo e da área tratada com o fungo, minimizando assim, efeitos adversos em organismos não-alvo (QUESADA-MORAGA, et al., 2008).

Em experimentos de transmissão de *B. bassiana* entre adultos e larvas da traça das crucíferas, Furlong & Pell (2001) testaram várias estratégias de disseminação do patógeno e evidenciaram que adultos da traça podem transportar o fungo de um

substrato para outros indivíduos de forma eficiente ou ainda adquirir doença através do contato com insetos infectados.

Foi avaliado o efeito da esporulação, virulência e temperatura na transmissão de *M. anisopliae* e *B. bassiana* nas colônias do cupim, *Coptotermes formosanus* Shiraki. Para os isolados de *M. anisopliae*, a esporulação foi mais importante do que a virulência na produção de epizootias, fato que não ocorreu com os isolados de *B. bassiana*. Isto indica que nesta espécie, outras características podem desempenhar um papel decisivo nas epizootias e mais estudos são necessários (SUN et al., 2003).

A eficiência de transmissão horizontal de *M. anisopliae* entre adultos de *C. capitata*, utilizando uma armadilha impregnada com o fungo foi avaliada por Quesada-Moraga et al. (2008). A mortalidade de machos e fêmeas da mosca que entraram em contato com o dispositivo foi de 100%; fêmeas infectadas que acasalaram com machos saudáveis, transmitiram o fungo e causaram mortalidade de 90%. Os autores enfatizam a importância da capacidade de transmissão a partir de armadilhas, pois isto também estaria minimizando o efeito do fungo em organismos não-alvo, além de ter a vantagem dos adultos infectados atingirem outros indivíduos em locais onde é difícil utilizar aplicações convencionais de inseticida.

A transmissão de *B. bassiana* entre machos e fêmeas de *Aedes aegypti* L. por meio da copulação foi estudada pela primeira vez por García-Munguía et al. (2011). Os autores revelaram que o fungo foi eficaz causando 90% de mortalidade em 15 dias. Os efeitos da contaminação também foram observados na fecundidade, que diminuiu 95% em relação ao grupo controle.

4 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

4.1 Local de trabalho

Desde 2002, o Grupo Rehagro, visa fornecer ao produtor melhores condições e planejamentos para o sucesso de suas lavouras. Atuando há mais de 20 anos no mercado do agronegócio, a empresa se consolida por meio de profissionais capacitados e engajados, que buscam sempre levar o que há de mais novo para seus clientes. Atualmente, possui três sedes em Minas Gerais, nas cidades de Belo Horizonte, Nazareno e Lavras.

O Rehagro vem atuando nas culturas de maiores potenciais de produção no Brasil, como mercado de grãos, cafeicultura, pecuária de corte e pecuária de leite. Além da consultoria técnica (Rehagro Consultoria), a empresa é atuante nas áreas de ensino (Faculdade Rehagro), possuindo diversos cursos de capacitação e pós-graduação; tecnologia, como o desenvolvimento do software Ideagri® para gestões econômicas e financeiras; laboratório próprio (3R Lab) para análises bromatológicas, de folhas e de solos; geração de conhecimentos científicos por meio de pesquisa (Rehagro Pesquisa); e desenvolvimento de agentes biológicos para o controle de pragas (Biomip).

A Biomip Agentes Biológicos é a sexta empresa do Grupo Rehagro, fundada em 2018 na cidade de Lavras-MG. A empresa realiza produção massal de agentes biológicos para controle de pragas de grande importância na agricultura. Até o momento, possui três produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), são eles: BioMeta® (Figura 6), a base de *Metarhizium anisopliae*; Biobassi® (Figura 7), a base de *Beauveria bassiana*; e T-Bio® (Figura 8), a base de *Metarhizium anisopliae* + *Beauveria bassiana*.



Figura 6 – Imagem ilustrativa da embalagem de BioMeta®. Fonte: Biomip (2022).



