

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE MINAS GERAIS – *CAMPUS* BAMBUÍ
BACHARELADO EM AGRONOMIA

Rayanne Goulart de Oliveira Marques

**MULTIPLICAÇÃO DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM
DIFERENTES TIPOS DE SUBSTRATOS**

BambuÍ
2024

RAYANNE GOULART DE OLIVEIRA MARQUES

**MULTIPLICAÇÃO DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM
DIFERENTES TIPOS DE SUBSTRATOS**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado ao curso de Bacharelado em Agronomia, do Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* Bambuí, para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Sousa Cavalcanti

Bambuí

2024

Catálogo na Fonte Biblioteca IFMG - Campus Bambuí

M357m Marques, Rayanne Goulart de Oliveira.
Multiplicação do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* em diferentes tipos de substratos. / Rayanne Goulart de Oliveira Marques. – 2024.
24 f.; il.: color.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Sousa Cavalcanti.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG, Curso Bacharelado em Agronomia, 2024.

1. Inimigo natural. 2. Controle microbiano. 3. Entomopatógeno. I. Cavalcanti, Ricardo Sousa. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG. III. Título.

CDD 589.2



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS
Campus Bambuí
Diretoria de Ensino
Departamento de Ciências Agrárias
Faz. Varginha - Rodovia Bambuí/Medeiros - Km 05 - Caixa Postal 05 - CEP 38900-000 - Bambuí - MG
37 3431 4900 - www.ifmg.edu.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

RAYANNE GOULART DE OLIVEIRA MARQUES

MULTIPLICAÇÃO DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM DIFERENTES TIPOS DE SUBSTRATOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Bacharelado em Agronomia do Instituto Federal de Minas Gerais – Campus Bambuí, como requisito parcial para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado em 21 de agosto de 2024

Prof. Dr. Ricardo Sousa Cavalcanti (Orientador - IFMG Campus Bambuí)

Prof. Dr. Marcelo Loran de Oliveira Freitas (Professor - IFMG Campus Bambuí)

M.Sc. Maria Cristina Silva Barbosa (Técnica de Laboratório- IFMG Campus Bambuí)

Bambuí, 28 de agosto de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Sousa Cavalcanti, Professor**, em 28/08/2024, às 11:39, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Cristina da Silva Barbosa, Técnica de Laboratório / Área Biologia**, em 29/08/2024, às 09:59, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Loran de Oliveira Freitas, Professor**, em 29/08/2024, às 10:53, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ifmg.edu.br/consultadocs> informando o código verificador **2019270** e o código CRC **2907223C**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por guiar cada passo que dei até aqui.

A minha mãe e meu pai, pelo amor, dedicação, sacrifícios e esforços voltados para os meus sonhos.

À minha irmã e meus irmãos, por todo apoio, carinho e incentivo.

Às minhas avós, meus maiores exemplos, que me fizeram querer ir atrás dos meus sonhos e me incentivaram a ser a melhor pessoa que eu pudesse.

Ao professor orientador, que, durante esse período, me acompanhou pontualmente, dando todo auxílio necessário para elaboração do meu projeto.

Aos professores do curso de Agronomia que, através dos seus ensinamentos, contribuíram para a minha formação.

RESUMO

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* é amplamente estudado e utilizado na agricultura para o controle de pragas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi 1) Avaliar a esporulação do fungo *Beauveria bassiana* em diferentes tipos de substratos e 2) Precificar os diferentes tipos de substratos, utilizados para o crescimento reprodutivo do fungo *Beauveria bassiana*. O presente trabalho avaliou a multiplicação de esporos do fungo no arroz (Testemunha) e em seis diferentes substratos adicionados ao arroz, com 10 repetições para cada um. Os substratos testados foram: farinha de besouro, farinha de amendoim, linhaça dourada, gergelim, farinha de castanha de caju e farinha de trigo, todos adicionados em sacos plásticos, contendo arroz. Para quantificar a produção de esporos, utilizou-se a câmara de Neubauer, para posterior contagem em microscópio. As maiores concentrações de esporos do fungo *Beauveria bassiana* foram encontradas no Tratamento 1 (Arroz - Testemunha), Tratamento 6 (Arroz + farinha de Caju) e no Tratamento 7 (Arroz + Farinha de trigo). Além disso, foi conduzida uma pesquisa dos custos das matérias primas utilizadas, em que, mesmo nos tratamentos que apresentaram resultados positivos, a utilização da amostra testemunha mostrou-se mais viável, devido ao preço mais acessível.

Palavras-chave: Inimigo natural, Controle microbiano, Entomopatógeno.

