



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA - MESTRADO

***Beauveria* spp.: AGENTES DE BIOCONTROLE DE *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER, 1818) E
Chrysodeixis includens (WALKER, 1858)**

ALINE DAYANA PEREIRA DA SILVA

João Pessoa - Paraíba

Março – 2023

ALINE DAYANA PEREIRA DA SILVA

***Beauveria* spp.: AGENTES DE BIOCONTROLE DE *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER, 1818) E
Chrysodeixis includens (WALKER, 1858)**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^{fa}. Dr^a. Adna Cristina Barbosa de Sousa

João Pessoa - Paraíba

Março – 2023



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

ATA Nº 2 / 2023 - CBIOTEC - DBCM (18.63)

Nº do Protocolo: 23074.029407/2023-17

João Pessoa-PB, 02 de Abril de 2023

Ata da 40ª (quadragésima) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia **ALINE DAYANA PEREIRA DA SILVA** candidata ao Título de "Mestre" em Biotecnologia, na área de concentração Biotecnologia Aplicada aos Recursos Renováveis.

Às nove horas (09h00) do dia 31 de março do ano de dois mil e vinte e três (31/03/2023), no endereço eletrônico meet.google.com/btp-xoaf-iqk divulgado na página eletrônica do Programa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Aline Dayana Pereira da Silva** candidata ao Título de "MESTRE" em Biotecnologia. Foram componentes da Banca Examinadora os professores doutores Adna Cristina Barbosa de Sousa (Orientadora) (Universidade Federal da Paraíba); Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes (Examinador interno) (Universidade Federal da Paraíba) e Andréa Farias de Almeida (Examinador externo) (Universidade Federal da Paraíba). Dando início aos trabalhos, a Presidente da Banca professora Adna Cristina Barbosa de Sousa, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Aline Dayana Pereira da Silva**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "*Beauveria* spp.: agentes de biocontrole de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) e *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858)". Após discorrer sobre o referido tema, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida, passou a Comissão em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO. Em face da aprovação, declarou o presidente achar-se a examinada **Aline Dayana Pereira da Silva** legalmente habilitada a receber o Título de "MESTRE" em Biotecnologia, na área de concentração Biotecnologia Aplicada aos Recursos Renováveis, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Tânia Maria Alves de Araújo, na qualidade de secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

(Assinado digitalmente em 02/04/2023 15:08)

ADNA CRISTINA BARBOSA DE SOUSA
PROFESSOR DO MAGISTERIO
SUPERIOR
Matrícula: 2016620

(Assinado digitalmente em 03/04/2023 12:38)

ANDREA FARIAS DE ALMEIDA
PROFESSOR DO MAGISTERIO
SUPERIOR
Matrícula: 1859841

(Assinado digitalmente em 03/04/2023 13:51)

TANIA MARIA ALVES DE ARAUJO
SECRETARIO
Matrícula: 336203

(Assinado digitalmente em 03/04/2023 10:33)

ULRICH VASCONCELOS DA ROCHA GOMES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
Matrícula: 2009494

Para verificar a
autenticidade deste documento entre
em
<https://sipac.ufpb.br/documentos/>
informando seu número: 2, ano: 2023,
documento(espécie): ATA, data de
emissão: 02/04/2023 e o código de
verificação: 04699c5907

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586b Silva, Aline Dayana Pereira da.

Beauveria spp.: agentes de biocontrole de *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER, 1818) e *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858) / Aline Dayana Pereira da Silva. - João Pessoa, 2023.
87 f. : il.

Orientação: Adna Cristina Barbosa de Sousa.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBiotec.

1. Controle biológico. 2. Agroquímicos. 3. Pragas.
4. Lepidoptera. I. Sousa, Adna Cristina Barbosa de. II.
Título.

UFPB/BC

CDU 632.937(043)

Dedico este trabalho aos meus filhos

Guilherme e Maria Isabel.

A força de lutar por esse sonho vem de vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente, por ser fiel na minha vida, por plantar esse sonho no meu coração e fazer com que fosse possível chegar nessa reta final. Obrigada senhor por atender as minhas orações!

Agradeço a minha orientadora, Prof^ª Dr^a Adna Cristina Barbosa de Sousa, obrigada por me aceitar e conduzir esse projeto. Esse sonho está sendo concluído pela ajuda, dedicação, compreensão e por segurar as minhas mãos mesmo a tantos obstáculos. A senhora foi um anjo enviado por Deus! Agradeço pela paciência comigo, sua lealdade e a amizade que construímos.

Agradeço ao meu esposo e companheiro Nádsen Lúbio por todo incentivo desde a inscrição para seleção do mestrado até a reta final. Obrigada pela paciência, por compreender todos os meus momentos e as minhas dificuldades. Seu apoio foi crucial para finalização desse trabalho.

Agradeço aos meus filhos Guilherme e Maria Isabel! Meus filhos, obrigada por compreenderem os momentos que eu estive que ficar ausente. Essa conquista é de vocês! Eu só tenho a agradecer por todo amor, carinho e afeto, vocês foram e são meu maior estímulo para vencer mais um passo na minha vida.

Agradeço aos meus professores da Universidade Federal da Paraíba, em especial a Banca, Prof^ª. Dr^a. Andréa Farias de Almeida e Prof. Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes por aceitarem o convite para a defesa. Agradeço a minha família, em especial meus pais e irmãos. Obrigada por estarem ao meu lado durante toda a minha vida, obrigada por acreditarem nos meus sonhos e incentivá-los, ser minha rede de apoio nos momentos que eu precisei com os meus filhos.

Agradeço aos meus colegas da Pós-Graduação, em especial Talita, obrigada por todo apoio, paciência e parceria ao longo desses dois anos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	22
Figura 2. Ciclo de desenvolvimento de <i>Chrysodeixis Includens</i>	25
Figura 3. Mecanismo de infecção e patogenicidade de fungos entomopatogênicos em seus hospedeiros.	33
Figura 4. Insetos mumificação pelo fungo <i>Beauveria bassiana</i> . Mosca-branca (A). Cigarrinha-do-milho (B). Vaquinha (C). Gorgulho-do-eucalipto (D). Broca-do-café (E) e Percevejo-marron (F).	35
Figura 5. Estruturas química dos principais componentes do SMC de <i>Beauveria brongniartii</i> , estirpe 2382.	36
Figura 6. Estrutura química do Fipronil	38
Figura 7. Estrutura química do Malathion.	40
Figura 8. Estrutura química Diazinon	42
Figura 9. <i>Chrysodeixis includens</i> (A) e <i>Anticarsia gemmatilis</i> (B). Estágios L3.	46
Figura 10. Aspecto macroscópico das colônias de <i>Beauveria bassiana</i> (A) e <i>Beauveria brongniartii</i> (B) em meio ágar-Sabouraud-dextrose após 15 dias de crescimento. 1) frente 2) verso da colônia.	51
Figura 11. Curva de Crescimento <i>Beauveria brongniartii</i> durante 15 dias.	52
Figura 12. Curva de Crescimento <i>Beauveria bassiana</i> durante 15 dias.	52
Figura 13. Micrografias das estruturas de <i>Beauveria bassiana</i> (A): A1) Micélio septado, A2 Conidióforos, A3) Conídios; <i>Beauveria brongniartii</i> (B). B1) Micélio septado, B2 Conidióforos, B3) Conídios.	53
Figura 14. Aspecto macroscópico das colônias de <i>Beauveria bassiana</i> (A) e <i>Beauveria brongniartii</i> (B) em meio ágar-Sabouraud-dextrose = Controle (0), contendo fipronil (1), malathion (2) e diazinon (3);	54
Figura 15. Teste de viabilidade de conídios de <i>Beauveria bassiana</i> (A- controle, B- fipronil, C – malathion e D- diazinon) e <i>Beauveria brongniartii</i> . (E- controle, F- fipronil, G – malathion e H- diazinon)	56
Figura 16. Mumificação de <i>Chrysodeixis includens</i> (A1 – controle e A2 - lagarta mumificada) e <i>Anticarsia gemmatilis</i> (B1 – controle e B2 - lagarta mumificada) com <i>Beauveria brongniartii</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2).	59

Figura 17. Aspecto macroscópico da atividade proteolítica na presença dos agroquímicos malathion (A), fipronil (B), diazinon (C) e Controle (D) de *Beauveria bassiana*. 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da dieta artificial de Greene.	47
Tabela 2. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo (mm) de <i>Beauveria bassiana</i> (n=3), baseado na porcentagem média $\pm$ EP. 55	
Tabela 3. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo (mm) de <i>Beauveria brongniartii</i> (n=3), baseado na porcentagem média $\pm$ EP.	56
Tabela 4. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre a esporulação e viabilidade dos conídios (%) de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i>	57
Tabela 5. Classificação dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon quanto à toxicidade <i>in vitro</i> sobre <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i>	58
Tabela 6. Eficácia de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i> produzidos sem agroquímicos sobre as lagartas <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C (n=60 para cada espécie de fungos).	60
Tabela 7. Tempo letal (TL ₅₀) para <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> infectadas com <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i> , sem contato com agroquímico. Concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60).	61
Tabela 8. Eficácia de <i>Beauveria bassiana</i> produzidos na presença de agroquímicos sobre as lagartas <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos)	63
Tabela 9. Tempo letal (TL ₅₀) para <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> infectadas com conídios de <i>Beauveria bassiana</i> , produzidos na presença de agroquímicos. Concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 29 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos).....	64
Tabela 10. Eficácia de <i>Beauveria brongniartii</i> produzidos na presença de agroquímicos sobre as lagartas <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos).	65
Tabela 11. Tempo letal (TL ₅₀) para <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> infectadas com conídios de <i>Beauveria brongniartii</i> , produzidos na presença de	

agroquímicos. Concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 298 ± 2 °C (n=60 para cada espécie de fungo).....	66
Tabela 12. Atividade proteolítica de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i> na presença dos agroquímicos.....	68

RESUMO

As lagartas *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* são pragas em várias culturas agrícolas, entre elas a soja, ocasionando perdas de até 100%. Dessa forma, o manejo integrado com agroquímicos e fungos poderá garantir uma melhor resposta no campo, além da redução do agroquímico e consequentemente, os impactos ocasionados por estes. No entanto, existe uma deficiência de estudos em relação à compatibilidade de agroquímicos com fungos entomopatogênicos quando utilizados juntos no manejo integrado de pragas. Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a especificidade e a capacidade bioinseticida de *B. bassiana* (URM2915) e *B. brongniartii* (URM6504) sob o efeito de agroquímicos em *A. gemmatalis* e *C. includens*, *in vitro*. Para análise do efeito dos três agroquímicos sobre o crescimento vegetativo e esporulação de *Beauveria* spp. foi utilizado meio ágar-Sabouraud-dextrose contendo os agroquímicos e antibiótico. Foi realizado um ensaio com três repetições. Observou-se redução do crescimento vegetativo de *B. brongniartii* na presença do fipronil (1,30%), malathion (1,30%) e diazinon (0,80%), mas não comprometeu significativamente a conidiogênese e viabilidade dos conídios. Já *B. bassiana* apresentou inibição do crescimento na presença do malathion (0,60%), fipronil (1,20%) e Diazinon (0,20%). Porém, apenas o malathion garantiu uma redução na conidiogênese (3,50%) e viabilidade dos conídios (53,13%), comprovando a incompatibilidade dessa espécie com esse agroquímico. Para o teste da especificidade e virulência de *B. bassiana* e *B. brongniartii* na presença e na ausência dos agroquímicos com *A. gemmatalis* e *C. includens* (estágios L2-L3) foi utilizada uma concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹. Foi realizado um experimento com três repetições, totalizando 60 lagartas para cada tratamento. Na ausência dos agroquímicos, *B. bassiana* e *B. brongniartii* foram patogênicas às lagartas *A. gemmatalis* e *C. includens* com uma taxa de mortalidade total de 99,9% para *A. gemmatalis* e para *C. includens* de 80,3% e 90,6%, respectivamente, com um TL₅₀ entre 6 e 7 dias, respectivamente. Na presença dos agroquímicos, *B. bassiana* evidenciou uma taxa de letalidade total para *A. gemmatalis* de 99,9%. A mortalidade confirmada só foi evidenciada apenas para o grupo contendo fipronil de 20,9% e um TL₅₀ de 12,1 dias. Já para *C. includens* a letalidade total foi de 90,3%, 80,6% e 70,0%, mortalidade confirmada de 75,1%, 70,3% e 30,3% e TL₅₀ de 6,9, 12 e 7,0 dias para os grupos contendo fipronil, malathion e diazinon, respectivamente. Para *B. brongniartii*, a taxa de letalidade total para *A. gemmatalis* foi de 99,9%, mortalidade confirmada foi de 95,9%, 85,0% e 97,0% e TL₅₀ de 7,0 dias para os grupos contendo fipronil, malathion e diazinon, respectivamente. Para *C. includens* a letalidade total foi de 99,3%, 95,6% e 70,4%, mortalidade confirmada de 95,1%, 92,3% e 70,3% e TL₅₀ de 6,7, 5,0 e 7,0 dias para os grupos contendo fipronil, malathion e diazinon, respectivamente. As proteases fazem parte da virulência de *Beauveria* spp. Foi testada atividade proteolítica e *B. brongniartii* e de *B. bassiana* apresentaram atividade proteolítica positiva em meio mínimo ágar-leite contendo na sua composição os três agroquímicos. Os resultados mostram a especificidade de *B. bassiana* e *B. brongniartii* com *A. gemmatalis* e *C. includens* e a possibilidade de usar esses fungos no manejo integrado de pragas na presença do fipronil, diazinon e malathion.

Palavras-chave: Lepidoptera, controle biológico, pragas, agroquímicos.

ABSTRACT

The caterpillars *Anticarsia gemmatalis* and *Chrysodeixis includens* are pests in several crops, including soybeans, causing losses of up to 100%. In this way, integrated management with agrochemicals and fungi can guarantee a better response in the field, in addition to reducing the use of agrochemicals and, consequently, the impacts caused by them. However, there is a lack of studies regarding the compatibility of agrochemicals with entomopathogenic fungi when used together in integrated pest management. Given the above, the present study aims to evaluate the specificity and bioinsecticide capacity of *B. bassiana* (URM2915) and *B. brongniartii* (URM6504) under the effect of agrochemicals on *A. gemmatalis* and *C. includens*, in vitro. For the analysis of the effect of the three agrochemicals on the vegetative growth and sporulation of *Beauveria* spp. Sabouraud-dextrose agar medium containing agrochemicals and antibiotics was used. An assay with three replications was performed. A reduction in the vegetative growth of *B. brongniartii* was observed in the presence of fipronil (1.30%), malathion (1.30%) and diazinon (0.80%), but it did not significantly compromise conidiogenesis and conidial viability. *B. bassiana* showed growth inhibition in the presence of malathion (0.60%), fipronil (1.20%) and diazinon (0.20%). However, only malathion guaranteed a reduction in conidiogenesis (3.50%) and conidial viability (53.13%), proving the incompatibility of this species with this agrochemical. For testing the specificity and virulence of *B. bassiana* and *B. brongniartii* in the presence and absence of agrochemicals with *A. gemmatalis* and *C. includens* (stages L2-L3), a concentration of 1.0×10^8 conidia/mL⁻¹ was used. An experiment was carried out with three repetitions, totaling 60 caterpillars for each treatment. In the absence of agrochemicals, *B. bassiana* and *B. brongniartii* were pathogenic to the caterpillars *A. gemmatalis* and *C. includens* with a total mortality rate of 99.9% for *A. gemmatalis* and for *C. includens* of 80.3% and 90.6%, respectively, with a TL₅₀ between 6 and 7 days, respectively. In the presence of agrochemicals, *B. bassiana* showed a total lethality rate for *A. gemmatalis* of 99.9%. Confirmed mortality was only evidenced for the group containing 20.9% fipronil and a TL₅₀ of 12.1 days. For *C. includens*, the total lethality was 90.3%, 80.6% and 70.0%, confirmed mortality was 75.1%, 70.3% and 30.3% and TL₅₀ was 6.9, 12 and 7.0 days for the groups containing fipronil, malathion and diazinon, respectively. For *B. brongniartii*, the total lethality rate for *A. gemmatalis* was 99.9%, confirmed mortality was 95.9%, 85.0% and 97.0% and TL₅₀ of 7.0 days for the fipronil-containing groups, malathion and diazinon, respectively. For *C. includens* the total lethality was 99.3%, 95.6% and 70.4%, confirmed mortality was 95.1%, 92.3% and 70.3% and TL₅₀ was 6.7, 5, 0 and 7.0 days for groups containing fipronil, malathion and diazinon, respectively. Proteases are part of the virulence of *Beauveria* spp. Proteolytic activity was tested and *B. brongniartii* and *B. bassiana* showed positive proteolytic activity in milk-agar minimal medium containing the three agrochemicals in its composition. The results show the specificity of *B. bassiana* and *B. brongniartii* with *A. gemmatalis* and *C. includens* and the possibility of using these fungi in integrated pest management in the presence of fipronil, diazinon and malathion.

Keywords: Lepidoptera, biological control, pests, agrochemicals.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1. Aspectos bioecológicos de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> e seus impactos na agricultura	21
2.1.1. <i>Anticarsia gemmatalis</i> Lepidoptera: Noctuidae	21
2.1.2. <i>Chrysodeixis</i> (=Pseudoplusia) <i>includens</i> , Lepidoptera: Noctuidae	23
2.1.3. Impactos da <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> na agricultura ..	26
2.2. Controle de pragas nos sistemas agrícolas.....	28
2.3. <i>Beauveria</i> spp.: aspectos biológicos e mecanismo de ação sobre os hospedeiros	32
2.3.1. <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill.....	32
2.3.2. <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch.....	35
2.3. Importância da protease na patogenicidade do fungo.....	36
2.4. Manejo integrado de pragas com produtos agroquímicos	37
2.2.1. Fipronil	38
2.2.2. Malathion.....	40
2.2.3. Diazinon	41
3. OBJETIVOS	43
3.1. Objetivo geral	43
3.2. Objetivos específicos	43
4. MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1. Origem dos insetos-praga	44
4.2. Origem das linhagens fúngicas	44
4.3. Origem dos agroquímicos	44
4.4. Meio de cultura e manutenção das culturas fúngicas	44
4.5. Crescimento radial	45
4.6. Exame microscópico das linhagens fúngicos	45
4.7. Técnica da fita adesiva para a visualização dos conídios	45
4.8. Preparo das suspensões de conídios para o teste de especificidade das linhagens fúngicas com os insetos-praga	45
4.9. Teste de especificidade	46
4.10. Avaliação do efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo e esporulação de <i>Beauveria</i> spp.	47
4.11. Teste de viabilidade dos conídios produzidos no meio de cultura contendo os agroquímicos fipronil, malathion e diazinon	48
4.12. Classificação dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon quanto à toxicidade sobre o desenvolvimento de <i>Beauveria</i> spp.	48

4.13. Teste de virulência dos conídios de <i>Beauveria</i> spp. compatíveis com os agroquímicos	49
4.14. Análise estatística	49
4.14.1. Teste de patogenicidade, especificidade e virulência dos conídios produzidos na presença dos agroquímicos.....	49
4.14.2. Ensaio com os agroquímicos	49
4.14.3. Análise da atividade proteolítica na presença dos três agroquímicos	50
4.14.4. Determinação da atividade enzimática e do índice enzimático	50
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1. Caracterização dos aspectos biológicos de <i>Beauveria</i> spp.	51
5.2. Efeito dos agroquímicos sobre o crescimento vegetativo, conidiogênese e viabilidade dos conídios de <i>Beauveria</i> spp.	54
5.3. Avaliação da especificidade e eficiência larvicida de <i>Beauveria</i> spp. sobre <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i>	59
5.4. Avaliação da virulência dos conídios de <i>Beauveria</i> spp. produzidos na presença dos agroquímicos	62
5.5. Atividade proteolítica de <i>Beauveria</i> spp. na presença do fipronil, malathion e diazinon.....	67
CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de <i>Anticarsia gemmatilis</i> .	22
Figura 2. Ciclo de desenvolvimento de <i>Chrysodeixis Includens</i> .	25
Figura 3. Mecanismo de infecção e patogenicidade de fungos entomopatogênicos em seus hospedeiros.	33
Figura 4. Insetos mumificação pelo fungo <i>Beauveria bassiana</i> . Mosca-branca (A). Cigarrinha-do-milho (B). Vaquinha (C). Gorgulho-do-eucalipto (D). Broca-do-café (E) e Percevejo-marron (F).	35
Figura 5. Estruturas química dos principais componentes do SMC de <i>Beauveria brongniartii</i> , estirpe 2382.	36
Figura 6. Estrutura química do Fipronil	38
Figura 7. Estrutura química do Malathion.	40
Figura 8. Estrutura química Diazinon	42
Figura 9. <i>Chrysodeixis includens</i> (A) e <i>Anticarsia gemmatilis</i> (B). Estágios L3.	46
Figura 10. Aspecto macroscópico das colônias de <i>Beauveria bassiana</i> (A) e <i>Beauveria brongniartii</i> (B) em meio ágar-Sabouraud-dextrose após 15 dias de crescimento. 1) frente 2) verso da colônia.	51
Figura 11. Curva de Crescimento <i>Beauveria brongniartii</i> durante 15 dias.	52
Figura 12. Curva de Crescimento <i>Beauveria bassiana</i> durante 15 dias.	52
Figura 13. Micrografias das estruturas de <i>Beauveria bassiana</i> (A): A1) Micélio septado, A2 Conidióforos, A3) Conídios; <i>Beauveria brongniartii</i> (B). B1) Micélio septado, B2 Conidióforos, B3) Conídios.	53
Figura 14. Aspecto macroscópico das colônias de <i>Beauveria bassiana</i> (A) e <i>Beauveria brongniartii</i> (B) em meio ágar-Sabouraud-dextrose = Controle (0), contendo fipronil (1), malathion (2) e diazinon (3);	54
Figura 15. Teste de viabilidade de conídios de <i>Beauveria bassiana</i> (A- controle, B- fipronil, C – malathion e D- diazinon) e <i>Beauveria brongniartii</i> . (E- controle, F- fipronil, G – malathion e H- diazinon)	56
Figura 16. Mumificação de <i>Chrysodeixis includens</i> (A1 – controle e A2 - lagarta mumificada) e <i>Anticarsia gemmatilis</i> (B1 – controle e B2 - lagarta mumificada) com <i>Beauveria brongniartii</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2).	59

Figura 17. Aspecto macroscópico da atividade proteolítica na presença dos agroquímicos (malathion (A), fipronil (B), diazinon (C) e Controle (D) de *Beauveria bassiana*. 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da dieta artificial de Greene.....	47
Tabela 2. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo (mm) de <i>Beauveria bassiana</i> (n=3), baseado na porcentagem média $\pm$ EP. 55	
Tabela 3. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo (mm) de <i>Beauveria brongniartii</i> (n=3), baseado na porcentagem média $\pm$ EP.	56
Tabela 4. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre a esporulação e viabilidade dos conídios (%) de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i>	57
Tabela 5. Classificação dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon quanto à toxicidade <i>in vitro</i> sobre <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i>	58
Tabela 6. Eficácia de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i> produzidos sem agroquímicos sobre as lagartas <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C (n=60 para cada espécie de fungos).	60
Tabela 7. Tempo letal (TL ₅₀) para <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> infectadas com <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i> , sem contato com agroquímico. Concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60).	61
Tabela 8. Eficácia de <i>Beauveria bassiana</i> produzidos na presença de agroquímicos sobre as lagartas <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos)	63
Tabela 9. Tempo letal (TL ₅₀) para <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> infectadas com conídios de <i>Beauveria bassiana</i> , produzidos na presença de agroquímicos. Concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 298 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos).....	64
Tabela 10. Eficácia de <i>Beauveria brongniartii</i> produzidos na presença de agroquímicos sobre as lagartas <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> na concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos).	65
Tabela 11. Tempo letal (TL ₅₀) para <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> infectadas com conídios de <i>Beauveria brongniartii</i> , produzidos na presença de	

agroquímicos. Concentração de 10^8 conídios/mL ⁻¹ . Período de incubação - 15 dias (T = 298 ± 2 °C (n=60 para cada espécie de fungo).....	66
Tabela 12. Atividade proteolítica de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Beauveria brongniartii</i> na presença dos agroquímicos.....	68

1. INTRODUÇÃO

As lagartas de *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixes includens* são pragas encontradas frequentemente nas lavouras de soja por toda América do Sul, durante todo ano. Ambas as espécies possuem um ciclo de reprodução semelhantes. As mariposas depositam seus ovos nas plantas, os quais posteriormente se transformam em lagartas (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2014).

Durante esse processo do desenvolvimento até a fase adulta, as lagartas se alimentam das folhas das plantações e esse consumo interfere no crescimento das folhas, tendo uma redução da sua produtividade e rendimento, e quando essas infestações acometem produções de *commodities* como é o caso da soja no Brasil, consequentemente, os danos afetam diretamente a economia de todo mundo (BEL *et al.*, 2017; CASTRO *et al.*, 2019).

O controle dessas lagartas normalmente é realizado com o uso de agroquímicos, essa metodologia se mostra eficiente ao ser aplicada. Os agroquímicos fipronil, malathion e diazinon são os mais utilizados no controle de diversas pragas, incluindo a cultura da soja (BENZINA *et al.*, 2018). No entanto, o uso constante e os cuidados inadequados, acarretaram o aumento da resistência por parte desses insetos-praga, ocasionando um desequilíbrio ecológico e afetando a saúde humana e de outros organismos considerados benéficos para o ecossistema, a exemplo as abelhas. Sendo assim, surge a necessidade de buscar medidas de manejo eficazes, com custos mais baratos e com maior eficiência como o controle biológico (KANG *et al.*, 2018; RUIU, 2018).