Figura 7 – Imagem ilustrativa da embalagem de Biobassi®. Fonte: Biomip (2022).



Figura 8 – Imagem ilustrativa da embalagem de T-Bio®. Fonte: Biomip (2022).

A biofábrica conta com vários equipamentos específicos para produção desses entomopatógenos. Durante o período de estágio, foi possível acompanhar o processo desde o início, passando pelas etapas de inoculação, crescimento, secagem, extração e processamento, até chegar ao produto final.

4.2 Produção industrial de fungos entomopatogênicos

Para serem utilizados como inseticidas biológicos, os fungos entomopatogênicos devem ser produzidos em quantidades suficientes para as chamadas introduções inundativas (aplicações em grandes quantidades), a fim de atuar independentemente da densidade populacional da praga.

A produção industrial de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* é comumente realizada utilizando-se arroz como substrato, com incubação em salas climatizadas em temperatura entre 24 e 26°C. Essa prática exige a repetição de procedimentos delicados, como esterilização do substrato, inoculação e incubação do fungo em sacos plásticos (Figura 9) (LOPES, 2016).

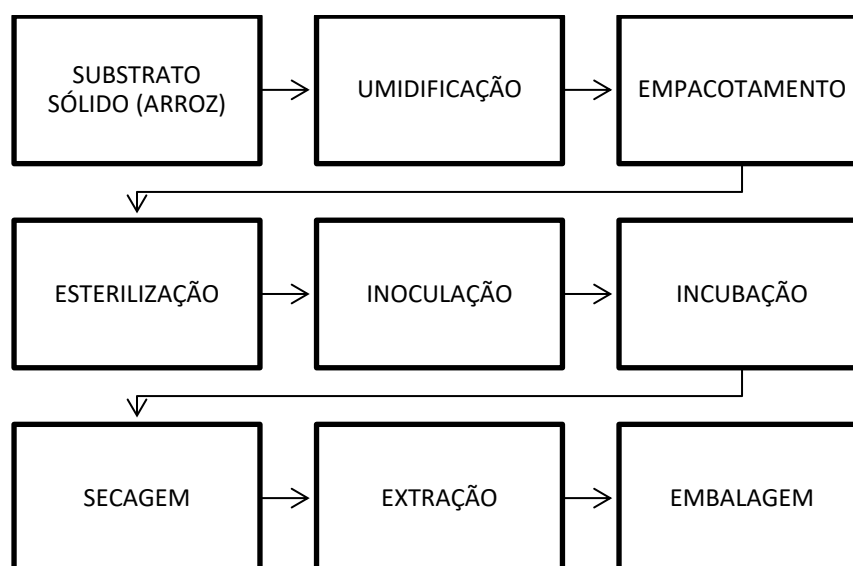


Figura 9 – Diagrama esquemático da produção industrial de fungos entomopatogênicos.

Fonte: Lopes (2016).

Primeiramente, o arroz é umidificado e acondicionado em embalagens de polipropileno resistentes a alta temperatura e pressão. De modo geral, são empregados de 300 a 500 g de substrato em cada embalagem plástica. Posteriormente, são levados à autoclave (Figura 10) já aquecida e divididos nos cestos de forma que não fiquem muito próximos, a fim de permitir a circulação de ar. A temperatura é elevada até 121°C, e permanecem nesta temperatura por 30min. Além do substrato de crescimento, todos os implementos e equipamentos utilizados dentro do laboratório são esterilizados na autoclave e em estufa, para maior eficiência no controle de contaminações indesejáveis.



Figura 10 – Autoclaves de esterilização na sala de pré-preparo.

Fonte: Da autora (2022).

