

MATEUS VILAS BÔAS MIELLI

FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DOS HERBÍVOROS
Diabrotica speciosa E *Spodoptera frugiperda*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Madelaine Venzon

Coorientadora: Mayara Loss Franzin

VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus

T

M631f
2022

Mielli, Mateus Vilas Bôas, 1985-
Fungos entomopatogênicos no controle dos herbívoros *Diabrotica speciosa* e *Spodoptera frugiperda*: / Mateus Vilas Bôas Mielli. - Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (26 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Madelaine Venzon

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Entomologia, 2022.

Referências bibliográficas: .

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.671>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Pragas agrícolas - Controle biológico; 2. Fungos entomopatogênicos; I. Venzon, Madelaine II. Universidade Federal de Viçosa.. Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal III. Título

CDD 22. ed. 632.96

Bibliotecário(a) responsável: BRUNA SILVA CRB-6/2552

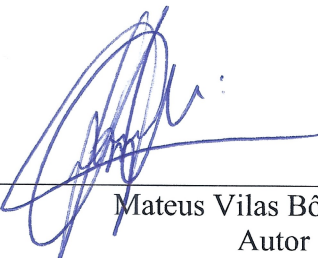
MATEUS VILAS BÔAS MIELLI

FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DOS HERBÍVOROS
Diabrotica speciosa E Spodoptera frugiperda


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 1 de agosto de 2022.

Assentimento:



Mateus Vilas Bôas Mielli
Autor



Madelaine Venzon
Orientadora

*À minha esposa Leticia, e aos meus filhos Julia
e Joaquim, que foram a energia necessária para
a busca contínua de melhora pessoal e
profissional.*

*Aos meus pais Wilson e Maria Luiza, que
sempre torcem por mim e pelo meu sucesso.*

*À minha irmã Maisa, que mesmo com poucas
palavras a gente se entende e sempre estamos
prontos a ajudar um ao outro.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Madelaine Venzon, por aceitar conduzir meu projeto.

Agradeço a minha coorientadora, Mayara Loss Franzin, pela ajuda prestada, por toda paciência que teve comigo e não economizou esforço para que tudo ficasse apresentável para defesa.

Agradeço aos professores pelas aulas e pelo conhecimento adquirido.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

Agradeço ao Caique, colega de mestrado, pela troca de informações e ajudas prestadas.

Agradeço ao Thiago Castro, pelo auxílio com materiais de laboratório.

Agradeço a equipe do Mestrado profissional pelo apoio.

Agradeço a Banca por fazer parte desse momento único em minha carreira.

RESUMO

MIELLI, Mateus Vilas Bôas, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2022. **Fungos entomopatogênicos no controle dos herbívoros *Diabrotica speciosa* e *Spodoptera frugiperda***. Orientadora: Madelaine Venzon. Coorientadora: Mayara Loss Franzin.

A produção de grãos, especialmente soja e o milho, tem grande destaque na agricultura brasileira, fazendo do Brasil um destaque mundial na produção destas *commodities*. Há diversas pragas que atacam essas culturas comprometendo a sua produtividade, dentre elas têm-se a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* e a vaquinha *Diabrotica speciosa*. O controle convencional destas duas pragas é feito com o uso de inseticidas químicos. Contudo, há um apelo pela utilização de métodos de controle mais sustentáveis, que agrida menos o meio ambiente e o homem como o uso do controle biológico com fungos entomopatogênicos. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência de três produtos comerciais à base de fungos entomopatogênicos, isolados ou em conjunto, no controle da vaquinha e da lagarta. Os tratamentos foram: a) *Metarhizium anisopliae*, b) *Beauveria bassiana*, c) *Cordyceps fumosorosea*, d) os três produtos juntos (Mix) e e) água (controle). O experimento foi realizado em placas de Petri, onde discos de folhas de soja ou couve foram mergulhados nas soluções com os produtos. Após a secagem, uma lagarta-do-cartucho de segundo instar ou 5 fêmeas adultas de vaquinha foram colocadas na placa. Avaliou-se a sobrevivência das pragas diariamente, por cinco dias. A sobrevivência de *S. frugiperda* diferiu entre os tratamentos, sendo os melhores resultados o tratamento com aplicação de *C. fumosorosea* e do Mix. Já a sobrevivência de *D. speciosa* não diferiu entre os tratamentos. O produto à base de *C. fumosorosea* mostrou-se o mais promissor para ser incorporado no controle de *S. frugiperda*. Por não haver diferença entre o Mix e o *C. fumosorosea* na sobrevivência da lagarta-do-cartucho é necessário avaliar outros fatores na escolha por utilizar o produto isolado ou em mistura, como por exemplo: a presença ou não de outras espécies de artrópodes, que podem prejudicar a produção, pois mesmo não tendo apresentado diferença significativa, o mix de produtos entregou resultado um dia antes do que o *C. fumosorosea* isolado. São necessários estudos complementares para comprovar a eficiência dos produtos em campo. Se confirmada a mesma resposta do mix de produtos em campo, a utilização desse se tornaria vantajosa para ambas pragas, uma vez que a aplicação do mesmo reduziu 100% a sobrevivência de *S. frugiperda* em 4 dias e 50% de *D. speciosa* em cinco dias após a aplicação.

Palavras-chave: Soja. Milho. Pragas. Controle biológico. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Cordyceps fumosorosea*.

ABSTRACT

MIELLI, Mateus Vilas Bôas, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, August, 2022. **Entomopathogenic fungi in the control of herbivores *Diabrotica speciosa* and *Spodoptera frugiperda*.** Advisor: Madelaine Venzon. Co-advisor: Mayara Loss Franzin.

The production of grains, especially soybeans and corn, has great prominence in Brazilian agriculture, making Brazil a world leader in the production of these *commodities*. There are several pests that attack these crops compromising their productivity, among them the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* and the kitty *Diabrotica speciosa*. Conventional control of these two pests is done with chemical insecticides. However, there is a call for the use of more sustainable control methods, which harm the environment and man less, such as biological control with entomopathogenic fungi. Therefore, the objective of this work was to evaluate the efficiency of three commercial product based on entomopathogenic fungi, isolated or together, in the control of the *Diabrotica* and the caterpillar. The treatments were: a) *Metarhizium anisopliae*, b) *Beauveria bassiana*, c) *Cordyceps fumosorosea*, d) the three products together (Mix) and e) water (control). The experiment was carried out in Petri dishes, where discs of soybean or cabbage leaves were dipped into the solutions with the products. After drying, a second instar fall armyworm or 5 adult females *Diabrotica* were placed on the plate. Pest survival was evaluated daily for five days. The survival of *S. frugiperda* was different between treatments, with the lower survival in the *C. fumosorosea* and Mix applications. The survival of *D. speciosa* did not differ between treatments. The product based on *C. fumosorosea* showed to be the most promising to be incorporated in the control of *S. frugiperda*. As there is no difference between Mix and *C. fumosorosea* in the survival of fall armyworm, it is necessary to evaluate other factors when choosing to use the product alone or in a mixture, such as: the presence or not of other arthropod species, that can harm production, as even though there was no significant difference, the product mix delivered results one day earlier than isolated *C. fumosorosea*. Complementary studies are needed to prove the efficiency of the products in the field. If confirmed the same response of the product mix in the field, the use of this product would become advantageous for both pests, since its application reduced 100% the survival of *S. frugiperda* in 4 days and 50% of *D. speciosa* in five days after application.

