

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KALINE FELDMANN UHRY

ASPECTOS DO CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS NO BRASIL POR MEIO DE
Beauveria bassiana (Bals.) Vuill

CURITIBA

2007

KALINE FELDMANN UHRY

ASPECTOS DO CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS NO BRASIL POR MEIO DE
Beauveria bassiana (Bals.) Vuill

Monografia apresentada à disciplina BP024 - Estágio em Patologia Básica (Microbiologia), do Departamento de Patologia Básica, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patricia R. Dalzoto

CURITIBA

2007

Aos meus pais, irmã e namorado,
com amor e reconhecimento pelo
apoio e incentivo incondicionais.

AGRADECIMENTOS

À professora Patricia R. Dalzoto pela orientação e sugestões de extrema valia, disponibilidade, apoio, incentivo e principalmente pela confiança.

Ao meu pai pelas leituras da monografia e preciosas sugestões.

Às minhas queridas amigas Angela e Priscilla pelo companheirismo e carinho, pela ótima convivência na faculdade, pelos excelentes momentos e principalmente pela amizade.

À Simone e Alessandra pelo período de convivência no laboratório e pela amizade.

Aos amigos e colegas de laboratório, pela disponibilidade de ajuda durante o período de convivência.

Aos meus amigos e amigas de faculdade, do colégio e do grupo de folclore pelo companheirismo, pelas experiências e pela ótima convivência.

Aos meus queridos pais Ricardo e Edela, à minha querida irmã Júlia e ao meu querido namorado José Walter por não terem me deixado desistir e por todo o carinho, incentivo e apoio durante toda a realização deste trabalho.

RESUMO

A presente revisão de literatura compreende dados publicados entre 2002 e 2007, sobre a utilização do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* no controle biológico de pragas no Brasil. Diversas linhagens de *B. bassiana* podem ser utilizadas em programas de controle biológico de pragas em diferentes culturas ou mesmo no combate de insetos vetores de doenças. Para a criação de um bioinseticida, linhagens mais eficientes contra determinadas pragas devem ser selecionadas. A dose a ser utilizada e a aplicação no campo devem ser cuidadosamente testadas para o sucesso do controle biológico. Os efeitos de *B. bassiana* na espécie humana são descritos raramente, entretanto este fungo pode acarretar infecções oportunistas em indivíduos imunocomprometidos. Considerando-se os efeitos altamente tóxicos dos pesticidas químicos aos seres humanos, outros animais e ao ambiente, o controle biológico surge como uma alternativa ao controle químico nas culturas brasileiras. Esta revisão, por meio da compilação de dados publicados nos últimos 5 anos, constitui um material de consulta que envolve diferentes áreas como Microbiologia (Micologia), Ecologia, Agronomia e Entomologia.

Palavras-chave: *Beauveria bassiana*. Fungos entomopatogênicos. Bioinseticidas.

ABSTRACT

This review compiles published data over the years 2002 to 2007, concerning the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* as a biological control agent against insect pests in Brazil. Several *B. bassiana* strains can be employed in biological control programs in different cultures or even against disease vectors insects. In order to attempt a bioinsecticide, more efficient strains towards specific pests should be selected. Dosage and field application of the fungi must be carefully assayed to accomplish success in biological control. Human harm by *B. bassiana* is rarely described, however this fungus can eventually leads to opportunistic infections in immunocompromised individuals. In regards for the highly toxic effects of chemical pesticides towards humans, other animals as well to the environment, the biological control arises as a promising alternative to chemical control in Brazilian cultures. This review, compiling data published in the last 5 years, establishes a research source, involving various areas of knowledge, as Microbiology (Mycology), Ecology, Agronomy and Entomology.

Key words: *Beauveria bassiana*. Entomopathogenic fungi. Biopesticides

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 METODOLOGIA	9
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 CONTROLE BIOLÓGICO.....	11
3.2 CONTROLE BIOLÓGICO NO BRASIL.....	14
3.3 O GÊNERO <i>Beauveria</i>	15
3.3.1 Classificação taxonômica.....	15
3.4 CARACTERÍSTICAS de <i>Beauveria bassiana</i>	17
3.4.1 Morfologia.....	17
3.4.2 Fisiologia e Genética.....	18
3.4.3 Ciclo de vida.....	18
3.5 UTILIZAÇÃO DE <i>Beauveria bassiana</i> NO CONTROLE BIOLÓGICO NO BRASIL.....	19
3.6 VANTAGENS E DESVANTAGENS DO CONTROLE BIOLÓGICO.....	27
3.6.1 Bioinseticidas e agrotóxicos.....	27
3.6.2 Toxicidade de <i>B. bassiana</i> aos seres humanos e outros animais.....	28
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Insetos são seres vivos muito numerosos. Suas estratégias de vida permitem que possam se adaptar e se desenvolver em diferentes ambientes. Alguns insetos são benéficos à espécie humana e outros podem causar danos, seja como vetores de doenças, seja como pragas na agricultura (AZEVEDO, 1998).

Segundo Azevedo (1998), a ação de insetos que atuam como pragas causam grandes prejuízos na agricultura. As pragas são combatidas principalmente com defensivos químicos. Com a grande expansão da agricultura, a utilização de agrotóxicos também aumentou, pela necessidade de proteger as culturas contra os insetos-praga. Os defensivos químicos passaram a ser utilizados em larga escala e, muitas vezes, de maneira incorreta. O seu uso sem controle e de forma indiscriminada pode causar danos, devido aos resíduos deixados nos alimentos, à resistência de determinados insetos ao produto químico e ainda à sua ação contra insetos benéficos e não apenas contra insetos prejudiciais (VILAS-BOAS, 1991).

A utilização de defensivos químicos pode causar alguns problemas como: a contaminação de águas superficiais e subterrâneas, a presença de resíduos nos vegetais utilizados na alimentação humana, a ocorrência de insetos resistentes, a eliminação de insetos benéficos e, ainda, a intoxicações tanto em humanos quanto em outros animais. A grande maioria dos agrotóxicos são substâncias que podem levar os seres humanos a uma intoxicação grave, com danos ao sistema nervoso, e até à morte. De acordo com Azevedo (1998), a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem divulgado casos de mortes por envenenamento causadas por agrotóxicos. Devido aos problemas que podem ser ocasionados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, estão sendo pesquisadas alternativas para o controle de insetos-praga.

O controle biológico, por meio de bioinseticidas, pode ser uma estratégia para o controle de insetos que causam danos à agricultura e também insetos vetores de doenças. Os agentes de biocontrole podem ser microrganismos como bactérias, vírus e fungos.

A aplicação de microrganismos no combate às pragas tem sido realizada nos EUA (LEGASPI; POPRAWSKI; LEGASPI, 2000), no Canadá (GOETTEL; JOHNSON; INGLIS, 1995), na Escócia (HICKS; WATT, 2000), e ainda nos

continentes africano e australiano (JARONSKI; GOETTEL, 1997; LOMER *et al.*, 2001). De acordo com Azevedo (1998), o Brasil, a Rússia e a China são países nos quais há programas de controle biológico que têm obtido sucesso.

No Brasil, *Beauveria bassiana* é um fungo utilizado no controle de pragas da agricultura, como “broca do café” (*Hypothenemus hampei*), “moleque da bananeira” (*Cosmopolites sordidus*), “ácaro da falsa ferrugem” (*Phyllocoptruta oleivora*), “broca-do-olho” (*Rhynchophorus palmarum*), “broca da cana-de-açúcar” (*Diatraea saccharalis*), entre outros.

B. bassiana é um agente de controle biológico que pode ser utilizado contra diversas pragas de importantes culturas no País. Há possibilidade de isolamento e obtenção de novas linhagens desse fungo ou mesmo de outras espécies. Diversos trabalhos sobre *B. bassiana* e sobre os demais fungos entomopatogênicos vêm sendo publicados ao longo dos últimos anos.

A presente revisão de literatura, que compreende uma compilação de dados publicados entre 2002 e 2007, busca conhecer a amplitude de ação do fungo *B. bassiana* contra pragas das culturas brasileiras, ressaltar as novas tecnologias e os produtos desenvolvidos e aplicados a partir deste, no País. Este trabalho constitui um material de consulta atualizado sobre este importante aspecto do controle de pragas no Brasil.

2 METODOLOGIA

Este estudo constituiu-se de revisão de literatura de trabalhos publicados de 2002 a 2007, embora trabalhos clássicos sobre o assunto, datados de anos anteriores, também tenham sido consultados. Essencialmente, a pesquisa foi feita com artigos científicos e documentos consultados *on-line*, que tratam do controle biológico de pragas com utilização do fungo *B. bassiana* no Brasil. As fontes de busca utilizadas foram principalmente as bases de dados eletrônicas *on-line* e consulta aos artigos originais. Foram obtidos 43 artigos (apresentados no item 5), e a relação entre o número de artigos encontrados e o respectivo ano de publicação está expressa na figura 1.

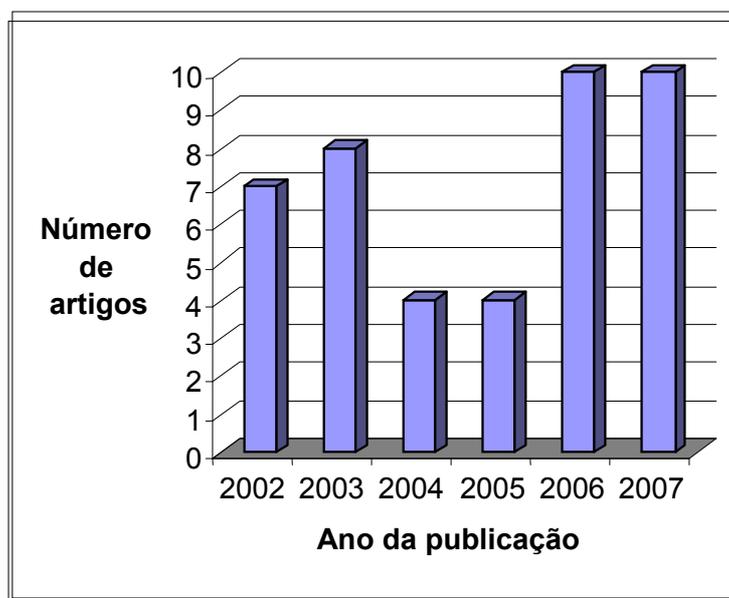


FIGURA 1. Relação entre número de artigos que abordam o controle biológico por meio de *B. bassiana* no Brasil e ano de sua publicação.