O manejo com controle biológico tem se mostrado eficiente quando usados sozinhos ou integrados com agroquímicos. Os agentes de origem biológica quando aplicados nas lavouras conseguem regular os insetos-praga através de seus mecanismos de ação (SCORSETTI *et al.*, 2018). Todavia, algumas condições favoráveis do ambiente como: temperatura, umidade e radiação solar são importantes para efetivação do mecanismo de ação desses agentes biológicos.

Os micro-organismos empregados nesse manejo utilizam seus processos naturais como fator de virulência reduzindo as populações de insetos-pragas. Essa relação de parasitismo quando mantida permite trazer benefícios não prejudiciais ao ecossistema, pois tem o seu efeito mais prolongado quando comparado ao controle químico, com custos menores quando implantados e a resistência às essas pragas na realidade ficam nulas (BARRA-BUCAREI *et al.*, 2019).

Dentre os micro-organismos aplicados no controle biológico, os fungos entomopatogênicos a exemplo de *Beauveria* spp. são bastante utilizados no combate de diversos artrópodes. Eles são bem distribuídos na natureza e eficientes ecologicamente. Esses fungos entomopatogênicos produzem propágulos assexuais, chamados de conídios. Os conídios aderem à cutícula dos insetos, posteriormente formando um tubo germinativo e penetram os hospedeiros desencadeando respostas imunológicas e desenvolvendo o processo patológico. Também serão produzidos alguns metabólitos secundários que trazem prejuízo apenas para o patógeno, mantendo assim, o equilíbrio populacional no *habitat* natural (LOVETT; ST. LEGER, 2017; KEYHANI, 2018; AMOBONYE *et al.*, 2020; CONCEIÇÃO *et al.*, 2020).

Esses fungos filamentosos trazem alternativas sustentáveis ao combate de insetos-praga utilizando a própria natureza, pelo uso de patógenos naturais, garantindo menos desgastes ecológicos e a saúde humana. Por outro lado, a ação de produtos fitossanitários sobre entomopatógenos pode variar desde a inibição do crescimento vegetativo do fungo, conidiogênese, até a ocorrência de mutações genéticas, alterando a virulência fúngica (ALVES, 1998). Ao se considerar a estratégia do controle associado, deve-se atentar para os possíveis efeitos fungitóxicos de agroquímicos a serem utilizados. Todavia, existe uma deficiência de estudos em relação à especificidade, patogenicidade e efeitos fungitóxicos dos agroquímicos usados no manejo integrado de pragas *A. gemmatilis* e *C. includens*. Devido ao potencial dessas espécies fúngicas no uso do controle biológico, esse trabalho teve como objetivo avaliar a especificidade e a ação bioinseticida de *Beauveria* spp. sob o efeito de agroquímicos em insetos-praga *in vitro*.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1.Aspectos bioecológicos de *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* e seus impactos na agricultura

2.1.1. *Anticarsia gemmatalis* Lepidoptera: Noctuidae

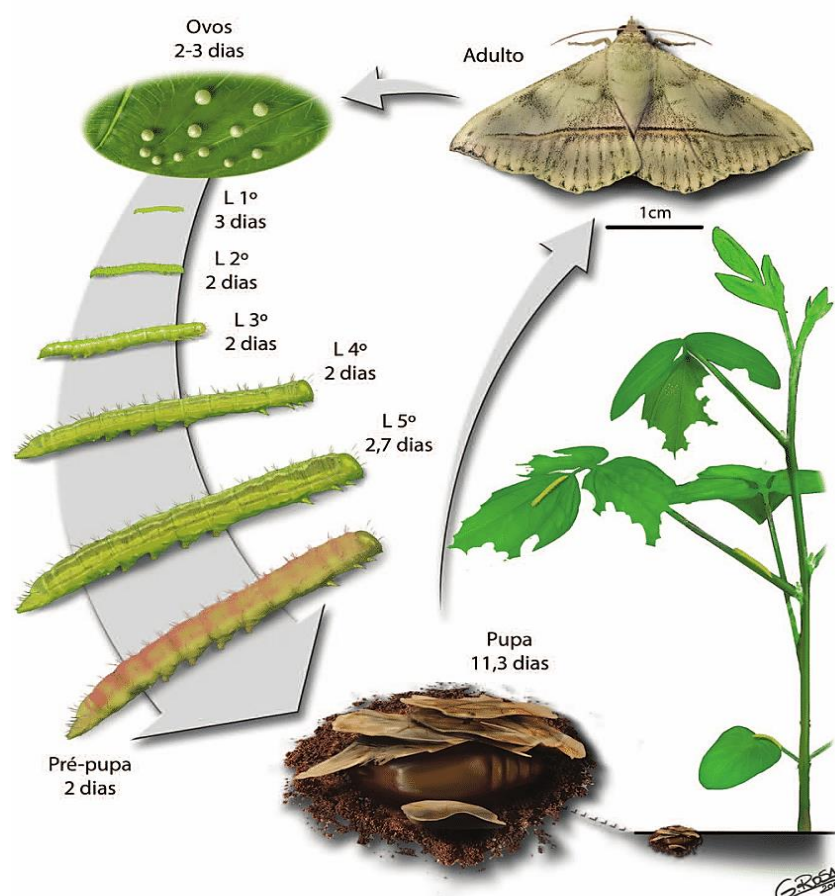
Anticarsia gemmatalis popularmente conhecida como lagarta-da-soja é considerada uma das principais pragas que acometem a cultura da soja, causando grandes prejuízos econômicos a esta atividade agrícola (CASTRO *et al.*, 2021). Essa praga é conhecida por consumir as folhas durante o seu período larval, desfolhando as plantações e possibilitando a perda de 100 % das suas folhas. Consequentemente, diminuindo a sua produção, aumentando os danos econômicos, assim como, dificuldades no seu controle, visto que, estão adquirindo cada vez mais resistência aos inseticidas sintéticos usados para o combate a essa cultura (SOUZA *et al.*, 2019).

A lagarta-da-soja, alimenta-se de leguminosas e preferencialmente pôr lavouras de sojas, justificando-se pôr a grande abundância e frequência com que essa cultura é encontrada, e sua alta taxa de produção em vários países (MARINHO-PRADO *et al.*, 2018). No entanto, *A. gemmatalis*, pode ser encontrada comprometendo outras plantações, como em lavouras de feijões da terra, algodoeiros, trigos, arroz, begônia, quiabo, entre muitas outras, mas preferencialmente irão ser encontradas acometendo a soja (PILON *et al.*, 2013).

A. gemmatalis é tipicamente encontrada em regiões de climas tropicais e subtropicais, possuem características comuns das mais de 157.000 espécies de insetos existentes nessas ordens (MAGALHÃES *et al.*, 2020). São insetos fitófagos, caracterizados como holometábolos, ou seja, sofrem metamorfose completa durante o seu desenvolvimento, desde a sua fase larval até a sua formação como mariposa. Durante a sua fase de mariposa é comum que as espécies encontradas nessa ordem estejam com suas asas cobertas por escamas, no entanto, durante o período de fase larval por volta do sexto *instar* que esses insetos-praga irão consumir um maior número de folhas, limitando durante essa fase a garantia de produção sustentável das lavouras, ocasionando prejuízos econômicos (BUSS *et al.*, 2022; VICENÇO *et al.*, 2021).

O ciclo biológico da lagarta-da-soja dura em torno de 30 a 40 dias (Figura 1), dependendo das condições ambientais encontradas (ROBERTA RIBEIRO COURA, 2017).

Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de *Anticarsia gemmatalis*.



Fonte: EMBRAPA, (2016).

Inicia-se com o acasalamento e depósitos dos ovos pelas mariposas, durante o período noturno, esta fase adulta reprodutiva das mariposas tendem a durar cerca de 15 a 20 dias (HIGOR DE OLIVEIRA ALVES, 2020). As mariposas fêmeas realizam voos curtos e orientados, emitindo um feromônio sexual para orientar e localizar os seus parceiros, para que ocorra o acasalamento, seguidos da deposição dos ovos das mariposas fêmeas nas plantações (FABRÍCIO OLIVEIRA FERNANDES, 2020).

Os ovos normalmente são depositados na parte inferior das folhas, nesse estágio adulto as mariposas costumam medir cerca de 30 a 38 mm, com coloração variando de cinza a marrom avermelhada, uma das características marcantes da fase adulta é uma linha transversal escura que unem as pontas das asas e que será observada apenas quando as asas estiverem totalmente estendidas (WINNIE CEZARIO FERNANDES, 2018).

Os ovos depositados na porção inferior das folhas possuem coloração verde-clara, mas com o passar dos dias essa cor tende a mudar para um tom acinzentado até marrom

escuro quando estiver próximo da eclosão, (MOSCARDI *et al.*, 2012), a fase embrionária costuma durar cerca de 2 a 3 dias. A fase larval tem um período de duração maior cerca de 12 a 15 dias, nessa fase a larva vai sofrer vários processos na sua maturação que podem ser influenciados por fatores ambientais, como a temperatura, que influencia diretamente nos ínstaes larvais (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2014).

As lagartas apresentam 5 a 6 ínstaes larvais, sendo comumente aplicados os 6 ínstaes, durante essa fase elas apresentam quatro pares de pernas abdominais e coloração variável do verde ao verde-escuro, pardo-avermelhadas ou até pretas com listras esbranquiçadas (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2014). A coloração preta desenvolve-se quando possuem uma alta população das lagartas e existem uma deficiência dos alimentos. Nos primeiros ínstaes o consumo das folhas é pequeno, ocasionando danos mínimos nas lavouras, porém, nos últimos ínstaes larvais por volta do quarto, quinto e sexto ínstar, as lagartas tendem a se alimentarem mais, sendo responsáveis por a perda de 96 % da massa foliar, ocasionando um impacto econômico significativo nas lavouras (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2010).

Após o último ínstar larval, a lagarta entra na fase pré-pupa com duração de um a dois dias, as lagartas encolhem o seu tamanho, possuem uma coloração no dorso rosada e findam sua alimentação. Ao final da fase pré-pupa, a pupa irá encaixar sobre a superfície do solo para então iniciar a fase de pupa possuindo coloração marrom escuro com duração cerca de 10 a 12 dias, ao final do estágio pupal emergem a mariposa (MOSCARDI *et al.*, 2012).

2.1.2. *Chrysodeixis* (=Pseudoplusia) *includens*, Lepidoptera: Noctuidae

Chrysodeixis includens da ordem Lepidoptera, por muito tempo foi referida fazendo parte do gênero *Pseudoplusia*. No entanto, devido a suas características morfológicas genitais de noctuídeos foi reclassificada fazendo parte do gênero *Chrysodeixis*. De acordo com a locomoção da lagarta que se move em palmos ficou popularmente conhecida como lagarta-falsa-medideira (SPECHT; DE PAULA-MORAES; SOSA-GÓMEZ, 2015).

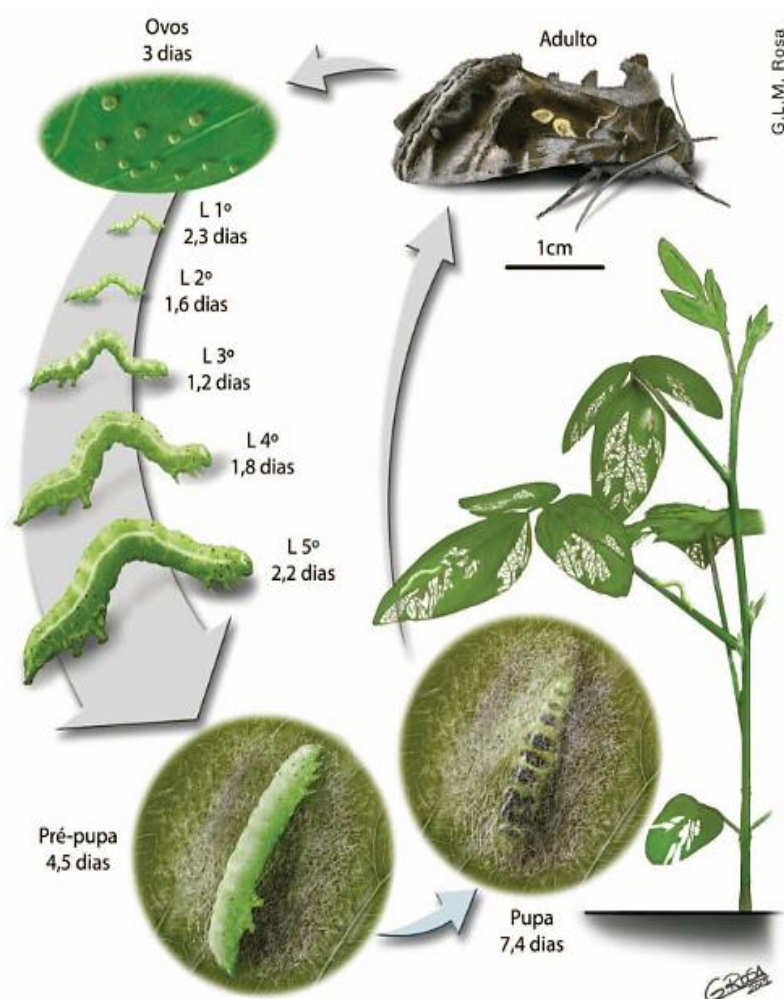
A lagarta-falsa-medideira é uma praga agrícola presente em todo hemisfério ocidental, desde o norte dos Estados Unidos até o sul da América do Sul. Esta espécie de lagarta é comumente encontrada acometendo lavouras agrícolas em todo Brasil Central,

principalmente desfolhando as plantações de soja (SPECHT; DE PAULA-MORAES; SOSA-GÓMEZ, 2015). No final da década de 1990 era determinada de praga secundária nas lavouras de soja, contudo, nos anos 2000 têm-se observado uma maior frequência desse inseto-praga nessas lavouras (MARTINS; TOMQUELSKI, 2015).

C. includens é considerada polífaga e podem desenvolver-se paralelamente em diversas plantas hospedeiras, fatores relacionados a alta produtividade e o desenvolvimento acelerado facilitam para essa situação (PEREIRA *et al.*, 2018). As perdas provocadas nas plantações por essa praga, ocorrem durante o seu período larval. As larvas se alimentam das folhas, deixando apenas as nervuras nas plantas, esse aspecto permite formar uma característica rendilhada, considerada o marco principal para identificação da espécie nas lavouras (STACKE *et al.*, 2019). Além das plantações de soja essa praga é encontrada acometendo outros cultivos agrícolas, como algodão, girassóis, feijões, tomates e batatas (MURARO *et al.*, 2019; SILVA, CLEANE *et al.*, 2020).

A Figura 2 mostra o ciclo biológico de *C. includens*, iniciando-se com o acasalamento, que necessariamente apresenta a emissão do feromônio sexual exalado pelas fêmeas, as quais, posteriormente depositam os ovos preferencialmente na superfície inferior das folhas de soja. Segundo Canerday; Arant, (1967) a quantidade de ovos depositados chega em média a 700 durante toda vida de uma fêmea, levando em consideração condições climáticas ideais (laboratório). Já estudo realizado por Jensen; Newsom; Gibbens, (1974) apontou uma variação na quantidade de ovos que uma fêmea oviposita durante todo seu ciclo de vida, variando de 500 a 1.300 ovos em condições climáticas naturais.

Figura 2. Ciclo de desenvolvimento de *Chrysodeixis Includens*.



Fonte: EMBRAPA, (2016).

Posterior a oviposição, na segunda etapa, os ovos eclodem após um período que pode variar de 3 a 5 dias, originando as larvas que apresentam em média seis ínstar (SANCHES, 2020). Esse período larval pode variar de 13 a 20 dias, variando principalmente em paralelo as condições climáticas e alimentação das larvas (WILLE *et al.*, 2017).

Exemplo, é a diferença na dieta durante o período larval, onde normalmente lagartas ainda pequenas (primeiro ao terceiro ínstar) selecionam folhas mais novas com baixo teor de fibras, já lagartas mais desenvolvidas, a partir do quarto ínstar, apresentam uma maior exigência e preferência por folhas mais velhas e fibrosas (BERNARDI, 2012). Esse consumo, apresenta também diferença na intensidade em relação as folhas sendo caracterizada pela raspagem superficial das folhas no primeiro e segundo ínstar, e

passando a perfurá-las a partir do terceiro ínstar, deixando-as com aparência de folhas rendilhadas (MOONGA; DAVIS, 2016).

Normalmente entrando no décimo quarto dia (final do período larval), as larvas apresentam entre 40 a 45 mm de comprimento, passando para fase de pré-pupa e logo em seguida pupa (período pupal), que dura de 9 a 7 dias, essa transição de fases acontece sob uma teia, praticamente em todos os casos na parte ventral das folhas (VIANA *et al.*, 2014).

Após o período de pupa, emergem as mariposas originando a fase adulta, estas apresentam asas dispostas em forma inclinada, com manchas prateadas brilhantes na parte central do primeiro par, e apresentam uma longevidade média entre 15 a 18 dias, todo esse período, desde a oviposição, até a emergência dessas mariposas varia de 27 a 34 dias (SILVA, 2020).

2.1.3. Impactos da *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* na agricultura

Diversas cultivares distribuídas amplamente por todo o mundo, sofrem a muito tempo com a infestação de pragas, como exemplo lagartas do grupo lepidópteros, que na maioria das vezes apresentam aptidão por espécies agrícolas diversas, sempre sendo afetadas tanto positivamente como negativamente pelos fatores climáticos (BLANCO *et al.*, 2016).

A produção da lavoura de soja é considerada umas das atividades agrícolas de grande importância econômica mundialmente, obtendo um crescimento considerável nas últimas décadas (ONGARATTO *et al.*, 2021). A valorização da soja está atribuída a diferentes fatores como o seu alto valor proteico e lipídico, podendo ser utilizado tanto para alimentação humana e animal, assim como, na fabricação de óleos e biodiesel, respectivamente (VIEIRA *et al.*, 2019).

Os grandes países produtores da soja estão distribuídos na América do Norte e do Sul, sendo os Estados Unidos, a Argentina e o Brasil os responsáveis por 80% de toda produção mundial (BEL *et al.*, 2017). No território brasileiro a produção da soja contribui significativamente para economia do país, e mundialmente pode ser classificado como o segundo maior produtor de soja (GÓMEZ *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020).

A produtividade da soja sofre algumas limitações no seu desenvolvimento por fatores bióticos e abióticos, que podem ser ocasionados por pragas agrícolas (FAUSTINO *et al.*, 2021). A soja se apresenta como um dos commodities agrícolas de maior investimento no Brasil, por este motivo apresenta grande infestação de lagartas, se

apresentando como um dos fatores de perda estimável no setor, associada também ao uso de fungicidas, que combatem, ou até, eliminam a presença de fungos entomopatogênicos, os quais detêm capacidade de controle natural contra a *A. gemmatalis* e *C. includens* (BUSS *et al.*, 2022).

As lagartas *A. gemmatalis* e a *C. includens*, são consideradas as pragas de maior danificação desfolhadora da soja nas regiões produtoras dos EUA, México, Colômbia, Venezuela, Brasil e Argentina, devendo-se levar em consideração a variação na intensidade e frequência das infestações em paralelo das mudanças climáticas e nutricionais dos insetos de cada região (HOFFMANN *et al.*, 2000; ULHOA *et al.*, 2019).

A. gemmatalis se apresenta com maior frequência em plantas cultivadas e silvestres, apontando uma maior preferência de leguminosas como várias espécies de feijões, amendoim, ervilhaca entre outras, no entanto, também foi evidenciada a infestação em algodoeiro, quiabo, trigo, girassol, begônia e arroz, entre outras (PANIZZII; OLIVEIRA; SILVA, 2004).

Já a *C. includens*, apresenta aptidão de desenvolvimento em cerca de 29 famílias de vegetais, chegando a 73 espécies de plantas distintas só no Brasil, sendo catalogadas com maior frequência a infestação em plantações de repolho, feijão, quiabo, fumo e batata-doce, tomate, algodão, girassol, alface, couve-flor e soja (SILVA, 2000).

Quando refere-se as plantações de soja, *A. gemmatalis* e *C. includens*, apresentam maior consumo das partes situadas no terço inferior das plantas e de folhas tenras de ramos secundários, onde o consumo se divide de acordo com o período larval, apontando inicialmente até o segundo ínstar apenas uma raspagem superficial, e a partir do quarto ínstar a perfuração das folhas (BERNARDI, 2012).

Essa perfuração apenas na parte central das folhas, deixam intactas as nervuras centrais e laterais, proporcionando uma característica rendilhada, característica típica, a qual as diferencia de outras espécies. Toda essa agressividade e degradação das folhas em plantios de várias cultivares, desencadeiam uma diminuição na captação solar, consequentemente diminuição na fotossíntese e queda na produtividade, muitas vezes se estendendo até a fase de pós-colheita (SALAS; TÖFOLI, 2017).

Diante desses diversos danos e perdas econômicas suscetíveis a essas infestações de lagartas, o combate dessas pragas de forma controlada, vem trazendo interesse da indústria nas diversas áreas atuantes que englobam o Manejo Integrado de Pragas (MIP), as quais estão divididas em controle cultural, biológico, químico, genético e mecânico, essas diferentes técnicas de controle de pragas visam principalmente a melhor utilização

com o menor impacto econômico levando em consideração questões ambientais (ÁVILA; VIVAN; TOMQUELSKI, 2014).

2.2. Controle de pragas nos sistemas agrícolas

Diante do crescimento notoriamente valioso do setor agropecuário brasileiro, as evoluções nos sistemas de produção do campo, necessitam constantemente dos mais diversos aperfeiçoamentos que envolvam toda cadeia produtiva, indo desde das pesquisas com melhoramento genético de cultivares e os insumos químicos, até os mais variados métodos e utilização de tecnologias adotadas pelos produtores para produção, colheita, armazenamento e logística, as quais são cada vez mais transparentemente exigidas pelos consumidores, que priorizam saúde e bem-estar, meio ambiente, considerando as tecnologias de produção, em especial as adotadas no controle fitossanitário (PORTILHO, 2009; BUAINAIN *et al.*, 2013).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) pode ser definido como um conjunto de medidas que adotam técnicas que visam o controle de pragas, que podem ser utilizadas isoladamente ou agrupadas, e são fundamentadas em análises de custo/benefício que consideram o interesse e/ou o impacto sobre os produtores, a sociedade e o ambiente (SAMPAIO *et al.*, 2022).

Hoje dentro do cenário do agronegócio brasileiro, a soja se apresenta como uma das principais oleaginosas produzidas e consumidas, sendo utilizada tanto nos setores pecuários como insumo na produção de ração para animais, quanto dentro do consumo humano em forma de óleo vegetal (EMBRAPA SOJA, 2019). Essa dimensão do cultivo de soja no país apresenta hoje cerca de 49% da área plantada de grãos do país, e exige diretamente a adoção de MIPs direcionados especificamente para cada tipo de praga, e consequentemente a seus danos causados a lavoura de soja (MAPA, 2021).

O MIP pode ser dividido entre técnicas que utilizam o controle cultural, que consiste no favorecimento do crescimento da cultura desejada em oposição das plantas daninhas, através de procedimentos que reduzam eventuais condições favoráveis, como plantas hospedeiras, que abriguem e disponham alimentos para a proliferação da praga (DEBIASI *et al.*, 2016).

Outra técnica utilizada dentro do MIP é o controle mecânico, o qual utiliza-se de instrumentos e máquinas agrícolas que arranque ou corte, inteiramente ou parcialmente, as próprias culturas cultivadas e/ou plantas daninhas (PACHECO *et al.*, 2016). Também

dentro dos manejos utilizados está o controle genético, que pode consistir na manipulação do DNA tanto da cultivar, resultando no ganho de resistência sem perda de rendimento, quanto da praga de interesse, a qual através da modificação do genoma dos insetos, haja a redução ou eliminação do seu potencial reprodutivo, também conhecido como Técnica do Inseto Estéril – TIE (ARAUJO; BRAGANTE; BRAGANTE, 2012).

Dentre os mais utilizados, existe o manejo utilizado métodos com controle químico, o qual visa principalmente utilizar inseticidas seletivos que só atinjam as pragas, sem efeitos aos nocivos aos inimigos naturais e polinizadores (SAMPAIO *et al.*, 2022). No entanto, o manejo químico, ganhou notoriedade principalmente pela relação de efeitos adversos a saúde humana e degradação do meio ambiente, o que trouxe nos últimos anos um aumento notável na pesquisa e desenvolvimento de técnicas, que auxiliem na manutenção ou aumento da produção, embasadas em premissas do desenvolvimento sustentável e manutenção da biodiversidade, como métodos utilizando o controle biológico de pragas (HANKE *et al.*, 2022).

Dentro do MIP, o controle biológico consiste sucintamente no uso de organismos ou de substâncias naturais em lavouras, que visam a prevenção, o combate para diminuição ou erradicação de infestações nas plantações (PARRA, 2019). Essa prática vem ao longo dos anos ganhando impacto não só em pesquisas acadêmicas, mas também no âmbito do fomento industrial, isso principalmente pelo apelo de questões socioambientais com produção sustentável acerca da produção agrícola (HANKE *et al.*, 2022).

Essa forma de biocontrole apresenta inúmeras vantagens como o baixo custo em relação a produção convencional; a diminuição com aplicações com inseticidas químicos e; o menor risco de contaminações aos solos, água e demais recursos naturais e humanos, tendo em vista esses pontos positivos, o controle biológico se torna uma técnica de extrema importância para todos produtores rurais (SIMONATO *et al.*, 2013).

Existem basicamente três tipos de controle biológico, divididos entre, controle biológico natural: esta técnica baseia-se no controle de pragas exercidas por agentes biológicos naturalmente já presentes e endógenos da região, com funções específicas de biocontrole contra a praga alvo, os quais são preservados naturalmente e de maneira espontânea proliferados através das práticas de cultivo que preservem o ecossistema. Esta prática dentre as três utilizadas se apresenta como a com menor possibilidade de danos a cultura em evidência, prejuízos ao ecossistema, e com melhor equilíbrio biológico, os quais reduzem os custos de produção (SUJII *et al.*, 2007).