ABSTRACT

The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is widely studied and used in agriculture for pest control. Thus, the objective of this study was 1) to evaluate the sporulation of the fungus *Beauveria bassiana* in different types of substrates and 2) to price the different types of substrates used for the reproductive growth of the fungus *Beauveria bassiana*. The present study evaluated the multiplication of fungal spores in rice (control) and in six different substrates added to rice, with 10 replicates for each one. The substrates tested were: beetle flour, peanut flour, golden flaxseed, sesame, cashew nut flour and wheat flour, all added in plastic bags containing rice. To quantify the spore production, the Neubauer chamber was used, for later counting under a microscope. The highest concentrations of spores of the fungus *Beauveria bassiana* were found in Treatment 1 (Rice - Control), Treatment 6 (Rice + Cashew flour) and Treatment 7 (Rice + Wheat flour). In addition, a survey of the costs of the raw materials used was conducted, in which, even in the treatments that presented positive results, the use of the control sample proved to be more viable, due to the more affordable price.

Keywords: Natural enemy, Microbial control, Entomopathogen.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Colonias do fungo <i>Beauveria bassiana</i> , em placa de Petri, em meio BDA | 15 |
| Figura 2: Farinha de Besouro triturada em moinho de facas, com peneira de 1,0 mm..... | 16 |
| Figura 3: Esquema de diluição do fungo entomopatogênico <i>Beauveria bassiana</i> | 19 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Substratos utilizados no experimento de multiplicação do fungo <i>Beauveria bassiana</i> | 17 |
| Tabela 2: Produção média de esporos de <i>Beauveria bassiana</i> , em diferentes tipos de substratos | 19 |
| Tabela 3: Custos das matérias-primas utilizadas para o preparo dos substratos, em quilograma. | 21 |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 10 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 10 |
| 2.1 | Objetivo Geral | 10 |
| 2.2 | Objetivos Específicos | 11 |
| 3 | REFERENCIAL TEÓRICO | 11 |
| 3.1 | Fungos Entomopatogênicos | 11 |
| 3.2 | <i>Beauveria bassiana</i> | 12 |
| 3.3 | Multiplicação de Fungos em Substratos Sólidos..... | 12 |
| 3.4 | Técnicas de Laboratório | 12 |
| 3.5 | Controle Biológico de Pragas..... | 13 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 14 |
| 4.1 | Isolado de Fungo Entomopatogênico..... | 14 |
| 4.2 | Substratos Utilizados no Experimento | 15 |
| 4.3 | Preparo da Farinha de Besouro | 15 |
| 4.4 | Preparo dos Substratos | 16 |
| 4.5 | Precificação dos Substratos | 17 |
| 4.6 | Inoculação do Fungo nos Substratos | 17 |
| 4.7 | Avaliações..... | 18 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 19 |
| 5.1 | Análise de Custo..... | 21 |
| 6 | CONCLUSÕES | 21 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 23 |

1 INTRODUÇÃO

O uso de bioinsumos é uma possibilidade que apresenta vantagens econômicas, constituindo um mercado em crescimento e sendo desenvolvidos a partir de enzimas, extratos de plantas ou microrganismos, metabólitos secundários ou feromônios para o controle biológico, além de contribuir para a conservação de inimigos naturais e preservação ambiental.

O fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill é ascomiceto entomopatogênico, amplamente estudado e comercializado, na agricultura, para o controle biológico de diversas pragas. Suas propriedades de atuação incluem a colonização e, em alguns casos, a infecção direta através do aparelho respiratório e digestivo. No meio agrícola, tem se mostrado de grande importância, devido à sua rápida colonização e disseminação no campo, quando encontrada em condições favoráveis.

De acordo com EMBRAPA (2019), o substrato mais utilizado para multiplicação de fungos e produção de esporos é o arroz, isso se deve ao fato de que o cereal é rico em amido, fornecendo os nutrientes essenciais para o crescimento e a reprodução dos fungos, especialmente aqueles que produzem conídios aéreos, como, por exemplo, o *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, além da ampla disponibilidade mundial.

As condições de cultivo são essenciais para se obter bom crescimento de colônias, com uma alta taxa de esporulação, enquanto se aplicam técnicas e metodologias adequadas para evitar a contaminação e aumentar a eficiência do uso do patógeno, visando a redução dos custos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a esporulação do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* em diferentes tipos de substrato, para que, com os resultados, colabore para maior produção do fungo.

2.2 Objetivos Específicos

- Quantificar a esporulação do fungo *Beauveria bassiana* em diferentes tipos de substratos adicionados ao arroz;
- Precificar os diferentes tipos de substratos utilizados no crescimento reprodutivo de *Beauveria bassiana*

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Fungos Entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos são organismos capazes de colonizar diferentes tipos de insetos e ácaros. Além disso, produzem toxinas que causam infecções, resultando em epizootias, isto é, na disseminação de uma doença que atinge um grande número de animais, em uma mesma época e região, propagando-se com grande velocidade (Lacey *et al.*, 2001).