Keywords: Soybean. Maize. Insect pests. Biological control. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Cordyceps fumosorosea*.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	9
2.	METODOLOGIA.....	13
2.1.1.	OBTENÇÃO DOS INSETOS.....	13
2.1.2.	TRATAMENTOS.....	13
2.1.3.	EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS À BASE DE FUNGOS NO CONTROLE DA <i>S. frugiperda</i>	14
2.1.4.	EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS À BASE DE FUNGOS NO CONTROLE DA <i>D. speciosa</i>	15
2.1.5.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	16
3.	RESULTADOS.....	17
4.	DISCUSSÃO.....	18
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	20
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20

1. INTRODUÇÃO

A agricultura possui grande importância no Brasil contribuindo com cerca de 20% do Produto Interno Bruto (PIB) (CEPEA, 2020). Dentre os diversos setores da agricultura, a produção de grãos, especialmente soja e milho, é o grande destaque brasileiro (CONAB, 2021). Atualmente, o Brasil é o maior produtor e exportador de soja, com mais de 39 mi hectares de área plantada, produzindo 120 milhões de toneladas e atingindo a marca de 85 milhões de toneladas exportadas (CONAB, 2021). Esse volume corresponde a 50% do comércio mundial de soja (CONAB, 2021). Quanto ao milho, o Brasil é o terceiro maior produtor, atrás apenas dos Estados Unidos e da China. Possui uma área plantada de 21,6 mi ha e uma produção de 115,22 milhões de toneladas. Além disso, há uma previsão de aumento na área plantada de 4,6% para a soja e de 8,6% para o milho na safra brasileira de 2021/22 (CONAB, 2022).

As condições brasileiras favorecem a agricultura no país devido ao clima predominante tropical, no qual a principal característica está nas elevadas temperaturas, que variam entre 25°C a 32°, e em duas estações: uma chuvosa no verão e outra seca no inverno (MENDONÇA et al., 2011). Tais condições favorecem o desenvolvimento das plantas, inclusive o da soja e do milho (JUHÁSZ et al., 2019; MIRANDA et al., 2019; SMIDERLE, 2019). Porém, essas condições climáticas também são favoráveis ao desenvolvimento de insetos. Por serem heterotérmicos, tem temperatura corpórea oscilando de acordo com a temperatura do ambiente (RANDALL et al., 2000). Sendo assim, temperaturas mais altas podem levar a uma redução do ciclo de vida dos insetos devido a um aumento na taxa metabólica dos mesmos com consequente aumento do número de indivíduos em uma área. Isso pode ser extremamente prejudicial para as culturas da soja e do milho, uma vez que estas são atacadas por muitos insetos-praga que causam grandes perdas na produção e qualidade dos grãos (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; JUHÁSZ et al., 2019; MIRANDA et al., 2019).

Dentre as pragas que atacam ambas as culturas, destaca-se a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) (JUHÁSZ et al., 2019; MIRANDA et al., 2019), uma praga polífaga com ocorrência em todo o Brasil. O adulto da praga é uma mariposa, capaz de ovipositar uma massa com 100 ovos em médias. Após 3 a 10 dias, eclodem as lagartas que iniciam a alimentação (CRUZ et al., 1999). No milho, esta é a principal praga, podendo reduzir a produtividade em até 57%, dependendo da época de cultivo e do híbrido utilizado. As lagartas se alimentam em todos os estádios da planta de milho, tendo preferência pelo cartucho das plantas jovens, com até 45 dias. Em geral, as lagartas maiores dirigem-se para o interior do

cartucho da planta. Quando estão entre o quarto e o sexto instares (oito a 14 dias), podem destruir completamente pequenas plantas ou causar severos danos em plantas maiores. Além disso, podem também se alimentar do colmo ou se dirigir para a região da espiga atacando o pedúnculo e impedindo a formação dos grãos. Podem também penetrar as espigas na sua porção basal ou distal, danificando diretamente os grãos (CRUZ et al., 1999). Já na soja, a lagarta-do-cartucho pode causar danos em todos os estádios de desenvolvimento da planta. Na fase inicial, ataca a região do colo, cortando as plantas na base, provocando o perfilhamento e até mesmo a morte da planta, o que prejudica o estabelecimento da cultura no campo. A praga também pode se alimentar das estruturas reprodutivas da soja, como flores e vagens, ocasionando perdas na produtividade (BUENO et al., 2011).

Outro herbívoro que ganha destaque nas culturas da soja e do milho é a *Diabrotica speciosa* (Coleóptera: Chrysomelidae), um inseto-praga que ocorre em todos os estados brasileiros (EMBRAPA, 2013). A praga é conhecida como vaquinha brasileira ou vaquinha patriota ou larva-alfinete. O ciclo de vida pode variar de 24 até 40 dias (AVILA et al., 2002). O adulto apresenta aparelho bucal mastigador e se alimenta da parte aérea das plantas, enquanto a larva se encontra no solo e alimenta-se de raízes e tubérculos, preferencialmente (GASSEN, 1989; MIRANDA et al., 2019). Ao alimentar-se de raízes, as larvas interferem na absorção de nutrientes e água da planta, reduz a sustentação e favorece o acamamento de plantas. A desfolha causada pelos adultos das vaquinhas reduzem a área fotossintética, que chega a consumir 10 cm² por dia, o que traz grandes danos para as culturas, principalmente na planta recém-emergida (QUINTELA, 2014; MIRANDA et al., 2019).