Já o controle biológico clássico consiste inicialmente na identificação da região de origem da praga, e a partir disso, a busca por agentes naturais biológicos com funções de controle, importando-o de sua região de origem para o local de defesa, podendo ser de um país para outro, ou de uma região para outra (HODDLE *et al.*, 2014). Este procedimento exige inúmeras etapas de pesquisa e controle, uma vez que, a introdução de agentes biológicos exóticos em um novo *habitat* pode gerar consequências relativamente prejudiciais, principalmente ao ecossistema natural de cada região (MENDES *et al.*, 2021).

Ainda muito explorado e utilizado nos últimos anos, o controle biológico aplicado, este por sua vez, consiste na elaboração laboratorial em massa de um agente biológico com capacidade de grande redução ou extinção no combate de pragas específicas de cada cultura como a da soja, que já apresenta estudos de sucesso utilizando parasitoides, como *Trichogramma pretiosum*, os quais apresentam capacidade parasitaria em ovos de diversas espécies de lepidópteros, como *Heliothis virescens*, *Chrysodeixis includens* e *Anticarsia gemmatilis* (ZERBINO; PANIZZU, 2019).

Especificamente dentro da cadeia produtiva de soja, existem inúmeras espécies de pragas que ameaçam constantemente a produção como um todo, em sua grande maioria são insetos que acima do número estimado como natural, são considerados como pragas-chave para essa cultura (CAMPOS; ALCANTRA; REZENDE, 2018). Por conseguinte, existem diversas espécies de combatentes biológicos naturais dessas pragas, que dentro da cultura da soja estão dividido principalmente entre predadores, parasitoides e microrganismos entomopatogênicos (BARBOSA *et al.*, 2013).

Os predadores são considerados organismos de vida livre do início ao final do ciclo, onde comumente se alimentam de suas presas (pragas), sempre menores que os próprios, o que faz com que tenham que consumir mais de um organismo para desenvolver-se (ROBERTO *et al.*, 2002).

Dentro da cultura da soja alguns predadores são mais comumente associados como controladores naturais de pragas, os mais citados são o percevejo *Podisus nigrispinus* que apresenta ciclo de vida passando por ovo, cinco estádios ninfais, e a fase adulta, os quais apresentam como maior fonte de alimento lagartas e outros insetos menores (TORRES; ZANUNCIO; MOURA, 2006). Outro percevejo muito apontado é o *Orius insidiosus* este por sua vez tem hábitos alimentares mais generalistas tendo como presas tripses, ácaros, mosca-branca, cigarrinhas, ovos de lepidópteros e lagartas pequenas (ARGOLO; BUENO; SILVEIRA, 2002).

Sobre os parasitoides, também considerados controladores de pragas na cultura da soja, estes, podem ser definidos como insetos comumente de tamanho ínfimo, sendo sempre menores ou na maior das hipóteses do mesmo tamanho e específicos para uma espécie ou grupo de hospedeiro, e são na maioria das vezes considerados vespas que pelo microscópico tamanho pode ovipositar e se desenvolver em locais nas culturas em que inseticidas não permeiam (LARA; PERIOTO; RAMIRO, 2009). Na cultura da soja, três parasitoides são considerados como possíveis controladores *Trissolcus basalis*, *Telenomus podisi* e *Trichogramma pretiosum* (CORSO; GAZZONI; NERY, 1999).

Se tratando dos microrganismos entomopatogênicos são utilizados comumente bactérias, vírus e fungos, esses vem sendo cada vez mais utilizados principalmente pela sua facilidade de manipulação com ótima produção laboratorial em massa, facilidade de aplicação no campo, sua especificidade e eficácia contra as pragas, isso principalmente pelo seu mecanismo de ação, que através de toxinas produzidas promovem o rompimento da barreira epitelial do intestino, continuando até a morte do organismo hospedeiro (BOTELHO; MONTEIRO, 2011).

Se valendo da evolução nas pesquisas, o mercado já oferece soluções eficazes como inseticidas biológicos sem risco a saúde do consumidor e com atividade seletiva, com exemplo podemos citar produtos à base de *Bacillus thuringiensis* e do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatilis* (AgMNPV), os quais ofereceram grande avanço na utilização do controle biológico na lavoura de soja (BUENO *et al.*, 2014).

Alguns fungos com potencial de controle biológico já são amplamente utilizados na produção agrícola e a outros vem se apresentando eficazes principalmente em pesquisas acadêmicas. Podemos citar o *Metarhizium anisopliae* que é considerado um dos fungos com maior notoriedade dentro das pesquisas envolvendo controle biológico, isso por apresentar já uma detalhada descrição de suas características moleculares e bioquímicas (SCHRANK; VAINSTEIN, 2010).

Outros fungos utilizados são os do gênero *Paecilomyces* spp. são amplamente encontrados em variados tipos de solos, se classifica como fungo parasita de ovos e cistos, apresentando pouca especificidade de hospedeiro, no entanto, exibe rápido desenvolvimento tornando-se em curto espaço de tempo o organismo dominante (SILVA; MEDEIROS; CAMPOS, 2018).

Já *Beauveria* spp. foram um dos primeiros fungos estudados com ação entomopatogênica, mais precisamente a espécie *B. bassiana*. Esse destaque se deu principalmente pela ampla quantidade de hospedeiros aptos, e além disso, segundo Xiao

(2012), *B. bassiana* apresentam alta patogenicidade e virulência decorrente da sua alta capacidade de produção de metabolitos secundários e secretados que são biologicamente ativos.

2.3. *Beauveria* spp.: aspectos biológicos e mecanismo de ação sobre os hospedeiros

De modo geral *Beauveria* spp. estão dentro do gênero anamórfico cosmopolita de artrópodes patogênicos, apresentando as espécies *B. bassiana* e *B. brongniartii* como principais dentro do contexto agrônômico no controle biológico de pragas, estando nos últimos anos expressamente citado e pesquisado como um micoinseticida, sendo comercializado em pó concentrado e solúvel em forma de conídios, podendo ser utilizado domesticamente e em grandes propriedades de produção agrícola (RIBA; SILVY, 1989; CARNEIRO *et al.*, 2002).

2.3.1. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill

A primeira descrição de *B. bassiana*, foi realizada em experimentos envolvendo sua patogenicidade contra o bicho-da-seda, realizadas no ano de 1800 por Agostino Bassi (IMOULAN *et al.*, 2017), resultados confirmados posteriormente por estudos em 1835, onde avaliaram exemplares do bicho-da-seda mortos, apontou a presença de incrustação e eflorescência branca, estado presente após a presença de fungos entomopatogênicos do gênero *Botrytis* (BUSTAMANTE *et al.*, 2019).

De acordo com Imoulan *et al.* (2017), *B. bassiana* encontra-se dentro do grupo das espécies que produzem conídios globosos a subglobosos. Dentro desse grupo além da *B. bassiana* estão as *B. austalis*, *B. kipukae*, *B. pseudobassiana*, *B. varroae*, *B. rudraprayagi* e *B. medogenis*.

Por apresentar grande dificuldade na identificação do fungo, principalmente pela grande variação fenotípica distinta que apresentam, a *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) através de estudos taxonômicos do gênero *Beauveria*, definiu a linhagem completa do fungo como as seguintes: cellular organisms; Eukaryota; Opisthokonta; Fungi; Dikarya; Ascomycota; saccharomyceta; Pezizomycotina; leotiomyceta; sordariomyceta; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Cordycipitacea; *Beauveria* (SAYERS *et al.*, 2021).

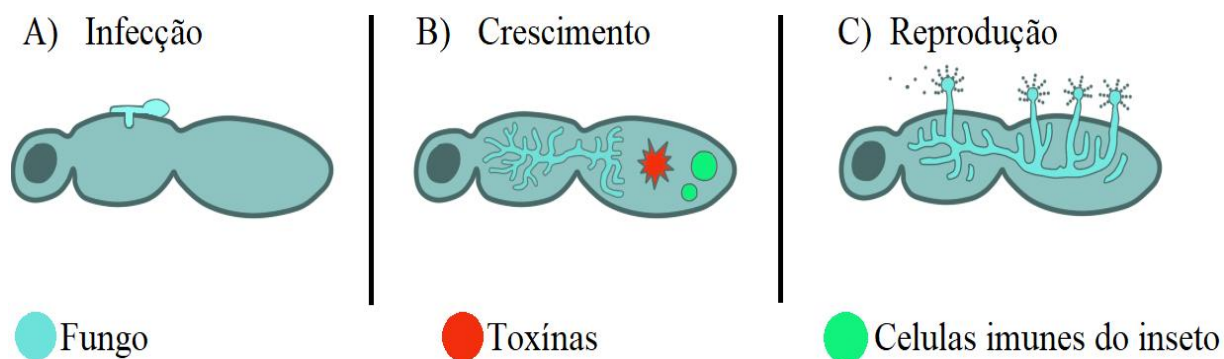
De modo geral, a morfologia do gênero *B. bassiana* se apresenta como fungo filamentosos, eucarionte e apresentando células quitinizadas. Apresenta bom desenvolvimento quando cultivado em laboratório em meios de cultura Sabourand-

dextrose-água (SDA) e batata-dextrose-água (BDA). O fungo exibe formação em colônias e coloração esbranquiçada, com aparência aveludada e moderadamente acolchoada (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Microscopicamente, o *B. bassiana* possui em sua estrutura propágulos assexuados, chamados de conídios, com algumas ondulações transparentes entre filamentos septais que na maioria das vezes apresentam coloração branca, podendo chegar a branco-amarelada, e as hifas podem variar entre 2,5 e 25 μm . As quais, o conjunto delas forma o micélio contínuo e septado (DANNON *et al.*, 2020).

Recentemente estudos realizados por Mascarin e Jaronski (2016), esmiuçaram o sistema de infecção causada pelo *B. bassiana* nos seus hospedeiros, e exibiram que os conídios e blástoporos que são considerados os órgãos assexuados infecciosos do fungo, os quais se espalham com ajuda de vetores artrópodes e através de gotas de chuva e ação dos ventos. A partir da chegada no hospedeiro inicia-se o processo de ação, estando dividido entre: adesão, germinação e diferenciação, penetração e disseminação (Figura 3) (DANNON *et al.*, 2020).

Figura 3. Mecanismo de infecção e patogenicidade de fungos entomopatogênicos em seus hospedeiros.



Fonte: Jorranes e Sousa, (2021).

Na etapa inicial de adesão, resume-se basicamente na aderência dos conídios e/ou blástoporos na cutícula superficial do hospedeiro através de forças eletroestáticas e químicas, a partir desta ação desencadeia a produção de mucilagem induzindo a conversão epicuticular, culminando na germinação dos conídios (JARONSKI; MASCARIN, 2017; DANNON *et al.*, 2020).

A germinação, essa por sua vez, pode sofrer alterações em paralelo as condições em que o fungo se aloca no hospedeiro, podendo ser aeróbicas ou anaeróbicas, e também

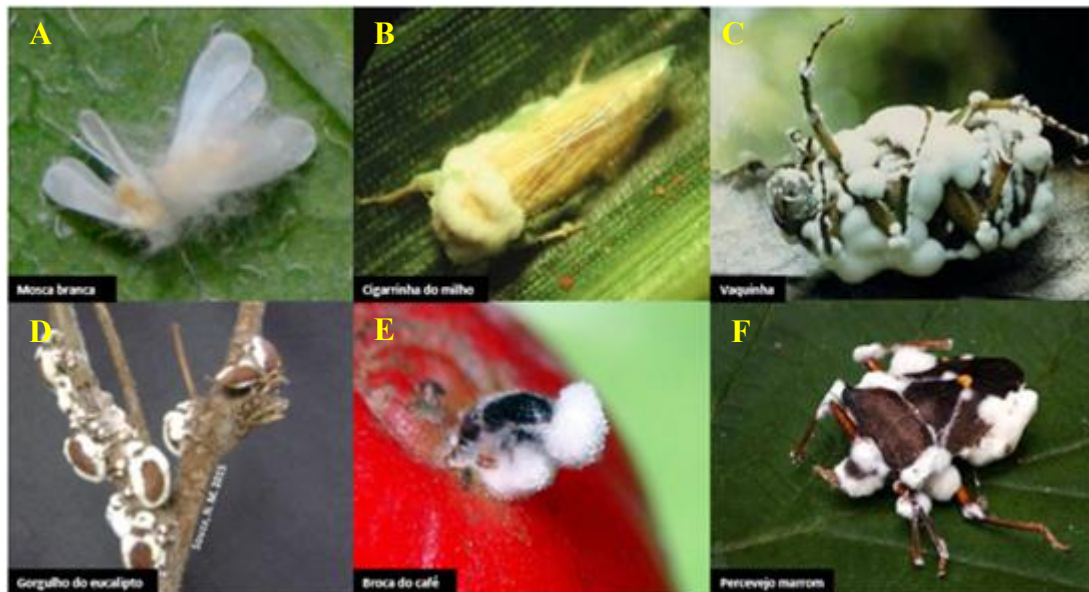
considerando a fisiologia do hospedeiro, isso porque, dependendo dessas condições fisiológicas (composição bioquímica da cutícula do alvo), a etapa de germinação pode sofrer inibição ou estimulação, sendo em vias favoráveis induzindo o aparecimento e desenvolvimento dos tubos germinativos. Isso ocorre principalmente através de estímulos químicos e da própria reidratação natural do hospedeiro, promovendo a virulência do fungo (ALMEIDA; ALBUQUERQUE; LIMA, 2005).

A diferenciação, no entanto, ocorre prioritariamente para que haja uma distinção nas formações de penetração que irão ser utilizadas no hospedeiro, podendo ser formados pinos de penetração ou apressórios de penetração, ou os dois simultaneamente. Essas formações promovem o desenvolvimento e crescimento de hifas, as quais iram estar aptas para rompimento do tegumento do inseto e posterior proliferação do fungo no interior do inseto (JARONSKI; MASCARIN, 2017; DANNON *et al.*, 2020).

Já no estágio de penetração, os pinos ou apressórios auxiliam o fungo a entremear pela cutícula do hospedeiro, buscando a hemolinfa do inseto como alocação final, isso ocorre através da pressão mecânica oxalato e da ação hidrolítica, processo provocado por enzimas lipases, proteases e quitinases, a partir deste estágio o fungo se transporta rapidamente para epiderme e hipoderme (DANNON *et al.*, 2020).

O último estágio de disseminação é conclusivamente a etapa onde o fungo atinge a hemolinfa tida como região de maior concentração de nutrientes do hospedeiro, por conta dessa grande disponibilidade de ambiente favorável, *B. bassiana* inicia a secreção de metabólicos tóxicos, isso consequentemente ataca diretamente a capacidade imunológica do inseto, a partir deste momento o fungo entomopatogênico se apropria de todo organismo rapidamente (Figura 4) ocasionando desnutrição, danos físicos, e a morte do hospedeiro (MOINO JÚNIOR, 1998).

Figura 4. Insetos mumificação pelo fungo *Beauveria bassiana*. Mosca-branca (A). Cigarrinha-do-milho (B). Vaquinha (C). Gorgulho-do-eucalipto (D). Broca-do-café (E) e Percevejo-marron (F).



Fonte: Koppert; Promip; Embrapa e Ipef (2022).

Logo após essa defasagem do hospedeiro, as hifas de *B. bassiana*, penetram por toda parte onde se encontra o tegumento do inseto, causando o que se torna agora muito perceptível que é a aparência de algodão já do hospedeiro mumificado, o que finda na percepção dos conidióforos estágio final da ação do fungo, que a partir daí após alguns dias produzira esporulação de novos conídios que dispersará por alguns vetores e iniciará novos ciclos (DANNON *et al.*, 2020).

2.3.2. *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch

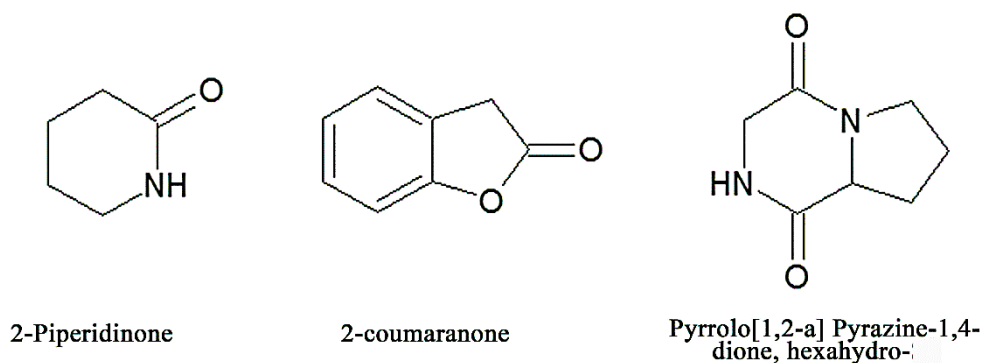
B. brongniartii apresenta colônias flocosas, cotonosas ou farinosas. Essa conformação já diferencia de *B. bassiana*, que tende a apresentar colônias achatadas, farinosas e finamente pulverulentas. *B. brongniartii* apresenta coloração esbranquiçada a amarelada creme, com hifas que variam entre 1,5 a 2 μ de diâmetro, exibe fiálides instáveis com formato ventriculoso ou filamentosa, expandidas sobre ramos da hifa principal e/ou em curtos ramalhetes em ângulo reto, formando cabeças globosas e compactas (ZIMMERMANN, 2007; FAN *et al.*, 2013).

Outro diferencial que muitas vezes pode ser observado entre *B. bassiana* e *B. brongniartii*, é a forma dos conídios, onde neste último são comumente de formas ovais a elipsoidais, com poucos globosos em média 2 %. Os conídios ovais variam de 2 a 6 x 1

a 4 μ e, com cerca de 2,5 a 3 μ de diâmetro, são elipsoidais e com tamanho de 2 a 3 x 1,5 a 2,5 μ . E esses, por sua vez, não formam cachos como apresenta *B. bassiana* (LECUONA, 1986).

A ação patogênica de ambas espécies de *Beauveria* apresentam as mesmas etapas, indo da etapa de adesão, passando pela germinação e diferenciação, penetração e disseminação (DANNON *et al.*, 2020). Um estudo realizado por Fan *et al.*, (2013), apontou os metabólitos secundários 2-piperidina, 2-coumaranona, pirrolo[1,2-a]pirazina-1,4-diona, hexahidro, (Figura 5), como agentes tóxicos gerados por *B. brongniartii*. Os autores avaliaram os cadáveres naturalmente doentes de *D. tabulaeformis* extraídos na floresta de pinheiros em Chengde, província de Hebei, China.

Figura 5. Estruturas químicas dos principais componentes do SMC de *Beauveria brongniartii*, estirpe 2382.



Fonte: Fan *et al.*, (2013)

O estudo realizado por Dolci *et al.* (2006) avaliou a persistência *B. brongniartii* e eficiência sobre larvas de *Malolontha melolontha*. As quais apresentavam infestação em campo durante dois anos, e evidenciaram sua boa eficiência contra as larvas assim como sua boa persistência no solo.

2.3.Importância da protease na patogenicidade do fungo

Podemos definir de forma simples, que as proteases produzidas por fungos entomopatogênicos, podem ser consideradas como as toxinas que causam a morte dos hospedeiros, a partir da degradação da cutícula dos insetos (VAREA *et al.*, 2012). Já em 1968 estudos apontavam a toxicidade das proteases produzidas pela *B. bassiana* em cultivo submerso, com dose letal (DL₅₀) de 26,1 mg de proteínas para cada inseto tratado (KUČERA; SAMŠIŇÁKOVÁ, 1968).

Essas proteases são produzidas e liberadas por apressórios infectantes, formados a partir da fixação dos conídios na cutícula dos insetos, e estão relacionadas com um mecanismo de transdução de sinal com a ativação da proteína quinase A (PKA) mediada pelo AMPc (FANG *et al.*, 2009). Normalmente a composição da cutícula e do tegumento dos insetos, é formada por pequenas quantidades de lipídios, uma matriz proteica, água e polifenóis, que naturalmente podem ser degradadas por proteases e quitinases (GAO *et al.*, 2020).

Essas enzimas são classificadas em quatro tipos diferentes: serina, cisteína, metalo e aspartil, sendo as enzimas mais estudadas, as serina-proteases (Pr1) tipo subtilisinas e a proteases (Pr2) tipo tripsina, essas enzimas são relevantemente importantes para a virulência do fungo sobre o hospedeiro, onde a partir da hidrólise das ligações peptídicas das cutículas, são expostas as fibrilas de quitina, e a partir dessa degradação acontece uma alta produção dessas proteases Pr1, as quais possuem a função de degradação do material proteico, após essas duas degradações a ação do fungo se torna mais evidente e facilitada pelo desprendimento dos aminoácidos dessas proteínas, que servem de nutrientes para crescimento do fungo (LITWIN; NOWAK; RÓŻALSKA, 2020).

Estudos já apontam a protease Pr1 como chave extracelular na penetração na cutícula, e que na ausência dessa enzima a finalização da penetração jamais poderia ser concluída, isso a torna além de indispensável, um indicador de virulência para os fungos entomopatogênicos (SUN; LIU, 2006).

2.4. Manejo integrado de pragas com produtos agroquímicos

O uso de agroquímicos na indústria agropecuária é uma prática já muito utilizada a anos e se tornou de extrema importância para o controle e redução de danos causados por variados tipos de pragas agrícolas, e dentro desses produtos os conhecidos como biológicos vem ganhando cada vez mais espaço no setor, principalmente pelo adoção cada vez maior do manejo sustentável (GASSEN *et al.*, 2008).

Existe uma diferença discrepante entre controladores químicos e biológicos, principalmente no que se refere ao manejo. Para uso e aplicação de agroquímicos não se necessita prioritariamente de conhecimento técnico específico sobre a fisiologia da praga, ambiente e cultura, sua eficácia e funcionalidade depende diretamente da forma de aplicação, em contra partida, a eficiência de um agente de controle biológico, acontece em forma de ciclo, e exige conhecimento de toda parte da biologia do alvo (praga), da

cultura em questão, assim como todos os fatores ambientais que possam interferir de maneira positiva ou negativa no desenvolvimento do biocontrole (JÚNIOR, 2014).

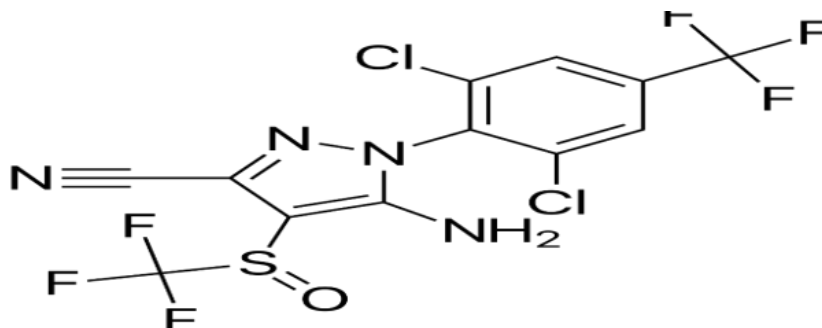
No Brasil, a legislação que trata o uso dos agroquímicos está presente na Lei nº 7.802, de julho de 1989, que regulamenta o uso e a comercialização desses produtos no país, no entanto, órgãos de fiscalização e pesquisa como Instituto Nacional do Câncer, apontam o uso excessivo dos agroquímicos nas lavouras o que oferece risco a saúde de consumidores e ecossistema (PONTES; VASCONCELOS, 2017).

O Brasil é destaque mundial na produção agropecuária, e conhecido como seletor do mundo, para suprir essa demanda, alguns agroquímicos já são amplamente utilizados no setor agrícola como fipronil, malathion e diazinon. Desta forma, com o uso desses e também de outros agroquímicos, surgem inúmeros parênteses sobre a adequação e principalmente das regulações diante da quantidade utilizada no combate de pragas, levando em consideração todas as questões ambientais e sociais de saúde do consumidor (KUMAR *et al.*, 2015).

2.2.1. Fipronil

O Fipronil, agroquímico de fórmula molecular $C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$ (Figura 6), se apresenta como um dos agroquímicos mais utilizados na lavoura de soja, possui um amplo espectro que atinge e degrada principalmente do sistema nervoso central de insetos (pragas), com ação de bloqueio da passagem de íons de cloro, o que origina uma excitação aguda dos músculos e nervos dos insetos afetados, culminando na morte (RAYMOND-DELPECH *et al.*, 2005).

Figura 6. Estrutura química do Fipronil



Fonte: Raymond-Delpech *et al.* (2005).

De maneira geral os agroquímicos apresentam três formas de ação sobre os alvos (pragas), que podem ser: por contato, ingestão e fumigação (OSMAR MALASPINA; ZACARIN; JESUS, 2002).

Mais precisamente, o fipronil é considerado um inseticida sistêmico e letal para insetos. Esse inseticida age diretamente no bloqueio dos receptores gama-aminobotárico (GABA), que desencadeia um acúmulo de neurotransmissores nas junções sinápticas, culminando na hiperexcitação neural do inseto, isso porque, no GABA se encontram o fluxo de íons Cl^- do interior da célula nervosa, e após a ação do fipronil ocorre o bloqueio da passagem dos íons para o neurônio, o que causa uma desorientação completa ou parcial dos insetos (PEREIRA, 2010).

Pertencente ao grupo químico *Pirazol*, se apresenta como um composto aromático, estando dentro da classe toxicológica de nível II, e de acordo com a cultura a ser aplicada. Pode ser utilizada no solo, nas folhas, sementes, mudas e nas águas de irrigação particulares, no entanto, no Brasil ainda é bastante utilizado a técnica de pulverização aérea, que segundo instruções da própria bula do produto, não se recomenda essa prática (DE MATTOS NETO; DA COSTA, 2020).