Os fungos são organismos eucarióticos que possuem grande variabilidade genética, podendo se apresentar de forma unicelular ou multicelular, constituídos por um conjunto de filamentos e apresentam formas e tamanhos variados, o que se considera como vantagens importantes no controle microbiano.

De acordo com Thomas e Jenkins (1997), o processo germinativo ocorre através de condições favoráveis, levando em consideração os fatores abióticos, como temperatura, umidade, pH, oxigênio e nutrição, pois estes podem alterar o crescimento vegetativo e a produção de conídios. Sob essas condições, o fungo germina sobre o inseto, formando um tubo germinativo, que dá origem ao apressório (ALVES *et al.*, 1998).

A reprodução dos fungos pode ocorrer de maneira assexuada e sexuada, sendo a primeira, a mais comum. A reprodução assexuada ocorre por meio de esporos, como os conídios, esporângios, ascos e basídios, sendo facilmente propagados pelo vento ou chuva (EMBRAPA, 2000).

A reprodução sexuada pode ocorrer através da união de dois núcleos, depois da fusão dos gametas, denominada plasmogamia, ou pode ocorrer também devido à fusão de ramificações das hifas diferenciadas, denominadas gametângios machos (anterídios), com estruturas femininas maiores (oogônios) (ALVES *et al.*, 1998).

3.2 *Beauveria bassiana*

O entomopatogênico *Beauveria bassiana* é um dos principais agentes utilizados no controle de pragas agrícolas, devido à sua grande incidência em diversos países, pois parasita uma variedade de insetos, como pulgões, mosca-branca, besouros e lagartas. Em laboratório, coloniza a maioria dos insetos, enquanto que, em campo, ocorre de forma enzoótica, isto é, a doença ou o patógeno está continuamente presente na região, de forma epizoótica.

A infecção pelo fungo pode ocorrer através do tegumento ou pela via oral dos insetos. A penetração tegumentar é uma ação mecânica e química, que depende de nutrientes como glucose, quitina e nitrogênio. A colonização do inseto ocorre em até 72 horas, sendo o tecido gorduroso o principal alvo, seguido do intestino e tubos de Malpighi. A morte do inseto ocorre devido à falta de nutrientes e ao acúmulo de substâncias tóxicas (ALVES *et al.*, 1998).

3.3 Multiplicação de Fungos em Substratos Sólidos

O cultivo de fungos é uma área importante e tem aplicações em diversos campos, como pesquisas científicas e industriais. A prática de multiplicação de fungos em substratos sólidos é antiga e foi desenvolvida no Caribe, no início do século passado, permitindo observar o desenvolvimento dos fungos, de modo a estudar suas características (EMBRAPA, 2022).

Os produtos vegetais ricos em amido, como batata, arroz, milho, aveia, dentre outros, possuem baixo custo e ao mesmo tempo estimulam a produção de conídios viáveis e virulentos pelo fungo. Dentre esses produtos, destaca-se o arroz, sendo o mais utilizado na produção de conídios em larga escala, pois, além de fornecer os nutrientes necessários, é encontrado em diversos países (EMBRAPA, 2019).

Os grãos de arroz umedecidos, são frequentemente utilizados como substratos para produção de conídios, principalmente dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, pois, além de suprir as necessidades nutricionais e metabólicas, os conídios podem ser separados facilmente do substrato (EMBRAPA, 2019).

3.4 Técnicas de Laboratório

As técnicas de laboratório contribuem para a segurança e eficiência nos

experimentos. A execução das atividades deve ser realizada em locais limpos e com o uso de roupas adequadas, adotando técnicas e metodologias apropriadas, de modo que se possa evitar a ocorrência de acidentes.

O conjunto de condições assépticas é realizado, a fim de criar um ambiente livre de contaminação microbiana, que pode ocorrer durante a manipulação de materiais biológicos, cultura de células, meios de culturas e outros componentes utilizados em experimentos (ALVES *et al.*, 2018).

Antes que se inicie os procedimentos laboratoriais, é necessário realizar a limpeza e desinfecção de todos os materiais de trabalho que entrarão em contato com os materiais biológicos. A esterilização dos equipamentos ocorre através de meios químicos, sendo os mais utilizados o hipoclorito ou álcool ou obtidos por meios físicos, como a luz ultravioleta e temperatura. Quando essa etapa é realizada de maneira correta, ocorre a destruição de todos os microrganismos (ALVES *et al.*, 2018).

A escolha do meio de cultura deve ser feita de modo que se proporcione condições favoráveis para o desenvolvimento do organismo. Um meio adequado para o crescimento das colônias de fitopatogênicos deve conter carbono, nitrogênio e sais minerais, sendo que, em alguns casos, faz-se necessário o uso de vitaminas (EMBRAPA, 2016).

A maioria dos fungos são exigentes quanto às condições para o seu desenvolvimento, especialmente em relação à luz e à temperatura. Em sua maioria, os fungos desenvolvem-se em uma temperatura entre 20° e 25°C. Essas condições podem ser controladas através das câmaras ou incubadoras, evitando que ocorra oscilações que afetem o seu crescimento (ALVES *et al.*, 2018).