O manejo mais utilizado para a vaquinha e a lagarta-do-cartucho é o controle genético, através do plantio de soja e milho Bt, associado ao controle químico (GRIGOLLI, 2017; VALICENTE, 2015). Contudo, há registros da redução da suscetibilidade aos inseticidas, tanto para lagarta-do-cartucho (CARVALHO et al., 2013; DIEZ-RODRIGUEZ & OMOTO, 2001; NASCIMENTO et al., 2015) quanto para a vaquinha (ARAUJO & SALAS, 2017). Adicionalmente, o uso indiscriminado de agrotóxicos contribui para um sistema de produção com reduzida biodiversidade e funcionalidade, impactando de forma negativa a permanência de organismos benéficos na área como insetos predadores e parasitoides (ROUBOS et al., 2014), sem contar os riscos à saúde ambiental e do homem (BASS et al., 2015; UN, 2017). Portanto, é importante que se adotem medidas alternativas de controle de *D. speciosa* e *S. frugiperda* que sejam mais sustentáveis e gerem menos impactos negativos ao meio ambiente e ao homem.

O controle biológico de pragas é uma prática utilizada desde o século III a.C. (ZATTI, 2020) e desde então vem se aperfeiçoando com novas formulações, logísticas apropriadas para seu armazenamento e distribuição. Nesse método de controle, um organismo vivo é utilizado para controlar a população de uma praga. Sendo assim, o controle biológico não causa impactos negativos ao ambiente e não deixa resíduos nos alimentos, tornando-se seguro ao homem (VENZON et al., 2021). Além disso, essa prática de controle vem ganhando destaque nos últimos tempos. De acordo com uma pesquisa realizada pela empresa de consultoria Spark Inteligência estratégica, esse mercado movimentou quase R\$ 1 bilhão na safra 2019/2020, com incremento de 46% em relação ao ano anterior. Apenas no ano de 2020, o ministério da agricultura aprovou 76 novos registros de produtos considerados de baixo risco, dentre biológicos, microbiológicos, semioquímicos, bioquímicos e extratos vegetais. Comparando com o ano de 2019, houve um aumento nos registros destes bioinsumos de 76,74%.

Existem métodos de controle biológico consolidados para *S. frugiperda* como o uso da bactéria *Bacillus thuringiensis* e de baculovírus entomopatogênicos (VALICENTE, 2015). Para a *D. speciosa*, o controle biológico ainda não está consolidado, sendo necessários mais estudos para a implementação desse método de controle. Diante disso, faz-se necessário o estudo das ferramentas do controle biológico para validar sua eficiência no controle da vaquinha e da lagarta-do-cartucho. A importância desses estudos é o desenvolvimento de métodos de controle diversificados para uma praga, o que contribui para o manejo integrado. Dentre as ferramentas do controle biológico estão os fungos entomopatogênicos, que possuem a capacidade de infectar todos os estádios de desenvolvimento de seus hospedeiros (DAVID, 1967). Diferentes de vírus, bactérias e protozoários entomopatogênicos, os fungos agem por contato, penetrando diretamente no inseto através da produção de enzimas que degradam a cutícula do corpo do organismo alvo (ALVES, 1998). Essas enzimas presentes nas hifas penetrantes consistem de proteases, lipases, quitinases, entre outras (MELO & AZEVEDO, 2000). A eficiência de penetração dos fungos no corpo do inseto está na capacidade de produção dessas enzimas, que varia de acordo com a espécie do fungo (ROBSON, 1996; MELO & AZEVEDO, 2000). Dentro dos insetos, esses fungos se multiplicam rapidamente produzindo toxinas que ocasionam a destruição dos tecidos, levando o inseto à morte (ALVES, 1998).

Atualmente, há produtos à base de fungos entomopatogênicos registrados para o controle de pragas (AGROFIT, 2022; CABI 2022). Dentre os produtos comerciais, destacam-se as espécies *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Cordyceps fumosorosea* (sinonímias= *Isaria fumosorosea*, *Paecilomyces fumosoroseus*) (AGROFIT, 2022; CABI, 2022). A *B. bassiana* é uma espécie cosmopolita capaz de viver saprofiticamente no solo, endofiticamente

na parte aérea das plantas e infecta uma ampla gama de artrópodes, abrangendo quase todas as ordens de insetos e estendendo-se aos carrapatos e ácaros (MCKINNON et al., 2017; MEYLING & EILENBERG, 2007; REHNER et al., 2011). Os produtos disponíveis são recomendados para o controle de diversas pragas importantes na agricultura, tais como mosca-branca (*Bemisia tabaci*), moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), psilídeo (*Diaphorina citri*), ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), dentre outros (AGROFIT, 2022). O *M. anisopliae* é amplamente disperso na natureza e encontrado no solo, rizosfera, raízes de plantas e infectando artrópodes (MEYLING & EILENBERG, 2007; ST. LEGER, 2008). O uso deste fungo é bastante difundido no controle da cigarrinha *Mahanarva fimbriolata* da cana-de-açúcar, o qual é o método de controle mais utilizado para esta praga (DINARDO-MIRANDA et al., 2004). Os produtos comerciais também são recomendados para o controle das pragas: percevejo-marrom-da-soja *Euschistus heros*, gafanhotos, lagarta-das-folhas *Spodoptera eridania*, entre outros (AGROFIT, 2022; CABI, 2022). O *C. fumosorosea* também é capaz de infectar diversas espécies de artrópodes como mosca branca, pulgões e tripes (AGROFIT, 2022; CABI, 2022; FARIA & WRAIGHT, 2007). O grande destaque para o uso deste fungo é no controle do psilídeo *Diaphorina citri*, que é vetor do *Greening* (amarelão) dos citros (CHOW et al., 2018). Os fungos mais virulentos estão correlacionados com altas produções de enzimas que causam a quebra das proteínas e lipídeos do tegumento do inseto, agilizando o processo de penetração do fungo (ST. LEGER et al., 1988). Como essas enzimas variam de acordo com a espécie do fungo, é possível que a mistura de produtos à base de diferentes fungos entomopatogênicos pode vir a atuar de forma sinérgica uma vez que terá mais patógenos produzindo enzimas de penetração, facilitando a entrada na praga alvo.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi investigar a eficiência de produtos comerciais à base dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *C. fumosorosea*, isolados ou em mistura, no controle das pragas *S. frugiperda* e *D. speciosa*. As hipóteses foram: (a) o produto à base de *B. bassiana* é eficiente no controle de *S. frugiperda* e *D. speciosa*; (b) o produto à base de *M. anisopliae* é eficiente no controle de *S. frugiperda* e *D. speciosa*; (c) o produto à base de *C. fumosorosea* é eficiente no controle de *S. frugiperda* e *D. speciosa* e; (d) a mistura dos três produtos atua de forma sinérgica no controle de *S. frugiperda* e *D. speciosa*. As hipóteses foram testadas por meio de experimentos em condições de laboratório em placas de Petri.