FONTE: A autora (2007)

Do número total de artigos, datados de 2002 a 2007, sete deles foram publicados em 2002, e oito em 2003. Quatro artigos foram encontrados com a data de publicação de 2004 e também com a data de 2005. Nos anos de 2006 e 2007 foram encontrados dez trabalhos. Estes números sugerem que os estudos sobre a utilização da *B. bassiana* no Brasil vêm aumentando ao longo dos dois últimos anos.

O material analisado para a presente revisão constituiu-se de trabalhos em inglês e também em português, visto que o foco da pesquisa é a utilização do fungo *B. bassiana* no Brasil. As referências bibliográficas foram pesquisadas

principalmente em revistas e jornais científicos, circulares técnicas de empresas, como a Embrapa, dissertações de mestrado e teses de doutorado.

Na elaboração da monografia, foram utilizadas as normas para apresentação de documentos científicos da Universidade Federal do Paraná (2007a, 2007b, 2007c, 2007d).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na revisão a seguir, são abordados aspectos históricos do controle biológico no mundo. A utilização do biocontrole de pragas no Brasil, especialmente em relação ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, é enfatizada. Uma visão geral das vantagens e desvantagens deste tipo de controle é apresentada, culminando com as considerações finais deste trabalho.

3.1 CONTROLE BIOLÓGICO

Segundo Hawkins e Cornell (1999), controle biológico é a diminuição de uma população de pragas pela utilização de predadores, parasitas ou patógenos. A regulação populacional através de inimigos naturais é o que define controle biológico (EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007). De acordo com Carvalho (2006), o controle biológico de insetos-praga não é uma técnica recente. Desde o séc III a.C. formigas predadoras eram utilizadas pelos chineses para controlar pragas em plantas cítricas. Na Arábia medieval os agricultores transportavam colônias de formigas predadoras para o controle de formigas fitófagas em palmáceas, nos oásis.

O primeiro registro de sucesso de controle biológico clássico ocorreu na Califórnia. A joaninha *Rodolia cardinalis* (Mulsant), trazida da Austrália em 1888, foi introduzida para o controle do pulgão-branco dos citrus, *Icerya purchasi* Maskell. Em dois anos a praga estava controlada biologicamente (CARVALHO, 2006).

Uma outra possibilidade de controle, mais recente, são os defensivos químicos, que chegaram aos campos de produção agrícola com o término da Segunda Grande Guerra Mundial. Lançado em 1944, o DDT é um inseticida poderoso que parecia ser capaz de proteger as lavouras atacadas por insetos. Por mais de quarenta anos, a partir do emprego do DDT, houve incremento na variedade, quantidade e uso de inseticidas. Após tanto tempo de uso dos inseticidas, os agricultores, pesquisadores e a própria indústria química perceberam que os insetos continuavam infestando as lavouras e alguns apresentavam resistência aos princípios ativos dos produtos. Em 1962, a ambientalista Dra. Rachel Carson publicou o livro "Primavera Silenciosa" (*Silent Spring*), alertando sobre as

conseqüências do uso indiscriminado de tais produtos, como danos aos seres humanos e outros animais e também ao meio ambiente (CARVALHO, 2006).

Em vista da necessidade de redução do uso de agrotóxicos, pesquisas vêm sendo realizadas, visando a utilização do controle biológico no combate a diferentes insetos-praga. Segundo Carvalho (2006), existem três diferentes estratégias que procuram preservar, restabelecer ou mesmo imitar os mecanismos naturais do controle biológico:

1) A primeira forma de controle biológico aplicado e utilizado no mundo foi a que é denominada de primeira estratégia, o controle biológico inoculativo ou “clássico”, em que organismos benéficos são coletados e introduzidos onde se pretende controlar a praga.

2) A segunda estratégia busca, através da diversificação de plantas e de espécies nativas, conservar os inimigos naturais. A conservação permite que possa ocorrer uma maior diversidade e densidade de espécies benéficas que possam controlar de forma mais eficiente os insetos-praga.

3) Já a terceira estratégia diz respeito ao controle biológico aumentativo inundativo. O agente benéfico é multiplicado em laboratórios (biofábricas) e é liberado visando à obtenção de um controle imediato da praga alvo.

Em outra perspectiva, a conservação do controle biológico é também uma estratégia de controle na qual são adotadas medidas para aumentar e melhorar as condições para os fungos, tendo como objetivo específico uma diminuição da população de pragas. Para utilização desta estratégia são necessárias informações sobre a ecologia dos fungos, em particular a persistência do patógeno e sua dispersão no ambiente. Os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, por serem inimigos naturais de pragas em sistemas agrícolas, são potenciais controladores biológicos. Esses fungos podem ser multiplicados em biofábricas e depois liberados no meio ambiente para o controle da praga através do controle biológico aumentativo inundativo, a terceira estratégia de controle (MEYLING; EILENBERG, 2007).

Meyling e Eilenberg (2007) realizaram uma revisão sobre a ecologia de populações dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em sistemas agrícolas de regiões temperadas, primariamente Europa e América do Norte. Os autores afirmam que muitas pesquisas têm sido feitas sobre os referidos fungos como agentes de controle biológico para aplicação na agricultura, porém pouco está sendo

pesquisado sobre a ecologia fundamental destes fungos em ecossistemas terrestres, incluindo os sistemas agrícolas.

No processo de infecção de um inseto por um fungo, quando ocorre o crescimento de uma biomassa de fungo sobre o cadáver do inseto, há um significativo aumento da população do fungo e, em consequência, a produção de um número significativo de conídios. A dispersão destes é um fator importante para o desenvolvimento da doença em insetos. Entretanto, a maioria dos conídios vai se desintegrar rapidamente no ambiente e apenas uma proporção mínima vai realmente alcançar sucesso infectando outros insetos (MEYLING; EILENBERG, 2007).

De acordo com Meyling e Eilenberg (2007), em períodos de colheita é comum o aparecimento de doenças em populações de insetos no campo, denominadas epizootias. O desenvolvimento de epizootias está normalmente relacionado com a dinâmica da população de insetos, o número de conídios, a viabilidade deles, a eficiência de infecção e desenvolvimento. Para entender melhor e até poder prever as epizootias, são necessárias informações sobre a biologia dos organismos e parâmetros específicos do ambiente.

Os fungos entomopatogênicos podem ser dispersos pelo vento e pela chuva. Casos de hospedeiros vivos infectados que migram e morrem em outro local também podem acontecer. *B. bassiana* pode viajar longas distâncias nos hospedeiros e posteriormente fazer outras infecções se estabelecendo bem longe do local de origem (MEYLING; EILENBERG, 2007).

Por outro lado, em geral as condições de temperatura e umidade no solo favorecem o desenvolvimento de doenças fúngicas em insetos (ALVES, 1986). Populações de *Chalcodermus bimaculatus* (Coleoptera: Curculionidae) são reduzidas quando o fungo *B. bassiana* é pulverizado no solo. Para Quintela *et al.* (1994), são necessários estudos para saber mais sobre a sobrevivência, as formas de interação com outros microrganismos e outros aspectos do comportamento do fungo no ambiente. De acordo com Vanninen, Tyni-Justlin e Hokkanen (2000), em regiões onde há um rigoroso inverno e a área fica coberta com neve por muito tempo, a persistência do fungo nos solos pode ser de até três anos após a inoculação.

3.2 CONTROLE BIOLÓGICO NO BRASIL

Segundo Alves e Faria (2003), os estudos com fungos entomopatogênicos no Brasil começaram em 1923, quando foram identificadas duas espécies de cigarrinhas infectadas pelo fungo *M. anisopliae*. Esse fungo foi utilizado para combater a cigarrinha *Tomaspis liturata*, no primeiro trabalho de pulverização realizado no Brasil.

Na década de 40, os fungos entomopatogênicos voltaram a ser objetos de estudo em Sergipe, na busca pelo controle de cigarrinhas da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata*. A partir de 1955, Pietro Guagliumi, consultor da FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) realizou trabalhos sobre controle biológico de cigarrinhas da cana-de-açúcar e das pastagens por meio do fungo *M. anisopliae*. Posteriormente, outros pesquisadores brasileiros iniciaram estudos sobre o uso de fungos para combater insetos-praga. Atualmente, existem instituições privadas e públicas realizando estudos e produzindo microrganismos para atuar no controle de pragas da agricultura. Um exemplo destas instituições é o convênio entre a empresa ITAFORTE BioProdutos e a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP).

A cooperação entre universidade e empresa sugere a relevância dessa forma de controle. As razões da importância estão em que o controle biológico causa poucos danos ambientais e é uma alternativa ao controle químico. Os agentes biológicos são menos poluentes, têm maior dificuldade para causar o surgimento de insetos resistentes aos bioinseticidas e ainda preservam os inimigos naturais (Empresa ITAFORTE BioProdutos, 2007).

O controle biológico, com a utilização dos bioinseticidas, é comum na área agrícola, porém é pouco difundido no combate a insetos que afetam a saúde humana. Segundo Almeida e Batista Filho (2001) os bioinseticidas têm ainda baixa participação no mercado mundial (1% do volume de defensivos agrícolas), enquanto inseticidas e acaricidas químicos correspondem a 30%.

O controle biológico apresenta um efeito mais lento do que o químico, sendo necessárias, portanto, mudanças na política de manejo de insetos praga. O combate com defensivos químicos normalmente é feito em momentos em que o dano já está consolidado e é preciso uma resposta rápida. No controle biológico procura-se manter os insetos praga em baixas populações, exigindo monitoramento e ações

antecipadas. Assim, é possível ter um controle efetivo, mas sem efeitos nocivos (LAZZARINI, 2005).

Formulações de inseticidas de natureza fúngica correspondem a cerca de 15% no mercado mundial de bioinseticidas. Esses micoinseticidas podem controlar cigarrinhas da cana-de-açúcar (*Mahanarva fimbriolata*), lagartas do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*), moscas-brancas (*Bemisia tabaci*), algumas cochonilhas (*Dactylopius coccus*) e besouros (SENAR/SP e FASESP, 2007).

Dentre os micoinseticidas existentes, os que apresentam esporos do fungo *B. bassiana* como ingrediente ativo são muito utilizados e eficientes para o combate de diversas pragas (SENAR/SP e FASESP, 2007).

3.3 O GÊNERO *Beauveria*

3.3.1 Classificação taxonômica

Beauveria (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales) é um gênero de ampla distribuição geográfica, utilizado em estudos de entomopatogenicidade e também para controle biológico de insetos-praga (REHNER; BUCKLEY, 2005).