3.5 Controle Biológico de Pragas

O controle biológico na agricultura não é uma prática recente e está se tornando cada vez mais comum, devido à conscientização da utilização indiscriminada dos produtos químicos e dos riscos que estes podem causar à fauna, à flora e aos solos. Além disso, apresenta diversas vantagens, como a redução da exposição dos produtores e aplicadores a produtos químicos, a ausência de resíduos nos produtos finais, com baixo impacto ambiental.

Segundo Hawkins e Cornell (1999), controle biológico consiste na diminuição de uma população de pragas, através da utilização de predadores, parasitas ou patógenos, ocorrendo a regulação de uma população por outra, promovendo um agroecossistema com maior equilíbrio ecológico, mantendo a população de pragas abaixo do nível de dano

econômico (BERTOLOTTI *et al.*, 2015).

Com o atual debate sobre a produção integrada em direção a uma agricultura sustentável, o controle biológico assume um papel fundamental nos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP). Essa abordagem considera a segurança tanto para os produtores quanto aos aplicadores, além de minimizar os resíduos químicos em alimentos. Além disso, o controle biológico contribui para aumentar a atividade dos inimigos naturais e promover a biodiversidade nos ecossistemas agrícolas, visando equilibrar a proteção das culturas com a preservação do meio ambiente e saúde humana (LACEY *et al.*, 2001).

Devido às vantagens oferecidas pelos fungos entomopatogênicos, como o baixo risco para organismos benéficos não alvo, sua utilização como agentes de controle biológico é amplamente favorecida. No Brasil, a utilização desses fungos tem sido amplamente aplicada, sendo as mais utilizadas as espécies *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Trichoderma* spp.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Isolado de Fungo Entomopatogênico

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal de Minas Gerais - *Campus* Bambuí. Inicialmente, realizou-se a esterilização das placas de Petri e do meio de cultura batata, dextrose e ágar (BDA), em autoclave, a uma temperatura de 120°C, por 20 minutos.

O meio batata, dextrose e ágar (BDA) foi preparado, seguindo os passos: pesar 19,5g do pó e dissolvê-lo em 0,5 litros de água destilada, em um erlenmeyer, misturando bem com um bastão de vidro. Em seguida, aqueceu-se a solução por um minuto, no microondas, e esterilizou-se em autoclave, a 120°C, por 20 minutos. Após a esterilização, o meio deve ser resfriado a uma temperatura adequada (geralmente em torno de 45-50°C), antes de ser vertido em placas de Petri.

Para os ensaios, o professor Ricardo Cavalcanti realizou a coleta do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, isolado do moleque da bananeira. O fungo foi identificado por meio da preparação de uma lâmina e observado em um microscópio óptico, com aumento de 400 vezes. Posteriormente, foi armazenado no Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Entomologia do *Campus* Bambuí, sob o código IFMG - 01. O fungo foi inoculado em placas de Petri, contendo meio BDA (Figura 1) e mantido em câmara

climatizada BOD a 25 ± 2 °C, com fotofase de 12 horas.

Figura 1: Colonias do fungo *Beauveria bassiana*, em placa de Petri, em meio BDA



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

4.2 Substratos Utilizados no Experimento

A base de todos os substratos, preparados para multiplicação do fungo *B. Bassiana*, foi o arroz, que é o substrato básico utilizado para multiplicação de fungos pelas empresas. Os substratos adicionados ao arroz foram selecionados pela facilidade em ser comprado no mercado local e por testes preliminares, realizados pelo orientador, professor Ricardo Cavalcanti.