2. METODOLOGIA

2.1. OBTENÇÃO DOS INSETOS

Foram utilizadas fêmeas adultas de *D. speciosa* e lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* fornecidas pela empresa Pragas.com, especializada em criação e comercialização de insetos para todo o Brasil. A empresa utiliza dietas artificiais próprias para multiplicação de lagartas, as quais a receita é sigilosa. Já para multiplicação da vaquinha, a empresa as alimenta com folhas de repolho. Eles foram transportados em recipientes contendo alimento, e assim que recebidos, a montagem dos experimentos ocorreu no mesmo dia.

2.2. TRATAMENTOS

Foram utilizados os produtos comerciais Boveril (*Beauveria bassiana*, cepa ESALQ PL 63), Metarril (*Metarhizium anisopliae*, Cepa ESALQ E9) e Octane (*Cordyceps fumosorosea*, cepa ESALQ 1296), que são cepas exclusivas da Koppert Biological Systems. Nenhum desses produtos possui indicação de controle para as pragas alvos do presente estudo em sua bula. Portanto, aqui estão os primeiros testes dos produtos para *S. frugiperda* e *D. speciosa*. Cada produto comercial (na sua respectiva dose comercial) constituiu um tratamento e a mistura de 1/3 da dose de cada produto constituiu um quarto tratamento (Mix). Foi utilizada a recomendação média de aplicação em campo para outras pragas que é de 500 ml/ha para Octane e 500 g/ha para Boveril e Metarril. Sendo assim, o Mix correspondeu a 166,66 ml/ha de Octane e 166,66 g/ha de Boveril e Metarril. Todos os tratamentos foram diluídos em água filtrada e o tratamento controle constou da aplicação apenas de água filtrada, constituindo assim o quinto tratamento, testemunha. Tomando como base o volume de 200 l/ha de calda aplicada (água+produto), que é o volume médio que os produtores de soja e milho utilizam, as doses de cada produto foram: 2,5 ml de Octane/litro de água (T1); 2,5 g de Boveril/litro de água (T2); 2,5 g de Metarril/litro de água (T3); 0,83 ml de Octane + 0,83 g de Boveril + 0,83 g de Metarril por litro de água (Mix).

2.3. EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS À BASE DE FUNGOS NO CONTROLE DA *S. frugiperda*

Assim como para *D. speciosa*, a eficiência dos produtos foi avaliada calculando a sobrevivência de *S. frugiperda*. Devido à dificuldade em encontrar plantios de milho e soja convencionais (sem transgenia), foram utilizadas folhas inteiras de couve, pelo hábito polífago da praga e também pela facilidade de obtenção desse alimento, sem nenhum tipo de aplicação de inseticidas químicos, para a montagem do experimento. As folhas foram previamente desinfetadas com solução de água filtrada + hipoclorito de sódio (0,5%) e posterior lavagem em água filtrada. Feito isso, as folhas foram dispostas em papel toalha para a secagem e após foram cortados discos com 6 cm de diâmetro. Os discos foram mergulhados nas soluções dos tratamentos e expostos ao ambiente por 10 minutos para secagem (Figura 1). Posteriormente, cada disco foi transferido para uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) e em cada placa de Petri foi transferida 1 lagarta de *S. frugiperda*. Foram feitas 15 repetições por tratamento, sendo que cada placa de Petri constituía uma repetição (Figura 2). As placas de Petri foram vedadas com filme PVC e acondicionadas em sala climatizada a 25 °C e fotoperíodo 12/12 h dia/noite. A mortalidade dos indivíduos foi avaliada diariamente durante cinco dias.

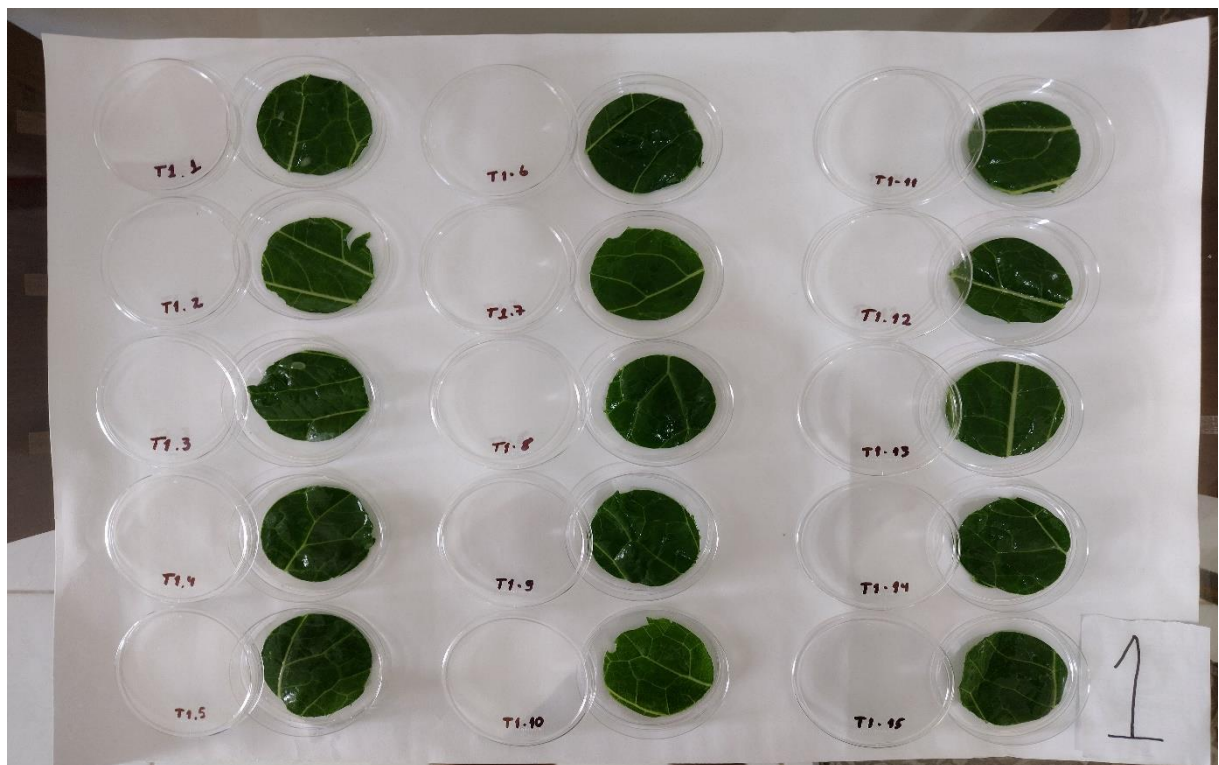


Figura 1. Tratamento dos discos de folha de repolho com produto comercial à base de fungo entomopatogênico. Placas de Petri, contendo discos de folhas de repolho com 6 cm de diâmetros.