O gênero *Beauveria* consiste de duas linhagens não relacionadas, clados A e C. O clado A distribui-se amplamente pelo mundo, e nele está incluído o teleomorfo *Cordyceps bassiana*. No clado C estão os isolados de origem na Europa e na América do Norte e são todos anamórficos. O endemismo continental das linhagens em *B. bassiana* indica que um importante fator na evolução da diversificação dos clados foi o isolamento pela distância (REHNER; BUCKLEY, 2005).

Beauveria é diferente morfológicamente como gênero. A identificação das espécies é difícil porque as estruturas dos fungos são simples e faltam variações fenotípicas distintas. Os conídios são as principais estruturas utilizadas para essa identificação (REHNER; BUCKLEY, 2005).

Para a identificação das espécies em *Beauveria* são utilizadas características morfológicas como dimensão de conídios. Atualmente são conhecidas seis espécies do gênero *Beauveria*: *B. alba*, *B. amorpha*, *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *B. velata* e *B. vermiconia*, baseadas em caracteres morfológicos e bioquímicos (MUGNAI; BRIDGE; EVANS, 1989). Porém, a separação das espécies morfológicas de

Beauveria em um dos dois clados só é possível usando dados de seqüenciamento de DNA. Segundo Madsen *et al.* (2007), uma revisão da taxonomia dos fungos está sendo feita, principalmente pela implementação de técnicas com marcadores moleculares.

B. bassiana foi descrito pela primeira vez em 1835 por Agostino Bassi, o qual realizou uma série de experimentos e estudos na Itália sobre a “moscardina”, doença que ataca o bicho-da-seda. Ele percebeu que um agente externo, ao ser introduzido no corpo de um bicho-da-seda sadio (em qualquer estágio do desenvolvimento), crescia e matava o inseto. Também conseguiu relacionar o agente externo com a “massa” branca que se desenvolvia nos cadáveres destes insetos. Observou que, em todos os casos da doença, a morte era causada pelo bloqueio da hemolinfa causado pelo crescimento do parasita. Ao microscópio, observou que o agente da doença parecia ser um fungo similar ao *Botrytis paradoxa*, concluindo, portanto, que a morte do bicho-da-seda era causada pela reprodução do fungo na hemolinfa. Bassi não identificou o fungo completamente e este, posteriormente, foi caracterizado como *Botrytis bassiana*, em homenagem a Balsamo-Crivellis, sendo transferido para o gênero *Beauveria* por Vuillemin (PORTER, 1973).

Deste então, o fungo *B. bassiana* foi considerado como pertencente ao grupo dos Deuteromicetos, ordem Moniliales, família Moniliaceae. Durante este período foi considerado um fungo mitospórico, pois seu ciclo sexual ainda não havia sido descrito, sendo conhecidos apenas relatos de reprodução assexuada, por meio de divisões mitóticas.

Trabalhos recentes, entretanto, descrevem a ocorrência de fase sexuada neste fungo. LI *et al.* (2001) descreveram, na China, um teleomorfo de *B. bassiana*, o qual foi denominado *Cordyceps bassiana*. Na Coreia foram realizados estudos com o gênero *Cordyceps* e foi descrito um estágio assexual correspondente a *B. bassiana*. A fase sexuada deste fungo foi encontrada em culturas inoculadas exclusivamente com *B. bassiana* (SUNG; HUMBER, 2002).

Recentes análises filogenéticas moleculares incluem *B. bassiana* no grupo dos Ascomycetos, ordem Clavicipitales (COLLIER; BALOWS; SUSSMAN, 1998; LARONE, 1995, StGERMAIN; SUMMERBELL, 1996). Para Coates, Hellmich e Lewis (2002), *B. bassiana* pertence aos Ascomycetos, ordem Hypocreales. Em vista da nova classificação, mais estudos se fazem necessários, uma vez que no Brasil ainda não foram descritos teleomorfos de *B. bassiana*.

Rehner e Buckley (2005) referem-se a um dos cladus de *B. bassiana* como “Clado A” enquanto Rehner *et al.* (2006) utilizam a referência *B. bassiana s.l.* O outro clado é referido como “Clado C” por Rehner e Buckley (2005) e ‘pseudobassiana’ por Rehner *et al.* (2006).

3.4 CARACTERÍSTICAS de *Beauveria bassiana*

3.4.1 Morfologia

Segundo Vilas Boas, Paccola-Meirelles e Luna-Alves-Lima (1992), *B. bassiana* possui conídios uninucleados ou multinucleados, hialinos, de forma arredondada que medem entre 1,5 e 2,0 μm . Os conidióforos são únicos ou agrupados irregularmente, de estrutura dilatada na base e afilada na extremidade de onde saem os conídios (BARNETT, 1958). A colônia tem uma morfologia que varia de “fluffy” a pulverulenta, sendo sua coloração branca ou levemente corada, podendo produzir pigmentos no meio de cultura (VILAS BOAS; PACCOLA-MEIRELLES; LUNA-ALVES-LIMA, 1992).

B. bassiana possui linhagens dimórficas que apresentam, tanto em meios de cultura líquidos como também na hemolinfa de insetos, estruturas com formato leveduriforme (McLEOD, 1954), chamadas de blastósporos (FERRON, 1978). É possível que as estruturas estejam associadas com a capacidade de infecção do fungo sobre o inseto hospedeiro. Foi demonstrado que a atividade mitótica nos blastósporos presentes na hemolinfa da lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) é mais intensa quando comparada ao meio líquido (LUNA-ALVES-LIMA; TIGANO, 1989). Segundo Alves *et al.* (2002), após 32 horas de cultura em meio sólido o tubo germinativo dos fungos emerge, porém as colônias não podem ser visualizadas. No período de 32 até 72 horas formam-se estruturas que deixam a colônia com um aspecto gelatinoso, desaparecendo quando surge o micélio aéreo. A formação dos conídios inicia após 168 horas da inoculação em meio sólido.

3.4.2 Fisiologia e Genética

Segundo Fargues *et al.* (1997), a faixa de temperatura ótima para o crescimento de *B. bassiana* é entre 20 e 30°C, mas o fungo é capaz de crescer em temperaturas entre 6 e 35°C. Indivíduos pertencentes a essa espécie já foram inclusive descritos em regiões subantárticas (RODDAM; RATH, 1997).

As diferentes linhagens de *B. bassiana* têm um genoma bem variado. Podem ser encontrados cariótipos de 5 a 8 cromossomos e seu tamanho pode estar em uma faixa de aproximadamente 26,5 a 44,1 Mb (PFEIFER; KHACHATOURIANS, 1993; VIAUD *et al.*, 1996; SHI; XU, 2000). Em algumas linhagens de *B. bassiana*, polimorfismo cromossômico foi observado, podendo apresentar de 4 a 6 cromossomos e genomas com 16,7 a 26,65 Mb. Segundo Dalzoto (2004), os diferentes cariótipos podem representar espécies distintas de *Beauveria*.

A variabilidade genética de *B. bassiana* é muito grande, mesmo sendo a forma assexuada a principal estratégia de reprodução. Paccola-Meirelles e Azevedo (1991) descreveram alternativas de recombinação genética em *B. bassiana* que já haviam sido encontradas em outros fungos, o ciclo parassexual e paramiose.

Dalzoto *et al.* (2003) e Dalzoto (2004) realizaram estudos de ligação genética, análises de recombinantes por meio de RAPD e PFGE e obtiveram dados que sugerem diferentes processos de recombinação ocorrendo juntos em linhagens de *B. bassiana*, tais como recombinação mitótica, transformação intra-linhagem e transposição.

3.4.3 Ciclo de vida

B. bassiana tem um ciclo biológico que permite sua caracterização como um parasita facultativo. O fungo pode ser encontrado livre no solo, no interior de plantas como milho (*Zea mays*), sendo considerado endofítico (PIMENTEL, 2001). Quando é encontrado causando doenças em insetos, recebe a denominação entomopatogênico. Segundo Lazzarini (2005), os conídios fúngicos podem penetrar em qualquer parte da cutícula do inseto. A penetração dos conídios é mediada por enzimas líticas (LEFEBVRE, 1934; VEY; FARGUES, 1977; FERRON, 1978; PEKRUL; GRULA, 1979), podendo também ocorrer a penetração dos conídios pelos

aparelhos respiratório (CLARK *et al.*, 1968) e digestivo (BROOME; SIKOROWSKI; NORMENT, 1976).

Depois de atravessar a cutícula, formam-se tubos germinativos e hifas que atravessam o tegumento. Na hemolinfa do inseto o fungo se multiplica e logo há uma massa hifal considerável. O inseto morre e, assim, com o esgotamento dos nutrientes, se houverem condições favoráveis, o fungo emerge exteriorizando suas estruturas hifais e forma uma massa branca na superfície do cadáver (LAZZARINI, 2005). Os próprios insetos mortos podem se tornar uma fonte de contaminação para outros insetos.

3.5 UTILIZAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE BIOLÓGICO NO BRASIL

Segundo Faria e Magalhães (2001), *B. bassiana* é utilizado em escala comercial na produção de inseticidas biológicos, os bioinseticidas, em países como Estados Unidos e México. No mundo são encontrados diversos produtos comerciais para controle biológico contendo *B. bassiana* como ingrediente ativo (BUTT; WALDEN, 2000).

A produção brasileira de fungos entomopatogênicos foi desenvolvida no início do século passado e introduzida na década de 60. Utiliza basicamente arroz cozido ou outros cereais como substrato para crescimento do fungo e conseqüente produção de esporos. Inicialmente ocorre a colonização do arroz pelo microrganismo. Em seguida, a mistura de arroz e esporos é triturada e comercializada na forma de pó-molhável. Essa mistura também pode ser vendida sem trituração, sendo necessária uma lavagem do substrato com água para remoção dos esporos. O ingrediente ativo dos micoinseticidas são os esporos do fungo que funcionam como unidades infectivas. Os produtos à base de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, quando não subsidiados, custam na média de R\$ 40,00 a R\$ 50,00 por hectare (FARIA; MAGALHÃES, 2001).

Os micoinseticidas brasileiros precisam de uma maior padronização quanto à quantidade de esporos. Para o controle de determinada praga a quantidade de esporos recomendada por diferentes empresas pode variar de aproximadamente $2,0 \times 10^{11}$ a $5,0 \times 10^{12}$ esporos/hectare. Portanto, para algumas biofábricas (empresas especializadas na produção massal de algum organismo) recomenda-se a aplicação

de 500g da mistura de arroz e esporos por hectare, enquanto para outras a recomendação é de até 10kg (FARIA; MAGALHÃES, 2001).