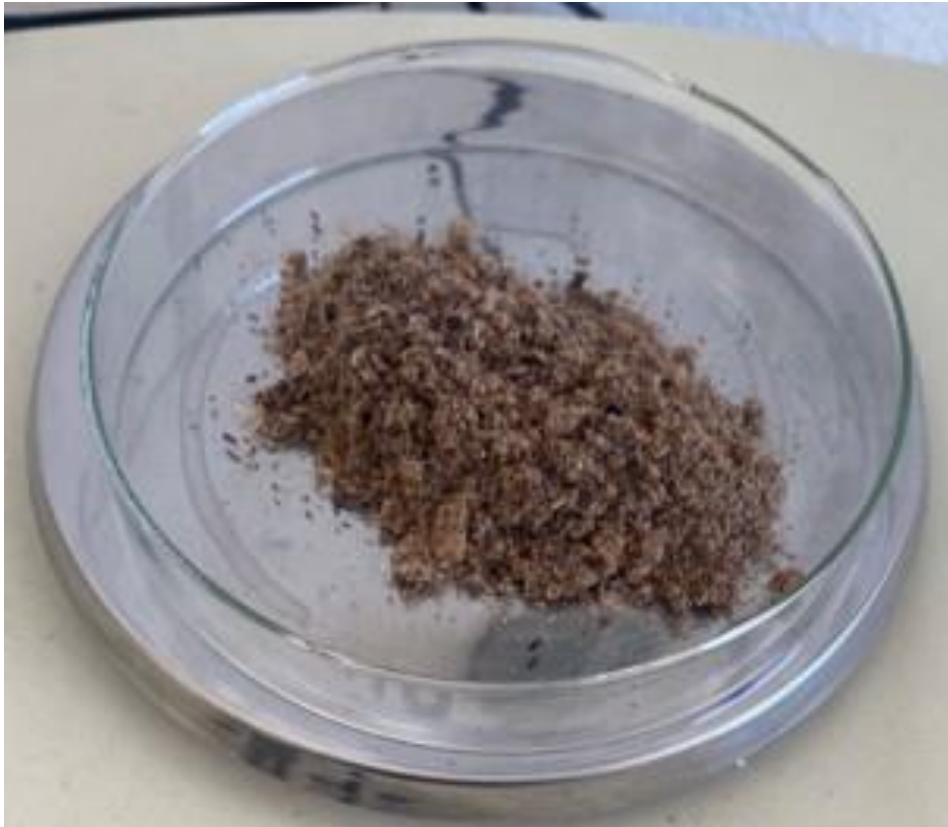
4.3 Preparo da Farinha de Besouro

Os besouros da família Scarabaeidae foram coletados já mortos, nas regiões de Bambuí - Minas Gerais e Medeiros - Minas Gerais, e armazenados em geladeira, até atingir a quantidade necessária para a obtenção de peso em farinha, para adicionar ao substrato de arroz.

Para obtenção da farinha de besouro (Figura 2), realizou-se primeiro a desinfestação do inseto em solução preparada de hipoclorito, contendo 150 mL de água e 50

mL de água sanitária, com teor de cloro ativo de 2,5%, deixando-o de molho por 10 minutos e, logo após, lavando-o em água corrente, por três vezes. Por fim, os insetos foram transferidos para estufa a $50 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, por 10 dias. Posteriormente, os insetos foram triturados em um moinho de facas, com peneira de 1,0 mm.

Figura 2: Farinha de Besouro triturada em moinho de facas, com peneira de 1,0 mm



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

4.4 Preparo dos Substratos

Seis substratos, com dez repetições cada, foram adicionados, separadamente, em saquinhos plásticos de polietileno de alta densidade, de tamanho 5 cm de largura x 23 cm de comprimento, contendo 10 gramas de arroz em todos eles e, posteriormente, foi adicionado 0,1 grama de cada amostra, conforme Tabela 1. No tratamento Testemunha, não foi adicionado nenhum outro produto, exceto o arroz. Antes de serem esterilizados em autoclave, a 120°C , por 20 minutos, foram introduzidos 5,0 mL de água destilada por saquinho, que foram fechados com o auxílio de uma seladora elétrica.

Tabela 1: Substratos utilizados no experimento de multiplicação do fungo *Beauveria bassiana*.

| Tratamento | Substrato |
|----------------|-------------------------------------|
| 1 (Testemunha) | Arroz |
| 2 | Arroz + Farinha de Besouro |
| 3 | Arroz + Farinha de Amendoim |
| 4 | Arroz + Linhaça Branca |
| 5 | Arroz + Gergelim |
| 6 | Arroz + Farinha de Castanha de Caju |
| 7 | Arroz + Farinha de Trigo |

Fonte: *Elaboração própria (2024)*.

4.5 Precificação dos Substratos

Conduziu-se uma pesquisa preliminar em dois supermercados e em uma loja de produtos naturais, localizados na cidade de Bambuí, Minas Gerais, em 20 de março de 2024, com o objetivo de analisar as informações sobre as marcas dos seis tipos de farinha, utilizados no estudo e seus respectivos preços.

4.6 Inoculação do Fungo nos Substratos

A inoculação do fungo *Beauveria bassiana* nos substratos foi realizada em uma capela de fluxo laminar, esterilizada com álcool 70% e luz ultravioleta. As colônias do entomopatógeno foram raspadas com auxílio de bisturi esterilizado e transferidas para o Erlenmeyer, onde também se introduziu 200 mL de água destilada esterilizada (ADE).

Posteriormente, retirou-se uma alíquota de um mL e transferiu-se para um tubo de ensaio, com 9,0 mL de ADE, utilizando uma micropipeta. Essa solução foi utilizada para realizar outras diluições e quantificar a suspensão original. A quantificação foi realizada com a câmara de Neubauer e a contagem foi feita em microscópio. Utilizando uma micropipeta, retirou-se um mL do tubo de ensaio para realizar a quantificação, constatando-se a presença de $3,40 \times 10^7$ esporos do fungo *B. bassiana* por mL.