O uso do fipronil no Brasil está principalmente presente nas lavouras de algodão, arroz, amendoim, batata, milho, trigo e soja, e como já mencionado empregados de maneira errada em alguns casos, em contra partida seu uso apresentava inúmeras restrições em muitos países da Europa, sendo anuladas algumas delas em 2018, mas com impedimento do uso em produtos de origem animal destinadas ao consumo humano como gado e aves, isso por estudos apontarem contaminação em leite, ovos e carnes (COM, 2018).

Apesar da destinação no combate principalmente de pragas, que são na sua grande maioria constituídos por invertebrados, o princípio ativo do fipronil pode oferecer efeitos nocivos a vertebrados como peixes, pássaros e lagartos, por isso, a pulverização aérea se torna uma prática inadequada para seu emprego em lavouras, onde através de pancadas de ventos maiores que os estimados, o produto pode ser carregado para ambientes fora do plantio, além disso pode ser absorvido por todas as partes da planta, se acumulando e ficando disponível para insetos que não seriam os alvos, o que pode trazer prejuízo a biodiversidade, consequentemente disponibilidade de alimento para outros animais (GIBBONS; MORRISSEY; MINEAU, 2015).

Um último ponto, mas não menos importante, seria a forma de degradação do fipronil no solo, que apresenta uma linha lenta que pode passar pela oxidação, hidrólise

ou redução, sempre dependendo temperatura e microbiota existente no solo, isso oferece riscos não apenas a fauna e flora, mas também a trabalhadores que possivelmente fiquem expostos ao agroquímico. Nos casos mais comuns, trabalhadores apresentaram principalmente sintomas de desregulação endócrina (BOMBARDI, 2017).

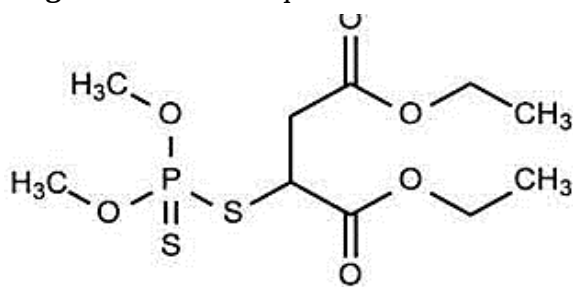
2.2.2. Malathion

O malatião ou malathion é bastante conhecido por ser o principal composto na formulação utilizada no combate contra o mosquito *Aedes aegypti*, em praticamente todos os municípios brasileiros, sendo pulverizado por bombas no ar pelos conhecidos “carros fumacê” (BASTOS *et al.*, 2020). No entanto, antes mesmo do seu uso para fins urbanos, o malathion, sempre foi utilizado como agroquímico de uso agrícola de amplo espectro, principalmente para o tratamento e combate de ectoparasitas (PAROD, 2014).

Esse inseticida está dentro do grupo dos organofosforados, atuando diretamente como inibidor da colinesterase presente no sistema nervoso central do inseto, que é atingido principalmente pela dispersão por pulverização do inseticida no ar, e assim como o fipronil apresenta complicações quando realizado de maneira inadequada, onde segundo a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer – IARC, classifica o malathion como possível carcinógeno, já com evidências consideráveis relatadas em estudos nas zonas agrícolas dos Estados Unidos, Canadá e Suécia (GUYTON *et al.*, 2015; WHO, 2015).

As produções de carambola, tomate, algodão entre outras, apresentam o uso de malathion como agroquímico principal (SILVA *et al.*, 2016). Segundo IUPAC, apresenta nomenclatura diethyl 2-dimethoxyphosphinothioylsulfanylbutanedioate, com solubilidade de 143 mg L⁻¹ em água a 20 °C, pKa em torno de 6,8, massa molar de 330,36 g mol⁻¹, coeficiente de partição octanol/água de 2,36 e composição química C₁₀H₁₉O₆PS₂ (Figura 7) (IMAMURA; HASEGAWA, 1984; RUGBANK, 2016).

Figura 7. Estrutura química do Malathion



Fonte: Rugbank, (2016).

Sua toxicidade apresenta uma classificação de maior risco quando comparada ao fipronil estando classificado como altamente tóxico (classe III). Isso por possuir ação direta na enzima acetilcolinesterase, responsável pela hidrólise da acetilcolina em acetato e colina, possui uma rápida absorção pelo organismo do inseto, isso faz com que possa estar associado a efeitos mutagênicos e carcinogênicos (ANVISA, 2018).

Assim como outros agroquímicos o malathion, apresenta uma permanência longa no solo e nas cultivares de acordo com a microbiota e clima respectivamente, sendo geralmente por se caracterizar como um organofosforados apresentar fácil degradação, no entanto, podendo permanecer no solo por algum tempo e consequentemente carregados para águas superficiais, fora do ponto de controle de contaminação em que se deseja atuar, agindo como um possível contaminante de todo um ecossistema, o que pode ser intensificado ou amenizado dependendo dos processos físicos e químicos dados as técnicas de cultivos (FLORES *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2007; MUTURI, 2013).

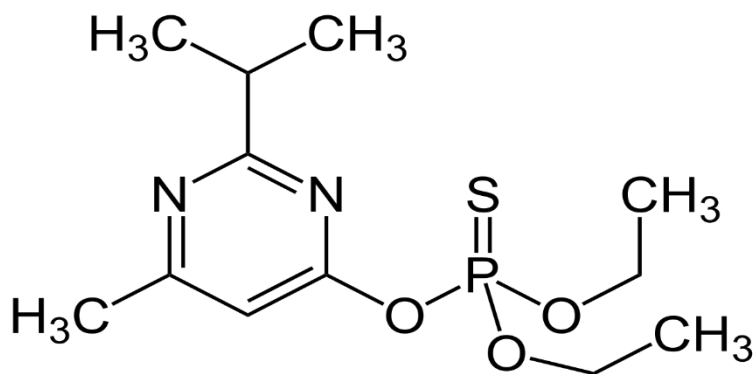
2.2.3. Diazinon

Também da classe dos organofosforados, o diazinon, com nomenclatura segundo IUPAC de O, O-dietil-O-2-isopropil-6-metilpirimidina-4-il fosforotioato, já disseminado em todo mundo como agroquímico agrícola, desenvolvido após a segunda guerra mundial (BARRETT; JAWARD, 2012; ZAFIROPOULOS *et al.*, 2014).

Igualmente ao malathion, o diazinon possui ação direta na inibição da acetilcolinesterase, destinado principalmente no combate de invertebrados como pulgas e carrapatos, o qual provoca uma paralisia do sistema nervoso do inseto, e consequentemente, também apresentando reações nocivas para animais vertebrados como peixes, pássaros, animais de estimação como cães e gatos e seres humanos, os quais podem apresentar principalmente uma inibição da unidade respiratória central, além de secreção brônquica e bloqueio nas junções neuromusculares (GROVER; SRIPATHI, 2019).

O diazinon apresenta fórmula $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$, com estrutura molecular representada na Figura 8. Também é conhecido como diazinona e é classificado segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), como agroquímico estando dentro dos grupos de inseticida e acaricida (BRASIL, 2018).

Figura 8. Estrutura química Diazinon



Fonte: Bernardi, (2018).

Considerado como pesticida de toxicidade severa, o diazinon dentre os três mencionados neste estudo, exibe a maior nocividade para humanos, mamíferos e organismo aquáticos mesmo estando dentro da classe II de toxicidade, isso porque, é o defensivo agrícola com maior número de evidências residuais em águas de abastecimento público (SHAH; IQBAL, 2010; HOSSEINI *et al.*, 2021).

Segundo os órgãos de fiscalização a Organização Mundial da Saúde (OMS) e da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), o diazinon deve apresentar concentrações residuais para água potável e de superfície de 0,1 $\mu\text{g/L}$ e 0,17 $\mu\text{g/L}$ respectivamente (AGGARWAL *et al.*, 2013; EPA, 2013).

Diante da grande quantidade de agroquímicos utilizados, visando principalmente o combate de pragas que afetam diretamente a produção e rendimento agrícola, e tendo em vista muitas vezes a falta de aplicação adequada desses defensivos, junto da falta de incentivos fiscais para o desenvolvimento do conhecimento técnico no campo, a ameaça para a saúde pública e degradação do ecossistema no uso desses inseticidas se torna uma preocupação global, e ainda considerando a importância da soja como um dos principais *commodities* do Brasil (ANDRADE *et al.*, 2021), faz-se necessária à pesquisa no desenvolvimento de novas tecnologias de biocontrole agrícola associadas os consorciadas com esses agroquímicos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a especificidade e a ação bioinseticida de *Beauveria* spp. sob o efeito de agroquímicos em insetos-praga *in vitro*.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a ação de *B. bassiana* e *B. bronginiartii*. sobre os insetos-praga (*Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens*) em condições laboratoriais, utilizando-se a concentração de conídios $1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹;
- Determinar a mortalidade média dos insetos-praga;
- Determinar o tempo letal médio (TL₅₀) dos insetos após infecção com *B. bassiana* e *B. bronginiartii*;
- Avaliar o efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo e conidiogênese de *B. bassiana* e *B. bronginiartii*, *in vitro*;
- Classificar os três agroquímicos quanto à toxicidade sobre *B. bassiana* e *B. bronginiartii*;
- Avaliar a ação patogênica de *B. bassiana* e *B. bronginiartii* em *A. gemmatalis* e *C. includens* sob o efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon;
- Avaliar a atividade proteolítica *in vitro*, a partir da formação do halo de degradação da caseína do leite Molico Nestlé® contendo na sua composição fipronil, malathion e diazinon;
- Selecionar a linhagem de *Beauveria* spp. mais eficiente com potencial para ser usada no manejo integrado de pragas no campo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética Molecular e Biotecnologia Vegetal (L G M Biotec), Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus I, João Pessoa, Paraíba.

4.1. Origem dos insetos-praga

As lagartas adultas de *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* foram adquiridas através da Empresa Pragas.com (<http://www.pragas.com.vc>). As lagartas foram produzidas em laboratório e enviadas nos estágios larvares L2-L3 em potes de prolipropileno contendo a dieta artificial (Dieta de Greene).

4.2. Origem das linhagens fúngicas

B. bassiana (Acesso URM 2915) e *B. brongniartii* (Acesso URM 6504) foram cedidas pela Micoteca URM do Departamento de Micologia/Universidade Federal de Pernambuco/UFPE.

4.3. Origem dos agroquímicos

Foram testadas três formulações comerciais de agroquímicos registrados para o controle de pragas: Fipronil (Regent 800 WG, Rhodia Agro Ltda), Malathion (100 mL, DIPIL, Agroline) e Diazinon (40 PM, Agener União). As formulações foram testadas na concentração média recomendada para pulverização em condições de campo.

4.4. Meio de cultura e manutenção das culturas fúngicas

Ágar-Sabouraud-dextrose 2 % (5 g/L de peptona de carne, 20 g/L de glicose, 5 g/L de peptona de caseína e 15 g/L de ágar bacteriológico. pH 5,6 ± 0,1 a 25 °C). As amostras foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio ágar-Sabouraud-dextrose 2 %, onde as culturas foram mantidas à temperatura ambiente de 10 a 15 dias e, em seguida, sob refrigeração à 4 °C.

4.5.Crescimento radial

Fragmentos da cultura fúngica foram colocados no centro da placa de Petri contendo o meio de cultura específico. Em seguida, as placas foram mantidas em temperatura ambiente. As observações serão feitas durante 12 dias para caracterização do aspecto macroscópico da colônia e do tempo de crescimento e esporulação em meio de cultura.

4.6.Exame microscópico das linhagens fúngicos

Foi utilizada a metodologia descrita por Lopes et al. (2008), adaptada. Inóculo da cultura fúngica foi transferido para placas de Petri contendo meio ágar-Sabouraud-dextrose e cobertos com lamínulas previamente flambadas. As placas foram mantidas à temperatura ambiente e as lamínulas com micélio aderido foram retiradas sucessivamente, nos períodos de 24 – 48 – 96 – 120 horas após o início do experimento, colocadas invertidas sobre uma lâmina estéril, coradas com lactofenol, identificadas e analisadas ao microscópio óptico.

4.7.Técnica da fita adesiva para a visualização dos conídios

Sobre a colônia do fungo cultivado em meio de cultura ágar-Sabouraud-dextrose pressionará um pedaço de fita adesiva transparente (Durex) para capturar as estruturas. Em seguida a fita foi pressionada em uma lâmina contendo uma gota de corante azul de lactofenol e posteriormente analisada ao microscópio óptico (MICOSIS HUMANAS PROCEDIMENTOS DIAGNÓSTICOS, 1995).

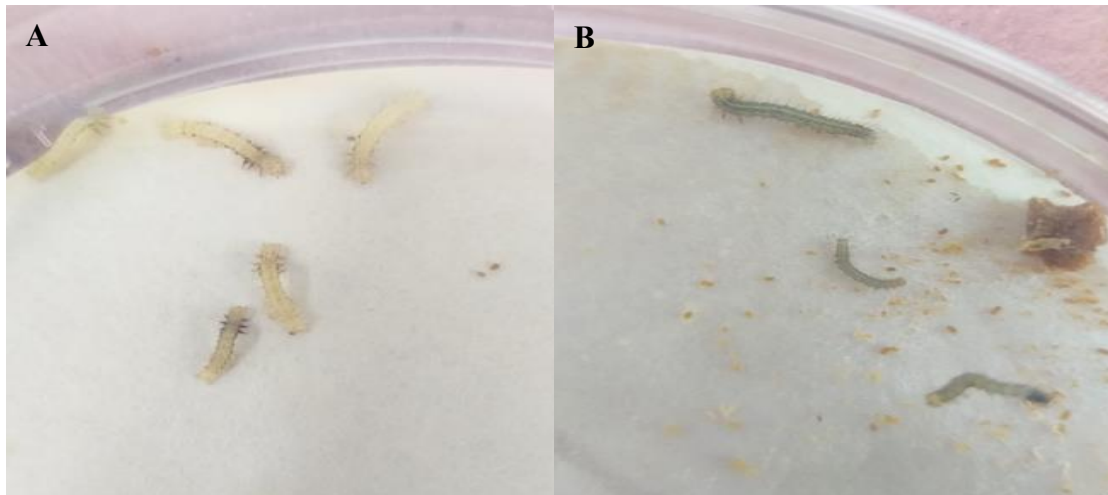
4.8.Preparo das suspensões de conídios para o teste de especificidade das linhagens fúngicas com os insetos-praga

B. bassiana e *B. bronginiartii* foram inoculados em meio de cultura Ágar-Sabouraud-Dextrose 2 %. As placas serão mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C, por um período de 10 a 15 dias para crescimento e conidiogênese. Após esse período, os conídios serão coletados, raspando-se a superfície da colônia para a realização dos bioensaios. Para o preparo das suspensões de conídios, foi utilizada água destilada autoclavada e Tween 80 0,01 % (v/v). Em seguida, foi estimada a concentração de conídios em câmara de Neubauer e as suspensões foram padronizadas em $1,0 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹.

4.9. Teste de especificidade

A metodologia utilizada para o teste de especificidade foi adaptada a partir do trabalho de Santos *et al*, (2007). Foi realizado um experimento com 60 exemplares de cada espécie de insetos, correspondendo a três repetições de 10 insetos para cada tratamento (T1 grupo controle = água destilada autoclavada + Tween 80; T2 = suspensão de $1,0 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹ + Tween 80). Os insetos foram transferidos individualmente para placas de Petri contendo papel de filtro com 1 mL da suspensão de conídios (Figura 9) e a dieta de Greene (Tabela 1). As placas foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C e avaliadas a cada 24 horas durante 10 dias, para observação da extrusão do fungo e confirmação da morte pelo patógeno.

Figura 9. *Chrysodeixis includens* (A) e *Anticarsia gemmatalis* (B). Estágios L3.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Tabela 1. Composição da dieta artificial de Greene.

Dieta de Greene	
Constituinte	Quantidade
Feijão-branco	102,90 g
Germe de trigo	82,30 g
Farelo de soja	41,20 g
Leite em pó	30,90 g
Levedura de cerveja	51,40 g
Ácido ascórbico	4,90 g
Ácido sórbico	2,50 g
Nipagin	4,10 g
Solução vitamínica	8,20 mL
Tetraciclina	0,10 g
Formaldeído (40 %)	4,90 mL
Ágar	18,90 g
Água	1400,00 mL

Fonte: Busato *et al.*, 2006.

4.10. Avaliação do efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo e esporulação de *Beauveria* spp.

A metodologia utilizada baseou-se no trabalho de Rashid *et al.* (2019). O meio de cultura ágar-Sabouraud-dextrose 2 % foi autoclavado a 121 °C durante 20 minutos. Após esfriar por alguns minutos em temperatura ambiente, foi adicionado ao meio o antibiótico penicilina, na concentração de 0,3 g/L e 0,8 g/L do agroquímicos comerciais fipronil, 3 mL/L do malathion e 0,25 g/L de diazinon. Os agroquímicos foram previamente filtrados utilizando-se filtros de 0,22 µm de diâmetro com o intuito de remover os contaminantes. O frasco contendo o meio ágar-Sabouraud-dextrose, penicilina e os agroquímicos foram agitados manualmente durante um minuto para homogeneização desses componentes e, depois, foi vertido em placas de Petri estéreis. Após a solidificação do meio, as placas foram mantidas em refrigerador à temperatura de 4 °C durante 24 horas e, posteriormente, foram inoculadas com *Beauveria* spp. com o auxílio de uma alça de platina (um ponto por placa). O controle negativo foi feito cultivando-se *Beauveria* spp. em meio ágar-Sabouraud-dextrose contendo apenas penicilina, sem os agroquímicos. Os experimentos foram realizados em triplicata e as placas foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C durante 10 dias. Ao final, foi avaliado o diâmetro das colônias fúngicas com o auxílio de

uma régua milimetrada e foi feita a contagem do número de conídios produzidos por colônia em câmara de Neubauer ao microscópio óptico.

4.11. Teste de viabilidade dos conídios produzidos no meio de cultura contendo os agroquímicos fipronil, malathion e diazinon

Os conídios produzidos no meio ágar-Sabouraud-dextrose contendo fipronil, malathion e diazinon foram diluídos em série para atingir uma concentração de 1×10^8 conídios/mL⁻¹. A partir desta suspensão, foi inoculado 100 µL em placas de Petri contendo meio ágar-Sabouraud-dextrose em triplicado e posteriormente incubadas por 18 horas ($T = 29 \pm 1$ °C). Após este período de incubação, foram realizadas contagens de colônias para cada placa, com 200-300 conídios viáveis ou não viáveis contados sob um microscópio óptico (ampliação de 40X). Para o teste de viabilidade dos conídios, um grupo controle foi preparado contendo apenas o isolado em meio ágar-Sabouraud-dextrose e penicilina, sem os agroquímicos.

4.12. Classificação dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon quanto à toxicidade sobre o desenvolvimento de *Beauveria* spp.

Para a classificação dos agroquímicos quanto à toxicidade sobre *Beauveria* spp. *in vitro* foi utilizado o modelo proposto por Alves (1998). Através do qual, são calculados os valores percentuais com relação à testemunha (100 %), conforme a Equação 1.

$$T = \frac{20(CV) + 80(ESP)}{100}$$

Eq. 1

Em que:

T = valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para classificação do produto.

CV = porcentagem de crescimento vegetativo com relação à testemunha.

ESP = porcentagem de esporulação com relação à testemunha.

A partir dos valores de T, o produto químico foi classificado como muito tóxico (0 a 30), tóxico (31 a 45), moderadamente tóxico (46 a 60) ou compatível (> 60) (MOINO JR.; ALVES, 1998).

4.13. Teste de virulência dos conídios de *Beauveria* spp. compatíveis com os agroquímicos

Os conídios foram produzidos no meio ágar-Sabouraud-dextrose contendo na sua formulação o fipronil, malathion e diazinon nas mesmas condições descritas no Item 4.9. Foi realizado um experimento com três repetições de 5 insetos para cada tratamento (T1 grupo controle = água destilada autoclavada + Tween 80; T2 fipronil = suspensão de $1,0 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹ + Tween 80; T3 malathion = suspensão de $1,0 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹ + Tween 80; T4 diazinon = suspensão de $1,0 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹ + Tween 80). Os insetos foram transferidos individualmente para placas de Petri contendo papel de filtro com 1 mL da suspensão de conídios produzidos nos diferentes agroquímicos e a dieta (Tabela 1). As placas foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C e avaliadas a cada 24 horas durante 10 dias, para observação da extrusão do fungo e confirmação da morte pelo patógeno.

4.14. Análise estatística

4.14.1. Teste de patogenicidade, especificidade e virulência dos conídios produzidos na presença dos agroquímicos

Os experimentos foram realizados segundo o delineamento experimental inteiramente casualizado, em que os dados foram analisados estatisticamente quanto à variância (teste *F*) e as médias comparadas entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando-se o programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2003).

Os dados referentes à mortalidade confirmada foram submetidos à análise de Probit para obtenção dos valores de TL₅₀ (em dia) (FINNEY, 1971).

4.14.2. Ensaio com os agroquímicos

Os dados foram analisados estatisticamente quanto à variância (ANOVA), seguido do teste de variação múltipla de Duncan, onde $P < 0,05$.

4.14.3. Análise da atividade proteolítica na presença dos três agroquímicos

Foi utilizado o meio-ágar-leite preparado com 50g de leite molico[®] desnatado Nestlé, 15 g de ágar e 1000 mL de água destilada e pH mantido em 6,8. O meio foi autoclavado por 15 min. a 120° C. Após esfriar por alguns minutos em temperatura ambiente, foi adicionado ao meio o antibiótico penicilina, na concentração de 0,3 g/L e 0,8 g/L dos agroquímicos comerciais fipronil, 3 mL/L do malathion e 0,25 g/L de diazinon. Os agroquímicos foram previamente filtrados utilizando-se filtros de 0,22 µm de diâmetro com o intuito de remover os contaminantes. O frasco contendo o meio ágar-Sabouraud-dextrose, penicilina e os agroquímicos foram agitados manualmente durante um minuto para homogeneização desses componentes e, depois, foi vertido em placas de Petri esterilizadas. Posteriormente, as placas foram inoculadas com um disco do micélio de *Beauveria* spp. e mantida em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). O experimento foi realizado em triplicata e avaliado no período de 12 dias, a capacidade de degradação da caseína do leite em pó, única fonte de nitrogênio adicionada ao meio. A degradação foi avaliada macroscopicamente pela formação do halo transparente ao redor da colônia.

4.14.4. Determinação da atividade enzimática e do índice enzimático

Para a determinação do índice enzimático (IE), foi utilizada a metodologia descrita por Hankin e Anagnostakis (1975), em que a atividade da espécie avaliada decorre da razão entre o diâmetro da colônia (Øc) e o diâmetro da colônia, acrescido da zona de precipitação do halo (Øh).

$$IE = \frac{\text{Diâmetro da colônia (Øc)}}{\text{Diâmetro da colônia + Zona de precipitação do halo (Øh)}}$$

A partir do (IE) a atividade enzimática (Pz) pode ser classificada como:

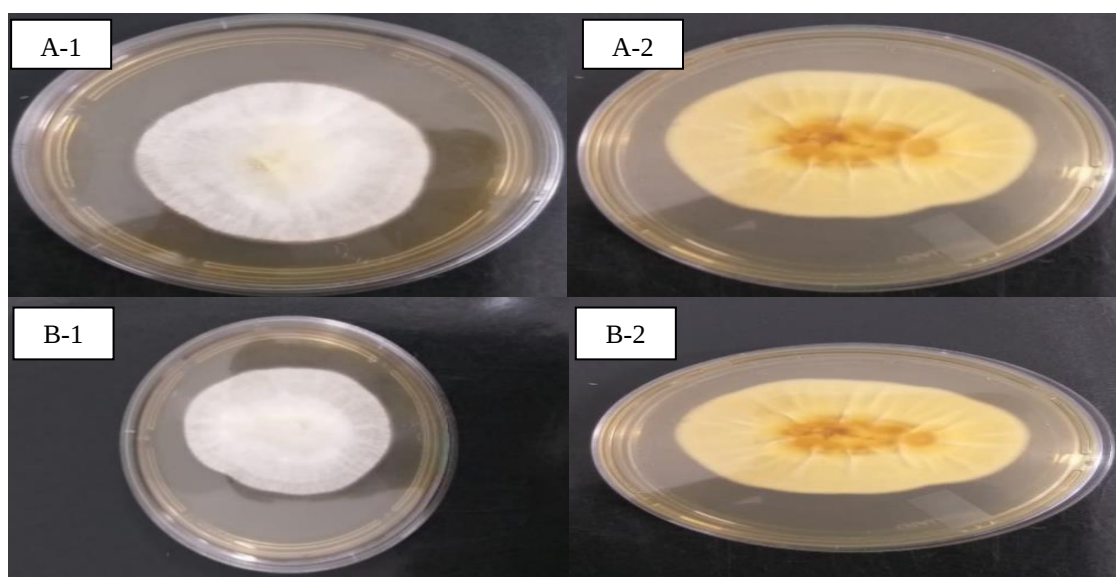
- A) negativa (IE = 1, Pz = classe 1);
- B) positiva (0,64 = IE < 1, Pz = classe 2);
- C) fortemente positiva (IE < 0,64, Pz = classe 3).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização dos aspectos biológicos de *Beauveria* spp.

O crescimento micelial de *B. bassiana* e *B. brongniarti* foram analisados durante 15 dias após inoculação no meio ágar-sabouraud-dextrose sem a presença dos agroquímicos. Macroscopicamente, foi possível observar as colônias com aspecto filamentososo, com cor branca, reverso amarelado e centro alaranjado como evidenciado na Figura 10.

Figura 10. Aspecto macroscópico das colônias de *Beauveria bassiana* (A) e *Beauveria brongniartii* (B) em meio ágar-Sabouraud-dextrose após 15 dias de crescimento. 1) frente 2) verso da colônia.



Fonte: Autoria própria, 2022.