Segundo Faria e Magalhães (2001), a diferença existente entre as recomendações das biofábricas poderia ser atribuída à virulência dos ingredientes ativos e à falta de testes criteriosos em laboratório e em campo para a determinação das dosagens adequadas. Os produtos não apresentam nenhum tipo de tratamento posterior, como adição de substâncias que permitam melhoria na eficiência de controle, na praticidade de manuseio ou mesmo na capacidade de armazenamento, devendo ser utilizados em, no máximo, 30 dias.

A atividade de diferentes linhagens do fungo *B. bassiana* no controle de importantes pragas na agricultura já foi comprovada em vários trabalhos. Linhagens como ESALQ-PL63 e ESALQ-447 são eficientes em condições de laboratório e campo (Empresa ITAFORTE BioProdutos, 2007).

O bioinseticida BOVERIL (assim denominado por ter como ingrediente ativo esporos do fungo *B. bassiana*) é um dos três produtos desenvolvidos na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ – USP), em parceria com a empresa ITAFORTE Bioproductos (ROMERO, 2003). De acordo com Romero (2003), morango (*Fragaria*), cana de açúcar (*Saccharum*), hortaliças, seringueiras (*Hevea brasiliensis*) e floricultura são as principais culturas agrícolas de atuação do BOVERIL. Segundo Lopes (2003), o inseticida pode ser utilizado contra a “broca-do-café” (*H. hampei*), cochonilha ortézia (*Orthezia praelonga*), ácaros que devastam os cítricos e pragas que afetam bananeiras (*Musa*).

BOVERIL WP é um bioinseticida registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento sob o nº 4902 que atua no controle do ácaro rajado, *Tetranychus urticae*. Segundo a empresa ITAFORTE BioProdutos (2007), o mesmo produto também pode ser utilizado contra pragas freqüentes em plantas ornamentais e hortaliças, tais como a mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e algumas lagartas desfolhadoras. De acordo com a empresa ITAFORTE BioProdutos (2007), BOVERIL WP pode ser associado a outros métodos de controle de pragas. A referida empresa possui uma tabela com mais de 200 formulações analisadas quanto à sua compatibilidade com o produto.

O inseticida, identificado como *B. bassiana* (Bals.) Vuill, Cepa PL 630, é também chamado de calcinose branca, classificado como um inseticida biológico, de

classificação toxicológica III (medianamente tóxico), que é utilizado para aplicação foliar na cultura de crisântemo (ANVISA, 2007).

A floricultura é um segmento muito importante para a agricultura brasileira. Uma das plantas cultivadas em ambientes protegidos é o crisântemo *Chrysanthemum* (Asteraceae). Pela expansão dos cultivos nestes locais de produção há um favorecimento do surgimento e multiplicação de pragas. Não existem no mercado defensivos químicos registrados e específicos para o controle de pragas de plantas cultivadas em tais ambientes. Assim, o controle biológico é um método de controle com grande potencial (CAVALCANTI, 2006).

Segundo Cavalcanti (2006), uma das pragas importantes do crisântemo (*Chrysanthemum*) são os tripses (*Caliothrips phaseoli*) (Thysanoptera: Thripidae). Agentes biológicos são utilizados em cultivos protegidos, para uma redução populacional da praga. Os fungos possuem grande potencial de ação em cultivos protegidos, onde é possível controlar a temperatura e a umidade, fatores muito importantes para esses microrganismos entomopatogênicos. Interações entre os agentes, como entomopatógenos e insetos predadores, podem ser estratégias para manter as pragas em níveis aceitáveis. Cavalcanti (2006) avaliou o efeito da combinação de fungos entomopatogênicos (FEPs) e nematóides entomopatogênicos (NEPs) com o predador *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae), sobre as populações de tripses *C. phaseoli*, em casas de vegetação. Em condições de laboratório, isolados de *B. bassiana*, linhagens UFLA 16 e IPA 202, foram mais patogênicas contra ninfas e adultos do inseto-praga, respectivamente, apresentando uma porcentagem de mortalidade superior a 80%. O autor concluiu que a combinação dos fungos e nematóides entomopatogênicos com *O. insidiosus* foi efetiva no controle de tripses em crisântemo, em condições de casa-de-vegetação.

Ao utilizar entomopatógenos no controle biológico de pragas é importante lembrar de que os agrotóxicos, inseticidas, herbicidas ou mesmo produtos naturais podem ter efeitos sobre o microrganismo, afetando seu desempenho. Em centros de pesquisa ou mesmo no fornecedor do produto biológico é possível encontrar informações sobre agrotóxicos compatíveis com os bioinseticidas (GRAVENA, 2007). Segundo Cavalcanti *et al.* (2002), existem defensivos químicos compatíveis com fungos entomopatogênicos, que quando testados em condições de laboratório, demonstraram que a combinação de fungos e defensivos químicos pode ser uma alternativa para pragas de difícil controle, como é o caso dos tripses.

Os defensivos agrícolas podem afetar os fungos entomopatogênicos alterando o seu desenvolvimento, diminuindo a sua eficiência e ainda favorecendo o aumento populacional das pragas. Cavalcanti *et al.* (2002) avaliaram o efeito dos produtos fitossanitários imidaclopride, tiametoxam, fenpropatrina e iprodione sobre a germinação, o crescimento vegetativo, a esporulação e a patogenicidade dos conídios produzidos pelo fungo entomopatogênico *B. bassiana*. Os resultados demonstraram que os produtos imidaclopride e tiametoxam foram compatíveis com o fungo em todos os parâmetros avaliados. Fenpropatrina reduziu o crescimento vegetativo e a esporulação do fungo. Iprodione foi considerado incompatível com o patógeno, o qual afetou os parâmetros avaliados, com exceção da germinação.

No Brasil, *B. bassiana* é utilizado para o controle de diversos insetos-praga, como o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), de cochonilhas (*Dactylopius coccus*), cupins (*Coptotermes formosanus*), moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), mosca branca (*Bemisia tabaci*) (FARIA; MAGALHÃES, 2001) e ácaro da falsa ferrugem (*Phyllocoptruta oleivora*) (ITAFORTE BioProdutos, 2007).

Diversos entomopatógenos são conhecidos por causar doença na broca-do-café, *H. hampei*. As fêmeas adultas do inseto furam o fruto do café (*Coffea arabica*) e depositam de 20 a 50 ovos (BAKER; BARRERA; RIVAS, 1992). As larvas se alimentam do endosperma, diminuindo a qualidade do fruto e causando a sua abscisão. Machos e fêmeas se acasalam dentro do fruto onde emergiram, então, ao sair do fruto, as fêmeas já estão inseminadas e prontas para depositar seus ovos em outro fruto de café (WATERHOUSE; NORRIS, 1989). Dentre esses entomopatógenos, o principal é o fungo *B. bassiana* (REHNER *et al.*, 2006). De acordo com Okumura *et al.* (2003), *B. bassiana* é um inimigo natural do inseto e por isso apresenta potencial para controle biológico da praga.

Na busca de alternativas para o controle da broca-do-café (*H. hampei*), foi feita a análise do efeito da pulverização de *B. bassiana* sobre os frutos do café. A maior concentração do fungo (1×10^{11} conídios.mL⁻¹) causou mortalidade de aproximadamente 50% das brocas emergidas de dentro do fruto do café (OKUMURA *et al.*, 2003).

Neves e Hirose (2005) testaram a virulência de 61 linhagens com potencial para controle de *H. hampei*, isoladas de diferentes hospedeiros e regiões geográficas distintas. Concluíram que a maior taxa de esporulação foi detectada na

linhagem CG425 e a maior produção de conídios nos cadáveres de *H. hampei*, na linhagem CB102.

Posada e Vega (2005), avaliaram linhagens de *B. bassiana* isoladas da broca-do-café (*H. hampei*) na busca por uma linhagem de maior potencial para biocontrole. Para a seleção foram analisados percentuais como mortalidade do inseto, germinação de esporos, duração do ciclo de vida do fungo e produção de esporos no inseto. Dentre as cinqüenta linhagens, apenas onze foram selecionadas para posteriores estudos.

Segundo experimentos realizados por Posada *et al.* (2007), *B. bassiana* foi encontrada em plantas jovens de café depois de uma suspensão de esporos de fungo ter sido aplicada por *spray* nas folhas, injetada no tronco e pulverizada no solo. A injeção direta foi a que produziu a maior recuperação pós-inoculação de *B. bassiana* endofítica. Baseado na percentagem encontrada de *B. bassiana*, a pós-inoculação aumentou em todos os tratamentos. Muitos outros fungos endofíticos, tais como *Aspergillus tamari*, *Paecilomyces sp.* e *Trichoderma sp.*, entre outros, foram isolados das plantas jovens, que podem ter influenciado negativamente o estabelecimento de *B. bassiana*. A recuperação do fungo em lugares distantes do ponto de inoculação indicou que o mesmo tem potencial para se mover através da planta.

Beauveria sp e *M. anisopliae* foram utilizados em um bioensaio contra a lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), uma praga do sorgo (*Sorghum bicolor*), do arroz (*Oryza*), do milho (*Zea mays*) e do trigo (*Triticum*). Aponte e Uribe (2001) observaram uma variação de 0 e 93% na taxa de mortalidade da praga. *B. bassiana*, na concentração de 10^8 conídios.mL⁻¹, foi mais eficiente no controle deste inseto.

Um dos agentes de controle biológico mais estudados e utilizados no combate ao *Cosmopolites sordidus* (broca-do-rizoma ou moleque-da-bananeira) é o fungo *B. bassiana* (EMBRAPA, 2007). A técnica de associação de conídios de *B. bassiana* e óleo mineral, permitindo que os conídios fiquem aderidos à cutícula do inseto, e assim sendo mais efetivos na infecção, vem dando resultados positivos no controle biológico de insetos no Brasil. Segundo Batista Filho *et al.* (1994) os conídios associados ao óleo mineral foram eficientes na infecção do “moleque da bananeira” (*C. sordidus*).