Em seguida, realizou-se a abertura do saquinho, com uma tesoura, para que fosse transferido um mL da suspensão, com um auxílio da micropipeta, contendo $3,40 \times 10^7$ esporos do fungo *B. bassiana*, para os saquinhos com os substratos, que foram novamente fechados com o auxílio de uma seladora elétrica e armazenados em câmara climatizada BOD, por 15

dias, à temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, de modo que ocorresse a esporulação do fungo.

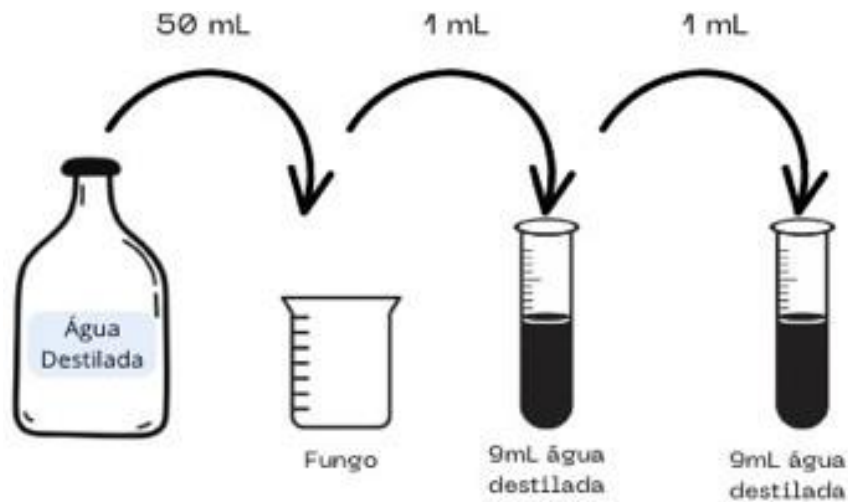
4.7 Avaliações

Após 15 dias de crescimento do fungo *B. bassiana*, todos os saquinhos foram transferidos para geladeira, à temperatura de 4°C , para que não continuassem crescendo e esporulando. As avaliações foram conduzidas em uma capela de fluxo laminar, previamente desinfestada com álcool 70%. Os saquinhos foram abertos, com o auxílio de uma tesoura, e cuidadosamente transferidos para um béquer. Posteriormente, adicionou-se água destilada, colocando-se, inicialmente, 20 mL e, após misturar com um bastão de vidro, adicionou-se mais 30 mL. Dessa forma, obteve-se uma solução mais homogênea, contendo um total de 50 mL de água destilada, misturada com o auxílio de um bastão de vidro.

Em seguida, o material foi coado, com o auxílio de uma peneira de infusar chá inoxidável e, com a ajuda de uma micropipeta, um mL da suspensão foi transferida para um tubo de ensaio, contendo 9 mL de água destilada, correspondendo ao Fator de Diluição -1, e agitado com um agitador elétrico, sendo realizadas novas diluições para posterior quantificação da suspensão em câmara de Neubauer, conforme a Figura 3 (ALVES *et al.*, 1998).

Para determinar a produção de esporos, utilizou-se a suspensão de 9 mL, correspondente ao Fator de Diluição -2, o qual foi agitado por 20 segundos em um agitador elétrico e, em seguida, foi coletada com uma micropipeta e adicionada em câmara de Neubauer, para posterior contagem em microscópio.

Figura 3: Esquema de diluição do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 2 apresenta os resultados referentes à esporulação do fungo entomopatogênico *B. Bassiana*, inoculado em diferentes substratos.

Tabela 2: Produção média de esporos de *Beauveria bassiana*, em diferentes tipos de substratos

| Tratamento | Esporos/mL | |
|---|------------------------|---|
| 1 (Arroz - Testemunha) | 4,52 x 10 ⁶ | c |
| 2 (Arroz + Farinha de besouro) | 4,06 x 10 ⁶ | b |
| 3 (Arroz + Farinha de amendoim) | 4,24 x 10 ⁶ | b |
| 4 (Arroz + Farinha de linhaça dourada) | 3,11 x 10 ⁶ | a |
| 5 (Arroz + Gergelim) | 3,82 x 10 ⁶ | b |
| 6 (Arroz + Farinha de castanha de caju) | 5,44 x 10 ⁶ | c |
| 7 (Arroz + Farinha de trigo) | 5,09 x 10 ⁶ | c |

Médias seguidas por letras distintas, que diferem entre si através do teste de Scott-Knott (P <0,05).

Fonte: Elaboração própria (2024).