Figura 2. Placa de Petri (9cm de diâmetro) contendo um disco de folha de Repolho com 1 lagarta de segundo instar de *Spodoptera frugiperda*.

2.4. EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS À BASE DE FUNGOS NO CONTROLE DA *D. speciosa*

Para avaliar a eficiência dos produtos no controle da *D. speciosa*, avaliou-se a sobrevivência da mesma após à exposição aos tratamentos. Para tanto, foram coletadas folhas de soja do terço médio da planta, sem nenhum tipo de aplicação de pesticida, em lavouras comerciais no município de Araraquara – SP. O processo do preparo das folhas e o tratamento das mesmas foi feito como para *S. frugiperda* (item 2.3.). Posteriormente, cada disco foi transferido para uma placa de Petri com 9 cm de diâmetro e foram colocadas cinco fêmeas adultas de *D. speciosa* por disco. Cada tratamento possuiu 10 repetições, sendo que cada placa

de Petri constituiu uma repetição (Figura 3). As placas de Petri foram vedadas com filme PVC e acondicionadas em sala climatizada a 25 °C e fotoperíodo 12/12 h dia/noite. A sobrevivência dos indivíduos foi avaliada diariamente durante 5 dias.

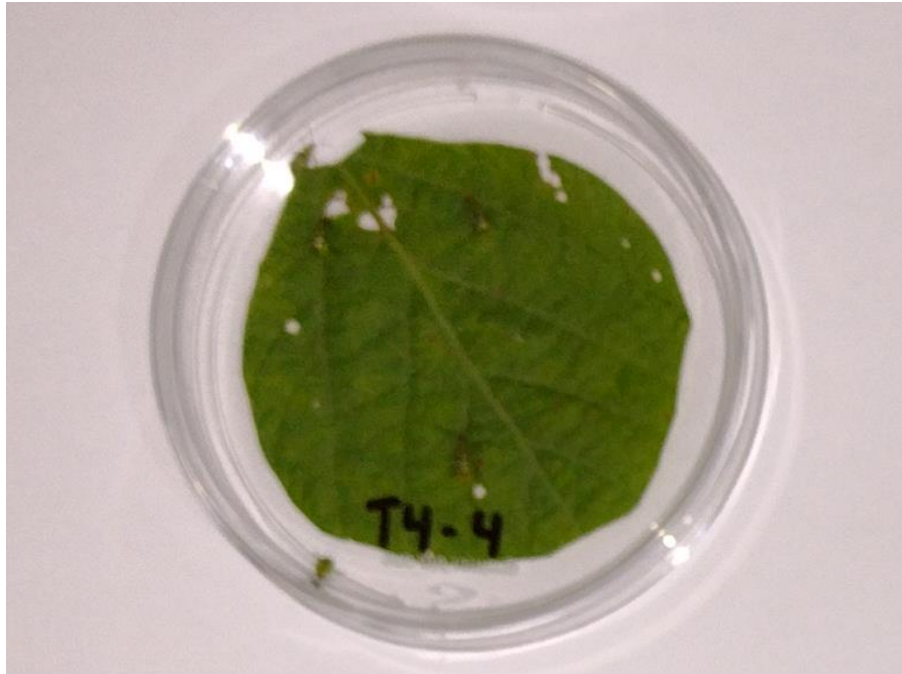


Figura 3. Placa de Petri (9cm de diâmetro) contendo um disco de folha de soja com 5 fêmeas adultas de *Diabrotica speciosa*. T4-4 refere se ao tratamento 4, repetição 4. Tratamento com mix de fungos.

2.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas no programa R (R Core Team, 2021). Cada produto comercial e a mistura dos mesmos foi utilizado como variável explanatória para investigar a eficiência dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *C. fumosorosea*, isolados ou em conjunto, no controle das pragas *S. frugiperda* e *D. speciosa*. Análises de sobrevivência foram realizadas para calcular o tempo decorrido entre o contato da praga com o fungo entomopatogênico até a sua morte. Para a *D. speciosa*, foi utilizado o pacote de software R “fragilitypack” (RONDEU et al., 2019) para adicionar uma penalização nos modelos, com distribuições gama, para ajustar um modelo de fragilidade conjunta dos cinco insetos em uma mesma placa de Petri. As análises foram ANOVA com testes de χ^2 e, quando detectadas diferenças estatísticas, as comparações pareadas foram realizadas por meio do pacote de software R “emmeans” com teste t (LENTH et al., 2021).

3. RESULTADOS

A sobrevivência de *S. frugiperda* diferiu entre os tratamentos ($\chi^2=31,10$; $p<0,0001$; Figura 4). Os melhores resultados foram os tratamentos com aplicação de *C. fumosorosea* e Mix com 100% dos insetos mortos até o final da avaliação. Em comparação ao tratamento controle, as menores sobrevivências foram das lagartas submetidas à aplicação de *C. fumosorosea* ($t=3,054$; $p=0,0257$; Figura 4) e Mix ($t=3,161$; $p=0,0191$; Figura 4). No entanto, não houve diferença entre o controle e a aplicação de *M. anisopliae* ($t=1,940$; $p=0,3064$; Figura 4) e *B. bassiana* ($t=2,250$; $p=0,1739$; Figura 4). Também não houve diferença na sobrevivência das lagartas entre *C. fumosorosea* comparado a *M. anisopliae* ($t=2,361$; $p=0,1385$; Figura 4) e *B. bassiana* ($t=1,856$; $p=0,3503$; Figura 4) e Mix ($t=0,301$; $p=0,9982$). Da mesma forma, não houve diferença entre *B. bassiana* comparado a *M. anisopliae* ($t=0,59$; $p=0,9760$; Figura 4) e Mix ($t=2,117$; $p=0,2244$; Figura 4), bem como entre Mix e *M. anisopliae* ($t=2,601$; $p=0,0811$; Figura 4).