Segundo Luz e Fargues (1997), a doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, cujos insetos vetores são algumas espécies de triatomíneos, é um dos grandes problemas de saúde pública na América Latina. Os vetores são controlados por defensivos químicos, mas é comum ocorrer reinfestação nas proximidades do ambiente doméstico (LUZ *et al.*, 1998). Romaña e Fargues (1992) realizaram estudos com *Rhodnius prolixus*, um dos principais vetores do *T. cruzi*, e determinaram a patogenicidade de *B. bassiana* contra os adultos e as larvas deste triatomíneo. Para Luz e Fargues (1998) o controle biológico pode ser uma alternativa contra os vetores da doença de Chagas. Dalzoto e Kava-Cordeiro (1997) realizaram testes de patogenicidade contra *Rhodnius robustus* que sugerem a eficácia de *B. bassiana* no controle biológico deste vetor.

Luz *et al.* (2004) realizaram testes durante a estação chuvosa de 2001/2002, em São Luís de Montes Belos, Goiás, Brasil, para avaliar o potencial do fungo entomopatogênico *B. bassiana* contra o vetor da doença de Chagas, *Triatoma sordida*. Uma formulação de óleo e água do isolado CG14 (Embrapa) foi aplicada em *T. sordida* em uma concentração final de 10^6 conídios.cm⁻². Houve uma diminuição do número de *T. sordida* ao longo dos 25 dias seguintes à aplicação. Depois de três meses, a presença de *B. bassiana* declinou para valores encontrados antes do tratamento. Tal constatação sugere que não há problema na liberação do fungo *B. bassiana* no ambiente. O fungo realiza o controle da praga e, posteriormente, quando a viabilidade dos conídios diminui, há um retorno às condições anteriores ao tratamento.

Bioensaios foram realizados para determinar a patogenicidade de cinco entomopatógenos: *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *Nomuraea rileyi* e *Paecilomyces fumosoroseus* contra o inseto *Rhodnius prolixus*, vetor da doença de Chagas. Uma suspensão de conídios foi aplicada no primeiro estágio larval de *R. prolixus*. Quando testada uma concentração de 3×10^5 conídios.cm⁻², apenas duas linhagens de *B. bassiana* mataram 100% das larvas dez dias depois da aplicação da suspensão de esporos. Após três semanas, a mortalidade causada pela mesma dose de esporos da linhagem número 297 de *B. bassiana*, foi muito grande. Já a mortalidade causada pela linhagem 326 reduziu ao longo do tempo. Este estudo em laboratório demonstra que a linhagem 297 pode ter potencial como agente de controle biológico contra *R. prolixus* (ROMAÑA; FARGUES; PAYS, 2006).

B. bassiana e *M. anisopliae* têm potencial para atuar no controle de vetores da doença de Chagas, porém o habitat dos triatomíneos muitas vezes não é favorável ao desenvolvimento do fungo, que depende de fatores como umidade relativa, temperatura, radiação ultravioleta e luz. Se as condições ambientais não estiverem favoráveis, a infecção do inseto pode não ocorrer (LAZZARINI, 2005).

A espécie de pulga *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) é a mais encontrada em cães (*Canis lupus familiaris*) e gatos (*Felis catus*). Em seu trabalho, Melo (2006) avaliou a patogenicidade *in vitro* de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre ovos e adultos de *C. felis felis*. Avaliou também, utilizando microscopia eletrônica de varredura, o desenvolvimento dos fungos sobre a cutícula da pulga. *M. anisopliae* 959 e *B. bassiana* 986 foram os isolados testados na concentração 10^8 conídios.mL⁻¹. Essa concentração teve efeito deletério observado tanto em larvas quanto em adultos. Pela análise das eletromicrografias foi possível observar que, com duas horas, os conídios fúngicos estavam aderidos por toda a cutícula da pulga. Com quinze horas havia a formação do tubo de germinação e a cabeça do apressório. E após vinte e seis horas já existiam ramificações e o engrossamento das hifas sobre a cutícula das pulgas. Os isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* demonstram o potencial patogênico para promover o controle deste inseto, em ensaios *in vitro*.

Rhynchophorus palmarum, também conhecido como bicudo-do-coqueiro, é uma praga da cultura do coqueiro (*Cocos nucifera*) e também age como principal vetor na transmissão do nematóide *Bursaphelenchus cocophilus*, agente causal da doença letal conhecida como “anel-vermelho” (EMBRAPA, 2002). A Embrapa Tabuleiros Costeiros, sediada em Aracaju/SE, possui projetos, em laboratório e em campo, que visam à utilização de uma cepa do patógeno *B. bassiana*, denominada de CPATC 032, como mais uma estratégia de controle da praga (EMBRAPA, 2002).

As diferenças de virulência em *B. bassiana*, da fase leveduriforme (produzida em meio líquido) e dos conídios, foi testada contra *D. saccharalis*. Alves *et al.* (2002) observaram que, em geral, a maior concentração de fungo (10^7 , 10^8 conídios.mL⁻¹), causa maior mortalidade nos insetos. A forma leveduriforme causou 70% de mortalidade dos insetos quando comparada a taxa de mortalidade de 30% causada pelos conídios. Já a mesma comparação contra o ácaro *Tetranychus urticae* não apresentou diferença na taxa de mortalidade dos insetos.

Oliveira (2006) demonstrou que *B. bassiana* e *M. anisopliae*, mesmo em baixas concentrações (10^5 conídios.mL⁻¹), reduziram a viabilidade larval e também

afetaram a fecundidade, a viabilidade de ovos e a longevidade de machos e fêmeas de *Diatraea saccharalis*, demonstrando que os referidos fungos têm potencial para serem utilizados no controle biológico da broca da cana-de-açúcar.

O efeito de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Penicillium corylophilum* e *Fusarium oxysporum* na resposta celular da hemolinfa de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Boophilus microplus* foi avaliado por Silva e Bittencourt (2006). Uma suspensão de conídios dos diferentes fungos foi inoculada em uma concentração de 10^8 conídios.mL⁻¹. Amostras da hemolinfa foram coletadas e analisadas, tanto dos grupos inoculados quanto dos grupos controle. Em exemplares tratados com fungos entomopatogênicos (*B. bassiana* e *M. anisopliae*) foi observado crescimento de hifas e conídios. Já nos grupos tratados com fungos não entomopatogênicos (*P. corylophilum* e *F. oxysporum*) não houve diferença em relação aos grupos controle.

ROHDE *et al.* (2006) avaliaram fungos entomopatogênicos para controle biológico do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer). Uma suspensão de conídios (10^5 até 10^9 conídios.mL⁻¹) de 99 isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* foi inoculada em larvas e adultos. Os isolados de *B. bassiana* foram mais efetivos e as larvas mais susceptíveis que os adultos. Mais eficientes foram os isolados UNIOESTE 04 e UNIOESTE 02, obtidos do próprio inseto. UNIOESTE 04 apresentou o maior nível de esporulação em diferentes meios de cultura, podendo ser considerado um potencial bioinseticida para o controle de *A. diaperinus*.

Sun, Fuxa e Henderson (2003) realizaram estudos com cupins *Coptotermes formosanus* e verificaram que, em fungos, outros fatores além da virulência, como esporulação e resistência a altas temperaturas são importantes para que ocorra a infecção. O comportamento dos cupins pode diminuir a disseminação dos esporos na colônia, pois os cupins infectados ficam isolados no ninho, não permitindo que os insetos sadios entrem em contato com eles. As taxas de mortalidade causadas por *B. bassiana* contra *C. formosanus* foram de 25,8 a 37,6%. Em temperaturas entre 30 e 35°C, houve diminuição na produção de conídios e redução da virulência. Os autores acreditam que a esporulação rápida possa ser mais importante para a transmissão do que a virulência do fungo.

3.6 VANTAGENS E DESVANTAGENS DO CONTROLE BIOLÓGICO

3.6.1 Bioinseticidas e Agrotóxicos

A idéia de que, quanto maior o consumo de defensivos agrícolas, maior é a produção agrícola de um país, está mudando. Atualmente considera-se o custo ecológico da utilização desses produtos. Uma conscientização quanto às adversidades causadas pelo uso abusivo de agrotóxicos está gerando nos consumidores uma busca por alimentos mais saudáveis, permitindo, assim, que a agricultura orgânica cresça bastante. É possível que a agricultura alternativa aumente consideravelmente nos países em desenvolvimento. Atualmente, no Brasil, a área cultivada com agricultura orgânica é de apenas 100 mil hectares, enquanto na Europa é superior a 2 milhões de hectares (DAROLT, 2001).

Mas a agricultura, por si só, é um sistema artificial de cultivo. E, mesmo na agricultura orgânica, ocorre um desequilíbrio do sistema natural, que induz a uma grande ocorrência de insetos-praga. Um dos desafios para o produtor orgânico é o controle de pragas sem o uso de agrotóxicos. Assim, com a utilização de novos métodos de controle de pragas, como os produtos microbiológicos, pode ser possível reduzir as perdas. Porém, a utilização de tais produtos deve seguir critérios e estratégias adequadas, para evitar problemas e casos de insucessos. O produtor deve consultar a empresa fornecedora buscando orientação para a correta aplicação (SENAR/SP e FASESP, 2007). Avanços e investimentos das biofábricas na qualidade e constante melhoria de seus bioinseticidas poderão permitir um controle biológico mais efetivo (FARIA; MAGALHÃES, 2001).

Para o desenvolvimento de um agrotóxico, deve ser feito um grande investimento, pois o custo é elevado (ROMERO, 2003). Como alternativa, podem ser criados os bioinseticidas que diminuem os riscos de intoxicação do produtor rural, a contaminação dos alimentos e também do ambiente. Tais produtos são muito específicos, causando doenças em apenas alguns insetos (LOPES, 2007).

No Brasil estão disponíveis vários defensivos para o controle de pragas, entretanto, poucos são indicados para a utilização em plantas ornamentais. Problemas sérios de fitoxidade e intoxicações podem ocorrer quando o inseticida utilizado não tem uma ação comprovada ou não é o indicado para uma determinada cultura. O cultivo de plantas normalmente é feito em estufas, o que acarreta uma

menor ventilação do ambiente, expondo os trabalhadores a intoxicações pelos vapores dos agrotóxicos. O abuso do uso desses produtos pode ainda permitir o desenvolvimento de resistência em populações de pragas, com necessidade do aumento da dose do produto químico (ITAFORTE BioProdutos, 2007).

Normalmente são utilizados inseticidas, herbicidas e fungicidas químicos nas práticas agrícolas. Tais componentes podem afetar negativamente as populações de fungos entomopatogênicos, tendo como consequência a redução do potencial de regulação das pragas. Klingen e Haukeland (2006), fizeram uma revisão de estudos publicados sobre os efeitos de defensivos químicos para controle. Concluíram que os fungicidas muitas vezes são prejudiciais para o crescimento de fungos entomopatogênicos.