Após a saída do substrato de crescimento (arroz) da autoclave, este é enviado à sala de inoculação para que o inóculo do fungo de interesse seja multiplicado. No entanto, deve-se realizar algumas ações para evitar sua contaminação. Portanto, dentro da empresa há uma área isolada para inoculação e crescimento dos fungos, chamada de área limpa. Antes de adentrá-la, é necessário retirar todo material que possa vir a trazer contaminantes, sendo indispensável a utilização de equipamento de proteção individual, como vestimentas adequadas e toucas, além de higienizar as mãos e unhas.

A empresa adquire as cepas IBCB 66 de *Beauveria bassiana* e IBCB 425 de *Metarhizium anisopliae*, sendo ambos isolados no Instituto Biológico de Campinas. As placas obtidas são replicadas no laboratório da biofábrica e dão origem a várias fontes de inóculos para a produção.

Para multiplicar os fungos são utilizadas placas de vidro contendo meio de cultura nutritivo para possibilitar o crescimento dos fungos. Para isto, primeiramente se esteriliza as placas de vidro em estufa. Também é necessário esterilizar o meio de cultura; para preparo deste pesa-se o meio BDA (batata, dextrose, ágar) em pó e adiciona-o em água deionizada em frascos de reagentes; realiza-se a homogeneização deste. Posteriormente é necessário a esterilização do meio de cultura; esta é feita em autoclave, à temperatura de 120°C e pressão de 1 kgf/cm² por cerca de 30 minutos. Após a retirada dos frascos da autoclave pode-se verter o meio de cultura nas placas de

Petri, dentro da câmara de fluxo laminar. Após a solidificação do meio de cultura pode ser realizada a replicagem dos fungos.

A replicagem dos fungos deve ser feita em câmara de fluxo laminar, com auxílio da alça de replicagem flambada em bico de Bunsen. Para que seja esterilizada, retira-se os esporos da placa matriz onde se tem a cultura pura do fungo e adiciona-se nas placas contendo meio de cultura solidificado. Após este processo, as placas são vedadas com plástico filme e são incubadas em câmara BOD. Ao final do período de crescimento, as placas são retiradas da BOD e podem ser armazenadas em geladeira até que sejam utilizadas para preparo do inóculo para multiplicação no substrato sólido.

Os saquinhos de arroz são levados para a sala de inoculação. A inoculação é realizada manualmente por um técnico capacitado, utilizando-se as placas de Petri contendo os esporos dos fungos, o qual são adicionados água deionizada autoclavada e assim está pronto o inóculo para adicioná-lo ao substrato. Coloca-se a quantidade de inóculo indicada pelo protocolo estabelecido da empresa em cada saquinho com arroz. Para homogeneização do líquido no substrato, os sacos plásticos são agitados antes de seguirem para as salas de crescimento.

Após realizada a inoculação, as embalagens com arroz seguem para as salas de crescimento, onde são dispostas em prateleiras de ferro (Figura 11). Nas salas de crescimento é necessário o controle do fotoperíodo, sendo necessárias 12 horas de escuro e 12 horas de luz. A temperatura também deve ser controlada visando permanecer entre 24°C aproximadamente. Após sete a dez dias, dependendo da umidade e temperatura, os fungos estão em seu pico de esporulação e tomam conta do substrato (Figura 12).



Figura 11 – Imagem ilustrando embalagens de arroz inoculado com o fungo *Beauveria bassiana* (esquerda) e *Metarhizium anisopliae* (direita) na sala de crescimento. Fonte: Da autora (2021).



Figura 12 – Embalagens de arroz inoculado com o fungo *Beauveria bassiana* (esquerda) e *Metarhizium anisopliae* (direita). Fonte: Da autora (2021).

As embalagens, então, são transferidas para as salas de secagem. Isso permite que o processo de secagem ocorra naturalmente. A duração desta etapa depende da estação do ano e umidade do ambiente, sendo sempre superior a 24 horas.