O crescimento radial também foi analisado sem a presença dos agroquímicos e analisados por 15 dias. *B. bassiana* obteve uma curva de crescimento de 3,0 cm (Figura 12) e *B. Brongniartii* obtivemos 3,5 centímetros (Figura 13). O desenvolvimento radial comprova a eficiência do meio ágar-Sabouraud-dextrose no fornecimento de nutrientes necessários para os processos de conidiogênese e esporulação fúngica *in vitro* em temperatura ambiente.

Figura 11. Curva de Crescimento *Beauveria brongniartii* durante 15 dias.

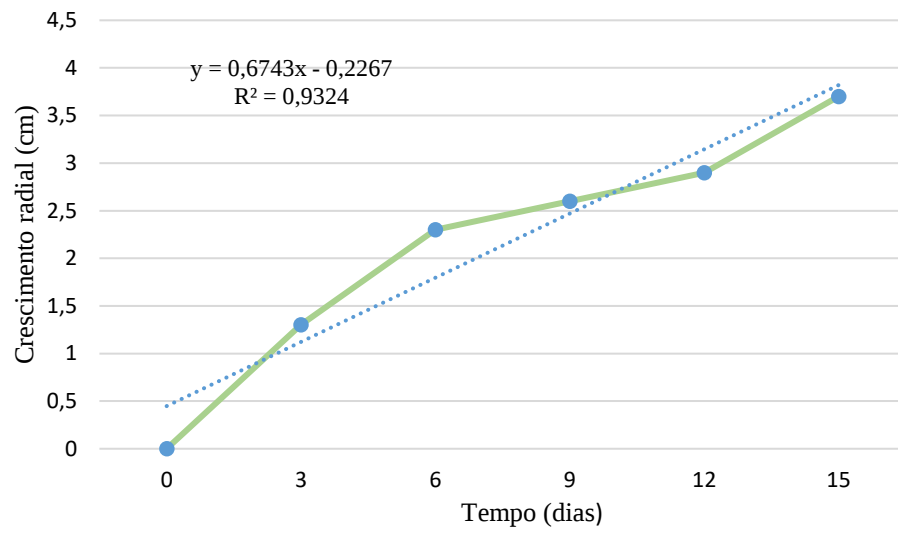
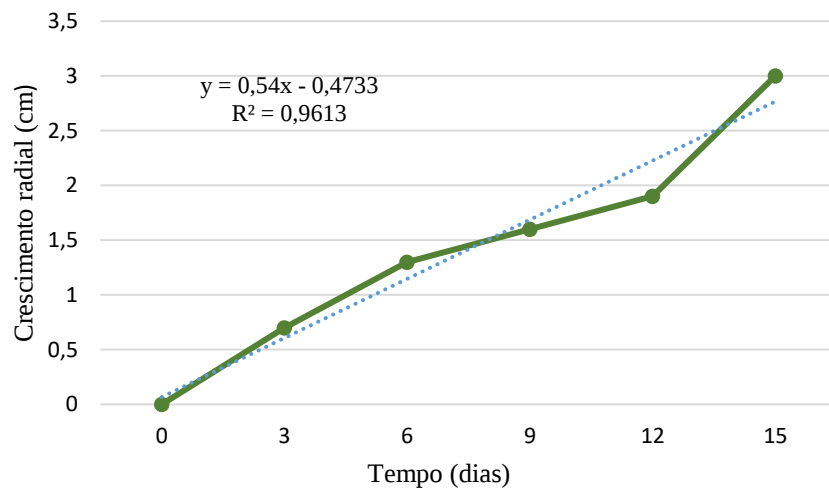


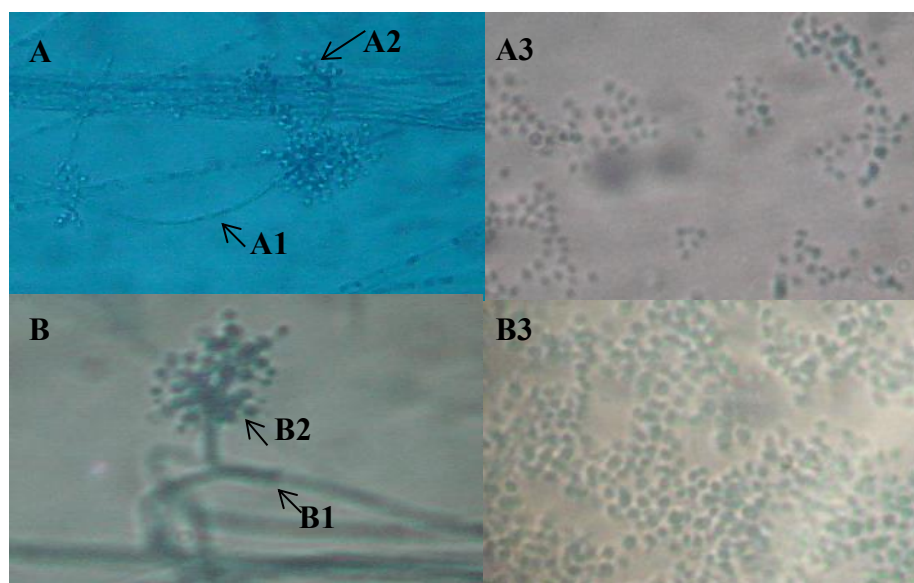
Figura 12. Curva de Crescimento *Beauveria bassiana* durante 15 dias.



Com relação à caracterização microscópica de *Beauveria* spp., após 24 a 48 foi possível detectar a presença de hifas septadas, existência de conidióforos, apressórios e consequentemente dos conídios. As estruturas fúngicas apresentavam-se intactas e com características intrínsecas das duas espécies (Figura 13).

O processo de conidiogênese é responsável por originar os conídios. Os conídios são produzidos por diferenciações da parte vegetativa do próprio micélio, representando a forma mais comum de reprodução assexuada. Essas estruturas reprodutivas são responsáveis pela propagação das espécies fúngicas, sendo assim, são utilizadas no biocontrole (LEE *et al.*, 2018).

Figura 13. Micrografias das estruturas de *Beauveria bassiana* (A): A1) Micélio septado, A2 Conidióforos, A3) Conídios; *Beauveria brongniartii* (B). B1) Micélio septado, B2 Conidióforos, B3) Conídios.



Fonte: Autoria própria, (2022).

Os conídios de *Beauveria* spp. originam-se nos conidióforos e necessitam de vários fatores abióticos como temperatura e umidade para atingir o processo de viabilidade e funcionamento biológico. Após processo de produção os conídios germinam e adentram na cutícula do hospedeiro, replicando e desencadeando um processo infeccioso no hospedeiro progredindo para morte (PENG *et al.*, 2022).

Os fungos filamentosos adentram nos seus hospedeiros utilizando os apressórios, conhecido comumente como a estrutura responsável pelo processo infeccioso. O esporo germinativo contaminante adentra atravessando as hifas ou os tubos germinativos. Após esse processo para adentrar é feito o contato com a superfície estabelecendo um ponto de

contato que possivelmente é facilitado pelo o reforço da melanina e quitina existente no hospedeiro (DEMOOR; SILAR; BRUN, 2019; KHAN *et al.*, 2012).

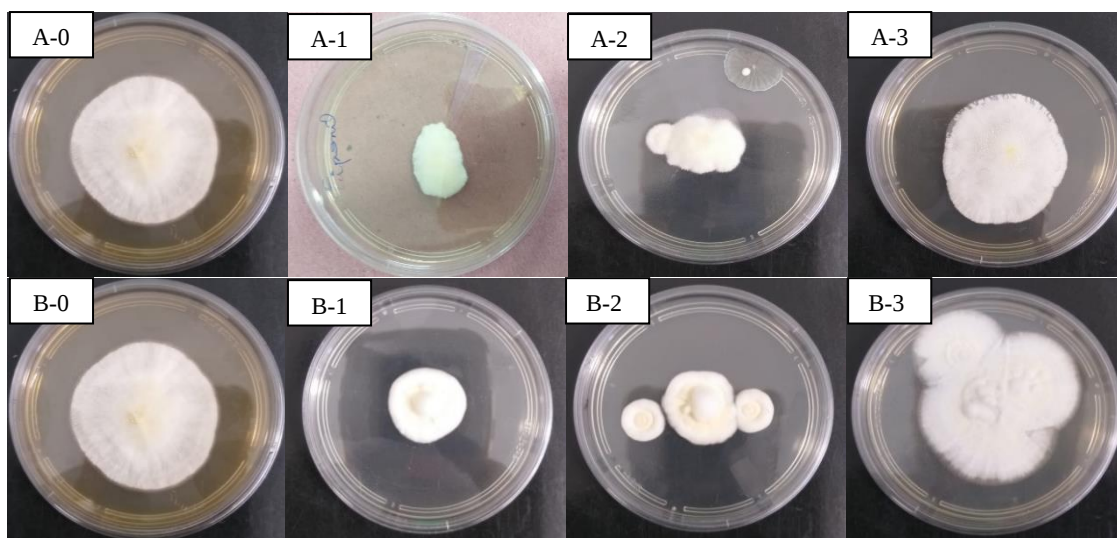
Durante o processo de penetração é possível detectar várias alterações na estrutura e desenvolvimento fúngico como os pinos de penetração e estruturas parecidas com o haustórios responsáveis pela absorção do nutrientes, tais características permitem confirmar a existência dos apressórios nos fungos filamentosos (DEMOOR; SILAR; BRUN, 2019).

5.2.Efeito dos agroquímicos sobre o crescimento vegetativo, conidiogênese e viabilidade dos conídios de *Beauveria* spp.

A análise do crescimento vegetativo de *B. bassiana* e *B. brongniartii*. foi utilizado nas concentrações usadas no campo conforme recomendado dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon, utilizados no combate de *A. gemmtalis* e *C.includens*.

A partir dos resultados foi possível observar macroscopicamente que ocorreu inibição no crescimento vegetativo de *B. bassiana* frente aos três agroquímicos quando comparados ao grupo controle (Figura 10). Na presença do fipronil foi possível evidenciar inibição (1,20%), malathion (0,60%) e diazinon (0,20%) (Tabela 2). Essas análises mostram um forte impacto dos três agroquímicos no crescimento de *B. bassiana*, principalmente na presença do fipronil obtendo-se um percentual maior em relação à taxa de inibição do crescimento vegetativo do fungo propriamente dito.

Figura 14. Aspecto macroscópico das colônias de *Beauveria bassiana* (A) e *Beauveria brongniartii* (B) em meio ágar-Sabouraud-dextrose = Controle (0), contendo fipronil (1), malathion (2) e diazinon (3);



Fonte: Autoria própria, (2022).

Resultados semelhantes ao presente estudos foram relatados por Bezerra *et al.* (2018) em que *B. bassiana* apresentou inibição de crescimento maior de $(80,90 \pm 0,98)$ em relação a outros agroquímicos nas mesmas condições utilizadas no presente estudo. Para Barari *et al.* (2012), também foi evidenciado uma maior redução no crescimento de *B. bassiana* na presença do fipronil $(43,50 \pm 2,60)$.

Tabela 2. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo (mm) de *Beauveria bassiana* (n=3), baseado na porcentagem média $\pm$ EP.

Tratamentos	Crescimento vegetativo (mm)	Redução do crescimento vegetativo (%)
Controle	$3,20 \pm 0,22^a$	$0,00 \pm 0,00_{ns}$
Fipronil	$2,00 \pm 0,09b$	$1,20 \pm 0,03a$
Malathion	$2,60 \pm 0,12ab$	$0,60 \pm 0,18b$
Diazinon	$3,00 \pm 1,00a$	$0,20 \pm 0,10bc$

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de variação múltipla de Duncan ($P < 0,05$). Dados não transformados. NS – não significativo. Fonte: Autoria própria, 2022

Os nossos resultados diferem dos encontrados por Bandeira *et al.* (2021), em que foi evidenciado um forte impacto na redução para malathion $(1,37 \pm 0,78 b)$. Embora, o autor tenha utilizado as mesmas condições dos agroquímicos aplicadas no presente estudo, essas divergências podem ser explicadas pelo uso de linhagens diferentes de *B. bassiana*, concentrações de conídios e meio de cultura utilizado.

Já para *B. brongniartii* foi possível observar uma redução de (1,30%) para fipronil e malathion, (0,80%) para diazinon (Tabela 3) em relação ao grupo controle. Macroscopicamente também ficou nítido a inibição no crescimento vegetativo para os três agroquímicos quando comparados ao grupo controle. Esses resultados confirmam os relatados por Bezerra *et al.* (2018), que observaram uma inibição no crescimento $(55,52 \pm 0,0 ab)$ na presença do fipronil para *B. brongniartii*.

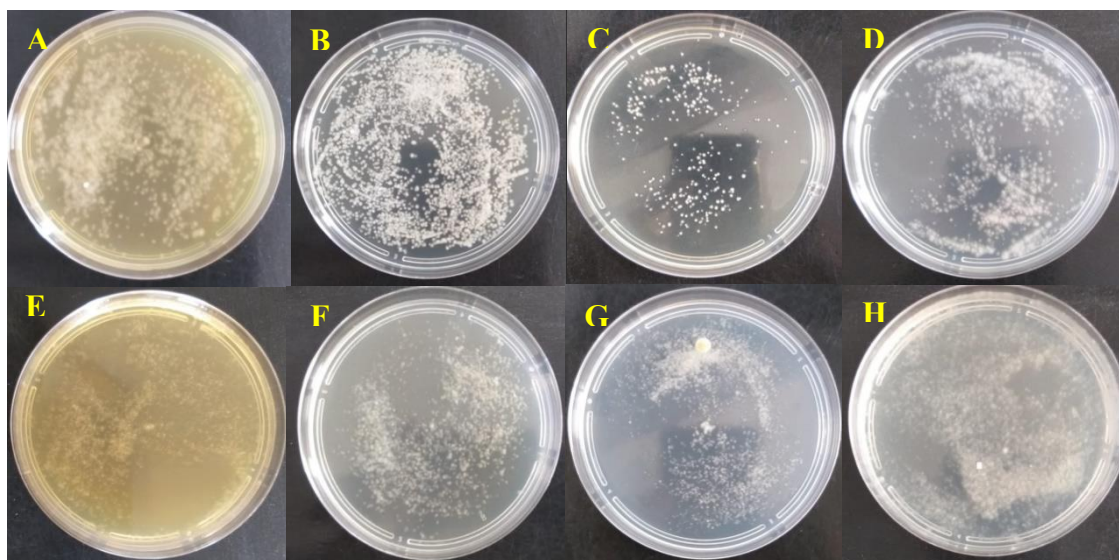
Tabela 3. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre o crescimento vegetativo (mm) de *Beauveria brongniartii* (n=3), baseado na porcentagem média $\pm$ EP.

Tratamentos	Crescimento vegetativo (mm)	Redução do crescimento vegetativo (%)
Controle	3,70 $\pm$ 0,13 ^a	0,00 $\pm$ 0,00ns
Fipronil	2,40 $\pm$ 0,06b	1,30 $\pm$ 0,10a
Malathion	2,40 $\pm$ 0,22b	1,30 $\pm$ 0,90a
Diazinon	2,90 $\pm$ 1,01b	0,80 $\pm$ 1,98b

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de variação múltipla de Duncan (P<0,05). Dados não transformados. Fonte: Autoria própria, 2022.

Em relação à esporulação e viabilidade dos conídios houve uma redução significativa para *B. bassiana* na presença do malathion de 3,5% e 53,13% quando comparados ao grupo controle (Tabela 4 e Figura 15). Embora o fipronil tenha tido uma maior inibição no crescimento vegetativo (Tabela 2), quando analisados a esporulação e a viabilidade dos conídios 7,48% e 95,01% não foi observado uma redução na produção dos mesmos. Para o agroquímico diazinon também não foi identificado diminuição na esporulação e viabilidade dos conídios 8,21% e 81,00 respectivamente.

Figura 15. Teste de viabilidade de conídios de *Beauveria bassiana* (A- controle, B- fipronil, C – malathion e D- diazinon) e *Beauveria brongniartii*. (E- controle, F- fipronil, G – malathion e H- diazinon)



Fonte: Autoria própria, (2022).

B. brongniartii na presença dos três tratamentos agroquímicos apresentou compatibilidade com os mesmos, quando comparados ao grupo controle (Tabela 4). Na presença do fipronil tivemos a melhor taxa de esporulação quando comparadas ao grupo

controle 9,06% e viabilidade de 92,26%, seguidos do diazinon 10,59% e 97,09%. O malathion apresentou menor taxa de esporulação de 7,48% e 95,01%.

Embora os agroquímicos possam inibir o crescimento micelial de um fungo filamentoso, este não é considerado uma premissa para inviabilidade na esporulação e germinação dos conídios (Silva et al. 2013). No presente estudo foi possível evidenciar esse resultado, tivemos uma maior inibição no crescimento vegetativo pelo fipronil para *B. bassiana* e *B. brongniartii*, mas não foi detectado redução na esporulação e viabilidade, evidenciando que esses dois parâmetros estão relacionados com a adaptação do fungo ao meio de cultivo e não a presença intrínseca dos agroquímicos propriamente dita. Segundo Tamai et al., (2002), o crescimento micelial pode ser retardado pela presença de estresse provocados pelos agroquímicos e não prejudica o processo de conidiogênese.

O processo de desenvolvimento dos conídios é considerado o mais importante para o crescimento vegetativo e esporulação fúngica, visto que, o fungo necessita dessa produção para infecção do hospedeiro com sucesso. Por tanto, se houver diminuição durante a germinação dos conídios pode diminuir a eficiência do fungo entomopatogênico em relação ao seu hospedeiro. De modo que o crescimento do micélio é produzido no interior do inseto hospedeiro e a concentração dos produtos químicos encontra-se embaixo da hemolinfa, existem chances mínimas dessa fase do desenvolvimento ser afetada (SILVA et al., 2013).

Tabela 4. Efeito dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon sobre a esporulação e viabilidade dos conídios (%) de *Beauveria bassiana* e *Beauveria brongniartii*

Tratamentos	Esporulação (1×10^7 conídios/mL ⁻¹) (%)		Viabilidade (1×10^7 conídios/mL ⁻¹) (%)	
	<i>B. bassiana</i>	<i>B. brongniartii</i>	<i>B. bassiana</i>	<i>B. brongniartii</i>
Controle	10,99 ± 0,08a	9,36 ± 0,71a	99,11 ± 0,65a	99,01 ± 0,11 ^a
Fipronil	7,48 ± 0,21b	9,06 ± 1,03a	95,01 ± 0,09a	92,26 ± 0,25 ^a
Malathion	3,50 ± 0,12bc	7,81 ± 1,36ab	53,13 ± 0,14bc	95,01 ± 0,30 ^a
Diazinon	8,21 ± 0,21b	10,59 ± 1,21a	81,00 ± 1,06b	97,09 ± 0,51 ^a

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de variação múltipla de Duncan (P<0,05).
Fonte: Autoria própria, (2022).

Em virtude dos resultados obtidos em relação ao crescimento vegetativo e processo de conidiogênese, os agroquímicos foram analisados quanto a sua toxicidade *in vitro* frente às duas linhagens fúngicas (Tabela 5). Para *B. bassiana* houve incompatibilidade com o malathion e os demais agroquímicos foram compatíveis. Já para

B. brongniartii houve compatibilidade com os três agroquímicos utilizados no presente estudo.

Tabela 5. Classificação dos agroquímicos fipronil, malathion e diazinon quanto à toxicidade *in vitro* sobre *Beauveria bassiana* e *Beauveria brongniartii*.

Tratamentos	Valores de “T”		Classificação*	
	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Beauveria brongniartii</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Beauveria brongniartii</i>
Fipronil	80	86	Compatível	Compatível
Malathion	49	71	Não Compatível	Compatível
Diazinon	83	91	Compatível	Compatível

*Classificação em conformidade com Rossi-Zalaf et al., (2008).

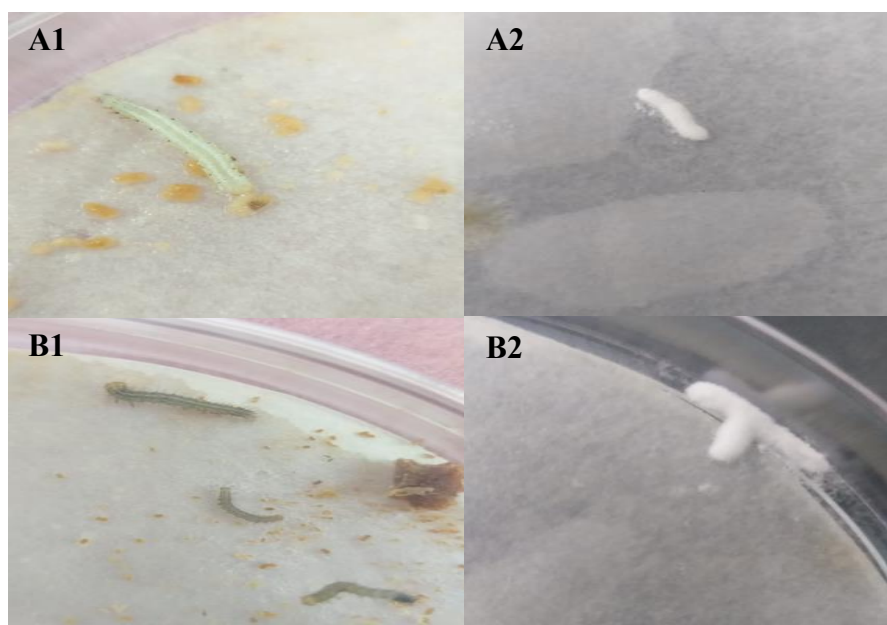
Diante dos resultados foi possível evidenciar que *B. bassiana* e *B. brongniartii* mostraram-se eficientes quando associados aos agroquímicos, com exceção do malathion para *B. bassiana*. Tais resultados mostram o potencial dessas espécies com relação ao uso consorciado no controle biológico, mais precisamente no manejo integrado de pragas (MIP), podendo preservar a população natural, evitar resistência às pragas e reduzir as chances de contaminação e consequentemente, diminuir o uso de agroquímicos (DA SILVA, ROBERTA Z; NEVES, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2012).

A aplicação do controle biológico geralmente é potencializada combinando-se com o uso do controle químico. A sinergia entre os micro-organismos e os agroquímicos também reduz os efeitos contaminantes proveniente destes no meio ambiente. Entretanto, essa sinergia por muitas vezes não é fácil de alcançar e por consequência pode causar um efeito antagônico e afetar a sobrevivência dos fungos filamentosos (DANNON *et al.*, 2020). Por exemplo, o efeito do malathion mostrou-se incompatível para a linhagem *B. bassiana* (URM 2915) no presente estudo.

5.3. Avaliação da especificidade e eficiência larvícida de *Beauveria* spp. sobre *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens*

No primeiro dia do bioensaio foi realizada a infecção com os conídios de *B. bassiana* e *B. brongniartii* nas lagartas de ambas as espécies. Foi observado durante esse processo, uma movimentação e alimentação ativa das lagartas na placa de Petri. Ao decorrer dos dias foi possível evidenciar alterações fisiológicas e no comportamento das lagartas, principalmente a diminuição da locomoção, perda dos movimentos, redução da dieta utilizada e mumificação (Figura 16). Esse comportamento letárgico é esperado ao decorrer do processo do bioensaio, confirmando justamente a colonização fúngica.

Figura 16. Mumificação de *Chrysodeixis includens* (A1 – controle e A2 - lagarta mumificada) e *Anticarsia gemmatalis* (B1 – controle e B2 - lagarta mumificada) com *Beauveria brongniartii* na concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹. Período de incubação - 15 dias ($T = 28 \pm 2$).



Fonte: Autoria própria, (2022).

Essas alterações fisiológicas observados nos hospedeiros é decorrente da agressão cuticular e produção de micotoxinas oriundas do processo patogênico ocasionado pelos fungos. As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos pelos fungos. Essas toxinas são moléculas pequenas, que caracterizam os fungos porque atuam diretamente no processo infeccioso, gerando várias respostas fisiológicas no hospedeiro (VALENCIA *et al.*, 2011). As toxinas produzidas por *Beauveria* spp. afetam a integridade da membrana plasmática aumentando a permeabilidade, e alterando os canais de íons. Tais alterações

induzem e têm como consequência final a morte celular (AL KHOURY; GUILLOT; NEMER, 2019).

A *Beauveria* spp. produzem vários metabólitos secundários, dentre eles-temos beauvericina e bassianolida. Essas substâncias são produzidas pela *B. bassiana* e *B. brongniarthii* (ZIMMERMANN, 2007). A beauvericina possuem várias atividades, incluindo antimicrobiana, inseticida e antii-inflamatórias. Esse metabólito já foi identificado em outros estudos mostrando a eficácia contra vários artrópodes como: *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae), *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), *zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) (AL KHOURY; GUILLOT; NEMER, 2019).

Na ausência dos agroquímicos, *B. bassiana* e *B. brongniarthii* apresentaram uma taxa de mortalidade total de 99,9% para *A. gemmatilis* e para *C. includens* de 80,3% e 90,6%, respectivamente. Já a taxa de mortalidade confirmada foi 30% para *A. gemmatilis* e um TL₅₀ de 7,31 dias quando infectadas com *B. bassiana* e não houve extrusão de *B. brongniarthii* para essa espécie. *C. includens* apresentou uma taxa de mortalidade confirmada de 20% e 90% e um TL₅₀ de 7,01 e 6,0 dias quando infectadas com *B. bassiana* e *B. brongniarthii*, respectivamente como evidenciado nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6. Eficácia de *Beauveria bassiana* e *Beauveria brongniarthii* produzidos sem agroquímicos sobre as lagartas *Anticarsia gemmatilis* e *Chrysodeixis includens* na concentração de 10⁸ conídios/mL⁻¹. Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C (n=60 para cada espécie de fungos).