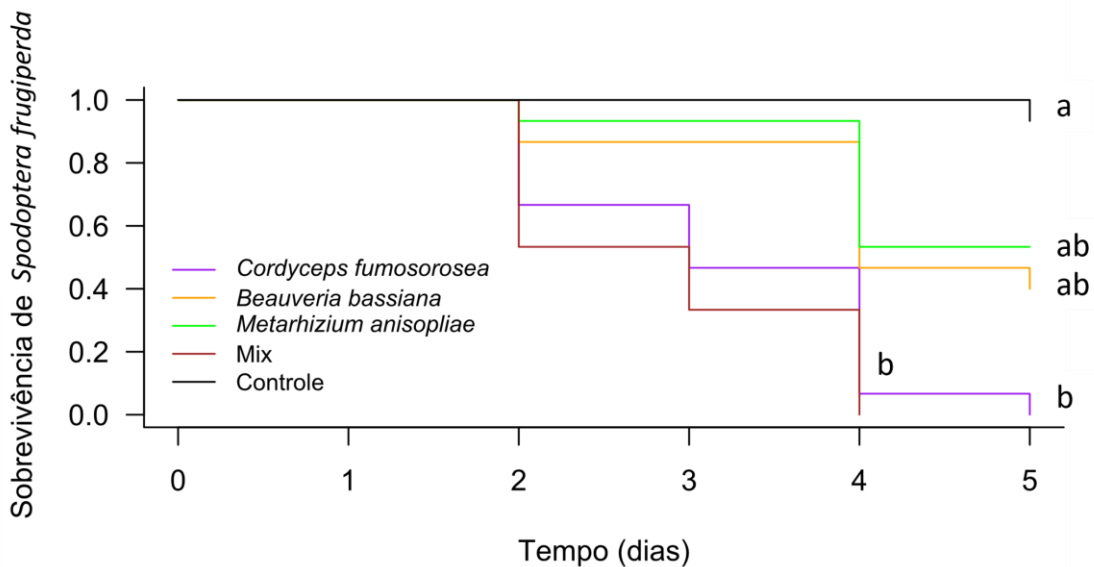


Figura 4 Sobrevivência proporcional de lagartas L1 de *Spodoptera frugiperda* expostas a produtos à base de *Cordyceps fumosorosea* (2,5 ml/litro de água), *Metarhizium anisopliae* (2,5 g/litro de água), *Beauveria bassiana* (2,5 g/litro de água), uma mistura destes três fungos - Mix (0,83 ml/g por litro de água) e apenas filtrada (controle). Curvas seguidas pela mesma letra não diferente entre si pelo teste t a 5%.

Já sobrevivência de *D. speciosa* não diferiu entre os tratamentos ($\chi^2=4,04$; $p=0,4$; Figura 5). A aplicação de nenhum fungo entomopatogênico, e nem mesmo a mistura dos três, reduziu a sobrevivência de *D. speciosa* quando comparado ao tratamento controle.

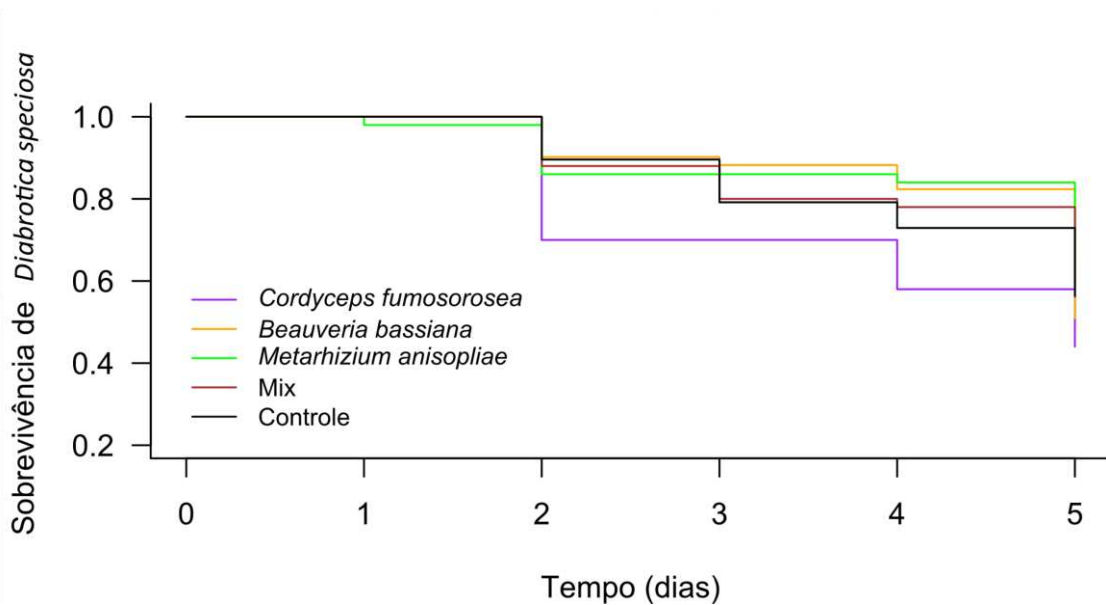


Figura 5 Sobrevivência proporcional de adultos de *Diabrotica speciosa* expostos a produtos à base de *Cordyceps fumosorosea* (2,5 ml/litro de água), *Metarhizium anisopliae* (2,5 g/litro de água), *Beauveria bassiana* (2,5 g/litro de água), uma mistura destes três fungos - Mix (0,83 ml/g por litro de água) e apenas água filtrada (controle). As curvas de sobrevivência não diferem entre si pelo teste χ^2 a 5%.

4. DISCUSSÃO

A utilização do micoinseticida à base de *C. fumosorosea* mostrou-se eficiente no controle da lagarta-do-cartucho, onde 100% das lagartas morreram cinco dias após a aplicação do micoinseticida. Na literatura, a grande parte dos trabalhos sobre entomopatógenos no controle da *S. frugiperda* estão relacionados ao uso de bactérias e vírus, especialmente a *Bacillus thuringiensis* (POLANCZYK et al., 2000) e baculovírus (GRAMKOW et al., 2010). Já neste trabalho, foi mostrada a eficiência de um fungo entomopatogênico no controle da lagarta-do-cartucho. Atualmente, há sete micoinsetidas à base de *C. fumosorosea* registrados no Ministério da Agricultura, incluindo o produto usado neste trabalho. Contudo, não há a indicação do uso de nenhum deles para *S. frugiperda* (AGROFIT, 2022). Portanto, os resultados do presente trabalho mostram a possibilidade de incrementar mais uma ferramenta do controle

biológico para esta praga, a utilização de produtos à base de *C. fumosorosea*. Entretanto, para que a ferramenta seja consolidada para o uso, faz-se necessários mais estudos em campo.

A utilização da mistura dos três inseticidas microbiológicos também se mostrou eficiente no controle da lagarta-do-cartucho, onde todas as lagartas morreram quatro dias após aplicação da mistura dos três produtos. Acredita-se que o fungo predominante na infecção das lagartas no tratamento Mix foi *C. fumosorosea*, uma vez que entre os tratamentos com aplicação isolada dos fungos, somente *C. fumosorosea* obteve diferenças significativas em relação ao tratamento controle, mostrando-se mais eficiente na infecção das lagartas.