Após a secagem, o material é conduzido à sala de extração final, para separação do substrato de crescimento e os esporos dos fungos. Posteriormente, os esporos são armazenados em câmara fria garantindo a viabilidade destes, até chegar o momento do preparo da embalagem. Quando não são mantidos à baixas temperaturas oferecem condições para proliferação de grande número de contaminantes. Esse fato conduz a resultados insatisfatórios no campo.

Antes do produto ser enviado ao cliente, é feito uma análise de controle de qualidade. São feitos dois processos, um para verificar o número de conídios por grama e outro para verificar a viabilidade. Para verificar o número de esporos por grama é utilizado uma diluição e câmara de Neubauer, que por meio dos 4 quadrantes presentes nela, conta-se o número dos conídios, após a contagem se faz uma média. Para a viabilidade é feito uma diluição e aplicado uma gota em placa de petri com meio BDA. Após 16 a 18 horas, conta a quantidade de conídios geminados e não geminados. De acordo com o MAPA, os produtos comerciais à base de esporos puros, como é o caso da empresa, devem conter no mínimo 2×10^9 conídios viáveis por grama de produto e 80% de germinação ou mais para que cumpra os requisitos estabelecidos pelo Ministério.

Por fim, é feito o envase dos produtos microbiológicos em embalagens contendo o rótulo e a bula do produto. E após o envase, os produtos são armazenados novamente em câmara fria até chegar o momento do envio do produto ao cliente.

A formulação desses produtos é em pó molhável e assim podem ser misturados em água e óleo vegetal para se ter a calda que será pulverizada na área para que os fungos entrem em contato com as pragas-alvo realizando o controle eficiente.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período de estágio, diversas competências pessoais e profissionais foram desenvolvidas, aprimorando os conhecimentos técnico-práticos vivenciados durante a graduação. Além de possibilitar o desenvolvimento de habilidades para tomada de decisões e relação interpessoal no trabalho em equipe.

Um dos obstáculos visíveis é que a empresa é iniciante no mercado e, apesar de fazer parte de um grupo já consolidado como o Rehagro, a falta de profissionais e equipamentos específicos fez com que algumas atividades não evoluíssem como deveriam. Além disso, a falta de treinamentos e cursos para agregar no conhecimento sobre a área também foi um ponto negativo, visto que a época de pandemia não colaborou para que isso fosse possível.

Porém as dificuldades foram poucas, visto que o estágio foi na cidade de Lavras, não sendo necessário o deslocamento. Houve boa adaptação às normas da empresa, assim como o ambiente de trabalho e todos os colaboradores, que sempre foram muito solícitos e receptivos.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, T.M.; NEVES, P.M.O.J.; SANTORO, P.H.; ALVES, L.F.A. **Controle associado de *Alphitobius diaperinus* com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* e inseticidas químicos**. Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, p. 481-489, 2008.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. **Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar com o fungo *Metarhizium anisopliae***. Boletim Técnico do Instituto Biológico, São Paulo, 19 p., 2006.

ALMEIDA, J.E.M.; MACHADO, L.A. **Controle biológico de insetos e ácaros**. Boletim Técnico do Instituto Biológico, São Paulo, n. 15, 85 p., 2006.

ALVES, S.B. **Técnicas de laboratório: vantagens e desvantagens**. Controle microbiano de insetos, p. 22-37. Piracicaba: FEALQ, 1998.

ALVES, S.B.; LECUONA, R.E. **Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos**. Controle microbiano de insetos, p. 97-170. Piracicaba: FEALQ, 1998.

ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMAI, M.A. **Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina**. Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios, p. 69-110. Piracicaba: FEALQ, 2008.

BADII, M.H.; ABREU, J.L. **Control biológico una forma sustentable de control de plagas**. International Journal of Good Conscience, v. 1, p. 82-89, 2006.

BATISTA, F.A. **Controle biológico e o manejo integrado de pragas**. Biológico, v. 55, p. 36-39, 1989.