Insetos	Taxa de mortalidade total (%) (±EP) ¹		Taxa de mortalidade confirmada pelo fungo (%) (±EP) ¹	
	<i>Anticarsia gemmatilis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatilis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>
Controle	99,9±0,09a	20,9±1,48bc	0,00 ± 0,00b	0,00± 0,00c
<i>Beauveria bassiana</i>	99,9±1,89a	80,3±2,59b	30,9±2,13a	20,1±1,75b
<i>Beauveria brongniarthii</i>	99,9 ±0,80a	90,6±0,80a	00,0±0,00b	90,3±2,05a
CV%	12,1		17,9	

¹Erro padrão. Médias seguidas da mesma letra não difere em si pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Autoria própria, 2022.

Tabela 7. Tempo letal (TL₅₀) para *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* infectadas com *Beauveria bassiana* e *Beauveria brongniartii*, sem contato com agroquímico. Concentração de 10⁸ conídios/mL⁻¹. Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60).

Insetos	TL ₅₀ (dias)		Equação ¹		t ²	
	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>
Controle	0,00	0,00	ns ³	ns ³	0	0
<i>Beauveria bassiana</i>	7,31	7,01	Y=0,1628 + 1,9532 log X	Y=2,1348 + 1,3001 log X	2,85	5,01
<i>Beauveria brongniartii</i>	0,00	6,00	ns ³	Y=2,9016 + 3,3013 log X	0	2,87

¹Valores das equações obtidas pela análise de probit, onde Y = probit e X = concentração. ²O valor de t determina o coeficiente angular, sendo os valores inferiores a 1,29 indicam que não há significância da regressão. ³Não significativo.

Fonte: Autoria própria, 2022.

A alta taxa de mortalidade para *A. gemmatalis* pode ser justificada devido aos fatores ambientais como temperatura e umidade, mostrando o quanto as larvas de *A. gemmatalis* são sensíveis às condições ambientais as quais são aplicadas. Foi constatado que a alta mortalidade total aplicado ao controle em ambas as espécies das lagartas podem estar relacionados às condições ambientais e ao estresse ocasionado durante o experimento, visto que, não houve indícios de contaminação e a inoculação dos fungos no grupo controle. Já para *C. includens* foi constatado que é uma espécie menos sensível aos impactos sociais obtendo uma mortalidade total menor quando comparados a *A. gemmatalis* no grupo controle.

Jaronski *et al.* (2017), relatam que o bioensaio deve ser aplicado como uma ferramenta para garantia de qualidade, visto que, a eficácia de um lote no experimento só será comprovada mediante a realização do bioensaio. Existem uma diversidade de insetos-praga que os fungos podem desencadear um processo infeccioso, sendo assim, é importante preparar o bioensaio de acordo com a espécie a ser trabalhada. A robustez do bioensaio é garantida através do número de insetos que será utilizado, quanto maior esse valor teremos uma garantia na eficácia do bioensaio. No presente estudo tivemos essa eficácia confirmada ao utilizar um número alto das amostras de lagarta (64 n), pois apresentamos resultados bem concisos e dentro do esperado.

5.4.Avaliação da virulência dos conídios de *Beauveria* spp. produzidos na presença dos agroquímicos

A análise do bioensaio para o teste de virulência dos conídios de *B. bassiana* produzidos na presença do fipronil, malathion e diazinon, evidenciou uma taxa de letalidade total para *A. gemmatalis* de 99,9%. A mortalidade confirmada só foi evidenciada apenas para o grupo contendo fipronil de 20,9% e um TL_{50} de 12,1 dias. Já para *C. includens* a letalidade total foi de 90,3%, 80,6% e 70,0%, mortalidade confirmada de 75,1%, 70,3% e 30,3% e TL_{50} de 6,9, 12 e 7,0 dias para os grupos contendo fipronil, malathion e diazinon, respectivamente, como mostra as Tabelas 10 e 11.].

Tabela 8. Eficácia de *Beauveria bassiana* produzidos na presença de agroquímicos sobre as lagartas *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* na concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹. Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos)

Agroquímicos/ <i>Beauveria bassiana</i>	Taxa de mortalidade total (%) (±EP)¹		Taxa de mortalidade confirmada pelo fungo (%) (±EP)¹	
	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixi s includens</i>
Controle	75,1±0,18ab	40,1±0,48c	0,00 ± 0,00b	0,00± 0,00c
Fipronil	99,9±1,09 ^a	90,3±1,79a	20,9± 0,13a	75,1±1,05a
Malathion	99,9 ±1,80 ^a	80,6±0,80b	00,0± 0,00b	70,3±2,55a
Diazinon	99,9 ±0,99 ^a	70±0,99cd	00,0± 0,00b	30,3±1,05b
CV%	25,1		18,9	

¹Erro padrão. Médias seguidas da mesma letra não difere em si pelo teste de Tukey a 5%. Fonte: Autoria própria, 2022.

Tabela 9. Tempo letal (TL₅₀) para *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* infectadas com conídios de *Beauveria bassiana*, produzidos na presença de agroquímicos. Concentração de 10⁸ conídios/mL⁻¹. Período de incubação - 15 dias (T = 298 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos).

Agroquímicos/ <i>Beauveria bassiana</i>	TL ₅₀ (dias)		Equação ¹		t ²	
	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>
Controle	0	0	ns ³	ns ³	0	0
Fipronil	12,1	6,9	Y=0,1782 + 2,8522 log X	Y=2,9145 + 1,3001 log X	2,05	6,01
Malathion	0	12,0	ns ³	Y=2,3515 + 3,1029 log X	0	7,17
Diazinon	0	7,0	ns ³	Y=1,6001 + 5,1725 log X	0	4,39

¹Valores das equações obtidas pela análise de probit, onde Y = probit e X = concentração. ²O valor de t determina o coeficiente angular, sendo os valores inferiores a 1,96 indicam que não há significância da regressão. ³Não significativo.

Fonte: Autoria própria, 2022.

Para *B. brongniarti*, cujos conídios foram produzidos na presença do fipronil, malathion e diazinon, a taxa de letalidade total para *A. gemmatalis* foi de 99,9%, mortalidade confirmada foi de 95,9%, 85,0% e 97,0% e TL₅₀ de 7,0 dias para os grupos contendo fipronil, malathion e diazinon, respectivamente. Para *C. includens* a letalidade total foi de 99,3%, 95,6% e 70,4%, mortalidade confirmada de 95,1%, 92,3% e 70,3% e TL₅₀ de 6,7, 5,0 e 7,0 dias para os grupos contendo fipronil, malathion e diazinon, respectivamente (Tabelas 12 e 13). O fipronil para as duas espécies de lagartas foi o tratamento que mostrou menor impacto em relação a resposta entre a mortalidade total e confirmada pelo fungo, seguindo do malathion para *C. includens* e do diazinon para *A. gemmatalis*.

Tabela 10. Eficácia de *Beauveria brongniartii* produzidos na presença de agroquímicos sobre as lagartas *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* na concentração de 10⁸ conídios/mL⁻¹. Período de incubação - 15 dias (T = 28 ± 2 °C) (n=60 para cada espécie de fungos).

Agroquímicos/ <i>Beauveria brongniartii</i>	Taxa de mortalidade total (%) (±EP) ¹		Taxa de mortalidade confirmada pelo fungo (%) (±EP) ¹	
	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>
Controle	70,1±1,18ab	10,1±0,98c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c
Fipronil	99,9±2,00a	99,3±1,59a	95,9± 1,13a	95,1 ± 2,05a
Malathion	99,9 ± 1,10a	95,6±0,90a	85,0± 1,98ab	92,3±1,25a
Diazinon	99,9 ± 0,79a	70,4±1,99bc	97,0± 0,98a	70,3±1,72ab
CV%	13,9		21,8	

¹Erro padrão. Médias seguidas da mesma letra não difere em si pelo teste de Tukey a 5%. Fonte: Autoria própria, 2022.

Tabela 11. Tempo letal (TL₅₀) para *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* infectadas com conídios de *Beauveria brongniartii*, produzidos na presença de agroquímicos. Concentração de 10⁸ conídios/mL⁻¹. Período de incubação - 15 dias (T = 298 ± 2 °C (n=60 para cada espécie de fungo)).

Agroquímicos/ <i>Beauveria brongniartii</i>	TL ₅₀ (dias)		Equação ¹		t ²	
	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>
Controle	0	0	ns ³	ns ³	0	0
Fipronil	7,0	7,0	Y=2,1002 + 2,0511 log X	Y=2,8152 + 1,7441 log X	2,15	4,07
Malathion	7,0	5,0	Y=0,2358 + 0,4210 log X	Y=2,7545 + 3,2199 log X	1,39	2,10
Diazinon	7,0	7,0	Y=1,0908 + 1,3214 log X	Y=1,8331 + 5,4965 log X	3,38	1,05

¹Valores das equações obtidas pela análise de probit, onde Y = probit e X = concentração. ²O valor de t determina o coeficiente angular, sendo os valores inferiores a 1,06 indicam que não há significância da regressão. ³Não significativo. Fonte: Autoria própria, 2022

No presente estudo foi evidenciado resultados semelhantes ao de Cruz-Avalos *et al.* (2019). Os autores testaram a eficácia em 14 espécies de fungos entomopatogênicos e entre eles, comprovaram a especificidade da *B. brongniartii* e a *B. bassiana* frente as lagartas de *C. includens* usando também uma concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹ e uma mortalidade em 81,3% das lagartas por *B. bassiana*. Entretanto, no estudo de Fernandes *et al.* (2011), realizados com carrapatos mostra uma divergência em relação a eficácia de espécies da *Beauveria* spp. na concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹. Os resultados contrastantes evidenciam a importância do teste de especificidade, concentração de conídios e condições ambientais para cada inseto e fungos. Pois a letalidade *versus* patogenicidade depende também da espécie e do tipo de linhagem.

5.5. Atividade proteolítica de *Beauveria* spp. na presença do fipronil, malathion e diazinon

Os fungos entomopatogênicos possuem a capacidade de produzir enzimas proteolíticas (proteases), essa produção é fortemente afetada pelas condições existentes no meio, especialmente relacionadas a fontes de carbono e nitrogênio, assim como, fatores físico-químicos relacionados ao pH, incubação e temperatura. As proteases produzidas pelos fungos têm como função catalisar a hidrólise da caseína em aminoácidos, permitindo a catabolização pelas células.

B. brongniartii e *B. bassiana*, confirmaram a produção das enzimas proteolíticas no meio de cultura ágar-leite acrescidos dos agroquímicos malathion, fipronil e diazinon utilizados na lavoura da soja. A confirmação da atividade proteolítica foi indicada através do IE alto e um PZ positivo (Classe 2), ambos comprovaram que os isolados fúngicos secretam a protease, enzima pesquisada no presente estudo.

B. brongniartii na presença do malathion obteve um IE de 0,94 e PZ positiva, já para o fipronil e diazinon o resultado da IE foi de 0,93 e de IE 0,95, respectivamente. Em relação a PZ para fipronil e diazinon ambos apresentaram resultado positivos, demonstrando atividade proteolítica alta para os três tratamentos utilizados e comparados com o grupo controle. Para *B. bassiana* também foi confirmada atividade proteolítica alta utilizando o malathion, fipronil e diazinon. A PZ foi positiva para os três agroquímicos e foi evidenciado um IE de 0,96, 0,84 e 0,79 para malathion, fipronil e diazinon, respectivamente (Tabela 14).

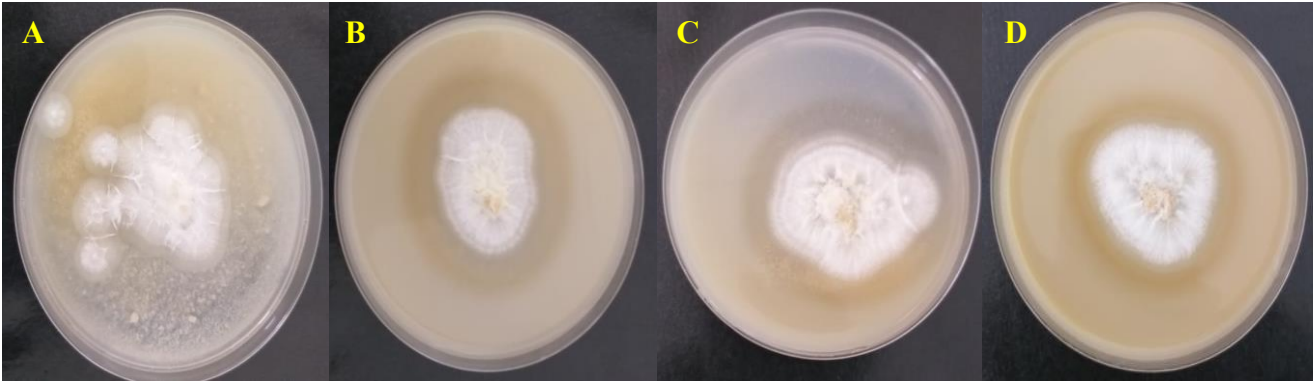
Tabela 12. Atividade proteolítica de *Beauveria bassiana* e *Beauveria brongniartii* na presença dos agroquímicos.

AGROQUÍMICOS	IE	PZ	IE	PZ
	<i>Beauveria bassiana</i>		<i>Beauveria brongniartii</i>	
Controle	0,87	Positiva	0,98	Positiva
Fipronil	0,84	Positiva	0,93	Positiva
Malathion	0,96	Positiva	0,94	Positiva
Diazinon	0,79	Positiva	0,95	Positiva

Fonte: Autoria própria, 2023.

B. bassiana e *B. brongniartii* demonstraram a formação do halo a partir da degradação da caseína do leite e também uma esporulação acentuada. Esses resultados comprovam a atividade proteolítica qualitativa positiva das duas espécies de *Beauveria* na presença dos três agroquímicos testados (Figura 17 e 18).

Figura 17. Aspecto macroscópico da atividade proteolítica na presença dos agroquímicos (malathion (A), fipronil (B), diazinon (C) e Controle (D) de *Beauveria bassiana*.



Fonte: Autoria própria, 2023.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas condições estabelecidas e avaliadas neste estudo, conclui-se que:

- Observou-se redução do crescimento vegetativo de *B. brongniartii* na presença do fipronil, malathion e diazinon, mas não comprometeu significativamente a conidiogênese e viabilidade dos conídios. Porém, apenas o malathion garantiu uma redução na conidiogênese e viabilidade dos conídios de *B. bassiana*;

- Apenas o malathion foi classificado como “incompatível” quanto à toxicidade *in vitro* sobre *B. bassiana*;

- *B. bassiana* e *B. brongniartii* foram patogênicas às lagartas *A. gemmatilis* e *C. includens* na concentração de $1,0 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹; com um TL₅₀ entre 6 e 7 dias, respectivamente, na ausência dos agroquímicos;

- *B. bassiana* apresentou mortalidade confirmada na presença dos três agroquímicos para *C. includens* e para *A. gemmatilis* apenas na presença do fipronil com um TL₅₀ que variou de 7 a 12 dias para as duas espécies;

- *B. brongniartii* mostrou ação patogênica mais eficiente que *B. bassiana* para *C. includens* e *A. gemmatilis* com mortalidade confirmada e um TL₅₀ mais curto, que variou de 5 a 7 dias, na presença dos três agroquímicos.

- *B. brongniartii* e de *B. bassiana* apresentaram atividade proteolítica positiva em meio mínimo contendo na sua composição os três agroquímicos: fipronil, malathion e diazinon.

- Dentre as duas espécies estudadas *B. brongniartii* é mais promissora e com potencial para ser usada no manejo integrado de pragas no campo.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, VANEET; DENG, XIN; TULI, ATAC; GOH, KEAN S. Diazinon—Chemistry and Environmental Fate: A California Perspective. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. [S. l.: s. n.], 2013. p. 107–140. DOI 10.1007/978-1-4614-5577-6_5. Available at: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-5577-6_5.

AL KHOURY, CHARBEL; GUILLOT, JACQUES; NEMER, NABIL. Lethal activity of beauvericin, a *Beauveria bassiana* mycotoxin, against the two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch. **Journal of Applied Entomology**, vol. 143, p. 974–983, 2019. DOI 10.1111/jen.12684. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jen.12684>.

ALMEIDA, J.C.; ALBUQUERQUE, A.C.; LIMA, E.A. LUNA-ALVES. Viabilidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. reisolado de ovos, larvas e adultos de *Anthonomus grandis* (bohemian) (coleoptera: curculionidae) artificialmente infectado. **Arquivos do Instituto Biológico**, vol. 72, p. 473–480, 2005. DOI 10.1590/1808-1657v72p4732005. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572005000400473&tlng=pt.

AMOBONYE, AYODEJI; BHAGWAT, PRASHANT; PANDEY, ASHOK; SINGH, SUREN; PILLAI, SANTHOSH. Biotechnological potential of *Beauveria bassiana* as a source of novel biocatalysts and metabolites. **Critical Reviews in Biotechnology**, vol. 40, p. 1019–1034, 2 Oct. 2020. DOI 10.1080/07388551.2020.1805403. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07388551.2020.1805403>.

ANDRADE, CAMILA; VILLERS, ALEXANDRE; BALENT, GÉRARD; BAR-HEN, AVNER; CHADOEUF, JOËL; CYLLY, DANIEL; CLUZEAU, DANIEL; FRIED, GUILLAUME; GUILLOCHEAU, SARAH; PILLON, OLIVIER; PORCHER, EMMANUELLE; TRESSOU, JESSICA; YAMADA, OHRI; LENNE, NICOLAS; JULLIEN, JÉRÔME; MONESTIEZ, PASCAL. A real-world implementation of a nationwide, long-term monitoring program to assess the impact of agrochemicals and agricultural practices on biodiversity. **Ecology and Evolution**, vol. 11, p. 3771–3793, 4 May 2021. DOI 10.1002/ece3.6459. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ece3.6459>. Accessed on: 3 Mar. 2023.

ANVISA, (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Monografias de agrotóxicos — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. 2018. **Monografias de agrotóxicos**. Available at: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

ARAUJO, Fabio Fernando de; BRAGANTE, Rodrigo José; BRAGANTE, Carlos Emanuel. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, vol. 42, no. 2, p. 220–224, 2012. DOI 10.1590/S1983-40632012000200013. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-40632012000200013&lng=pt&tlng=pt.

ARGOLO, VALDIRENE M.; BUENO, VANDA H.P.; SILVEIRA, LUÍS C.P. Influência do fotoperíodo na reprodução e longevidade de *Orius insidiosus* (Say) (Heteroptera: Anthracoridae). **Neotropical Entomology**, vol. 31, p. 257–261, 2002. DOI

10.1590/S1519-566X2002000200013. Available at:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2002000200013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

ÁVILA, CRÉBIO JOSÉ; VIVAN, LÚCIA ADALENA; TOMQUELSKI, GERMISON VITAL. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícola. **Embrapa**, p. 12, 2014. Available at: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/963341/ocorrencia-aspectos-biologicos-danos-e-estrategias-de-manejo-de-helicoverpa-armigera-hubnerlepidoptera-noctuidae-nos-sistemas-de-producao-agricolas>. Accessed on: 10 Feb. 2023.

BARARI, H.; GHAZAVI, M.; NASERI, B.; SHEIKHI GARJAN, A.; RASHID, M. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with the insecticides fipronil, pyriproxyfen and hexaflumuron. *ایران شناسی حشره انجمن نامه*, vol. 31, no. 2, p. 29–37, 2012. Available at: https://jesi.areeo.ac.ir/article_105469.html. Accessed on: 19 Mar. 2023.

BARBOSA, G.C.; POMARI, A. F.; BORTOLOTO, O.C.; BUENO, A.F.; BRAGA, K. B.; QUEIROZ, A.P.; CRUZY, K.S.; SANZOVO, A.W.; Y.K.S.; SANZOVO, A.W. Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável. **VIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**, vol. 8, p. 104–108, 2013. Available at: https://www.embrapa.br/documents/1355202/1529289/Jornada_Acadêmica_2013.pdf/023dad28-d0af-4bda-a69c-fc5e8d19e6a9. Accessed on: 24 Feb. 2023.

BARRA-BUCAREI, LORENA; FRANCE IGLESIAS, ANDRÉS; GERDING GONZÁLEZ, MACARENA; SILVA AGUAYO, GONZALO; CARRASCO-FERNÁNDEZ, JORGE; CASTRO, JEAN FRANCO; ORTIZ CAMPOS, JAVIERA. Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two Solanaceae Crops. **Microorganisms**, vol. 8, p. 65, 31 Dec. 2019. DOI 10.3390/microorganisms8010065. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/1/65>.

BARRETT, KAYON; JAWARD, FODAY M. A review of endosulfan, dichlorvos, diazinon, and diuron – pesticides used in Jamaica. **International Journal of Environmental Health Research**, vol. 22, no. 6, p. 481–499, Dec. 2012. DOI 10.1080/09603123.2012.667794. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09603123.2012.667794>.

BASTOS, PRISCILLA LUNA; BASTOS, ALYNE FERNANDA TÔRRES DE LIMA; GURGEL, ALINE DO MONTE; GURGEL, IDÊ GOMES DANTAS. Carcinogenicidade e mutagenicidade do malathion e seus dois análogos: uma revisão sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 25, p. 3273–3298, Aug. 2020. DOI 10.1590/1413-81232020258.10672018. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232020000803273&tlng=pt.

BEL, YOLANDA; SHEETS, JOEL J.; TAN, SEK YEE; NARVA, KENNETH E.; ESCRICHE, BALASAR. Toxicity and Binding Studies of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac, Cry1F, Cry1C, and Cry2A Proteins in the Soybean Pests *Anticarsia gemmatilis*

and *Chrysodeixis (Pseudoplusia) includens*. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 83, 2017. DOI 10.1128/AEM.00326-17. Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.00326-17>.

BENZINA, FARIDA; HAMID, SONIA; MOHAND-KACI, HAKIMA; BISSAAD, FATMA; HALOUANE, FATMA. Histological changes in the larvae of the domestic mosquito *Culex pipiens* treated with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Scientific Research and Essays**, vol. 13, p. 1–10, 2018. DOI 10.5897/SRE2017.6544. Available at: <http://academicjournals.org/journal/SRE/article-abstract/51A363355338>.

BERNARDI, ODERLEI. **Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil**. 2012. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012. DOI 10.11606/T.11.2012.tde-25042012-153518. Available at: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-25042012-153518/>. Accessed on: 8 Feb. 2023.

BLANCO, CA; CHIARAVALLE, W; DALLA-RIZZA, M; FARIAS, JR; GARCÍA-DEGANO, MF; GASTAMINZA, G; MOTA-SÁNCHEZ, D; MURÚA, MG; OMOTO, C; PIERALISI, BK; RODRÍGUEZ, J; RODRÍGUEZ-MACIEL, JC; TERÁN-SANTOFIMIO, H; TERÁN-VARGAS, AP; VALENCIA, SJ; WILLINK, E. Current situation of pests targeted by *Bt* crops in Latin America. **Current Opinion in Insect Science**, vol. 15, p. 131–138, Jun. 2016. DOI 10.1016/j.cois.2016.04.012. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214574516300554>.

BOMBARDI, LARISSA MIES. **Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil**. [S. l.]: São Paulo, 2017. vol. 1, . Available at: <https://dataspace.princeton.edu/handle/88435/dsp01pz50h024q>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

BOTELHO, ALINE APARECIDA ALVES; MONTEIRO, ANTONIO CARLOS. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, vol. 70, no. 2, p. 361–369, 2011. DOI 10.1590/S0006-87052011000200016. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052011000200016&lng=pt&tlng=pt.

BRASIL. Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários. **MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.**, , p. 72, 2018. Available at: <https://agrofit.agricultura.gov.br/>. Accessed on: 3 Mar. 2023.

BUAINAIN, ANTÔNIO MÁRCIO; ALVES, ELISEU; SILVEIRA, JOSÉ MARIA DA; NAVARRO, ZANDER. Sete teses sobre o mundo rural brasileiro. **Revista de Política Agrícola**, vol. 22, no. 2, p. 1–25, 2013. Available at: <https://seer.sede.embrapa.br/index.php/RPA/article/view/311>. Accessed on: 22 Feb. 2023.

BUENO, ADENEY DE FREITAS; SOSA-GÓMEZ, DANIEL RICARDO; CORRÊA-FERREIRA, BEATRIZ SPALDING; MOSCARDI†, FLAVIO; BUENO, REGIANE

CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS. Spodoptera species of Brazil: biology, ecology, morphology and taxonomy View project. **INIMIGOS NATURAIS DAS PRAGAS DA SOJA**. [S. l.: s. n.], 2014. p. 138. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/262602114>. Accessed on: 24 Feb. 2023.

BUSS, NAYARA; RESTELATTO, SAMANTA SOUZA; CONTINI, RAFAEL ERMENEGILDO; BUENO, ADENEY DE FREITAS; BERNARDI, ODERLEI; BOFF, MARI INÊS CARISSIMI; FRANCO, CLÁUDIO ROBERTO. Comparative susceptibility of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidæ) and *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidæ) to insecticides. **Ciência Rural**, vol. 52, no. 8, 2022. DOI 10.1590/0103-8478cr20210047. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782022000800152&tlng=en.

BUSTAMANTE, DANILO E.; OLIVA, MANUEL; LEIVA, SANTOS; MENDOZA, JANI E.; BOBADILLA, LEIDY; ANGULO, GEYSEN; CALDERON, MARTHA S. Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. peruviansis* sp. nov. **MycoKeys**, vol. 58, p. 47–68, 9 Sep. 2019. DOI 10.3897/mycokeys.58.35764. Available at: <https://mycokeys.pensoft.net/article/35764/>. Accessed on: 25 Feb. 2023.

CAMPOS, GUSTAVO MATHEUS JULIÃO; ALCANTRA, ELIANA; REZENDE, RAMIRO MACHADO. Levantamento de insetos-praga na cultura da soja. **REVISTA DA UNIVERSIDADE VALE DO RIO VERDE**, vol. 16, no. 3, 2018. DOI 10.5892/ruvrd.v16i3.5602. Available at: <http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/5602>.