Os resultados demonstraram que o Tratamento 4 (Arroz + Farinha de Linhaça Dourada) foi o tratamento em que o fungo produziu menos, diferindo de todos os outros

tratamentos. As maiores produções de esporos ocorreram nos Tratamentos 1 (Testemunha), 6 (Arroz + Farinha de castanha de caju) e 7 (Arroz + Farinha de trigo), enquanto os tratamentos 2 (Arroz + Farinha de besouro), 3 (Arroz + Farinha de amendoim) e 5 (Arroz + Gergelim) não diferiram entre eles, apresentando esporulação maior que o Tratamento 4 e menor que os Tratamentos 1, 6 e 7.

Loureiro (2005), com o objetivo de determinar a produção de esporos de diferentes isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, em meio básico após 10 dias de incubação, constatou uma produção de $0,86 \times 10^7$ a $2,08 \times 10^8$ conídios/grama, demonstrando que os isolados diferem em relação aos substratos. No isolado IFMG 01, a produção de esporos foi superior; entretanto, essa produção de esporos poderia ser diferente com outros fungos entomopatogênicos e até mesmo com outro isolado de *Beauveria bassiana*.

Machado (2008) *apud* Puzari (1997) avaliou, em meio contendo uma mistura de casca de arroz, serragem e arroz, uma produção $3,93 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹ do fungo *B. bassiana*, produzindo de 5 a 15 vezes mais conídios do que nos meios que continham somente o arroz, diferindo do presente trabalho, no qual o arroz puro estatisticamente não diferiu dos substratos que apresentaram maior média de esporos/mL.

Souza (2005) avaliou a produção de conídios do fungo *Beauveria bassiana* em diferentes substratos. Como resultado, a maior produção de esporos foi observada nos substratos arroz (Testemunha), malte 1, malte 2 e fibra de algaroba, não havendo diferenças significativas entre eles, sendo similar ao presente trabalho, em que o arroz puro não diferiu dos demais substratos que apresentaram a maior média de produção.

Wenzel (2006) obteve resultados satisfatórios para a produção de esporos do fungo entomopatogênico *Lecanicillium lecanii*, utilizando farelo de soja, farelo de trigo e trigo moído, com resultados variando 16×10^7 con. g⁻¹ a $25,75 \times 10^7$ con. g⁻¹, cultivado por 20 dias, a $25 \pm 0,5$ °C e em ausência de luz, em diversos meios naturais sólidos. Embora se trate de outro fungo entomopatogênico, a produção de conídios, no farelo de trigo e no trigo moído, foi satisfatória, assemelhando-se aos resultados obtidos no Tratamento 7.

Lima (2010) observou a produção de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em diferentes substratos e efeito da luz ultravioleta e da temperatura. Demonstrando que, para produção de conídios de *M. anisopliae*, o trigo moído e o fubá de milho foram superiores ao arroz, apresentando resultados de $1,83 \times 10^8$ conídios/mL, $2,04 \times 10^8$ conídios/mL e $1,91 \times 10^8$ conídios/mL, respectivamente. No caso de *B. bassiana*, o arroz constitui a melhor opção, do ponto de vista de produtividade, comparado à fava, ao feijão, ao sorgo e ao

caupi. Quando comparado ao fungo *Metarhizium anisopliae* os resultados diferem, visto que, para o autor, o tratamento com trigo moído apresentou maiores resultados. Ao compararmos o entomopatógeno *Beauveria bassiana*, observa-se semelhança, devido ao fato que o arroz tem bons resultados, dispensando o uso de outros substratos.

5.1 Análise de Custo

A Tabela 3 apresenta os custos da matéria prima utilizada nos experimentos, através de um levantamento realizado em dois supermercados e um empório natural, na cidade de Bambuí, Minas Gerais.

Tabela 3: Custos das matérias-primas utilizadas para o preparo dos substratos, em quilograma.

| Produto | Supermercado 01 | Supermercado 02 | Empório Natural |
|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Farinha de linhaça Dourada | R\$ 34,95 | R\$ 37,45 | R\$ 35,00 |
| Gergelim | R\$ 59,95 | R\$ 59,95 | R\$ 42,00 |
| Farinha de Amendoim | R\$ 19,97 | R\$ 26,73 | R\$ 25,00 |
| Castanha de Caju | - | - | R\$ 65,00 |
| Farinha de Trigo | R\$ 5,49 | R\$ 6,18 | R\$ 7,20 |

Fonte: *Elaboração própria (2024).*

Mesmo nos tratamentos que apresentaram resultados positivos, a utilização do arroz puro mostrou-se mais viável, devido ao preço mais acessível.

Para o preparo da farinha de besouro, a matéria prima utilizada foi o hipoclorito de sódio, com teor de cloro 2,5%, não sendo levado em consideração o gasto com energia.

O levantamento do custo do produto hipoclorito de sódio foi realizado on-line, encontrando o valor médio de R\$ 9,89.

6 CONCLUSÕES

Os Tratamentos 1 (Arroz - Testemunha), 6 (Arroz + Farinha de castanha de caju) e o 7 (Arroz + Farinha de trigo) apresentaram maiores esporulações. Enquanto o substrato 4 (Arroz + Linhaça dourada) resultou em menor produção de esporos.