BRAGA, G.U.; RANGEL, D.E.; FLINT, S.D.; MILLER, C.D.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. **Damage and recovery from UV-B exposure in conidia of the entomopathogens *Verticillium lecanii* and *Aphanocladium album***. Mycologia, v. 94, p. 912-920, 2002.

BRAGA, G.U.L.; FLINT, S.D.; MESSIAS, C.L.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. **Effects of UV-B irradiance on conidia and germinants of the entomopathogenic**

hyphomycete *Metarhizium anisopliae*: a study of reciprocity and recovery. Photochemistry and Photobiology, Amsterdam, v. 72, p. 140-146, 2001.

BROOKS, A.J.; AQUINO De MURO, M.; BURREE, E.; MOORE, D.; TAYLOR, M.A.; WALL, R. **Growth and pathogenicity of isolates of the fungus *Metarhizium anisopliae* against the parasitic mite, *Psoroptes ovis*: effects of temperature and formulation.** Pest Management Science, v. 60, p. 1043–1049, 2004.

BUTT, T.M.; WANG, C.; SHAH, F.A.; HALL, R. **Degeneration of entomogenous fungi.** In: EILENBERG, J.; HOCKKANEN, H.M.T. (Eds.). An Ecological and societal approach to Biological Control, p. 213-226, 2006.

DA COSTA. M.; SARQUIS, M. I. M.; BITTENCOURT, V. R. E. P. **Isolation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* from *Boophilus microplus* tick (Canestrini, 1887), in Rio de Janeiro state, Brazil.** Mycopathologia, v. 154, p. 207-209, 2002.

DALZOTO, P. R.; UHRY, K. F. **Controle biológico de pragas no Brasil por meio de *Beauveria Bassiana* (bals.) Vuill.** Biológico, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 37-41, jan./jun., 2009.

DE MOURA, N.A. et al. **Avaliação do controle biológico da broca de rizoma da bananeira (*Cosmopolites sordidus* Germ., 1824) utilizando o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.** Revista Eletrônica de Biologia, v. 8, n. 2, p. 246-261, 2015.

DELGADO, P.A.M.; MURCIA, O.P. **Hongos entomopatógenos: uma alternativa para la obtención de Biopesticidas.** Ambi-Agua, v. 6, p. 77-90, 2011.

DIMBI, S.; MANIANIA, N.K.; LUX, S.A.; MUEKE, J.M. **Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African tephritid fruit flies.** BioControl, v. 49, p. 83–94, 2004.

DRIVER, F.; MILNER, R. J.; TRUEMAN, J.W.H. **A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data.** Mycology Research v. 14, p. 134-150, 2000.

FERNANDES, E.K; RANGEL, D.E.; MORAES, A.M.; BITTENCOURT, V.R.; ROBERTS, D.W. **Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria* spp. isolates**. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 96, p. 237-43, 2007.

FRANCESCHINI, M. **O entomopatogeno *Metarhizium anisopliae***. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v. 23, p. 32-37, 2001.

FRANCO, M.P.J. **Tolerância de conídios às radiações UV-A e UV-B em função do tempo de cultivo de fungos entomopatogênicos**. Dissertação (Mestrado), 42 p. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

FRAZZON, A.P.G.; VAZ Jr., I.V.S.; MASUDA, A. SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M.H. **In vitro assessment of *Metarhizium Anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus***. *Vet Parasitol*, v. 93, p. 117-125, 2000.

FURLONG, M. J.; PELL. J. K. **Horizontal transmission of entomopathogenic fungi by the diamondback moth**. *Biological Control*, v. 22, p. 288–299, 2001.

GARCIA, M.V.; MONTEIRO, A.C.; SZABÓ, M.P.J.; PRETTE, N.; BECHARA, G.H. **Mechanism of infection and colonization of *Rhipicephalus sanguineus* eggs by *Metarhizium anisopliae* as revealed by scanning electron microscopy and histopathology**. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 36, n. 4, p.368- 372, 2005.