MOURÃO *et al.* (2003) avaliaram a toxicidade relativa de inseticidas pela percentagem de inibição do crescimento radial do micélio de *B. bassiana* em meio BDA, durante sete dias e concluíram que os inseticidas podem ser alta ou moderadamente tóxicos ou mesmo pouco seletivos para *B. bassiana*. Os inseticidas tebuconazole, paratiom-metílico e clorpirifós-metílico, por exemplo, foram altamente tóxicos ao fungo *B. bassiana*.

3.6.2 Toxicidade de *B. bassiana* aos seres humanos e outros animais

A patogenicidade de *B. bassiana* a outros organismos é pouco relatada, mas sabe-se que o fungo é um patógeno de animais de sangue frio. Entretanto, na Espanha foi descrita uma micose pulmonar causada por *B. bassiana* em tartarugas mantidas em cativeiro (GONZALEZ-CABO; ESPEJO-SERRANO; BARCENA-ASENSIO, 1995).

Länge ([200-]) realizou uma revisão de literatura para avaliar os riscos aos seres humanos relacionados com a exposição ao fungo *B. bassiana*. Oito relatórios acusaram o gênero *Beauveria* como o causador de infecções e doenças em humanos, mas apenas quatro desses relatórios puderam ser conclusivamente atribuídos a espécies do gênero *Beauveria*.

Assim como qualquer outro microrganismo, *Beauveria* pode agir como um patógeno oportunista, porém infecções por fungos deste gênero são extremamente raras. Os casos relatados envolvendo *B. bassiana* revelam-se em circunstâncias não

comuns, como em pessoas com o sistema imunológico severamente comprometido, uma história de cirurgia ou injúria (LÄNGLE, [200-]).

Recentemente foram relatadas duas micoses disseminadas, causadas por *Beauveria*, em pacientes com o sistema imunológico severamente comprometido devido a uma leucemia aguda (HENKE *et al.*, 2002; TUCKER *et al.*, 2004).

Existem relatos raros de micoses em córnea de coelhos (ISHIBASHI; KAUFMAN; KAZAWA, 1987) e de humanos (SACHS; BAUM; MIES, 1985; KISLA *et al.*, 2000), causadas por *B. bassiana*. Semalulu *et al.*, (1992) realizaram experimentos com camundongos saudáveis, nos quais inoculou-se o fungo a partir de três vias: aérea, alimentar e intraperitoneal. Inicialmente todos os animais mostraram depressão, aumento na taxa respiratória e reação inflamatória local. Foi realizada a análise histológica dos órgãos dos camundongos. Observaram a presença de esporos nos rins, fígado, baço e uma quantidade muito pequena no cérebro. Em nenhum dos casos houve germinação dos esporos. Concluíram que o fungo é capaz de penetrar no organismo de mamíferos, mas não se reproduz e não persiste por mais que três dias no corpo de animais de sangue quente e nem produz toxinas no hospedeiro.

Nos Estados Unidos foram conduzidos estudos para o registro da linhagem GHA de *B. bassiana*. Foram avaliadas toxicidade/ patogenicidade oral aguda, toxicidade dérmica aguda, toxicidade/ patogenicidade pulmonar aguda e toxicidade/ patogenicidade intraperitoneal aguda. Nenhum dos estudos demonstrou patogenicidade nos testes com os mamíferos (USEPA¹, 2006 *apud* LÄNGLE, [200-]).

As linhagens de fungos selecionadas para controle biológico não são infectantes para mamíferos. Mas existem casos de alguns destes fungos que causaram infecções em pessoas com imunodepressão. *B. bassiana* foi isolada do fluido pleural de um paciente com adenocarcinoma de pulmão (GÜRÇAN *et al.*, 2006).

Trichoderma harzianum, *T. polysporum*, *T. viride*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. lilacinus*, *Verticillium/lecanicillium lecanii*, *Ulocladium oudemansii*, *U. atrum* e *B. bassiana* são fungos que podem ser utilizados para controle biológico de pragas e doenças em plantas. A exposição humana aos referidos fungos seja em ambientes ocupacionais, ou mesmo em casas e ambientes ao ar livre onde eles

¹ United States Environmental Protection Agency.

naturalmente ocorrem ou são usados como agentes de biocontrole não foi ainda completamente estudada (MADSEN *et al.*, 2007).

Madsen *et al.* (2007) realizaram um trabalho de revisão de literatura que procurou apresentar o conhecimento sobre a exposição humana aos fungos de gêneros relevantes. Destes, *B. bassiana*, *V. lecanii*, *T. harzianum*, *T. polysporum*, *P. lilacinus* e *U. oudemansii* não são freqüentemente encontrados no ar, portanto as pessoas raramente parecem estar expostas a eles.

Nos últimos anos estão sendo feitos estudos sobre os possíveis riscos da manipulação, da produção e da utilização de produtos para controle biológico (DOEKES *et al.*, 2004; JENSEN *et al.*, 2002). Para descobrir se existem riscos envolvidos com a utilização de agentes de biocontrole é importante identificar ambientes nos quais as pessoas possam estar expostas a estes microrganismos e produzir conhecimentos sobre os níveis de exposição.

Já é reconhecido que exposições a microrganismos do ar nos ambientes ocupacionais estão associados com efeitos adversos de saúde, com impactos maiores na saúde pública (DOUWES *et al.*, 2003). Fungos são causadores de alergias em algumas pessoas, sendo que alguns problemas respiratórios estão associados com a poeira.

Apesar da baixa ocorrência de *B. bassiana* no ar, um teste de pele intracutâneo de pacientes com queixas de obstrução recorrente do brônquio, demonstrou que 6,8% dos pacientes têm grandes reações a *B. bassiana*, enquanto apenas 2,3% demonstraram reação ao fungo mais comum, *Cladosporium* (BEAUMONT *et al.*, 1985).

De acordo com Madsen *et al.* (2007), foi possível concluir que os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *V. lecanii* não são freqüentemente encontrados no ar e por isso, em geral, as pessoas estão raramente expostas a eles. A baixa prevalência de *Beauveria sp* em amostras de ar pode ser devida à limitada liberação de conídios no ar, ou ainda pelo seu lento crescimento.

Ainda não existe uma categoria padrão para avaliar se é alta ou baixa cada concentração de fungo na poeira. Entretanto, medidas de fungos cultivados que excedem 100 cfu.mg⁻¹ da poeira coletada de carpetes e superfícies de móveis, por exemplo, têm sido consideradas como evidências de que uma construção foi contaminada com fungos (HODGSON; SCOTT, 1999). Madsen *et al.* (2007) consideraram como altas concentrações de uma espécie de fungo, valores maiores

que 35 cfu.mg^{-1} de poeira. E concentrações de $15\text{-}34 \text{ cfu.mg}^{-1}$ de fungo na poeira como de nível médio.

Madsen *et al.* (2007) encontraram espécies do gênero *Beauveria* em apenas nove estudos do total para o trabalho de revisão, sendo que a metade destes estava associada a hospitais. Em alguns dos estudos, *Beauveria* constituiu apenas 0,01-4% do total de fungos encontrados.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente revisão de literatura evidenciou a existência de muitas pesquisas e casos comprovados de sucesso, o que sugere que o controle biológico com *B. bassiana* pode ser uma alternativa ao uso de agrotóxicos para o controle de pragas.

No Brasil, o fungo *B. bassiana* pode ser utilizado para combater várias pragas de diferentes culturas, porém existem diferentes linhagens do fungo, que apresentam características distintas. Algumas linhagens de *B. bassiana* podem ser mais virulentas, outras são mais resistentes às radiações ultravioleta, por exemplo. A escolha de uma linhagem do fungo para o tratamento de uma certa praga de uma determinada cultura exige estudos em laboratório e também em campo. Experimentos para a determinação da correta concentração de conídios e a melhor forma de aplicação também devem ser realizados, para que o controle possa ser feito com sucesso.

Assim, as pesquisas sugerem que a utilização de bioinseticidas deve ser feita com extremo cuidado, procurando obedecer todas as indicações determinadas pelo fabricante. Cuidados adicionais devem ser observados para não haver associação de defensivos químicos, como inseticidas e agrotóxicos que possam diminuir a eficiência e a ação do ingrediente ativo, os esporos fúngicos.

Os defensivos químicos normalmente são utilizados quando as pragas já estão presentes e causando danos. Os bioinseticidas, pelo contrário, têm uma ação mais preventiva. São utilizados quando a população de uma determinada praga começa a aumentar, quando então é feito o controle pela ação do bioinseticida, levando à diminuição da população da praga. Um monitoramento constante deve ser feito para que seja mantido um nível da população de pragas que não traga maiores danos à cultura e ao ambiente. Dessa maneira, cada caso deve ser bem avaliado para que o bioinseticida escolhido possa ter uma ação eficiente no combate às pragas.

Questões relacionadas aos riscos da exposição humana aos fungos entomopatogênicos ainda não foram completamente estudadas e esclarecidas. A partir desta revisão de literatura, foi possível perceber que são raros os casos de pessoas infectadas pelo fungo *B. bassiana*. Os casos em que ocorrem problemas decorrentes da ação desse fungo se referem a pessoas imunocomprometidas, em geral portadoras de doenças graves ou/e em tratamento com drogas potentes.

B. bassiana é um fungo que está presente naturalmente no ar, entretanto, as conseqüências da produção, manipulação e da exposição a uma certa concentração de esporos pelos seres humanos requer análises mais aprofundadas. Para cada nova formulação de bioinseticida, com a seleção de uma linhagem eficiente para uma determinada praga, deveriam ser conduzidos estudos para evitar problemas de saúde aos seres humanos ou mesmo sérios desequilíbrios nos ecossistemas, evitando que o microrganismo possa afetar insetos benéficos, outros organismos ou comprometer o meio ambiente.

De acordo com os dados disponíveis até o presente momento, pode-se concluir que o controle biológico pode ser efetivo, desde que sejam selecionadas linhagens de microrganismos eficientes e específicas para determinadas pragas. Os possíveis riscos à saúde e ao desequilíbrio ambiental também devem ser considerados para que o bioinseticida seja corretamente utilizado.

Assim, o controle biológico de pragas utilizando como agente o fungo *B. bassiana* é objeto de contínuos estudos no Brasil, constituindo uma alternativa ao uso de defensivos químicos, mesmo que estes últimos não possam ser completamente dispensados.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Relatório do Ingrediente Ativo. Disponível em:
<http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_ingrediente.asp?iVarAux=1&CodIng=524>. Acesso em: 15/10/2007.