CANERDAY, DON T.; ARANT, F. S. Biology of *Pseudoplusia includens* and Notes on Biology of *Trichoplusia* ni, *Rachiplusia* ou, and *Autographa biloba*1. **Journal of Economic Entomology**, vol. 60, no. 3, p. 870–871, 1 Jun. 1967. DOI 10.1093/jee/60.3.870. Available at: <http://academic.oup.com/jee/article/60/3/870/2208782/Biology-of-Pseudoplusia-includens-and-Notes-on>. Accessed on: 8 Feb. 2023.

CARNEIRO, ANDRÉA A; GOMES, ELIANE A; NONATO, LUCIANE F.V; BRITTO; WELLERSON, M.A; TAVARES, FERNANDO F; GUIMARÃES, CLAUDIA T; CRUZ, IVAN. Caracterização da Diversidade Genética de Isolados de *Beauveria bassiana* por RAPD. **Embrapa Milho - Sete Lagoas-MG, CP**, , p. 5–10, 2002. .

CASTRO, BÁRBARA MONTEIRO DE CASTRO E; MARTINEZ, LUIS CARLOS; BARBOSA, SERGIO GUEDES; SERRÃO, JOSÉ EDUARDO; WILCKEN, CARLOS FREDERICO; SOARES, MARCUS ALVARENGA; DA SILVA, ANTONIO ALBERTO; DE CARVALHO, AMÉLIA GUIMARÃES; ZANUNCIO, JOSÉ COLA. Toxicity and cytopathology mediated by *Bacillus thuringiensis* in the midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidæ). **Scientific Reports**, vol. 9, no. 1, p. 6667, 30 Dec. 2019. DOI 10.1038/s41598-019-43074-0. Available at: <http://www.nature.com/articles/s41598-019-43074-0>.

CASTRO, BÁRBARA MONTEIRO DE CASTRO E; MARTÍNEZ, LUIS CARLOS; PLATA-RUEDA, ANGELICA; SOARES, MARCUS ALVARENGA; WILCKEN,

CARLOS FREDERICO; ZANUNCIO, ANTÔNIO JOSÉ VINHA; FIAZ, MUHAMMAD; ZANUNCIO, JOSÉ COLA; SERRÃO, JOSÉ EDUARDO. Exposure to chlorantraniliprole reduces locomotion, respiration, and causes histological changes in the midgut of velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemosphere**, vol. 263, p. 128008, Jan. 2021. DOI 10.1016/j.chemosphere.2020.128008. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653520322037>.

COM, (COMISSÃO EUROPEIA). COMISSÃO EUROPEIA COMUNICAÇÃO DA COMISSÃO AO PARLAMENTO EUROPEU, AO CONSELHO, AO COMITÉ ECONÓMICO E SOCIAL EUROPEU E AO COMITÉ DAS REGIÕES. **O mercado único num mundo em mutação Um trunfo único que requer maior empenho político**, vol. 19, no. 4, 2018. Available at: <https://www.ecb.europa.eu/press/key/date/2018/html/ecb.sp180919.en.html>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

CONCEIÇÃO, KAREN STEFANY; DE ALENCAR ALMEIDA, MAYARA; SAWONIUK, ISADORA CAROLINE; MARQUES, GABRIELA DORNELAS; DE SOUSA FARIA-TISCHER, PAULA CRISTINA; TISCHER, CESAR AUGUSTO; VIGNOLI, JOSIANE ALESSANDRA; CAMILIOS-NETO, DOUMIT. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* grown on membranes of bacterial cellulose supplemented with corn bran water extract. **Environmental Science and Pollution Research**, vol. 27, no. 24, p. 30222–30231, 25 Aug. 2020. DOI 10.1007/s11356-020-09315-w. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-020-09315-w>.

CORSO, IVAN CARLOS; GAZZONI, DÉCIO LUIZ; NERY, MANOEL EUGENIO. Efeito de doses e de refúgio sobre a seletividade de inseticidas a predadores e parasitóides de pragas de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol. 34, no. 9, p. 1529–1538, Sep. 1999. DOI 10.1590/S0100-204X1999000900002. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X1999000900002&lng=pt&tlng=pt.

CRUZ-AVALOS, ANA MARTHA; BIVIÁN-HERNÁNDEZ, MARÍA DE LOS ÁNGELES; IBARRA, JORGE E; DEL RINCÓN-CASTRO, MA CRISTINA. High Virulence of Mexican Entomopathogenic Fungi Against Fall Armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, vol. 112, no. 1, p. 99–107, 12 Feb. 2019. DOI 10.1093/jee/toy343. Available at: <https://academic.oup.com/jee/article/112/1/99/5154871>.

DA SILVA, ROBERTA Z; NEVES, PEDRO MOJ. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and in vitro phytosanitary products. **Pest Management Science**, vol. 61, no. 7, p. 667–674, Jul. 2005. DOI 10.1002/ps.1035. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.1035>.

DANNON, H. FABRICE; DANNON, A. ELIE; DOURO-KPINDOU, O. KOBİ; ZINSOU, A. VALERIEN; HOUNDETE, A. THOMAS; TOFFA-MEHINTO, JOËLLE; ELEGBEDE, I. A. T. MAURILLE; OLOU, B. DÉNIS; TAMÒ, MANUELE. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. **Journal of Cotton Research**, vol. 3, no. 1, p. 24, 30 Dec. 2020. DOI 10.1186/s42397-020-00061-5. Available at: <https://j cottonres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42397-020-00061-5>.

00061-5. Accessed on: 25 Feb. 2023.

DE MATTOS NETO, ANTONIO JOSÉ; DA COSTA, ELIDA DE CÁSSIA MAMEDE. AGROTÓXICOS E PROJETO DE LEI N. 6.299/2002: RETROCESSO AGROAMBIENTAL. **Veredas do Direito: Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável**, vol. 17, no. 38, p. 189–217, 16 Sep. 2020. DOI 10.18623/rvd.v17i38.1755. Available at: <http://revista.domhelder.edu.br/index.php/veredas/article/view/1755>.

DEBIASI, HENRIQUE; FRANCHINI, JULIO CEZAR; DIAS, WALDIR PEREIRA; RAMOS JUNIOR, EDISON ULISSES; BALBINOT JUNIOR, ALVADI ANTONIO. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol. 51, no. 10, p. 1720–1728, Oct. 2016. DOI 10.1590/s0100-204x2016001000003. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2016001001720&lng=pt&tlng=pt.

DEMOOR, ALEXANDER; SILAR, PHILIPPE; BRUN, SYLVAIN. Appressorium: The Breakthrough in Dikarya. **Journal of Fungi**, vol. 5, no. 3, p. 72, 3 Aug. 2019. DOI 10.3390/jof5030072. Available at: <https://www.mdpi.com/2309-608X/5/3/72>.

DOLCI, P.; GUGLIELMO, F.; SECCHI, F.; OZINO, O.I. Persistence and efficacy of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against *Melolontha melolontha* in the Valley of Aosta (northwest Italy). **Journal of Applied Microbiology**, vol. 100, no. 5, p. 1063–1072, May 2006. DOI 10.1111/j.1365-2672.2006.02808.x. Available at: <https://academic.oup.com/jambio/article/100/5/1063/6718789>.

EMBRAPA SOJA. **História - Portal Embrapa**. [S. l.: s. n.], 2019. Available at: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia>. Accessed on: 22 Feb. 2023.

EPA. **Recognition and Management of Pesticide Poisonings: Sixth Edition, Chapter 12: Paraquat and Diquat**. [S. l.: s. n.], 2013. Available at: <http://www2.epa.gov/pesticide-worker-safety>. Accessed on: 3 Mar. 2023.

FABRÍCIO OLIVEIRA FERNANDES. **CONDICIONAMENTO BIOLÓGICO DE *Anticarsia gemmatilis* HÜBNER, 1818 EXPOSTA A CONCENTRAÇÕES DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER, 1915**. 2020. 160 f. 2020. <https://doi.org/0000-0003-0769-9902>.

FAN, JINHUA; XIE, YINGPING; XUE, JIAOLIANG; ZHANG, YINGLING; YANG, QIAN. Cellular Apoptosis of Hemocytes from *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu Larvae Induced with the Secondary Metabolites of *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. **PLoS ONE**, vol. 8, no. 8, p. e71600, 7 Aug. 2013. DOI 10.1371/journal.pone.0071600. Available at: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0071600>. Accessed on: 28 Feb. 2023.

FANG, WEIGUO; PAVA-RIPOLL, MONICA; WANG, SIBAO; ST. LEGER, RAYMOND. Protein kinase A regulates production of virulence determinants by the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. **Fungal Genetics and Biology**, vol. 46, no. 3, p. 277–285, Mar. 2009. DOI 10.1016/j.fgb.2008.12.001. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1087184508002648>.

FAUSTINO, VERÔNICA APARECIDA; GOUVEIA, ANGÉLICA DE SOUZA; COUTINHO, FLAVIANE SILVA; DA SILVA JÚNIOR, NEILIER RODRIGUES; BARROS, RAFAEL DE ALMEIDA; MERIÑO CABRERA, YAREMIS; VITAL, CAMILO ELBER; LORIATO, VIRGÍLIO A. PEREIRA; MARTINS, LAURA GONÇALVES COSTA; FONTES, ELIZABETH PACHECO BATISTA; RAMOS, HUMBERTO JOSUÉ DE OLIVEIRA; OLIVEIRA, MARIA GORETI ALMEIDA. Soybean plants under simultaneous signals of drought and *Anticarsia gemmatilis* herbivory trigger gene expression and metabolic pathways reducing larval survival. **Environmental and Experimental Botany**, vol. 190, p. 104594, Oct. 2021. DOI 10.1016/j.envexpbot.2021.104594. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098847221002240>.

FERNANDES, ELIO GOMES; VALÉRIO, HENRIQUE MAIA; FELTRIN, THAISA; SAND, SUELI TERESINHA VAN DER; VAN DER SAND, SUELI TERESINHA. Variability in the production of extracellular enzymes by entomopathogenic fungi grown on different substrates. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 43, no. 2, p. 827–833, 2012. DOI 10.1590/S1517-83822012000200049. Available at: <http://www.scielo.br/j/bjm/a/yVvYSXzqf4Q5n5cCXJsdKJN/?lang=en>. Accessed on: 6 Mar. 2023.

FERNANDES, ÉVERTON K.K.; ANGELO, ISABELE C.; RANGEL, DRAUZIO E.N.; BAHIANSE, THIAGO C.; MORAES, ÁUREA M.L.; ROBERTS, DONALD W.; BITTENCOURT, VÂNIA R.E.P. An intensive search for promising fungal biological control agents of ticks, particularly *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, vol. 182, no. 2–4, p. 307–318, Dec. 2011. DOI 10.1016/j.vetpar.2011.05.046. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401711004158>. FERREIRA, D. F. **Sisvar**. Lavras: [s. n.], 2003.

FINNEY, D. J. **PROBIT ANALYSIS**. 3RD ED. [S. L.]: CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, 1971.

FLORES, ARACELI VERÔNICA; RIBEIRO, JOSELITO NARDY; NEVES, ANTONIO AUGUSTO; QUEIROZ, ELIANA LOPES RIBEIRO DE. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, vol. 7, no. 2, p. 111–124, Dec. 2004. DOI 10.1590/S1414-753X2004000200007. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-753X2004000200007&lng=pt&tlng=pt.

GAO, BEN-JIE; MOU, YA-NI; TONG, SEN-MIAO; YING, SHENG-HUA; FENG, MING-GUANG. Subtilisin-like Pr1 proteases marking the evolution of pathogenicity in a wide-spectrum insect-pathogenic fungus. **Virulence**, vol. 11, no. 1, p. 365–380, 31 Dec. 2020. DOI 10.1080/21505594.2020.1749487. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2020.1749487>.

GASSEN, M.H.; BATISTA FILHO, A.; ZAPPELINI, L.O.; WENZEL, I.M. Efeito de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, vol. 75, no. 3, p. 327–342, Sep. 2008. DOI 10.1590/1808-1657v75p3272008. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-

GIBBONS, DAVID; MORRISSEY, CHRISTY; MINEAU, PIERRE. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. **Environmental Science and Pollution Research**, vol. 22, no. 1, p. 103–118, 18 Jan. 2015. DOI 10.1007/s11356-014-3180-5. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-014-3180-5>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

GÓMEZ, JENNY D.; PINHEIRO, VALQUIRIA J.M.; SILVA, JOÃO CARLOS; ROMERO, JUAN V.; MERIÑO-CABRERA, YAREMIS; COUTINHO, FLAVIANE SILVA; LOURENÇÃO, ANDRÉ L.; SERRÃO, JOSE E.; VITAL, CAMILO ELBER; FONTES, ELIZABETH P.B.; OLIVEIRA, MARIA G.A.; RAMOS, HUMBERTO J.O. Leaf metabolic profiles of two soybean genotypes differentially affect the survival and the digestibility of *Anticarsia gemmatilis* caterpillars. **Plant Physiology and Biochemistry**, vol. 155, p. 196–212, Oct. 2020. DOI 10.1016/j.plaphy.2020.07.010. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942820303442>.

GROVER, KAVITA MOHINDRA; SRIPATHI, NAGANAND. Neuromuscular Emergencies. **Emergencies in Neurology**. Singapore: Springer Singapore, 2019. p. 105–132. DOI 10.1007/978-981-13-7381-7_5. Available at: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-13-7381-7_5. Accessed on: 3 Mar. 2023.

GUYTON, KATHRYN Z.; LOOMIS, DANA; GROSSE, YANN; EL GHISSASSI, FATIHA; BENBRAHIM-TALLAA, LAMIA; GUHA, NEELA; SCOCCIANI, CHIARA; MATTOCK, HEIDI; STRAIF, KURT. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. **The Lancet Oncology**, vol. 16, no. 5, p. 490–491, 1 May 2015. DOI 10.1016/S1470-2045(15)70134-8. Available at: <http://www.thelancet.com/article/S1470204515701348/fulltext>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

HANKE, DANIEL; TASCHETTO, GÉSSICA HASELEIN; NASCIMENTO, SHIRLEY G. DA S.; ÁVILA, MARIANA ROCKENBACH DE; NUNES, OSMAR MANOEL. Percepção dos produtores de soja sobre o processo de difusão do controle biológico e manejo integrado de pragas. **Nativa**, vol. 10, no. 4, p. 558–565, 16 Dec. 2022. DOI 10.31413/nativa.v10i4.13865. Available at: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/nativa/article/view/13865>.

HIGOR DE OLIVEIRA ALVES. **CARACTERIZAÇÃO INTEGRAL DO GENE 16S rRNA DE BACTÉRIAS NÃO ESPORULANTES E SUA AÇÃO CONTRA *Anticarsia gemmatilis* HÜBNER 1818 (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)**. 2020. 57 f. 2020.

HODDLE, MARK; WARNER, KEITH; STEGGALL, JOHN; JETTER, KAREN. Classical Biological Control of Invasive Legacy Crop Pests: New Technologies Offer Opportunities to Revisit Old Pest Problems in Perennial Tree Crops. **Insects**, vol. 6, no. 1, p. 13–37, 23 Dec. 2014. DOI 10.3390/insects6010013. Available at: <https://www.mdpi.com/2075-4450/6/1/13/htm>. Accessed on: 24 Feb. 2023.

HOFFMANN, CLARA BEATRIZ; MOSCARDI, FLÁVIO; CORRÊA-FERREIRA,

BEATRIZ S.; OLIVEIRA, LENITA JACOB; DANIEL RICARDO SOSA-GÓMEZ ENG° AGR°, PHD; E, ANTONIO RICARDO PANIZZI; CORSO, IVAN CARLOS; GAZZONI, DÉCIO LUIZ; OLIVEIRA, EDILSON BASSOLI DE. **PRAGAS DA SOJA NO BRASIL E SEU MANEJO INTEGRADO - Circular Técnico**, 30. [S. l.]: Londrina: Embrapa Soja, 2000., 2000. vol. 15, . Available at: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/449719>. Accessed on: 10 Feb. 2023.

HOSSEINI, SEYYEDEH FAEZEH; NASSEHINIA, HAMIDREZA; NAZARI, HOSSEIN; DADBAN SHAHAMAT, YUSUF; GHORABA, ZAHRA; MOEINIAN, KHALILOLLAH. Determination of diazinon concentration by Gas Chromatography - Mass Spectrometry in underground drinking water resources located near the rice fields, before and after the pesticide spraying. **Microchemical Journal**, vol. 170, p. 106600, Nov. 2021. DOI 10.1016/j.microc.2021.106600. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X2100686X>.

IMAMURA, T.; HASEGAWA, L. Role of metabolic activation, covalent binding, and glutathione depletion in pulmonary toxicity produced by an impurity of malathion. **Toxicology and Applied Pharmacology**, vol. 72, no. 3, p. 476–483, 15 Mar. 1984. DOI 10.1016/0041-008X(84)90124-8. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0041008X84901248>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

IMOULAN, ABDESSAMAD; HUSSAIN, MUZAMMIL; KIRK, PAUL M.; EL MEZIANE, ABDELLATIF; YAO, YI-JIAN. Entomopathogenic fungus *Beauveria*: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, vol. 20, no. 4, p. 1204–1212, 1 Dec. 2017. DOI 10.1016/j.aspen.2017.08.015. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1226861517302959>. Accessed on: 25 Feb. 2023.

JARONSKI, S.T.; MASCARIN, G.M. Mass Production of Fungal Entomopathogens. **Microbial Control of Insect and Mite Pests**. [S. l.]: Elsevier, 2017. p. 141–155. DOI 10.1016/B978-0-12-803527-6.00009-3. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128035276000093>.

JENSEN, R. L.; NEWSOM, L. D.; GIBBENS, J. The Soybean Looper: Effects of Adult Nutrition on Oviposition, Mating Frequency, and Longevity. **Journal of Economic Entomology**, vol. 67, no. 4, p. 467–470, 1 Aug. 1974. DOI 10.1093/jee/67.4.467. Available at: <https://academic.oup.com/jee/article/67/4/467/797611>. Accessed on: 8 Feb. 2023.

JÚNIOR, LUIZ FERNANDO HORACIO. Envelhecimento de calda em função de diferentes tempos de armazenagem utilizando *Beauveria bassiana*. **Dissertação**, no. 16, p. 1–3, 2014. .

KANG, BEOM RYONG; HAN, JI HEE; KIM, JEONG JUN; KIM, YOUNG CHEOL. Dual Biocontrol Potential of the Entomopathogenic Fungus, *Isaria javanica*, for Both Aphids and Plant Fungal Pathogens. **Mycobiology**, vol. 46, no. 4, p. 440–447, 2 Oct. 2018. DOI 10.1080/12298093.2018.1538073. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/12298093.2018.1538073>.

KEYHANI, NEMAT O. Lipid biology in fungal stress and virulence: Entomopathogenic fungi. **Fungal Biology**, vol. 122, no. 6, p. 420–429, Jun. 2018. DOI 10.1016/j.funbio.2017.07.003. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878614617300892>.

KHAN, IRSHAD ALI; LU, JIAN-PING; LIU, XIAO-HONG; REHMAN, ABDUR; LIN, FU-CHENG. Multifunction of autophagy-related genes in filamentous fungi. **Microbiological Research**, vol. 167, no. 6, p. 339–345, Jun. 2012. DOI 10.1016/j.micres.2012.01.004. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944501312000080>.

KUČERA, M.; SAMŠIŇÁKOVÁ, A. Toxins of the entomophagous fungus *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, vol. 12, no. 3, p. 316–320, Dec. 1968. DOI 10.1016/0022-2011(68)90333-9. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022201168903339>.

KUMAR, SACHIN; SHARMA, ANIL KUMAR; NAGAR, GAURAV; GHOSH, SRIKANT. Determination and establishment of discriminating concentrations of malathion, coumaphos, fenvalerate and fipronil for monitoring acaricide resistance in ticks infesting animals. **Ticks and Tick-borne Diseases**, vol. 6, no. 3, p. 383–387, Apr. 2015. DOI 10.1016/j.ttbdis.2015.03.003. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1877959X15000400>.

LARA, R.I.R.; PERIOTO, N.W.; RAMIRO, Z.A. NÚMERO MÍNIMO DE ARMADILHAS DE MÖRICKE EM AMOSTRAGEM DE HIMENÓPTEROS PARASITÓIDES NA CULTURA DA SOJA GLYCINE MAX (L.) MERRILL. **Arquivos do Instituto Biológico**, vol. 76, no. 1, p. 55–59, Mar. 2009. DOI 10.1590/1808-1657v76p0552009. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572009000100055&tlng=pt.

LECUONA, ROBERTO EDUARDO. **Controle microbiano de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae) com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *B. brongniartii* (Sacc.) Petch e vírus da granulose, e simulação dos efeitos de sua aplicação.** 1986. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986. DOI 10.11606/D.11.1986.tde-20220208-044422. Available at: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-20220208-044422/>.

LEE, SE JIN; LEE, MI RONG; KIM, SIHYEON; KIM, JONG CHEOL JAE SU; PARK, SO EUN; SHIN, TAE YOUNG; KIM, JONG CHEOL JAE SU. Conidiogenesis-related DNA photolyase gene in *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, vol. 153, p. 85–91, Mar. 2018. DOI 10.1016/j.jip.2018.02.013. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022201117303889>.

LITWIN, ANNA; NOWAK, MONIKA; RÓŻALSKA, SYLWIA. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, vol. 19, no. 1, p. 23–42, 10 Mar. 2020. DOI 10.1007/s11157-020-09525-1. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11157-020-09525-1>. Accessed on: 28 Feb. 2023.

LOPES, R. S.; PORTELA, A. P. A. S.; SVEDESE, V. M.; ALBUQUERQUE, A. C.; LIMA, E. A. L. A. Aspectos morfológicos de *Paecilomyces farinosus* (HOLM EX S. F. GRAY) BROWN and SMITH sobre infecção em *Coptotermes gestroi* (WASMANN) (ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE). **Biológico**, vol. 70, p. 29–33, 2008.

LOVETT, BRIAN; ST. LEGER, RAYMOND J. The Insect Pathogens. **Microbiology Spectrum**, vol. 5, no. 2, 10 Mar. 2017. DOI 10.1128/microbiolspec.FUNK-0001-2016. Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.FUNK-0001-2016>.

MAGALHÃES, BRENDA RAFAELLA DA SILVA; SOSA-GOMÉZ, DANIEL RICARDO; DIONÍSIO, JAQUELINE FERNANDA; DIAS, FELIPE CORDEIRO; BALDISSERA, JOANA NERES DA CRUZ; RINCÃO, MATHEUS PIRES; DA ROSA, RENATA. Cytogenetic markers applied to cytotaxonomy in two soybean pests: *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) and *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858). **PLOS ONE**, vol. 15, no. 3, p. e0230244, 11 Mar. 2020. DOI 10.1371/journal.pone.0230244. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0230244>.

MAPA, Ministerio da AgriculturaPecuaría e Abastecimento. Soja representa quase 50% das exportações brasileiras do agronegócio em maio. 2021. **Ministério da Agricultura e Pecuária**. Available at: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/soja-representa-quase-50-das-exportacoes-brasileiras-do-agronegocio-em-maio>. Accessed on: 22 Feb. 2023.

MARINHO-PRADO, JEANNE SCARDINI; QUEIROZ, SONIA CLAUDIA NASCIMENTO; PRADO, SIMONE SOUZA; ASSIS, MARTA CAMARGO. **Bioatividade de extratos de plantas sobre lagartas de *Anticarsia gemmatilis* e *Helicoverpa armigera***. São Paulo, Brasil: [s. n.], 2018.

MARTINS, GUSTAVO LUÍS MAMORÉ; TOMQUELSKI, GERMISON VITAL. Eficiência de inseticidas no controle de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja. **REVISTA DE AGRICULTURA NEOTROPICAL**, vol. 2, no. 4, p. 25–30, 10 Dec. 2015. DOI 10.32404/rean.v2i4.396. Available at: <https://periodicosonline.uems.br/index.php/agrineo/article/view/396>.

MASCARIN, GABRIEL MOURA; JARONSKI, STEFAN T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, vol. 32, no. 11, p. 177, 15 Nov. 2016. DOI 10.1007/s11274-016-2131-3. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11274-016-2131-3>. Accessed on: 25 Feb. 2023.

MENDES, THIAGO PEREIRA; MONTAG, LUCIANO F. A.; MICHELAN, THAISA SALA; FERREIRA, GRACIALDA C.; TORRES, NAIARA R.; GUTERRES, ALANA PATRÍCIA; FARES, ANA LUÍSA; CALVÃO, LENIZE BATISTA; MAIA, CALEBE; PAIVA, CARINA KAORY S.; BARBOSA, THIAGO A. P.; SANTOS, LUCIANA L.; BEGOT, TIAGO O.; ANDRADE, ANA LUIZA; CARDOSO, MYLENA NEVES; JUEN, LEANDRO. Controle biológico em sistema orgânico de produção por agricultores da cidade de Maringá (Paraná, Brasil). **Ciência e Natura**, vol. 43, p. e53–e53, 2021. DOI 10.5902/2179-460X19977. Available at:

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=467546204008>. Accessed on: 24 Feb. 2023.

MICOSIS HUMANAS PROCEDIMENTOS DIAGNÓSTICOS. **ARANGO M.; CASTAÑEDA E.** [S. l.]: Exámenes directos, 1995.

MOINO JR., ALCIDES; ALVES, SÉRGIO B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, vol. 27, no. 4, p. 611–619, Dec. 1998. DOI 10.1590/S0301-80591998000400014. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-80591998000400014&lng=pt&tlng=pt.

MOINO JÚNIOR, ALCIDES. Fatores que afetam a eficiência de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* no controle de *Heterotermes tenuis* (Isoptera, Rhinotermitidae). **Tese de doutorado/USP**, Piracicaba, 27 Mar. 1998. DOI 10.11606/T.11.1998.tde-20210104-161353. Available at: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-20210104-161353/>. Accessed on: 25 Feb. 2023.