B. bassiana e *M. anisopliae* não diferiram do tratamento controle quanto à sobrevivência de *S. frugiperda*. Não foi encontrado estudos sobre a eficiência de *B. bassiana* sobre a lagarta-do-cartucho, bem como, os produtos disponíveis não foram testados para o controle da mesma. Há produtos à base *M. anisopliae* indicados para *S. frugiperda* (AGROFIT, 2022). Entretanto, o produto utilizado neste trabalho é indicado apenas para o controle da cigarrinha-da-raiz *Mahanarva fimbriolata* (AGROFIT, 2022). Vale ressaltar que mesmo não diferindo do controle, em média 50% das lagartas permaneceram vivas cinco dias após a aplicação dos produtos com *B. bassiana* e com o *M. anisopliae* a sobrevivência foi maior que 90%. Esta mortalidade não é satisfatória quando tomado o método de controle como exclusivo para a praga, uma vez que a praga causa danos econômicos em infestações baixas; sendo acima de 10% para o milho (ROSA et al., 2011) e 10 lagartas por metro linear para a soja (EMBRAPA SOJA, 2013). Entretanto, se adicionado à outras ferramentas de controle compatíveis, a aplicação dos produtos à base de *B. bassiana* e *M. anisopliae* poderia compor o manejo integrado de *S. frugiperda*. Mas, todas essas hipóteses levam em consideração essa mesma resposta dos produtos sobre a praga em campo e para validá-las são necessários mais estudos sobre a eficiência dos mesmos.

Os resultados para *D. speciosa* foram diferentes do esperado, pois a aplicação dos produtos, isolados ou em mistura, não interferiu na sobrevivência da praga. Apesar dos produtos utilizados não terem indicação para *D. speciosa*, há outros produtos à base de *B. bassiana* registrados com indicação para o controle da praga (AGROFIT, 2022). Além disso, diversos estudos mostram a eficiência dos fungos entomopatogênicos no controle de coleópteros, como exemplos: *B. bassiana* no controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (POSADA-FLÓREZ, 2008); *M. anisopliae* e *B. bassiana* no controle do besouro *Polyphylla fullo* (ERLER & ATEs, 2015). Contudo, o presente trabalho não confirma a eficiência desses fungos sobre o coleóptero *D. speciosa*, sendo que a sobrevivência dos insetos expostos aos produtos foi próxima à dos insetos no tratamento controle.

O mix de produtos é o mais promissor para ser incorporado no manejo da *S. frugiperda*, pois além de manter o mesmo custo que uma aplicação do produto isolado ele tem maior abrangência no controle de outras pragas que possam estar presente no ambiente. Sabendo que cada fungo produz alguns tipos diferentes de enzimas utilizadas na penetração da cutícula do inseto e com o uso do mix, teremos uma variedade maior de enzimas. Sendo assim, a chance de controlar algumas pragas, maior do que o uso isolado de um produto apenas.

Este trabalho possui os primeiros testes da eficiência dos produtos Octane, Boveril e Metarril sobre duas pragas de grande impacto para as culturas da soja e do milho. Ainda são necessários mais estudos para comprovar a eficiência dos mesmos em campo. Contudo, se confirmada a mesma resposta do mix de produtos em campo, a utilização dele se tornaria vantajosa para ambas as pragas, uma vez que a aplicação do mesmo reduziu 100% a sobrevivência de *S. frugiperda* 4 dias após e 50% de *D. speciosa* cinco dias após a aplicação.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mix de produtos à base de *C. fumosorosea*, *M. anisopliae* e *B. bassiana* se mostrou eficiente para uso no manejo da *S. frugiperda*. Também foram encontrados resultados expressivos para a *D. speciosa*. E quando se pensa em complexo de pragas que podem prejudicar a produção da soja e do milho, o mix passa ser mais eficiente, por conter um complexo maior de enzimas de penetração da cutícula do inseto. Sendo assim, o mix de produtos pode se tornar uma ferramenta a mais para entrar na rotação de produtos visando o manejo da resistência das pragas. É válido ressaltar que, por ter um amplo espectro de ação, os fungos entomopatogênicos tem supressão sobre outros artrópodes. Sendo assim, torna-se vantajoso para o manejo integrado de pragas, evitando a seleção de indivíduos resistentes.

6. REFERÊNCIAS

Agrofit. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários.** Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 20 de maio de 2022.

Alves, S.B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba, São Paulo: **Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz** 1º ed, 1163p., 1998.

Araújo, M.M.; Salas, F.J.S. Resistência de insetos do Gênero *Diabrotica* de maior impacto econômico nas américas do Norte e do Sul a inseticidas. **Biológico**, v.79, p.1-7, 2017.

Ávila, C.J.; Milanez, J.M.; Parra, J.M.P. Previsão de ocorrência de *Diabrotica speciosa* utilizando se o modelo de graus-dia de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 427-432, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2002000400001>.

Bass, C.; Denholm, I.; Willianson, M.S.; Nauen, R. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 78-87, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.04.004>.

Bueno, R.C.O.F.; Bueno, A.F.; Moscardi, F.; Parra, J.R.; Hoffmann-Campo, C.B. Lepidoptera larvae consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pes management decision. **Pest Management. Science**, v.67, p. 170-174, 2011. <https://doi.org/10.1002/ps.2047>.

CABI – BioProtection. Portal. Disponível em: <https://bioprotectionportal.com/pt/>. Acesso em: 14 de junho de 2022.

Carvalho, R.A.; Omoto, C.; Field, L. M.; Williamson, M.S.; Bass, C. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, v. 8, e62268, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062268>.

Cruz, I. (1995). Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com Baculovírus; **Circular técnica** n. 15; Embrapa, novembro 1991; ISSN 0100-8013.

CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **PIB do Agronegócio Brasil**. 2020. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>. Acesso em: 20 de março de 2022.

Chow, A.; Dunlap, C.A.; Jackson, M.A.; Avery, P.B.; Patt, J.M.; Sétamou, M. Field efficacy of autodissemination and foliar sprays of an entomopathogenic fungus, *Isaria fumosorosea*

(Hypocreales: Cordycipitaceae), for control of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), on residential citrus. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, p. 2089–2100, 2018. <https://doi.org/10.1093/jee/toy216>.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos. 2021**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos>. Acesso em: 20 de março de 2022.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: Safra 2021/2022** – Nono levantamento, v. 9, 93 p., 2022.

Cruz, I.; Figueiredo, M.; Oliveira, A.C.; Vasconcelos, C.A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**, v. 45, p. 293-296, 1999. <https://doi.org/10.1080/096708799227707>.

Diez-Rodríguez, G.I.; Omoto, C. Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 311-316, 2001. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000200016>.