A adição dos substratos não apresenta vantagens econômicas, pois não diferem da Testemunha.

O maior custo é observado na Farinha de castanha de caju, enquanto o menor preço na Farinha de Trigo.

Assim, concluiu-se que, para multiplicação do fungo *Beauveria bassiana*, o arroz puro se mostrou mais viável, devido aos seus resultados positivos e ao seu preço mais acessível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, Sergio Batista. **Perspectiva Para Utilização de Fungos Entomopatogênicos no Controle de Pragas no Brasil**. EMBRAPA, 1992. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/105578/1/pab07abresp92.pdf>. Acesso em: 03 de ago. 2024.
- BORTOLOTTI, O. C. *et al.* The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v.1, n.1, p. 25-32, 2015.
- CAPALBO, D.M.F.; DE NARDO, E.A.B.; MORAES, G.J.; OLIVEIRA, M.C.B & CASTRO, V.L.S.S. **Avaliação de Agentes Microbianos de Controle de Pragas para Registro como Bioinseticidas: uma proposta para órgãos federais registrantes - Informações sobre o produto e análises de resíduo**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna. 1999.
- CAROLLO, E. M.; SANTOS FILHO, H. P. **Manual básico de técnicas fitopatológicas: laboratório de fitopatologia Embrapa Mandioca e Fruticultura**. 2016.
- EMBRAPA ALGODÃO; SILVA, C.A.D. **Microorganismos entomopatogênicos associados a insetos e ácaros do algodoeiro**. Campina Grande, 2000. 42p. (Embrapa Algodão. Documentos, 77)
- FARIA, M.; MASCARIN, G.M; SOUZA, D.A.; LOPES, R.B. **Controle de qualidade de produtos comerciais à base de fungos para manejo de invertebrados (insetos, ácaros, nematoides) em sistemas agropecuários**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2021. 48 p. - (Documentos/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 377).
- FERREIRA, J. M. S.; SANTOS, F. J. dos; PIMENTA, L. R.; SANTANA, A. V.; TALAMINI, V. **Técnicas para Produção Artesanal e Utilização do Fungo Entomopatogênico *Beauveria bassiana* no Campo**. EMBRAPA, 2019.
- HAWKINS, B.A.; CORNELL, H.V. **Theoretical approaches to biological control**. Cambridge: Cambridge University, 1999. 412p.
- LACEY, L. A. *et al.* Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? **Biological Control**, v. 21, n. 3, p. 230-248, 2001.
- LOUREIRO, E. de S.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M. de; PESSOA, L. G. A. Produção de Isolados de *Metarhizium anisopliae*, Seleccionados para o Controle de *Mahanarva fimbriolata* (STAL, 1854). **Revista Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.72, n.4, p. 469-472, out./dez., 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/C5hvwrkSxT3mhMBv74RVxvf/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 03 ago. 2024
- MACHADO, Ana Carolina Ribeiro. **Produção de *Lecanicillium lecanii* em Meios Líquidos, Sólidos e Combinados em Sistema Bifásico de Cultivo**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Universidade Estadual Paulista Júlio
- MESQUITA FILHO, 2008.MARTINS, Priscila Alves. **Diminuição Do Percentual De Perda De Substrato Por Contaminação No Processo Produtivo De Inseticida Biológico à Base**

Do Microrganismo *Beauveria bassiana* Com Uso Do PDCA. 2021. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/Home/download/pgtrabs/micro/m/3307.pdf>. Acesso em: 03 ago. 2024.

MEYLING, Nicolai Vitt; EILENBERG, Jørgen. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. **Biological Control**. 2007; Vol. 43, No. 2. pp. 145-155.

OTTATI-DE-LIMA, Emma Luize. **Produção de *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. e *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. em diferentes substratos e efeito da radiação ultravioleta e da temperatura sobre estruturas infectivas desses entomopatógenos.** 2007. viii, 92 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2007.

PUZARI, K.C., SARMAH, D.K.; HAZARIKA, L.K. Medium for mass production of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. **Journal of Biological Control, Coimbatore**, v. 11, n. 1-2, p.97-100, 1997.

SOUZA, ACB *et al.* Avaliação de Substratos Brutos Alternativos para Produção do Fungo Entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Revista Saúde e Ciência online**, v. 7, n. 2, (maio a agosto de 2018). 502 p.

THOMAS, M.B. & JENKINS, N.E. Effects of temperature on growth of *Metarhizium flavoviride* and virulence to the variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus*. **Mycological Reserach**, v.101, n.2, p.1469- 1474, 1997.

WENZEL, I.M., MONTEIRO, A.C., PEREIRA, G.T. Produção de conídios de *Lecanicillium lecanii* em substratos sólidos e líquidos obtidos de grãos. **Científica**, Jaboticabal, v.34, n.1, p.7-17, 2006.