GARCÍA-MUNGUÍA, A.M.; GARZA-HERNÁNDEZ, J.A.; REBOLLAR-TELLEZ, E.A.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, M.A.; FILIBERTO REYES VILLANUEVA, F.R. **Transmission of *Beauveria bassiana* from male to female *Aedes aegypti* mosquitoes**. *Parasites & Vectors*, v. 4, p. 1-6, 2011.

HALLSWORTH, J.E; MAGAN, N. **Water and temperature relations of growth of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus***. *Journal Invertebrate Pathology*, v. 74, p. 261-266, 1999.

HIBBETT, D.S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J.F.; BLACKWELL, M.; CANNON, P.F. **A higher-level phylogenetic classification of the Fungi**. *Mycological Research*, v. 111, p. 509-47, 2007.

INGLIS, G.D.; GOETTEL, M.; JOHNSON, D.L. **Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana***. *Biological Control*, Orlando, v. 5, p. 581-590, 1995.

JOSHI, L.; ST. LEGER, R.J.; ROBERTS, D.W. **Isolation of a cDNA encoding a novel subtilisin-like protease (Pr1B) from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* using differential display-RT-PCR**. *Gene*, v. 197, p. 1-8, 1997.

LI, Z.; ALVES, S.B.; ROBERTS, D.W.; FAN, M.; DELALIBERA Jr, I.; TANG, J.; LOPES, R.B.; FARIA, M.; RANGEL, D.E.N. **Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi**. *Biocontrol Science and Technology*, v. 20, p. 117-136, 2010.

LIMA, E.A. **Aspectos taxonômicos e citológicos de Hyphomycetes (Deuteromycotina) entomopatogênicos**. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 84, n. 3, p. 17-20, 1989.

LOPES, I. **Produção de conídios do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* em diferentes condições de cultivo e em biorreator de bandeja**. Dissertação (mestrado), 58 p. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2016.

LUZ, C.; FARGUES, J. **Temperature and moisture requirements for conidial germination of the an isolate of *Beauveria bassiana*, pathogenic to *Rhodnius prolixus***. *Mycopathologia*, v. 138, p. 117-125, 1997.

MACLEOD, D. M. **Investigations on the genera *Beauveria* Vuill, and *Tritirachium* Limber**. *Canadian Journal of Botany*, v. 32, n. 6, p. 818-890, 1954.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico, volume I**. Ed. EMBRAPA, 262p, 1998.

MENT D; GINDIN G; GLAZER I; PERL S; ELAD D; SAMISH M. **The effect of temperature and relative humidity on the formation of *Metarhizium anisopliae* chlamydospores in tick eggs**. *Fungal Biol* v. 114, p. 49-56, 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Consulta de Produtos Formulados. Disponível em: <

http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em: 21 de abr. de 2022.

MORA, M.A.E.C., ALZIMIRO, M.C. and FRAGA, M.E. **Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi**. Arquivos do Instituto Biológico, v. 84, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1808-1657000552015>>. Acesso em: 18 de dez. de 2021.

NICHOLSON, W.L.; MUNAKATA, N.; HORNECK, G.; MELOSH, H.J.; SETLOW, P. **Resistance of Bacillus endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments**. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 64, n. 3, p. 548-572, 2000.

OTTATI-DE-LIMA, E.L. **Produção de Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorok Beauveria bassiana (Bals.) Vuill em diferentes substratos e efeito da radiação ultravioleta e da temperatura sobre estruturas infectivas desses entopamopatôgenos** Tese (Doutorado), 92p. Faculdade de Ciências Agrônômicas UNESP, Botucatu, 2007.

QUESADA-MORAGA, E.; MARTIN-CARBALLO, I.; GARRIDO-JURADO, I.; SANTIAGO-ÁLVAREZ, C. **Horizontal transmission of Metarhizium anisopliae among laboratory populations of Ceratitis capitata (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)**. Biological Control, v. 47, p. 115–124, 2008.