MOONGA, M. N.; DAVIS, J. A. Partial Life History of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) on Summer Hosts. **Journal of Economic Entomology**, vol. 109, no. 4, p. 1713–1719, 1 Aug. 2016. DOI 10.1093/jee/tow156. Available at: <https://academic.oup.com/jee/article/109/4/1713/2202996>. Accessed on: 8 Feb. 2023.

MOSCARDI, B.S.; BUENO, A.F.; SOSA-GOMEZ, D.R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN CAMPO, C.B.; POMARI, A.F.; CORSO, I.C.; YANO, S.A.C. **Artrópodes que atacam as folhas da soja**. (Ed.). Soj. Brasília: EMBRAPA, 2012.

MURARO, DIONEI S; GIACOMELLI, TIAGO; STACKE, REGIS F; GODOY, DANIELA N; MARÇON, PAULA; POPHAM, HOLLY J R; BERNARDI, ODERLEI. Baseline Susceptibility of Brazilian Populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to *C. includens* Nucleopolyhedrovirus and Diagnostic Concentration for Resistance Monitoring. **Journal of Economic Entomology**, vol. 112, no. 1, p. 349–354, 12 Feb. 2019. DOI 10.1093/jee/toy361. Available at: <https://academic.oup.com/jee/article/112/1/349/5203831>.

MUTURI, EPHANTUS J. Larval rearing temperature influences the effect of malathion on *Aedes aegypti* life history traits and immune responses. **Chemosphere**, vol. 92, no. 9, p. 1111–1116, Aug. 2013. DOI 10.1016/j.chemosphere.2013.01.055. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653513001719>.

ONGARATTO, S; SILVEIRA, C M; SANTOS, M C; GORRI, J E R; SARTORI, M M P; HUNT, Thomas E; LOURENÇÃO, A L; BALDIN, E L L. Resistance of Soybean Genotypes to *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidiae): Antixenosis and Antibiosis Characterization. **Journal of Economic Entomology**, vol. 114, no. 6, p. 2571–2580, 6 Dec. 2021. DOI 10.1093/jee/toab197. Available at: <https://academic.oup.com/jee/article/114/6/2571/6414065>.

OSMAR MALASPINA, TIAGO FAVARO DE SOUZA; ZACARIN, ELAINE CRISTINA M. DA SILVA; JESUS, ALINE DA SILVA CRUZ E DAIANE DE. Efeitos

Provocados por Agrotóxicos em Abelhas no Brasil. **Educação Contábil: tópicos de ensino e Pesquisa**, no. Atlas, p. 17–57, 2002.

PACHECO, LEANDRO PEREIRA; PETTER, FABIANO ANDRÉ; SOARES, LEANDRO DOS SANTOS; SILVA, RODRIGO FONSECA DA; OLIVEIRA, JOÃO BATISTA DA SILVA. Production systems and weed control in annual crops of the Cerrado area of the State of Piauí. **REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA**, vol. 47, no. 3, p. 500–508, 2016. DOI 10.5935/1806-6690.20160060. Available at: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1806-6690.20160060>.

PANIZZI, ANTÔNIO R.; OLIVEIRA, LENITA J.; SILVA, JOVENIL J. Survivorship, larval development and pupal weight of *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) feeding on potential leguminous host plants. **Neotropical Entomology**, vol. 33, no. 5, Oct. 2004. DOI 10.1590/S1519-566X2004000500004. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2004000500004&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

PAROD, R.J. **Encyclopedia of Toxicology**. [S. l.]: Elsevier, 2014. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123864543001238>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

PARRA, JOSÉ R P. Controle Biológico na Agricultura Brasileira. **Entomological Communications**, vol. 1, p. 1002, 2019. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00736-y>.
PENG, Yue-Jin; ZHANG, Hao; FENG, Ming-Guang; YING, Sheng-Hua. SterylAcetyl Hydrolase 1 (BbSay1) Links Lipid Homeostasis to Conidiogenesis and Virulence in the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. **Journal of Fungi**, vol. 8, no. 3, p. 292, 11 Mar. 2022. DOI 10.3390/jof8030292. Available at: <https://www.mdpi.com/2309-608X/8/3/292>.

PEREIRA, ANDRIGO MONROE. Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas andrigo monroe pereira. **Paulista, Universidade Estadual Em, Programa D E Pós-graduação Biológicas, Ciências Pereira, Andrigo Monroe**, , p. 124 f. : il., gráfs., tabs., 23 Aug. 2010. DOI 10.17616/R31N39. Available at: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/106530>. Accessed on: 1 Mar. 2023.

PEREIRA, R.R.; NEVES, D.V.C.; CAMPOS, J.N.; SANTANA JÚNIOR, P.A.; HUNT, T.E.; PICANÇO, M.C. Natural biological control of *Chrysodeixis includens*. **Bulletin of Entomological Research**, vol. 108, no. 6, p. 831–842, 6 Dec. 2018. DOI 10.1017/S000748531800007X. Available at: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S000748531800007X/type/journal_article.

PILON, F. M.; VISÔTTO, L. E.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, M. G. A. Proteolytic activity of gut bacteria isolated from the velvet bean caterpillar *Anticarsia gemmatilis*. **Journal of Comparative Physiology B**, vol. 183, no. 6, p. 735–747, 8 Aug. 2013. DOI 10.1007/s00360-013-0744-5. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00360-013-0744-5>.

PONTES, ANA CAROLINA AMARAL DE; VASCONCELOS, JAQUELINE MARIA DE. Incentivos governamentais para agroquímicos : a proteção ambiental e a saúde

humana postas em xeque. **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada**, vol. 2, no. 4, p. 21–28, 25 Oct. 2017. Available at: <https://sou.ucs.br/revistas/index.php/ricaucs/article/view/43>. Accessed on: 1 Mar. 2023.

PORTILHO, FÁTIMA. Novos atores no mercado: movimentos sociais econômicos e consumidores politizados. **Política & Sociedade**, vol. 8, no. 15, p. 199–224, 3 Nov. 2009. DOI 10.5007/2175-7984.2009v8n15p199. Available at: <https://periodicos.ufsc.br/index.php/politica/article/view/2175-7984.2009v8n15p199>. Accessed on: 22 Feb. 2023.

RASHEED, TAHIR; BILAL, MUHAMMAD; NABEEL, FARAN; ADEEL, MUHAMMAD; IQBAL, HAFIZ M.N. Environmentally-related contaminants of high concern: Potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. **Environment International**, vol. 122, p. 52–66, Jan. 2019. DOI 10.1016/j.envint.2018.11.038. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412018322013>.

RAYMOND-DELPECH, VALÉRIE; MATSUDA, KAZUHIKO; SATTELLE, BENEDICT M.; RAUH, JAMES J.; SATTELLE, DAVID B. Ion channels: Molecular targets of neuroactive insecticides. **Invertebrate Neuroscience**, vol. 5, no. 3–4, p. 119–133, 20 Nov. 2005. DOI 10.1007/S10158-005-0004-9/FIGURES/2. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10158-005-0004-9>. Accessed on: 1 Mar. 2023.

RIBA, GUY.; SILVY, CHRISTINE. **Combattre les ravageurs des cultures _ enjeux et perspectives - Guy Riba, Christine Silvy - Google Livres**. [S. l.]: Inra, 1989.

RIBEIRO, L. P.; BLUME, E.; BOGORNÍ, P. C.; DEQUECH, S. T.B.; BRAND, S. C.; JUNGES, E. Compatibility of *Beauveria bassiana* commercial isolate with botanical insecticides utilized in organic crops in southern Brazil. **Biological Agriculture & Horticulture**, vol. 28, no. 4, p. 223–240, Dec. 2012. DOI 10.1080/01448765.2012.735088. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01448765.2012.735088>.

RIBEIRO, MARIA LÚCIA; LOURENCETTI, CAROLINA; PEREIRA, SUELI YOSHINAGA; MARCHI, MARY ROSA RODRIGUES DE. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**, vol. 30, no. 3, p. 688–694, Jun. 2007. DOI 10.1590/S0100-40422007000300031. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000300031&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

ROBERTA RIBEIRO COURA. **ANÁLISE PROTEÔMICA COMPARATIVA DO INTESTINO DE *Anticarsia gemmatilis* EM RESPOSTA A INIBIDORES DE PROTEASES**. 2017. 123 f. 2017.

ROBERTO, JOSÉ; PARRA, POSTALI; MAURICIO, JOSÉ; BENTO, SIMÕES. Controle Biológico: Terminologia (in portuguese). **Evolução do Controle Biológico**. [S. l.: s. n.], 2002. p. 449–476. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/318826631>. Accessed on: 24 Feb. 2023.

RODRIGUES, CAIO JUNIOR BALDUINO COUTINHO; FREITAS, MARIA

CLEMENTE DE; PERINOTTO, WENDELL MARCELO DE SOUZA; SANTOS, FERNANDA DA SILVA; PAULO, JÉSSICA FIOROTTI DE; QUINELATO, SIMONE; CAMARGO, MARIANA GUEDES; ANGELO, ISABELE DA COSTA; BITTENCOURT, VÂNIA RITA ELIAS PINHEIRO. Estudo morfológico e produção de conídios de isolados de *Beauveria bassiana* antes e após o reisolamento em *Rhipicephalus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, vol. 38, no. Supl. 3, p. 91–97, 10 Nov. 2016. Available at: <https://rbmv.org/BJVM/article/view/322>. Accessed on: 25 Feb. 2023.

RUGBANK. Opicapone: Usos, Interações, Mecanismo de Ação | DrugBank Online. 2016. **Drug Bank Online**. Available at: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00772>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

RUIU, LUCA. Microbial Biopesticides in Agroecosystems. **Agronomy**, vol. 8, no. 11, p. 235, 23 Oct. 2018. DOI 10.3390/agronomy8110235. Available at: <http://www.mdpi.com/2073-4395/8/11/235>.

SALAS, FERNANDO J SANHUEZA; TÖFOLI, JESUS G. **Cultura da Batata: Pragas e Doenças**. [S. l.: s. n.], 2017. Available at: <http://repositoriobiologico.com.br/jspui/handle/123456789/324>. Accessed on: 10 Feb. 2023.

SAMPAIO, RENATA MARTINS; FREDO, CARLOS EDUARDO; COSTA, ARYANE ROSA; BORTOLOTTI, GILLYENE. Adoção do manejo integrado de pragas (MIP): um estudo censitário das safras paulistas 2007/2008 e 2016/2017. **Revista Tecnologia e Sociedade**, vol. 18, no. 50, p. 279, 2 Jan. 2022. DOI 10.3895/rts.v18n50.13208. Available at: <https://revistas.utfpr.edu.br/rts/article/view/13208>. Accessed on: 22 Feb. 2023.

SANCHES, ARIADNE COSTA. **Interação da toxina Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* às BBMV's de diferentes ínstares de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2020. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020. DOI 10.11606/D.59.2020.tde-17062021-190228. Available at: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59131/tde-17062021-190228/>. Accessed on: 8 Feb. 2023.

SAYERS, ERIC W.; BECK, JEFFREY; BOLTON, EVAN E.; BOUREXIS, DEVON; BRISTER, JAMES R.; CANESE, KATHI; COMEAU, DONALD C.; FUNK, KATHRYN; KIM, SUNGHWAN; KLIMKE, WILLIAM; MARCHLER-BAUER, ARON; LANDRUM, MELISSA; LATHROP, STACY; LU, ZHIYONG; MADDEN, THOMAS L.; O'LEARY, NUALA; PHAN, LON; RANGWALA, SANJIDA H.; SCHNEIDER, VALERIE A.; SHERRY, STEPHEN T. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. **Nucleic Acids Research**, vol. 49, no. D1, p. D10–D17, 8 Jan. 2021. DOI 10.1093/nar/gkaa892. Available at: <https://pmc/articles/PMC7778943/>. Accessed on: 25 Feb. 2023.

SCHRANK, AUGUSTO; VAINSTEIN, MARILENE HENNING. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. **Toxicon**, vol. 56, no. 7, p. 1267–1274, Dec. 2010. DOI 10.1016/j.toxicon.2010.03.008. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004101011000108X>.

SCORSETTI, ANA CLARA; PELIZZA, SEBASTIAN; FOGEL, MARILINA NOELIA; VIANNA, FLORENCIA; SCHNEIDER, MARCELA INES. Interactions between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the Neotropical predator *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae): Implications in biological control of pest. **Journal of Plant Protection Research**, 19 Jan. 2018. DOI 10.1515/jppr-2017-0053. Available at: <http://journals.pan.pl/dlibra/publication/119386/edition/103866/content>.

SHAH, MUHAMMAD DAWOOD; IQBAL, MOHAMMAD. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. **Food and Chemical Toxicology**, vol. 48, no. 12, p. 3345–3353, Dec. 2010. DOI 10.1016/j.fct.2010.09.003. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691510005661>.

SILVA, CLEANE DE SOUZA. **Dinâmica populacional histórica e contemporânea de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil**. 2020. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2020. DOI 10.11606/T.11.2020.tde-15072020-150954. Available at: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-15072020-150954/>. Accessed on: 9 Feb. 2023.

SILVA, CLEANE S.; CORDEIRO, ERICK M.G.; PAIVA, JULIA B.; DOURADO, PATRICK M.; CARVALHO, RENATO A.; HEAD, GRAHAM; MARTINELLI, SAMUEL; CORREA, ALBERTO S. Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. **Evolutionary Applications**, vol. 13, no. 8, p. 2071–2085, 19 Sep. 2020. DOI 10.1111/eva.12966. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eva.12966>.

SILVA, JULIO CARLOS PEREIRA DA; MEDEIROS, FLÁVIO HENRIQUE VASCONCELOS DE; CAMPOS, VICENTE PAULO. Building soil suppressiveness against plant-parasitic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, vol. 28, no. 5, p. 423–445, 4 May 2018. DOI 10.1080/09583157.2018.1460316. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09583157.2018.1460316>.

SILVA, RODRIGO ALVES DA; QUINTELA, ELIANE DIAS; MASCARIN, GABRIEL MOURA; BARRIGOSI, JOSÉ ALEXANDRE FREITAS; LIÃO, LUCIANO MORAES. Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Scientia Agricola**, vol. 70, no. 3, p. 152–160, Jun. 2013. DOI 10.1590/S0103-90162013000300003. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162013000300003&lng=en&tlng=en.

SILVA, TALINE DE LIMA; LIMA, ADILSON LOPES; SOUSA, MARIA DO SOCORRO MIRANDA DE; JESUS-BARROS, CRISTIANE RAMOS DE; BARIANI, ADRIANA; PEREIRA, JOSÉ FRANCISCO; ADAIME, RICARDO. Potential of Amazonian Isolates of *Metarhizium* to Control Immatures of *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, vol. 99, no. 4, p. 788–789, 1 Dec. 2016. DOI 10.1653/024.099.0436. Available at: <https://bioone.org/journals/florida-entomologist/volume-99/issue-4/024.099.0436/Potential-of-Amazonian-Isolates-of-Metarhizium-to-Control-Immatures-of/10.1653/024.099.0436.full>. Accessed on: 2 Mar. 2023.

SIMONATO, JULIANA; FERNANDO, JOSÉ; GRIGOLLI, JURCA; NONATO DE OLIVEIRA, HARLEY. Controle Biológico de Insetos-Praga na Soja 08. **Tecnologia e produção: Soja**, vol. 8, p. 16, 2013. .

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. de F.; HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Embrapa – Londrina-PR: Embrapa-CNPSo, 2010.

SOSA-GÓMEZ, DANIEL RICARDO; CORRÊA-FERREIRA, BEATRIZ SPALDING; BEATRIZ, CLARA; HOFFMANN-CAMPO; CORSO, IVAN CARLOS; OLIVEIRA, LENITA JACOB; MOSCARDI, FLÁVIO; PANIZZI, ANTÔNIO RICARDO; BUENO, ADENEY DE FREITAS; HIROSE, EDSON; ROGGIA, SAMUEL. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. [S. l.]: Londrina: Embrapa Soja, 2014., 2014. Available at: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/991685>. Accessed on: 26 Jan. 2023.

SOSA-GÓMEZ, DANIEL RICARDO; CORRÊA-FERREIRA, BEATRIZ SPALDING; BEATRIZ, CLARA; HOFFMANN-CAMPO; CORSO, IVAN CARLOS; OLIVEIRA, LENITA JACOB; MOSCARDI, FLÁVIO; PANIZZI, ANTÔNIO RICARDO; BUENO, ADENEY DE FREITAS; HIROSE, EDSON; ROGGIA, SAMUEL; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, IVAN CARLOS; OLIVEIRA, LENITA JACOB; MOSCARDI, FLÁVIO; PANIZZI, ANTÔNIO RICARDO; BUENO, ADENEY DE FREITAS; HIROSE, EDSON; ROGGIA, SAMUEL. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Embrapa – Londrina-PR: Embrapa-CNPSo, 2014. Available at: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/991685>. Accessed on: 26 Jan. 2023.

SOUZA, NATÁLIA APARECIDA DE; VIEIRA, SARAH APARECIDA; FONSÊCA, POLIANA CRISTINA DE ALMEIDA; ANDREOLI, CRISTIANA SANTOS; PRIORE, SILVIA ELOIZA; FRANCESCHINI, SYLVIA DO CARMO DE CASTRO. Dislipidemia familiar e fatores associados a alterações no perfil lipídico em crianças. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 24, no. 1, p. 323–332, Jan. 2019. DOI 10.1590/1413-81232018241.03952017. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232019000100323&tlng=pt.

SPECHT, ALEXANDRE; DE PAULA-MORAES, SILVANA VIEIRA; SOSA-GÓMEZ, DANIEL RICARDO. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, vol. 59, no. 4, p. 343–345, Oct. 2015. DOI 10.1016/j.rbe.2015.09.002. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085562615001089>.

STACKE, REGIS F; GIACOMELLI, TIAGO; BRONZATTO, EDUARDA S; HALBERSTADT, STEFANY A; GARLET, CINTHIA G; MURARO, DIONEI S; GUEDES, JERSON V C; BERNARDI, ODERLEI. Susceptibility of Brazilian Populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to Selected Insecticides. **Journal of Economic Entomology**, vol. 112, no. 3, p. 1378–1387, 22 May 2019. DOI 10.1093/jee/toz031. Available at:

<https://academic.oup.com/jee/article/112/3/1378/5366978>.

SUJII, E.R.; BESERRA, V.A.; RIBEIRO, P.H.; SILVA-SANTOS, P.V. da; PIRES, C.S.S.; SCHMIDT, F.G.V.; FONTES, E.M.G.; LAUMANN, R.A. COMUNIDADE DE INIMIGOS NATURAIS E CONTROLE BIOLÓGICO NATURAL DO PULGÃO, APHIS GOSSYPHII GLOVER (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E DO CURUQUERÊ, ALABAMA ARGILLACEA HÜBNER (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NA CULTURA DO ALGODOEIRO NO DISTRITO FEDERAL. **Arquivos do Instituto Biológico**, vol. 74, no. 4, p. 329–336, Oct. 2007. DOI 10.1590/1808-1657v74p3292007. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572007000400329&tlng=pt.

SUN, MANHONG; LIU, XINGZHONG. Carbon Requirements of Some Nematophagous, Entomopathogenic and Mycoparasitic Hyphomycetes as Fungal Biocontrol Agents. **Mycopathologia**, vol. 161, no. 5, p. 295–305, May 2006. DOI 10.1007/s11046-006-0249-9. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-006-0249-9>. Accessed on: 28 Feb. 2023.

TAMAI, M A; ALVES, S B; LOPES, R B; FAION, M; PADULLA, L F L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arq. Inst. Biol.**, p. 89–96, 2002. .

TORRES, JORGE B.; ZANUNCIO, JOSÉ C.; MOURA, MICHELLE A. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidoperan larval control in *Eucalyptus* forests in Brazil. **CABI Reviews**, vol. 2006, Jan. 2006. DOI 10.1079/PAVSNNR20061015. Available at: <http://www.cababstractsplus.org/cabreviews>. Accessed on: 24 Feb. 2023.

ULHOA, LUCAS ADJUTO; ALESSANDRO DE FREITAS, CARLOS; MUELLER DE FREITAS, MARCELO; LEAL, ARLINDO; JÚNIOR, BOIÇA. Área foliar consumida por *Chrysodeixis includens* em genótipos de feijoeiro. **Anais do Congresso Brasileiro de Fitossanidade**, vol. 5, no. 1, 4 Dec. 2019. Available at: <http://fitossanidade.fcav.unesp.br/seer/index.php/anaisconbraf/article/view/544>. Accessed on: 9 Feb. 2023.

VALENCIA, JORGE W. ARBOLEDA; GAITÁN BUSTAMANTE, ALVARO L.; JIMÉNEZ, ARNUBIO VALENCIA; GROSSI-DE-SÁ, MA FÁTIMA. Cytotoxic Activity of Fungal Metabolites from the Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: An Intraspecific Evaluation of Beauvericin Production. **Current Microbiology**, vol. 63, no. 3, p. 306–312, 15 Sep. 2011. DOI 10.1007/s00284-011-9977-2. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00284-011-9977-2>.

VAREA, GENI SILVA; OLIVEIRA, JAKELINY AKEMI Y; SUGAHARA, VANESSA HITOMI; ITO, ELIANA TIEMI; PINTO, JURANDIR PEREIRA; TREVISAN, DALVA; RAMOS, HUMBERTO JOSUE DE O; MAGALHAES, DIOGO MACIEL DE; PEREIRA, LUIZ FILIPE P. Identificação de proteases produzidas pelo fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. Cepa CG432 previamente ativada em insetos vivos de broca do café (*Hypothenemus hampei*). **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 33, no. Supl2, p. 3055–3068, 28 Dec. 2012. DOI 10.5433/1679-

0359.2012v33Supl2p3055. Available at:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744118001>. Accessed on: 28 Feb. 2023.

VIANA, DANIELA DE LIMA; NETTO, JACOB CROSARIOL; AGUIRRE-GIL, ONIEL JEREMÍAS; BUSOLI, ANTONIO CARLOS. Parâmetros biológicos da lagarta falsa-medideira em cultivares de algodoeiro com as proteínas Cry1Ac e Cry1F. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol. 49, no. 7, p. 569–572, Jul. 2014. DOI 10.1590/S0100-204X2014000700010. Available at:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2014000700569&lng=pt&tlng=pt.

VICENÇO, CAMILA B.; SILVESTRE, WENDEL P.; LIMA, TIAGO S.; PAULETTI, GABRIEL F. Insecticidal activity of *Cinnamomum camphora* Ness and Eberm var. linaloolifera Fujita leaf essential oil and linalool against *Anticarsia gemmatilis*. **Journal of Essential Oil Research**, vol. 33, no. 6, p. 601–609, 2 Nov. 2021. DOI 10.1080/10412905.2021.1937353. Available at:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10412905.2021.1937353>.

VIEIRA, E. C. S.; ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; SILVA, I. F.; VIEIRA, M. C. S.; SILVA, P. G. Control of *Anticarsia gemmatilis* (Hübner: 1818) (Lepidoptera: Erebidæ) and *Chrysodeixis includens* (Walker: 1858) (Lepidoptera: Noctuidæ) Through Insecticides Applied to Soybean Seeds. **Journal of Agricultural Science**, vol. 11, no. 18, p. 88, 15 Nov. 2019. DOI 10.5539/jas.v11n18p88. Available at:
<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jas/article/view/0/41204>.

WHO. **IARC Monographs Volume 112: Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides**. [S. l.: s. n.], 2015.

WILLE, PAULO EDUARDO; PEREIRA, BRUNA ANGELINA; WILLE, CLEITON LUIZ; RESTELATTO, SAMANTA SOUZA; BOFF, MARI INÊS CARISSIMI; FRANCO, CLÁUDIO ROBERTO. Natural resistance of soybean cultivars to the soybean looper larva *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidæ). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol. 52, no. 1, p. 18–25, Jan. 2017. DOI 10.1590/s0100-204x2017000100003. Available at:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2017000100018&lng=en&tlng=en.

WINNIE CEZARIO FERNANDES. **Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidæ) em condições de laboratório e semi-campo**. 2018. 155 f. 2018.

XIAO, GUOHUA; YING, SHENG-HUA; ZHENG, PENG; WANG, ZHENG-LIANG; ZHANG, SIWEI; XIE, XUE-QIN; SHANG, YANFANG; ST. LEGER, RAYMOND J.; ZHAO, GUO-PING; WANG, CHENGSHU; FENG, MING-GUANG. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific Reports**, vol. 2, no. 1, p. 483, 2 Jul. 2012. DOI 10.1038/srep00483. Available at: <https://www.nature.com/articles/srep00483>. Accessed on: 24 Feb. 2023.

ZAFIROPOULOS, A; TSAROUHAS, K; TSITSIMPIKOU, C; FRAGKIADAKI, P; GERMANAKIS, I; TSARDI, M; MARAVGAKIS, G; GOUTZOURELAS, N;

VASILAKI, F; KOURETAS, D; HAYES, AW; TSATSAKIS, AM. Cardiotoxicity in rabbits after a low-level exposure to diazinon, propoxur, and chlorpyrifos. **Human & Experimental Toxicology**, vol. 33, no. 12, p. 1241–1252, 12 Dec. 2014. DOI 10.1177/0960327114532384. Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0960327114532384>.

ZERBINO, M. S.; PANIZZI, A. R. The underestimated role of pest pentatomid parasitoids in Southern South America. **Arthropod-Plant Interactions**, vol. 13, no. 5, p. 703–718, 1 Oct. 2019. DOI 10.1007/s11829-019-09703-1. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11829-019-09703-1>. Accessed on: 24 Feb. 2023.

ZIMMERMANN, Gisbert. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, vol. 17, no. 6, p. 553–596, 5 Jun. 2007. DOI 10.1080/09583150701309006. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09583150701309006>.