Dinardo-Miranda, L.L.; Vasconcelos, A.C.M.; Ferreira, J.M.G.; Garcia Jr., C.A.; Coelho, A. L.; Gil, M.A. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 743-749., 2004. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000600012>.

Embrapa Soja. **Tecnologias de produção de soja: Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 265p. 2013.

Erler, F.; Ates, A.O. Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: Scarabaeidae), as biological control agents against the June beetle. **Journal of Insect Science**, v. 15, p. 44, 2015. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev029>.

Faria, M.R.; Wraight, S.P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with

worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, p. 237-256, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>.

Gramkow, A. W.; Perecmanis, S.; Sousa, R. L. B.; Noronha, E. F.; Felix, C. R., Nagata, T.; Ribeiro, B. M. (2010). Insecticidal activity of two proteases against *Spodoptera frugiperda* larvae infected with recombinant baculoviruses. **Virology Journal**, v. 7, p. 1-10, 2010. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-143>.

Grigolli, F.J. Pragas da soja e seu controle. **Circular Técnica**. Fundação MS, 2017.

Heineck-Leonel, Maria A. e Salles, Luiz A. B. Incidência de parasitóides e patógenos em adultos de *Diabrotica speciosa* (Germ) (Coleoptera: Chrysomelidae) na região de Pelotas, RS. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26. 1 Pp. 81-85. 1997. <https://doi.org/10.1590/S0301-80591997000100011>.

Hoffmann-Campo, C.B.; Moscardi, F.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Oliveira, L.J; Sosa-Gómez, D.R.; Panizzi, A.R.; Corso, I.C.; Gazzoni, D.L.; Oliveira, E.B. Pragas da soja no brasil e seu manejo integrado. **Circular Técnica**. Embrapa Soja, 70p, 2000.

Juhász, A.C.P.; Pádua, G.P.; Reis, J.B.R.S.; Paes, J.M.V.; Teixeira, H.; Hirose, E.; Pedroso Neto, J.C.; Martins, F.A.D.; Coelho, M.A.O. Soja (*Glycine max* L.). In: Paula Júnior, T.J.; Venzon, M.; **101 Culturas: manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2º ed., p. 838-862, 2019.

Lenth, R.V.; Buerkner, P.; Herve, M.; Love, J.; Riebl, H.; Singmann, H. **Packpage ‘emmeans’**, 2019.

Mckinnon, A.C.; Saari, S.; Moran-Diez, M.E.; Meyling, N.V.; Raad, M.; Glare, T.R. *Beauveria bassiana* as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential. **BioControl**, v. 62, p. 1–17, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9769-5>.

Melo, I.S.; Azevedo, J.L. **Controle Biológico**. Jaguariúna. SP: Embrapa Meio Ambiente, 388 p., 2000.

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**, v. 43, p. 145–155, 2007. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.07.007>.

Miranda, G.V.; Santos, I.C.; Galvão, J.C.C.; Paula Júnior, T.J. Milho (*Zea mays* L.). In: Paula Júnior, T.J.; Venzon, M. **101 Culturas: manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2º ed., p. 628-629, 2019.

Monteiro, S.G.; Bahiense, T.C.; Bittencourt, V.R.E.P. Ação do fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre a fase parasitária do carrapato *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) Schulze, 1937 (Acari: ixodidae). **Ciência Rural**, v.33, p.559-563, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000300026>.

Nascimento, A.R.B.; Farias, J.R.; Bernardi, D.; Horikoshi, R.J.; Omoto, C. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, v. 72, p. 810-815, 2015. <https://doi.org/10.1002/ps.4057>.

N. Haraprasad, S. R.; Niranjana, H. S.; Prakash, H. S. Shetty & Seema Wahab. *Beauveria bassiana* a potential mycopesticide for the efficient control of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) in India. **Biocontrol Science and Technology**, v. 11, p. 251-260, 2001. <https://doi.org/10.1080/09583150120035675>.

Posada-Flórez FJ. Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. **Journal of Insect Science**, v.8,p.41, 2008.

Polanczyk, R. A.; Silva, R. F. P. D.; Fiuza, L. M. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 164-166. 2000.

Rehner, S.A.; Minnis, A.M.; Sung, G-H.; Luangsa-Ard, J.J.; Devotto, L.; Humber, R.A. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*.

Mycologia, v. 103, p. 1055–1073, 2011. <https://doi.org/10.3852/10-302>.

Rondeau, V.; Gonzalez, J.R.; Yassin Mazroui, a. Mauguen, A.D.; Laurent, A.; Lopez, M.;
Rondeau, M.V. **Package ‘frailtypack’**, 2019.

Rosa, A.P.S.A. da; Bioecologia de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleóptera: Chrysomelidae) visando fornecer subsídios para estudos de criação em dieta artificial. Pelotas **Documentos Embrapa Clima Temperado**, 2013. 31 p.

Rosa, A.P.S.A.; Martins, J.F.D.A.S.; Trecha, C.O. Avaliação de danos da lagarta-do-cartucho à cultura do milho com base no monitoramento de plantas atacadas em três safras agrícolas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 17, p. 21-27, 2019.

Roubos, C. R.; Rodriguez-Saona, C.; Isaacs, R. Mitigating the effects of insecticides on arthropod biological control at field and landscape scales. **Biological Control**, v. 75, p. 28–38, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.01.006>.

Smiderle, O. J. **Cultivo de Soja no Cerrado de Roraima**. Embrapa Roraima, Boa Vista, 146 p, 2019.

St. Leger, R.J. Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to life in the soil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 271-276, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.007>.

St. Leger, R. J.; Durrands, P.K.; ChanrleyY, A. K.; Cooper, R.M. Role of extracellular chymoelastase in the virulence of *Metarhizium anisopliae* for *Manduca sexta*. **Journal of Invertebrate Pathology** v.52, p.285-293, 1988. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(88\)901371](https://doi.org/10.1016/0022-2011(88)901371).

UN - UNITED NATIONS. Report of the special rapporteur on the right for food. General assembly: **Human rights council**, 2017, 24 p.

Valicente, F.H. Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho. **Circular Técnica**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2015.

Venzon, M., Neves, W.S., Martins, E. F., Franzin, M.L., Botti, J. M. C., Costa, A. H., Andrade, F.P., Fonseca,, M.C.M. In: Carmo, D.L. et al. **Diálogos transdisciplinares em Agroecologia: projeto café com agroecologia**. FACEV, Viçosa, MG, p. 305-319, 2021.

Zatti, A.; **Controle biológico de pragas – Como funciona?** 2020. Disponível em: <https://www.plantae.agr.br/blog/2020/02/13/controlo-biologico-de-pragas-como-funciona>. Acesso em: 25 de outubro de 2021.