RANGEL, D.E.; BRAGA, G.U.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. **Variability in conidial thermotolerance of Metarhizium anisopliae isolates from different geographic origins**. Journal of Invertebrate Pathology, v. 88, p. 116-125, 2005.

SANTORO, P.H.; NEVES, P.M.O.J.; SLVA, R.Z.; AKIMI, S.; ZORZETTI, J. **Produção de esporos de Beauveria bassiana (Bals). Vuill. num processo bifásico utilizando diferentes meios líquidos**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 26, n. 3, p. 313-320, jul./set. 2005

SCHOLTE, E.J.; KNOLS, B.G.J.; SAMSON, R.A.; TAKKEN, W. **Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review**. Journal of Insect Science, v. 4, p. 19-24, 2004.

SHAH, P. A.; PELL, J. K. **Entomopathogenic fungi as biological control agents**. Applied microbiology and biotechnology, v. 61, n. 5-6, p. 413-423, 2003.

SHERLOCK, I.A. & GUITON, N. **Observações sobre a ação do fungo *Metarhizium anisopliae* Metsch. sobre algumas espécies de Triatomidae (Hemiptera, Reduviidae).** Rev. Inst. Med. Trop. v. 24, p. 34-39, 1982.

SOARES M. A.; et al. **Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos.** Revista Colombiana de Entomología, v. 35, p. 62-65, 2009.

ST. LEGER, R. J.; ROBERTS, D. W.; STAPLES, R. C. **A model to explain differentiation of appressoria by germlings of *Metarhizium anisopliae*.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 57, p. 299-310, 1991.

ST. LEGER, R.J.; JOSHI, L.; BIDOCHKA, M.J.; ROBERTS, D.W. **Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease.** Proceedings of the National Academy of Sciences USA. v. 50, p. 183-212, 1996.

ST. LEGER, R.J.; NELSON, J.O.; SCREEN, S.E. **The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* alters ambient pH, allowing extracellular protease production and activity.** Microbiology v. 145, p. 2691-99, 1999.

ST. LEGER, R.J.; WANG, C. **Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve efficacy against insect pests.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 85, p. 901-907, 2010.

STURMER, A. T.; LUANGSA-ARD, J. J.; ROBERTS, D. W. **Estabilidade de proteases produzidas pelo fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.** UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde, Londrina, v. 5/6, p. 85-88, 2003/2004.

SUN, J.; FUXA, J.R.; HENDERSON, G. **Effects of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 84, p. 38-46, 2003.

TANZINI, M.; ALVES, S.; SETTEN, A.; AUGUSTO N. **Compatibilidad de agent estensoactivos com *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*.** Manejo Integrado de Plagas, v. 59, p. 15-18, 2001.

THOMAZONI, D.; FORMENTINI, M.A.; ALVES, L.F.A. **Patogenicidade de isolados de fungos entomopatogênicos à *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v. 81, n. 2, p. 126-133, 2014.

TOLEDO, J.; CAMPOS, S.E.; FLORES, S.; LIEDO, P.; BARRERA, J.F.; VILLASENOR, A.; MONTOYA, P. **Horizontal transmission of *Beauveria bassiana* in the Mexfly, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), under laboratory and field-cage conditions**. Journal of Economic Entomology, v. 100, p. 291-297, 2007.

UHRY, K.F. **Aspectos do controle biológico de pragas no Brasil por meio de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação), 45 p. Universidade Federal do Paraná, 2007.

VALICENTE, F. H. **Controle biológico de pragas com entomopatógenos**. Informe agropecuário, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 48-55, jul/ago., 2009.

WANG, C.; TYPAS, M. A. & BUTT, T. M. **Detection and characterization of pr1 virulent gene deficiencies in the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae***. FEMS Microbiol. Lett., v. 213, p. 251-255, 2002.