ALMEIDA, J.E.M. de; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, 20, p.77-86, 2001.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: Manole, p.73-126, 1986.

ALVES, S.B.; ROSSI, L.S.; LOPES, R.B.; TAMAI, M. A.; PEREIRA, R. M. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.81, p.70-77, 2002.

ALVES, R. T.; FARIA, M. R. de. Situação atual do uso de fungos entomopatogênicos no Brasil (Parte I - 10/11/2003). Disponível em:
<<http://www.clubedofazendeiro.com.br/Cietec/artigos/ArtigosTexto>>. Acesso em: 18/8/2005.

APONTE, L.; URIBE, D. Inseticidal activity of native strains of *Beauveria* spp and *Metarhizium* spp against second instar larvae of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, Bogotá, v.27, n.1-2, p.67-72, 2001.

AZEVEDO, J.L. **Genética de Microrganismos**. Goiânia. Editora UFG, 478 p., 1998.

BAKER, P. S.; BARRERA, J. F.; RIVAS, A. Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. **Journal of Applied Ecology**, London, 29, p. 656-662, 1992.

BARNETT, H. L. **Illustred Genera of Imperfect Fungi**. Minneapolis: Burges Publishing Company, p. 225, 1958.

BATISTA FILHO, A.; LEITÃO, A.E.F.; SATO, M.E.; LEITE, L.G.; RAGA, A. Efeito da associação *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill com óleo mineral, na mortalidade de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleóptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Itabuna, v.23, n.3, p.379-383, 1994.

BEAUMONT, F.; KAUFFMAN, H.F.; MONCHY, J.G. de; SLUITER, H.J.; VRIES, K. de. Volumetric aerobiological survey of conidial fungi in the North-East Netherlands: comparison of aerobiological data and skin tests with mould extracts in an asthmatic population. **Allergy**, Montpellier, 40, p. 181-186, 1985.

BROOME, J. R.; SIKOROWSKI, P. P.; NORMENT, B. R. A mechanism of pathogenicity of *B. bassiana* on the larvae of the imported fire ant, *Solenops richteri*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.28, p.87-91, 1976.

BUTT, T. M.; WALDEN, S. Fungal biological control agents. **Pesticide Outlook**, Hemel Hempstead, 11, p. 186-191, 2000.

CARVALHO, R. da S. Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias. **Circular técnica 83** da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, dez. 2006.

CAVALCANTI, R.S. **Associação *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.– nematóides entomopatogênicos (*Rhabditida*) – *Orius insidiosus* (Say) no controle de tripes (*Thysanoptera*) em cultivo protegido**. 132 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, 2006.

CAVALCANTI, R. S.; MOINO JR. , A.; SOUZA, G. C.; ARNOSTI, A. Efeito dos produtos fitossanitários fenpropatrina, imidaclopride, iprodione e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.3, p.17-22, jul./set. 2002.

CLARK, T. B.; KELLEN, W. R.; FUKUDA, T.; LINDEGREN, J. E. Field and laboratory studies of the patogenicity of the fungus *B. bassiana* to three genera of mosquitoes. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 11, p.1-7, 1968.

COATES, B.S.; HELLMICH, R.L.; LEWIS, L.C. Allelic variation of a *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocriales) minisatellite is independent of host range and geographic origin. **Genome**, Ottawa, v.45, p.125-132, 2002.

COLLIER, L.; BALOWS, A.; SUSSMAN, M. **Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections**, 9th ed, vol.4, Arnold, London, Sydney, Auckland, New York, 1998.

DALZOTO, P.R.; KAVA-CORDEIRO, V. Variability in *Beauveria bassiana* strains. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.20, n.3, p.293 (Suppl.) Resumos do 43º Congresso Nacional de Genética, 1997.

DALZOTO, P. R.; GLIENKE-BLANCO, C.; KAVA-CORDEIRO, V. ARAÚJO, W.L.; AZEVEDO, J.L. RAPD analysis of recombination processes in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Mycological Research**, Cambridge, v.107, n.9, p. 1069-1074, 2003.

DALZOTO, P. R. **Parameiose e caracterização de RNAs dupla fita no deuteroomiceto *Beauveria bassiana* (Vuill.)**. 164 f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, 2004.

DAROLT, M.R. Estado e característica atual da agricultura orgânica no mundo. **Revista Brasileira de Agropecuária**, v. 9, p. 44-48, 2001.

DOEKES, G.; LARSEN, P.; SIGSGAARD, T.; BAEUM, J. IgE sensitization to bacterial and fungal biopesticides in a cohort of Danish greenhouse workers: the BIOGART study. **American Journal of Industrial Medicine**, Hoboken, 46, p. 404-407, 2004.

DOUWES, J.; THORNE, P.; PEARCE, N.; HEEDERIK, D. Bioaerosols health effects and exposure assessment: progress and prospects. **The Annals of occupational hygiene**, Derby, 47, 187-200, 2003.

EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical. Controle biológico da broca-do-rizoma na bananeira pelo fungo *B. bassiana*. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=perguntas_e_respostas-banana.php>. Acesso em: 15/10/2007.

EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia. Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br/conbio/conbio.html>>. Acesso em: 25/11/2007.

EMPRESA BIOCONTROLE- Métodos de Controle de Pragas Ltda. *Cosmopolites sordidus*. Disponível em: <http://www.biocontrole.com.br/pragas/praga.php?id=cosmopolites_sordidus> Acesso em: 09/11/2007.

EMPRESA Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Tabuleiros Costeiros. Controle Biológico do Agente Transmissor do Nematóide Causador do Anel-Vermelho-Do-Coqueiro (18/06/2002). Disponível em: <<http://www.cpatc.embrapa.br/index.php?idpagina=artigos&artigo=920>>. Acesso em: 15/10/2007.

EMPRESA ITAFORTE BioProdutos. Disponível em: <<http://www.itafortebioprodutos.com.br/>>. Acesso em: 16/10/2007.

FARGUES, J.; GOETTEL, M. S.; SMITS, N.; OUEDRAOGO, A.; ROUGIER, M. Effect of temperature on vegetative growth of *B. bassiana* isolates from different origins. **Mycologia**, Lancaster, v.89, n.3, p.383-392, 1997.

FARIA, M. R. de; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: situação atual e perspectivas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. n. 22, p. 18-21, set./out. 2001.

FERRON, P. Biological control of insect by entomopathogenic fungi. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.23, p.409-442, 1978.

GOETTEL, M.S.; JOHNSON, D.L.; INGLIS, G.D. The role of fungi in the control of grasshoppers. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.73, n.1, p. 571-575, 1995.

GONZALEZ-CABO, J.F.; ESPEJO-SERRANO, J.; BARCENA-ASENSIO, M.C. Mycotic pulmonar disease by *Beauveria bassiana* in a captive tortoise. **Mycosis**, Berlin, v.38, n.3-4, p.167-169, 1995.

GRAVENA, S. Manejo Ecológico da Broca-do-Café com inseticidas biológicos. In: DIA DO MANEJO DE PRAGAS DO CAFÉ. Disponível em: <http://www.itafortebioprodutos.com.br/pagina_05_01_03.asp>. Acesso em: 16/10/2007.

GÜRCAN, S.; TUGUL, H.M.; YÖRÛK, Y.; ÖZER, B.; TATMAN-OTKUN, M.; OTKUN, M. First case report of empyema by *Beauveria bassiana*. **Mycoses**, München, 49, p. 246-248, 2006.

HAWKINS, B. A.; CORNELL, H. V. Theoretical Approaches to Biological Control. Cambridge University, 424 f., 1999. Disponível em: <<http://books.google.com.br/books?id=ZUiJEJeCHg8C&dq=biological+control+histori c&pg=PA1&ots=gL5cUXBlct&sig=p419tfKrDFFoWkq-SsqE5hTyKbE&prev=http://www.google.com.br/search%3Fhl%3Dpt-BR%26sa%3DX%26oi%3Dspell%26resnum%3D0%26ct%3Dresult%26cd%3D1%26q%3Dbiological%2Bcontrol%2Bhistoric%26spell%3D1&sa=X&oi=print&ct=result&cd=2&cad=legacy#PPP1,M1>>. Acesso em: 19/11/2007.

HENKE, M.O.; HOOG, G.S. de; GROSS, U.; ZIMMERMANN, G.; KRAEMER, D.; WEIG, M. Human deep tissue infection with an entomopathogenic *Beauveria* species. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, 40, 2698-2702, 2002.

HICKS, B.J.; WATT, A.D. Fungal disease and parasitism in *Panolis flammea* during 1998: evidence of change in the diversity and impact of the natural enemies of a forest pest. **Forestry**, Amsterdam, v.73, n.1, p.31-36, 2000.

HODGSON, M.; SCOTT, R. Prevalence of fungi in carpet dust samples. In: JOHANNING, E. (Ed.). Bioaerosols, fungi and mycotoxins: health effects, assessment, prevention and control. **Boyd Printing Company**, New York, p. 268-274, 1999.

ISHIBASHI, Y.; KAUFMAN, H.E.; KAZAWA, S. The pathogenicity of *B. bassiana* in the rabbit cornea. **Mykosen**, Berlin, v.30, p.115-126, 1987.

JARONSKI, S.T.; GOETTEL, M.S. Development of *B. bassiana* for control of grasshoppers and locusts. **Memoirs of the Entomological Society of Canada**, Ottawa, v.171, p.225-237, 1997.

JENSEN, G.B.; LARSEN, P.; JACOBSEN, B.L.; MADSEN, B.; WILCKS, A.; SMIDT, L.; ANDRUP, L. Isolation and characterization of Bacillus cereus-like bacteria from faecal samples from greenhouse workers who are using *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. **Int Arch Occup Environ Health**, Erlangen, v. 75, n. 3, p. 191-196, 2002.

KISLA, T.A.; CU-UNJIENG, A.; SIGLER, L.; SUGAR, J. Medical management of *Beauveria bassiana* keratitis. **Cornea**, New York, v.19, n.3, p.405-406, 2000.

KLINGEN, I.; HAUKELAND, S. The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes. In: EILENBERG, J.; HOKKANEN, H.M.T. (Eds.). **Ecological and Societal Approach to Biological Control**. Springer, Dordrecht, The Netherlands, p. 145-211, 2006.

LÄNGLE, T. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.: a biocontrol agent with more than 100 years of history of safe use, [200-].

LARONE, D.H. **Medically Important Fungi**: a guide to identification, 3 ed. ASM Press, Washington, D.C., 1995.

LAZZARINI, G. M. J. **Efeito da umidade sobre a germinação *in vitro* de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e atividade contra *Triatoma infestans***. 46 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

LEFEBVRE, C.L. Penetration and development of the fungus *B. bassiana* in the tissues of the corn borer. **Annals of Botany**, Oxford, v.48, p.441-452, 1934.

LEGASPI, J.C.; POPRAWSKI, T.J.; LEGASPI, B.C. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* against sugarcane stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) in the Lower Rio Grande Valley of Texas. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.93, n.1, p.54-59, 2000.

LI, Z.Z.; LI, C.R.; HUANG, B.; FAN, M.Z. Discovery-and demonstration of the teleomorph of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., an important entomogenous fungus. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v.46, n.9, P.751-753, 2001.

LOMER, C.J.; BATEMAN, R.P.; JOHNSON, D.L.; LANGEWALD, J.; THOMAS, M. Biological control of locusts and grasshoppers. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.46, p. 667-702, 2001.

LOPES, R. J. USP transforma fungos em bioinseticida. **Folha de S. Paulo** (10/12/2003). Disponível em:
<<http://www1.folha.uol.com.br/folha/ciencia/ult306u10719.shtml>>. Acesso em: 16/10/2007.

LUNA-ALVES-LIMA, E. A.; TIGANO, M. S. Citologia das estruturas leveduriformes de *B. bassiana* em meios de cultura líquidos e na hemolinfa de *Spodoptera frugiperda*. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.20, n.1, p.85-94, 1989.

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

LUZ, C.; FARGUES, J. Factors affecting conidial production of *B. bassiana* from fungus-killed cadavers of *Rhodnius prolixus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.72, p.97-103, 1998.

LUZ, C.; SILVA, I.G.; CORDEIRO, C.M.T.; TIGANO, M.S. *B.bassiana* (Hyphomycetes) as a possible agent for biological control of Chagas disease vectors. **Journal of Medical Entomology**, Maryland, v.35, n.6, p.977-979, 1998.

LUZ, C.; ROCHA, L.F.; NERY, G.V.; MAGALHÃES, B.P.; TIGANO, M.S. Activity of oil-formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.**, v.99, n.2, p.211-218, 2004.

MADSEN, A. M.; HANSEN, V.M.; MEYLING, N.V.; EILENBERG, J. Human exposure to airborne fungi from genera used as biocontrol agents in plant production. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, Lublin, 14, p. 5-24, 2007.

McLEOD, D. M. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.32, p. 818-893, 1954.

MELO, D. R. **Ação de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *Ctenocephalides felis felis* (Boúche, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**. 50 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, 2006.

MEYLING, N. V.; EILENBERG, J. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. **Biological Control**, 43, p.145-155, 2007.

MOURÃO, S. A.; VILELA, E. F.; ZANUNCIO, J. C.; ZAMBOLIM, L.; TUELHER, E. S. Seletividade de defensivos agrícolas ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Neotropical Entomology**, Viçosa, v.32, p.103-106, 2003.

MUGNAI, L.; BRIDGE, P.D.; EVANS, H.C. A chemotaxonomic evaluation of the genus *Beauveria*. **Mycological Research**, Cambridge, v.92, p. 199-209, 1989.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34 (1), p.77-82, 2005.

OKUMURA, A. S. K.; NEVES, P. M. O. J.; POSSAGNOLO, A. F.; CHOCOROSQUI, V. R.; SANTORO, P. H. Controle da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) FERRARI em terreiros de secagem de café. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 277-282, 2003.

OLIVEIRA, M. A. P. de. **Efeitos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre parâmetros biológicos e fisiológicos de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae)**. 57 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; AZEVEDO, J. L. Parasexuality in *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.57, p.172-176, 1991.

PEKRUL, S.; GRULA, E. A. Mode of infection of the corn earworm (*Heliothis zea*) by *B. bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.34, p.238-247, 1979.

PFEIFER, T. A.; KHACHATOURIANS, G.G. Eletrophoretic karyotype of entomopathogenic deuteromycete *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.61, n.3, p. 231-235, 1993.

PIMENTEL, I. C. **Fungos endofíticos do milho (*Zea mays* L.) e da soja (*Glycine Max* (L) Merrill) e seu potencial biotecnológico no controle de pragas agrícolas**. 154 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, 2001.

PORTER, J. R. Agostino Bassi Bicentennial (1773-1973). **Bacteriological Reviews**, v. 37, n. 3, p. 284-288, set. 1973.

POSADA, F. J.; VEGA, F.E. A new method to evaluate the biocontrol potential of single spore isolates of fungal entomopathogens. **Journal of Insect Science**, Madison, p. 5-37, 2005.

POSADA, F.; AIME, M. C.; PETERSON, S. W.; REHNER, S. A.; VEGA, F. E.; Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). **Mycological Research**, Amsterdam n.111, p.748 – 757, 2007.

QUINTELA, C.D.; WRAIGHT, S.P.; QUINDERÉ, M.A.W.; ROBERTS, D.W. Aplicação de conídios de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (METSCH) SOR para controle de larvas de *Chalcodermus bimaculatus* BOH (Coleoptera: Curculionidae) no solo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Itabuna, v.23, n.3, p.367-377, 1994.

REHNER, S. A.; BUCKLEY, E. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-a sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. **Mycologia**, Albuquerque, v.97, n.1, p. 84–98, 2005.

REHNER, S. A.; POSADA, F.; BUCKLEY, E. P.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; VEGA, F. E. Phylogenetic origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Riverside, 93, p.11-21, abril. 2006.

RODDAM, L. F.; RATH, A. C. Isolation and characterization of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* from Subantartic Macquaire Island. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 69, p.285-288, 1997.

ROHDE, C.; ALVESI, L.F.; NEVES, P. M.; ALVES, S. B.; SILVA, E.R. da; ALMEIDA, J.E de. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.35, n.2, p.231-40, 2006.

ROMAÑA, C. A.; FARGUES, J.F. Relative susceptability of different stages of *Rhodnius prolixus* to the entomopathogenic hyphomycete *Beauveria bassiana*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.87, n.3, p.363-368, 1992.

ROMAÑA, C. A.; FARGUES, J.; PAYS, J.F. Method of biological control of *Triatominae*, vectors of Chagas disease, using entomopathogenic Hyphomycetes. (Preliminary study). **Bulletin de la Societe de pathologie exotique**, Paris, v.35, p.75-82, 2006.

ROMERO, T. Guerra biológica contra as pragas. Agência FAPESP (24/11/2003). Disponível em: <[http://www.fapesp.br/agencia/boletim_dentro.php?data\[id_materia_boletim\]=969](http://www.fapesp.br/agencia/boletim_dentro.php?data[id_materia_boletim]=969)> Acesso em: 16/10/2007.

SACHS, S.W.; BAUM, J.; MIES, C. *Beauveria bassiana* keratitis. **British Journal of Ophthalmology**, London, v.69, p.548-550, 1985.

SEMALULU, S.S.; MacPHERSON, J.M.; SCHIEFER, H.B.; KHACHATOURIANS, G.G. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* in mice. **Journal of Veterinary Medicine**, Oxford, Series B, v.39, n.2, p.81-90, 1992.

SENAR/SP e FASESP. Produtos microbianos na agricultura orgânica. In: Palestra conferida no 4º Seminário Regional de Agricultura Orgânica. Disponível em: <http://www.itafortebioproductos.com.br/pagina_05_01_04.asp>. Acesso em: 16/10/2007.

SHI, L. G.; XU, J. L. Studies on regeneration-reversion of protoplasts and karyotype of *Beauveria bassiana*. **Mycosystema**, v.19, p.223-229, 2000.

SILVA, S.B. da; BITTENCOURT, V. R. Avaliação da resposta celular de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) inoculadas com *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Penicillium corylophilum* ou *Fusarium oxysporum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.4, p.151-156, 2006.

StGERMAIN, G.; SUMMERBELL, R. **Identifying Filamentous Fungi – A Clinical Laboratory Handbook**, 1st ed. Star Publishing Company, Belmont, California, 1996.

SUN, J.; FUXA, J.R.; HENDERSON, G. Effects of virulence, sporulation and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, (in press), 2003.

SUNG, J.M.; HUMBER, R.A. *Cordyceps staphylinidaecola* and its *Beauveria* anamorph from Korea. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/ttic/tektran/data/000012/95/000012509>. Acesso em: 15/11/2002.

TUCKER, D.; BERESFORD, C.; SIGLER, L. ROGERS, K. Disseminated *Beauveria bassiana* infection in a patient with acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Clinical Microbiology**, Philadelphia, 42, 5412-5414, 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de bibliotecas. **Teses, dissertações, monografias e trabalhos acadêmicos**. Curitiba: Editora UFPR, 2007a. (Normas para a apresentação de documentos científicos, 2).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de bibliotecas **Citações e notas de rodapé**. Curitiba: Editora UFPR, 2007b. (Normas para a apresentação de documentos científicos, 3).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de bibliotecas. **Referências**. Curitiba: Editora UFPR, 2007c. (Normas para a apresentação de documentos científicos, 4).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de bibliotecas. **Redação e editoração**. Curitiba: Editora UFPR, 2007d. (Normas para a apresentação de documentos científicos, 9).

VANNINEN, I.; TYNI-JUSTLIN, J.; HOKKANEN, H. Persistence of augmented *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Finnish agricultural soils. **Biocontrol**, San Diego, v.45, n.2, p.201-222, 2000.

VEY, A.; FARGUES, J. Histological and ultrastructural studies of *B. bassiana* infection in *Leptinotarsa decemlineata* larvae during ecdysis. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.30, p.207-215, 1977.

VIAUD, M.; COUTEAUDIER, Y.; LEVIS, C.; RIBA, G. Genome organization of *B. bassiana*: electrophoretic karyotype, gene mapping, and telomeric fingerprinting. **Fungal Genetics and Biology**, Kansas City, v.20, p.175-183, 1996.

VILAS-BOAS, A.M. Efeito de inseticidas em subdoses sobre o fungo *Beauveria bassiana* e sobre as brocas da cana-de-açúcar. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.34, n.2, p.287-302, 1991.

VILAS-BOAS, A. M.; PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; LUNA-ALVES-LIMA, E. A. Desenvolvimento e aperfeiçoamento de inseticidas biológicos para o controle de pragas. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.35, n. 4, p.749-761, 1992.

WATERHOUSE, D. F.; NORRIS, K. R. Biological control: pacific prospects - Supplement 1. **ACIAR Monograph**, n. 12, 125 pp., 1989.